EFECTO DE LA SELECCIÓN CONTRA GRASA DORSAL A GRASA INTRAMUSCULAR CONSTANTE EN LA EXPRESIÓN PROTEICA DE LAS ENZIMAS ACC Y SCD PORCINAS.

Cánovas, A.[1], Tor, M.[2], Pena, RN.[1], Doran, O.[3] y Estany, J.[2]
[1]IRTA. Genètica i Millora Animal. Rovira Roure,191, 25198. Lleida.
[2]Universitat de Lleida. Departament de Producció Animal. Rovira Roure,191, 25198. Lleida.
[3]Institute of Bio-Sensing Technology, University of West of England, BS16 1QY Bristol, UK.
angela.canovas@irta.cat

INTRODUCCIÓN

La industria del porcino lleva muchos años mejorando el contenido de magro de la canal mediante selección contra el espesor de grasa dorsal (GD). Dado que la correlación genética entre el espesor de grasa dorsal y el contenido de grasa intramuscular (GIM) es positiva (Solanes et al., 2009), la selección contra GD ha reducido GIM hasta valores que mayoritariamente se sitúan por debajo de los recomendados en la producción de curados de calidad. Un objetivo del sector es, por tanto, disponer de metodologías de selección que permitan manipular GD y GIM de forma independiente.

El objetivo del presente trabajo es investigar si la selección contra GD a GIM constante se relaciona con cambios en la expresión de los enzimas lipogénicas acetyl-CoA carboxylase (ACC), stearoyl-CoA desaturase (SCD) y Δ6-desaturase (Δ6d), los cuales intervienen, respectivamente, en la biosíntesis de los ácidos grasos saturados (SFA), monoinsaturados (MUFA) y poliinsaturados (PUFA).

MATERIAL Y MÉTODOS

*Diseño experimental***.** Se han utilizado 20 cerdos Duroc, diez de ellos elegidos al azar del grupo S, seleccionado contra GD a GIM constante y diez al azar del Grupo C, control no seleccionado. Se procuró que el peso vivo fuera lo más parecido entre grupos. Los cerdos de cada grupo se eligieron utilizando tan sólo la predicción del valor genético de su camada para GD, peso vivo y GIM en *m. gluteus medius* a los 180 días de edad, según se describe en Reixach et al. (2008). Estos autores comprobaron que los cerdos S tenían efectivamente menos GD que los C, pero no GIM. Inmediatamente después del sacrificio, a los 200 días de edad, se recogió una muestra de grasa subcutánea (SB) y una de *m. semimembranosus* (SM), que fueron congeladas en nitrógeno líquido y conservadas luego a -80ºC.

Análisis de ácidos grasos. La composición de ácidos grasos se determinó por duplicado mediante determinación cuantitativa de los ácidos grasos individuales por cromatografía de gases, según el protocolo descrito en Tor et al. (2005). El contenido de GIM en SM se calculó como la suma de los ácidos grasos, expresado como equivalentes en triglicéridos (AOAC 2000) sobre materia seca.

Aislamiento de las fracciones microsomales y citosol. La expresión de las enzimas SCD y Δ6d se determinó en la fracción microsomal, mientras que la del ACC en la citosólica. Microsomas y citosol fueron aislados por centrifugación diferencial. Los microsomas fueron obtenidos por centrifugación a 25.000 x g, durante 35 min. El sobrenadante (citosol) se recogió y la fracción microsomal precipitada fue resuspendida en buffer 10 mM Tris-HCl, 250 mM KCl (pH 7,4) e inhibidores de enzimas proteolíticas. El contenido total de proteína en los microsomas y citosol se determinó utilizando el método de Bradford usando albúmina sérica bovina como estándar.

Expresión proteica. La expresión de las tres enzimas se analizó mediante Western Blot, a partir de 6 µg de microsoma y citosol. Las proteínas fueron separadas por SDS-PAGE y transferidas en una membrana de nitrocelulosa (Protan, Schleicher y Schell), según se describe en Nicolau-Solano et al. (2006). Los blots fueron revelados con el reactivo quimioluminiscente ECL (GE Healthcare) y se cuantificó con el programa ImageQuant (Molecular Dynamis). Todos los análisis de expresión proteica se hicieron por duplicado.

Análisis estadísticos. El efecto de la selección practicada sobre la expresión de las enzimas ACC, SCD y Δ6d se contrastó, mediante un test t ($p<0.05$), las diferencias entre grupos para GD y GIM. Se realizó un análisis de regresión dentro de grupo y entre grupos para analizar la asociación de GIM y su composición en ácidos grasos con la expresión de las enzimas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se han observado diferencias entre grupos en la expresión de ninguna de las tres enzimas en SM pero si en la de ACC y SCD en SB (Figura 1). Reixach et al. (2008) han mostrado que es posible reducir GD mediante selección sin modificar GIM. Se desconocen los cambios fisiológicos que una selección de este tipo ejerce sobre los mecanismos de regulación de la distribución de la grasa corporal. En el presente trabajo se muestra que este tipo de selección tiende a reducir la expresión de ACC y SCD en SB pero no en SM (Figura 1A y 1B), sin que por ello se vea alterada la expresión de Δ6d, ni en SM ni en SB (Figura 1C). Estos resultados sugieren, por una parte, que las enzimas ACC y SCD ejercen un papel más relevante en la regulación de la deposición de la grasa que la Δ6d y, por otra, que el control de la biosíntesis de SFA y MUFA es más determinante que el de PUFA en la formación de la grasa a edades de sacrificio tardías.

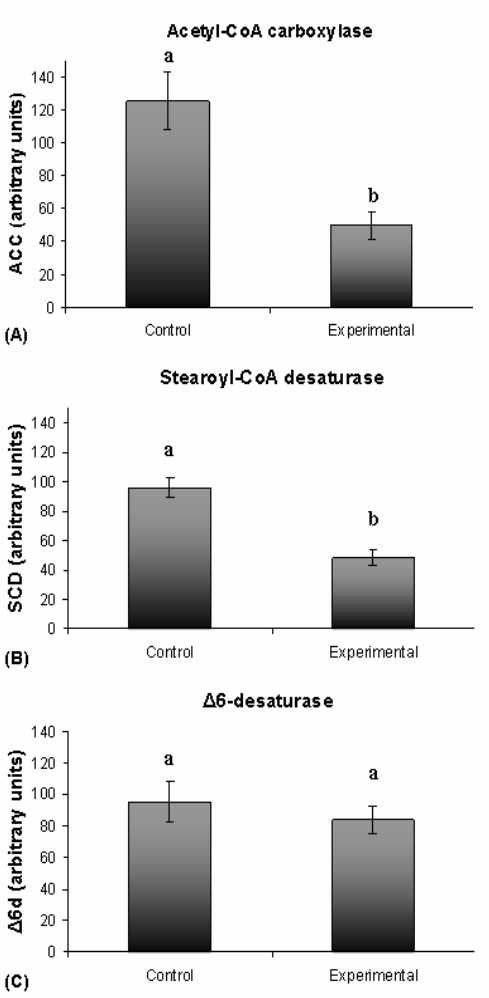


Figura 1. *Expresión proteica de SCD, ACC y Δ6d en grasa subcutánea.*

No se ha detectado ninguna relación significativa entre la expresión de ninguno de los tres enzimas con el contenido de SFA, MUFA o PUFA en SB. No obstante, los resultados indican que la selección practicada puede haber provocado un cambio de tendencia en la asociación entre la expresión proteica de SCD y el contenido en MUFA en SB, de tal forma que la relación pasa de negativa en los cerdos más grasos del grupo C ($r=-0.68$, $p<0.05$) a no significativa en los más magros del grupo S ($r=0.48$, $p=0.20$). No se detecta tampoco ninguna relación significativa entre la expresión de ACC y Δ6d en SM con el contenido y composición de GIM. Por el contrario, los resultados para SCD en SM confirman que la expresión de SCD se relaciona positivamente con el contenido de GIM en SM, así como con el de MUFA y el ratio C18:0/C18:1 (Figura 2). En efecto, Doran et al. (2006) observaron que en porcino la expresión y la actividad de ambas enzimas tienen una relación positiva con el contenido de GIM. El papel que desempeñan otras enzimas lipogénicas en la formación de GIM aun no esta del todo clara.

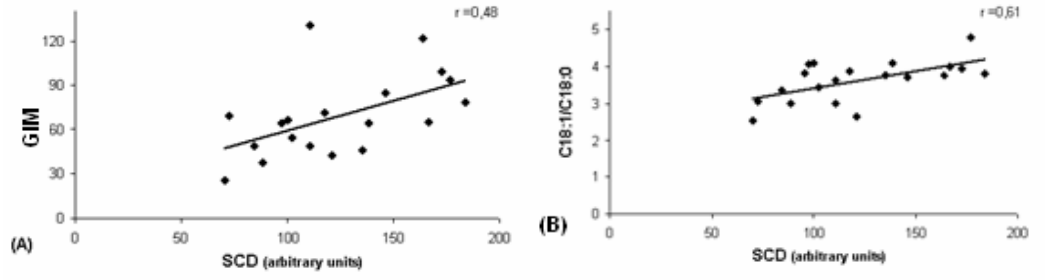


Figura 2. *Relación entre la expresión proteica de SCD y el contenido de grasa intramuscular (mg/g MS, P<0.05) y del ratio C18:1/ C18:0 (p<0.01) en m. semimembranosus.*

Se ha caracterizado el perfil de expresión de las tres enzimas en ocho tejidos: grasa subcutánea, grasa abdominal, m. *rectus capitis* y *m. semimembranosus*, diafragma, corazón, hígado y riñón. Se ha observado que las tres enzimas están presentes en los ocho tejidos analizados. El tejido adiposo, tanto en el subcutáneo como en el abdominal, fue dónde las enzimas ACC y SCD se expresaron más, lo que es consistente con el papel fundamental que ambas desempeñan en la biosíntesis de lípidos (Ntambi y Miyazaki, 2004). El enzima Δ6d se expresó de forma más equilibrada entre tejidos y se expresó incluso más en el riñón que en el tejido adiposo subcutáneo.

La medición del contenido de GIM y de su composición es metodológicamente larga y costosa, pero, por otra parte, necesaria para seleccionar con éxito GD y GIM de forma independiente. La identificación de genes y/o biomarcadores asociados con los procesos de formación de la grasa puede ser de utilidad para el diseño de criterios de selección que permitan seleccionar contra GD a GIM constante o, alternativamente, a favor de GIM sin aumentar GD. Los resultados del presente estudio sugieren que la selección contra SCD y ACC en SB podría ser una forma de abordar el problema y que la expresión de SCD en SM una forma de medir el contenido en GIM y MUFA en músculo.

Agradecimientos: Proyecto financiado por el MEC (AGL2006-01243). Agradecemos a Teresa Giró, Anna Ñaco y Laura Frutos su ayuda en los análisis de laboratorio y al equipo de Selección Batallé su cooperación en el experimento. A. Cánovas disfruta de una beca pre-doctoral INIA. La expresión de las enzimas lipogénicas se hizo en la Universidad de Bristol, Reino Unido.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• A.O.A.C. 2000. OMA • Doran et al. 2006. Br J Nutr 95, 609-17 • Nicolau-Solano et al. 2006. J Anim Sci 84, 2809-17 • Ntambi J.M. & Miyazaki M. 2004. Prog Lipid Res 43, 91-104 • Reixach et al. 2008. 54th ICOMST, p.9.13 • Solanes et al. 2008. Livestock Science • Tor et al. 2005. Animal Research 54, 413-24.

EFFECT OF SELECTION AGAINST BACK FAT WITH CONSTANT IMF IN ACC AND SCD PROTEIN EXPRESSION IN PIG.

The determination of the IMF and its composition is necessary to select independently for IMF and back fat thickness successfully. The identification of genes and/or biomarkers associated with the fat deposition is important for the development of selection criteria for IMF. The results of this study suggest that selection against ACC and SCD in SB could be a way of tackling the problem. Analysis of SCD expression in muscle could be used to predict IMF and MUFA content.

Key words*: intramuscular fat, genetic selection, pig.*