

Expresión del gen esteroil-coA desaturasa y desaturación de la grasa intramuscular en porcino

Roger Ros-Freixedes, Ramona N Pena, Marc Tor & Joan Estany¹.

¹Autor para correspondencia: jestany@prodan.udl.cat

*Departament de Producció Animal, Universitat de Lleida, 25198 Lleida.

Resumen

El enzima esteroil-coA desaturasa (SCD) interviene en el paso limitante de la ruta de desaturación de ácidos grasos de cadena larga. Esta $\Delta 9$ -desaturasa promueve la producción de ácidos grasos monoinsaturados a partir de substratos saturados. Específicamente, su actividad se asocia a una mayor producción de ácido oleico (C18:1, n-9) y ácido palmitoleico (C16:1, n-7). En el presente trabajo se ha estudiado la relación entre el nivel de expresión del gen *SCD* con los índices de desaturación (C16:1/C16:0 y C8:1/C18:0) de la grasa intramuscular en el músculo semimembranoso de 118 cerdos Duroc de 8 lotes distintos. Los resultados obtenidos hasta ahora sugieren que el nivel de expresión del gen *SCD* está moderadamente relacionado con los índices de desaturación de la grasa del mismo músculo en que se expresa (0.20-0.30), pero no con la cantidad de substrato o producto. Se observa que cuanto más se expresa el gen *SCD* más moninsaturada es la grasa intramuscular, pero no al revés: no necesariamente una grasa es más monoinsaturada porque el gen *SCD* se esté expresando más.

Palabras clave: *SCD*, grasa intramuscular, ácidos grasos índice desaturación

Introducción

Las carnes más grasas pueden percibirse como de peor calidad nutricional en tanto que la grasa, y en especial la saturada (SFA), se relacionan desfavorablemente con la prevención de enfermedades metabólicas y cardiovasculares. En este sentido, el contenido en grasa monoinsaturada (MUFA), y de ácido oleico (C18:1, n-9), puede representar un valor añadido al producto. El C18:1 es un MUFA de la familia n-9 que presenta un doble enlace entre los carbonos C9 y C10 de la cadena carbónica. En el organismo, este ácido graso se forma por desaturación del ácido esteárico (C18:0) a C18:1. Varios enzimas participan directa o indirectamente en este proceso. Entre ellos cabe destacar la enzima esteroil-coA desaturasa (SCD). Este es el enzima más relevante para la formación de C18:1, ya que es el responsable del paso limitante en la formación de MUFA. Concretamente, la enzima SCD es una enzima Δ -9 desaturasa que interviene en la síntesis de MUFA, y en particular en la producción de C18:1 y palmitoleico (C16:1) a partir de ácido esteárico (C18:0) y palmítico (C16:0), respectivamente. Cánovas et al. [1] mostraron que la selección contra el espesor de la grasa dorsal a grasa intramuscular constante provocaba una disminución de la expresión de SCD en la grasa subcutánea pero no en la intramuscular. Además, se observó que tanto MUFA como el índice de desaturación (C18:1/C18:0) aumentaban conforme lo hacía la expresión proteica de SCD en músculo. Estos resultados sugieren que el nivel de SCD puede ser un biomarcador del contenido de grasa intramuscular, de C18:1 o del grado de desaturación. La expresión proteica de SCD es más costosa de determinar que

la génica. Por eso, este trabajo se propone investigar la relación de la expresión génica de *SCD* con C16:1 y C18:1 y los índices de desaturación C16:1/C16:0 y C18:1/C18:0, así como su consistencia en diferentes lotes y grupos de cerdos sujetos a diferente manejo genético y/o ambiental.

Material y Métodos

El material utilizado procede de dos proyectos (BIOGIM y SELGIM) realizados con cerdos de la misma línea de cerdos Duroc. En cada proyecto se formaron dos grupos: seleccionado (S) y control (C). Los cerdos de los grupos S se eligieron según el promedio del valor genético de sus padres. Los cerdos S en el proyecto BIOGIM se seleccionaron para menor espesor de grasa dorsal a grasa intramuscular constante mientras que en el SELGIM lo fueron para aumentar C18:1 en el músculo glúteo medio. La distribución de animales por grupos y poblaciones se resume en la Tabla 1. Los grupos S y C estuvieron representados a partes iguales en todos los lotes. Todos los cerdos fueron sacrificados en el mismo matadero. Inmediatamente después del sacrificio, se obtuvo una muestra de músculo semimembranoso (SM) y, a las 24 h, otra de glúteo medio (GM). Las de SM se guardaron a -80°C hasta su análisis y las de GM a -40°C , una vez envasada al vacío.

Tabla 1. Distribución de muestras de músculo semimembranoso analizadas para nivel de expresión del gen *SCD* porcino en los grupos control (C) y seleccionado (S).

| Base de dato: | Lote | Grupo C | Grupo S | Total |
|---------------|------|-----------|-----------|------------|
| BIOGIM | 1 | 10 | 8 | 18 |
| | 2 | 8 | 4 | 12 |
| | 3 | 10 | 10 | 20 |
| | 4 | 10 | 10 | 20 |
| SELGIM | 1 | 6 | 6 | 12 |
| | 2 | 6 | 6 | 12 |
| | 3 | 12 | 12 | 24 |
| Total: | | 62 | 56 | 118 |

Se extrajo ARN total mediante pulverización del tejido en nitrógeno líquido, homogenización mecánica con un politrón y purificación mediante el preparado Trizol (Invitrogen). La síntesis de ADNc se llevó a cabo mediante el kit Thermo Script RT-PCR System (Invitrogen), que permite realizar la síntesis de ADNc a elevadas temperaturas garantizando una elevada especificidad y rendimiento. Los análisis de expresión de ARNm se han llevado a cabo por PCR cuantitativa en tiempo real con el termociclador 7500 Sequence Detection System (Applied Biosystems) mediante reactivos basados en el colorante SYBRgreen y primers de amplificación diseñados mediante el software Primer Express (Applied Biosystems). Se usó un método de cuantificación relativa a dos genes de expresión constitutiva (*RPL32* y *HPRT1*) y una muestra calibradora (método $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$) para normalizar los datos de expresión entre placas. Todas las muestras se analizaron por triplicado para cada gen.

Se determinó por duplicado el contenido de grasa intramuscular y de once ácidos grasos en todas las muestras de GM y en las SM de BIOGIM por cromatografía de gases por duplicado, según el procedimiento descrito en [2]. En particular, se determinaron C16:0, C16:1, C18:0 y C18:1.

Se calcularon las correlaciones totales y ajustadas por lote del nivel de expresión del gen *SCD* con C16:1 y C18:1 (expresado tanto en mg/g de muestra como en porcentaje de ácidos grasos totales), así como con los índices de desaturación C16:1/C16:0, C18:1/C18:0 y $(C16:1+C18:1)/(C16:0+C18:0)$. Por otra parte, se estimaron y contrastaron las diferencias entre lotes y grupos de selección para el nivel de expresión del gen *SCD*, C18:1 y C18:1/C18:0. Finalmente, también se contrastó la diferencia en la expresión del gen *SCD* entre los cerdos con el índice C18:1/C18:0 más alto y más bajo. Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el paquete estadístico JMP 8 (SAS Institute, 2010).

Resultados y discusión

Las correlaciones entre nivel de expresión del gen *SCD* con C16:1, C18:1 y los índices de desaturación se pueden consultar en la Tabla 2. La expresión del gen *SCD* en SM (ajustada por lote) únicamente se correlacionó significativamente ($P < 0.10$) con los índices de desaturación de SM, en un rango entre 0.23 y 0.29. La correlación entre la expresión proteica de *SCD* y C18:1/C18:0 resultó ser mayor (0.51) en un experimento previo [1]. Este resultado, de forma consistente con la función biológica de *SCD*, sugiere que la expresión del gen se asocia a la relación entre los sustratos (C16:0, C18:0) y los productos (C16:1 y C18:1) de la reacción que cataliza y no a cada sustrato o producto. También, sugiere que la expresión del gen *SCD* es independiente entre músculos, de tal forma que, por ejemplo, el nivel de expresión de *SCD* en SM no afecta a los índices de desaturación en GM. En estos momentos se están acabando de analizar las muestras de SM en SELGIM para composición de grasa y expresión proteica y, para completar el estudio, expresión del gen y composición de grasa en muestras de hígado.

Si no se ajusta por lote, las correlaciones son en términos absolutos algo mayores, lo que indica que el efecto lote y, en general, cualquier factor sistemático que afecte los índices de desaturación afectaría también el nivel de expresión del gen *SCD*. En la Figura 1A se representan las diferencias en el nivel de expresión del gen *SCD* entre los tres lotes de SELGIM. Se observa que en el lote 3 la expresión del gen es menor que en el lote 2, lo que se corresponde con una tendencia a tener menor C18:1/C18:0 pero no de C18:1. Es de destacar que los cerdos de este lote recibieron un pienso de acabado claramente distinto, de mayor nivel de fibra y almidón y menor de otros carbohidratos. En la Figura 1B sucede lo contrario: cuando se agrupan los cerdos por alto y bajo índice C18:1/C18:0 sube el contenido de C18:1 sin que se afecte en este caso el nivel de expresión de *SCD*. Los resultados de la Figura 1C indican que los grupos S y C no difieren ni en C18:1 ni C18:1/C18:0 y, en consecuencia, tampoco en el nivel de expresión del gen. No cambian los resultados si C18:1 se expresa en mg/g en vez de en porcentaje de ácidos grasos totales.

Tabla 2. Correlaciones totales (r) y ajustadas por lote (r_L) entre nivel de expresión del gen *SCD* en músculo semimembranoso (SM) y contenido de oleico e índice de desaturación en glúteo medio (GM) y SM.

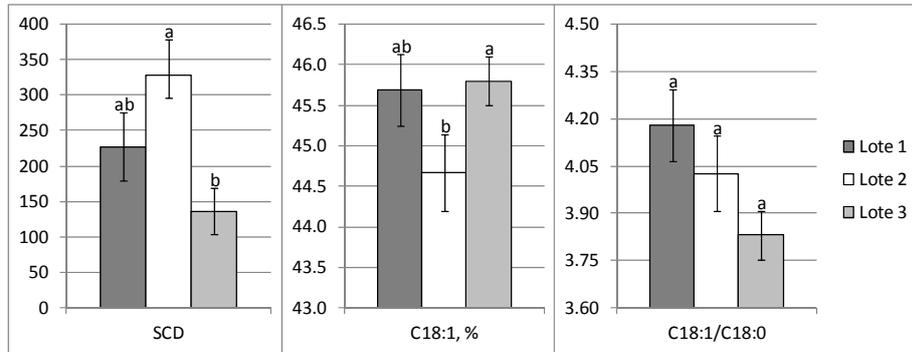
| Proyecto | Variable ¹ | Músculo | r | r_L |
|----------|-----------------------|---------|---------------------|--------------------|
| BIOGIM | C16:1, mg/g | GM | 0.06 | 0.02 |
| | C16:1, % | GM | 0.02 | -0.05 |
| | C16:1/C16:0 | GM | 0.35 ^{***} | -0.11 |
| | C16:1, mg/g | SM | -0.02 | -0.04 |
| | C16:1, % | SM | 0.20 [*] | 0.10 |
| | C16:1/C16:0 | SM | 0.34 ^{***} | 0.23 [*] |
| SELGIM | C16:1, mg/g | GM | -0.23 | -0.07 |
| | C16:1, % | GM | 0.07 | 0.21 |
| | C16:1/C16:0 | GM | 0.11 | 0.20 |
| BIOGIM | C18:1, mg/g | GM | 0.06 | 0.03 |
| | C18:1, % | GM | 0.03 | 0.00 |
| | C18:1/C18:0 | GM | 0.03 | -0.05 |
| | C18:1, mg/g | SM | -0.05 | -0.04 |
| | C18:1, % | SM | 0.13 | 0.09 |
| | C18:1/C18:0 | SM | 0.29 ^{**} | 0.22 [*] |
| SELGIM | C18:1, mg/g | GM | -0.28 [*] | -0.13 |
| | C18:1, % | GM | -0.31 ^{**} | -0.12 |
| | C18:1/C18:0 | GM | 0.20 | 0.19 |
| BIOGIM | MUFA, mg/g | GM | 0.06 | 0.04 |
| | MUFA, % | GM | 0.03 | -0.01 |
| | MUFA/SFA | GM | 0.00 | -0.09 |
| | MUFA, mg/g | SM | -0.05 | -0.04 |
| | MUFA, % | SM | 0.15 | 0.11 |
| | MUFA/SFA | SM | 0.31 ^{***} | 0.27 ^{**} |
| SELGIM | MUFA, mg/g | GM | -0.28 [*] | -0.13 |
| | MUFA, % | GM | -0.27 [*] | -0.06 |
| | MUFA/SFA | GM | 0.02 | 0.04 |

*** $P < 0.01$; ** $P < 0.05$; * $P < 0.10$

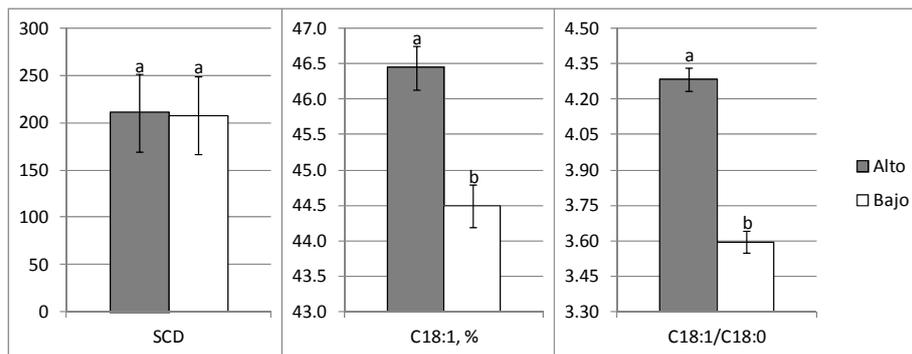
¹MUFA: C16:1+C18:1; SFA: C16:0+C18:0

Figura 1: Comparación de los niveles de expresión del gen *SCD* porcino en músculo semimembranoso y del contenido de oleico (C18:1) e índice de desaturación (C18:1/C18:0) en músculo glúteo medio entre (A) los tres lotes, entre (B) los cerdos con el valor fenotípico más alto y más bajo del índice C18:1/C18:0 (n= 20 por grupo) y entre (C) el grupo seleccionado (S) y control (C) de SELGIM.

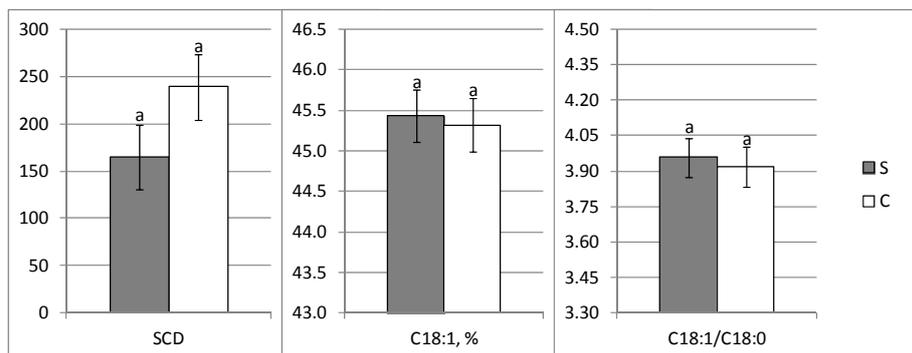
(A)



(B)



(C)



En su conjunto, los resultados obtenidos hasta ahora sugieren que el nivel de expresión del gen está moderadamente relacionado (menos que la proteína) con los índices de desaturación de la grasa del mismo músculo en el que se expresa, pero no con la cantidad de sustrato o producto. En otras palabras, se aprecia que cuanto más se expresa el gen *SCD* más monoinsaturada es la grasa intramuscular, pero no al revés, pues no necesariamente una grasa es más monoinsaturada porque el gen *SCD* se esté expresando más.

Agradecimientos

Trabajo financiado por los proyectos AGL2006-01243 y AGL2009-09779. R. Ros-Freixedes es beneficiario de una beca FPI (BES-2010-034607).

Referencias

- [1] Cánovas A, Estany, J., Tor, M., Pena, R. N., & Doran, O. (2009). Acetyl-CoA carboxylase and stearoyl-CoA desaturase protein expression in subcutaneous adipose tissue is reduced in pigs selected for decreased backfat thickness at constant intramuscular fat content. *Journal of Animal Science*, 87, 3905-3914.

- [2] Bosch, L., Tor, M., Reixach, J., & Estany, J. (2009). Estimating intramuscular fat content and fatty acid composition in live and post-mortem samples in pigs. *Meat Science*, 82, 432-437.