

**COMPARAISON DE PORCS PRESENTANT DES TENEURS EXTREMES EN LIPIDES  
DANS LE MUSCLE *LONGISSIMUS*  
2 - CAPACITES DE STOCKAGE ET D'UTILISATION DES LIPIDES  
INTRAMUSCULAIRES**

**DAMON M.<sup>1</sup>, GONDRET F.<sup>1</sup>, VINCENT A.<sup>1</sup>, LOUVEAU I.<sup>1</sup>, LEBRET B.<sup>1</sup>,  
LEFAUCHEUR L.<sup>1</sup>, MOUROT J.<sup>1</sup>, LE ROY P.<sup>2</sup>, HERPIN P.<sup>1</sup>  
INRA, <sup>1</sup>Unité Mixte de Recherches sur le Veau et le Porc, 35590 Saint-Gilles;  
<sup>2</sup> Station de Génétique Quantitative et Appliquée, 78352 Jouy-en-Josas**

### **Introduction**

Afin de contrôler la teneur en lipides intramusculaires (LIM) du muscle *Longissimus lumborum* (LL) (LIM-LL) indépendamment de l'adiposité de la carcasse, il est nécessaire d'identifier les processus cellulaires et métaboliques impliqués. L'étude est rendue complexe par la coexistence de différents types cellulaires (fibres, adipocytes) dans le muscle. Les lipides contenus dans les fibres sous forme de gouttelettes lipidiques ne représentent qu'une faible proportion des LIM (Lebret et al., 1999). Le nombre et la taille des adipocytes présents dans le perimysium apparaissent en revanche comme des paramètres essentiels dans la variabilité de la teneur finale en LIM (Gondret et al., 1998). Au niveau métabolique, la teneur en LIM pourrait dépendre de l'équilibre entre différentes voies métaboliques (en particulier, lipogenèse dans les adipocytes ou oxydation dans les fibres), et/ou de l'intensité du transport intracellulaire des substrats énergétiques : acides gras (AG) et glucose. Ainsi, le coefficient de corrélation entre le taux de LIM-LL et l'activité de l'enzyme malique, une des enzymes fournissant le NADPH nécessaire à la lipogenèse, est estimé à 0.81 (Mourot et Kouba, 1999). Par ailleurs, une association significative entre la teneur en LIM et le polymorphisme de deux gènes codant pour des protéines de transport des AG, FABP-A (exprimée dans les adipocytes) et FABP-H (exprimée préférentiellement dans le cœur et le muscle) a été postulée chez les porcs Meishan ou Duroc (Gerbens et al. 2001). L'objectif de cette étude est d'identifier les mécanismes cellulaires et métaboliques impliqués dans les différences de teneur en LIM-LL d'animaux F2 Duroc X large White, pour lesquels les performances de croissance et certains critères de qualité des carcasses et des viandes sont décrits dans l'article précédent.

### **Matériel et méthodes**

**Animaux.** Des porcs mâles castrés d'une génération F2 Duroc X Large White, élevés au Domaine INRA du Magneraud ont été abattus à l'INRA de Saint-Gilles à un poids moyen de 106 kg. Après détermination de la teneur en LIM-LL (Folch et al., 1957), 2 lots de porcs ont été constitués: teneur basse, 1.99 % en moyenne (lot **B**, n=6), ou teneur haute, 3.43 % en moyenne (lot **H**, n=6).

**Transport des substrats énergétiques.** Les contenus des transporteurs d'AG, FABP-A et FABP-H, sont mesurés par la technique de western-blot (Laemmli, 1970). L'immunodétection est réalisée par incubation avec des anticorps spécifiques gracieusement fournis par J.H. Veerkamp. Après détection par chimioluminescence et autoradiographie, les signaux sont quantifiés par analyse d'image. L'expression des ARNm codant pour GLUT4 est mesurée par protection à la RNase (RPA) (Gerfault et al., 2000).

**Potentiel oxydatif.** La mesure *in vitro* de l'oxydation de l'acide oléique marqué au <sup>14</sup>C est réalisée, le jour de l'abattage, sur des homogénats musculaires (Veerkamp et Van Moerkerk, 1986). Brièvement, le CO<sub>2</sub> dégagé est préalablement piégé par un mélange d'éthanolamine-éthylène glycol tandis que les produits intermédiaires radioactifs (acétyl-CoA et composés du cycle de Krebs) sont solubilisés dans de l'acide perchlorique puis mesurés au compteur β.

**Potentiel lipogénique.** Le potentiel de synthèse de novo des acides gras est caractérisé par la mesure de l'activité de trois enzymes contrôlant une étape-clé de la synthèse (acétyl-Co-A carboxylase, ACC) ou fournissant le NADPH indispensable à la lipogenèse (enzyme malique et glucose-6-phosphate déshydrogénase, G6PDH) (Mourot et Kouba, 1998).

**Cellularité.** Pour chaque échantillon, 5 coupes (10 μm d'épaisseur) distantes de 50 μm sont réalisées au cryostat, en respectant l'orientation des fibres musculaires, fixées dans du glutaraldéhyde 2.5% puis colorées au Rouge à Huile (Gondret et al., 1998). Le nombre d'adipocytes est déterminé sur toute la surface de coupe et exprimé en nombre par cm<sup>2</sup> de surface. La surface des adipocytes est mesurée par analyse d'image (Optimas 6.5). Les données correspondent aux moyennes des mesures effectuées sur les 5 coupes.

### **Résultats et discussion**

Les comparaisons des moyennes des 2 lots ne montrent pas de différence significative pour le transport des substrats énergétiques (FABP-A, FABP-H et GLUT4) et les voies métaboliques oxydative ou lipogénique (tableau 1). Cependant, la prise en compte de la variabilité individuelle du taux de LIM par régression linéaire met en évidence des corrélations hautement significatives entre teneur en LIM et respectivement, le contenu en protéine FABP-A ( $r = 0.84$ ,  $P < 0.05$ ), l'activité de l'enzyme malique ( $r = 0.55$ ,  $P < 0.001$ ), ou de l'ACC ( $r = 0.69$ ,  $P < 0.01$ ). Au niveau histologique, l'élévation de la teneur en LIM (+90% dans le lot H par rapport au lot B) résulterait principalement d'une augmentation du nombre d'adipocytes (+175% pour le lot H comparé au lot B).

B), le diamètre intervenant peu dans les différences observées (+12% pour les adipocytes du lot H par rapport au lot B). Ces données suggèrent que des modifications des mécanismes de prolifération/différenciation adipocytaire seraient à l'origine des différences de teneur en LIM entre groupes. L'absence de variations importantes du diamètre des adipocytes ainsi que des voies lipogéniques suggèrent que la capacité métabolique intrinsèque des adipocytes au cours de la croissance est comparable entre les deux groupes de porcs B et H. Les corrélations entre le taux de LIM-LL et les activités des enzymes de la lipogenèse rapportées ici, qui nécessitent d'être confirmées sur un échantillon plus large d'animaux, pourraient résulter du plus grand nombre d'adipocytes observé dans les muscles les plus riches en lipides. Enfin, une différence de maturité des adipocytes entre les porcs des groupes B et H pourrait être suggérée, la FABP-A étant considérée comme un marqueur tardif de la différenciation adipocytaire (MacDougald et al., 1995).

### Conclusion

La comparaison de deux groupes de porcs présentant des teneurs extrêmes en LIM du muscle LL suggère que ce sont principalement les mécanismes de prolifération/différenciation adipocytaire qui distinguent ces deux phénotypes. L'hypothèse d'une capacité de transport et de lipogenèse supérieure dans les muscles à forte teneur en LIM, mise en évidence par régression linéaire au sein de l'ensemble des animaux étudiés ici, nécessite d'être confirmée sur un échantillon plus large. Cette étude renforce l'intérêt pour la protéine FABP-A comme marqueur de la teneur en LIM (Gerbens et al., 2001), et confirme la relation entre l'activité de l'enzyme malique et le taux de LIM-LL observée par Mourot et al. (communication personnelle) sur un échantillon plus important de porcs issus de la même population.

### Remerciements

Les auteurs remercient M Fillaut, S. Morlière et C. Trefeu (UMRVP) pour leur contribution technique.

**Tableau 1.** Influence du taux de LIM sur les caractéristiques métaboliques et histologiques du muscle LL

	<b>B</b>	<b>H</b>	<b>Sign.<sup>a</sup></b>
<b>LIM %</b>	1.99	3.43	***
<b>Transport</b>			
FABP-H (protéine UA)	0.163	0.142	NS
FABP-A (protéine UA)	0.068	0.149	NS
GLUT4 (quantité d'ARN UA)	0.899	1.115	†
<b>Potentiel oxydatif</b>			
Oxydation totale de l'oléate (nmoles de <sup>14</sup> C libérées/min/g de tissu)	13.33	15.96	NS
<b>Potentiel lipogénique</b>			
ACC (nmole/min/g)	0.59	0.61	NS
G6PDH (nmole/min/g)	62.9	75.6	NS
Enzyme malique (nmole/min/g)	94.9	95.9	NS
<b>Cellularité</b>			
Nombre d'adipocytes par cm <sup>2</sup>	241	662	***
Diamètre des adipocytes (µm)	43	49	*

Test de Student, <sup>a</sup> \*\*\* :  $P < 0.001$ ; \* :  $P < 0.05$  ; †  $P < 0.10$  ; NS :  $P > 0.10$ .

### Références bibliographiques

- Folch J., Lee M., Sloane Stanley G.H., 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, 226, 497-509.
- Gerbens F., Verburg F.J., Van Moerkerk H.T.B., Engel B., Buist W., Veerkamp J.H., Te Pas M.F.W., 2001. Associations of heart and adipocyte FABP gene expression with intramuscular fat content in pigs. *J. Anim. Sci.*, 79, 347-354.
- Gerfault V., Louveau I., Mourot J., Le Dividich J., 2000. Lipogenic enzyme activities in subcutaneous adipose tissue and skeletal muscle from neonatal pigs consuming maternal or formula milk. *Reprod. Nutr. Dev.*, 40, 103-112.
- Gondret F, Mourot J, Bonneau M., 1998. Comparison of intramuscular adipose tissue cellularity in muscles differing in their lipid content and fibre type composition during rabbit growth. *Livest. Prod. Sci.*, 54, 1-10.
- Laemmli U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227, 680-685.
- Lebret B., Lefaucheur L., Mourot J., 1999. La qualité de la viande de porc. Influence des facteurs d'élevage non génétiques sur les caractéristiques du tissu musculaire. *Prod. Anim.*, 12, 11-28.
- MacDougald O.A., Lane M.D., 1995. Adipocyte differentiation. When precursors are also regulators *Curr Biol.*, 5, 618-621.
- Mourot J., Kouba M., 1998. Lipogenic enzyme activities in muscles of growing Large White and Meishan pigs. *Livest. Prod. Sci.*, 5, 127-133.
- Mourot J., Kouba M., 1999 Development of intra- and intermuscular adipose tissue in growing Large White and Meishan pigs. *Reprod Nutr Dev.*, 39, 125-132.
- Veerkamp J.H., Van Moerkerk H.T.B., 1986. Peroxisomal fatty acid oxidation in rat and human tissues: effect of nutritional state, clofibrate treatment and postnatal development in the rat. *Biochim. Biophys. Acta*, 875, 301-310.