

EFECTO COMBINADO DEL CONTENIDO DE CAROTENOIDES EN LA DIETA Y EL HAPLOTIPO DEL GEN *SCD* SOBRE LA COMPOSICIÓN DE LA GRASA DEL CERDO

Pena* R.N.¹, Tor M.¹, Henríquez-Rodríguez E.¹, Seradj A.R.¹, Christou P.^{2,3}, Fraile L.J.¹, Estany J.¹

¹Departament de Ciència Animal y ²Departament de Producció Vegetal i Ciència Forestal, Universitat de Lleida-Agrotecnio Center; ³ICREA.

*romi.pena@ca.udl.cat

ANTECEDENTES

En los cerdos de engorde, la restricción de vitamina A promueve la deposición de grasa monoinsaturada a costa de las saturadas, tanto en músculo como en grasa dorsal, con un efecto menos claro sobre el contenido total de grasa, que suele depender del tejido (AYUSO ET AL. 2015; D'SOUZA ET AL. 2012). Este hecho contrasta con el efecto observado en bovino, donde la restricción de esta vitamina se asocia a mejores índices de marmoleo sin un efecto tan claro sobre la composición de la grasa (GOROCICA-BUENFIL ET AL. 2007). En experimentos anteriores hemos identificado un haplotipo (H1) en el promotor del gen estearoil-CoA desaturasa (*SCD*) asociado con un aumento la grasa monoinsaturada intramuscular y subcutánea y sin efecto sobre el contenido total de grasa (ESTANY ET AL. 2014). Una de las mutaciones de este haplotipo afecta a un sitio de unión potencial para factores de transcripción que responden al ácido retinoico. El ácido retinoico es la molécula bioactiva de la vitamina A que se produce, a su vez, a partir de precursores carotenoides. En este trabajo se presentan los primeros resultados de un experimento diseñado para investigar la interacción entre estos factores dietéticos y genéticos en cerdos en crecimiento.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales y diseño experimental: Se utilizaron 32 cerdos Duroc castrados, que se criaron hasta los 100 kg de peso vivo en la granja experimental del *Centre d'Estudis Porcins de Catalunya* en Torrelameu, Lleida (protocolo CEEA 05-04/15 aprobado por el Comité Ético de Experimentación Animal de la UdL y llevados a cabo en el marco del proyecto AGL2015-65846-R). Los cerdos se distribuyeron en ocho corrales, de tal forma que en cada corral se alojaron dos cerdos homocigotos H1H1 y dos H2H2 para el gen *SCD*. Durante el último mes, entre los 160 y los 190 días de edad, todos los cerdos fueron alimentados *ad libitum* con un mismo pienso base (12% PB; 16 MJ/kg), que se formuló con un 21% de maíz y sin suplementación de vitamina A sintética. En la mitad de los corrales el pienso base se fabricó con una variedad de maíz enriquecida en carotenoides (Carolight®) y en la otra mitad con una variedad sin carotenoides (cepa casi-isogénica salvaje) (ZHU ET AL. 2008; Figura 1). Los animales se pesaron semanalmente y se midió el espesor de la grasa dorsal sobre la última costilla con ultrasonidos (Sono-grader, Renco Inc.).

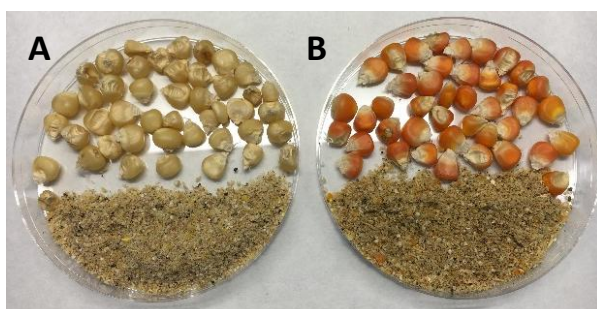


Figura 1. Maíz utilizado en la fabricación de los concentrados bajo (A) o rico (B) en carotenoides.

Análisis del contenido y composición de grasa: Después del sacrificio a 120 kg de peso vivo se tomaron muestras de hígado, grasa subcutánea y del músculo *gluteus medius*. La composición de ácidos grasos y el contenido de grasa de cada muestra se determinaron por duplicado según se describe en BOSCH ET AL. (2009). El contenido de grasa intramuscular se expresó como porcentaje de materia seca y la composición de ácidos grasos saturados (SFA), monoinsaturados (MUFA) y poliinsaturados (PUFA) como su porcentaje en relación a los ácidos grasos totales.

Análisis de la expresión génica: Se aisló ARN total (TRI Reagent, Sigma) de todas las muestras y se trató con 2U de DNA-free Turbo DNase (Ambion). Se retrotranscribió 2 µg de ARN con 200U de Superscript IV (Invitrogen), 2.5 µM random hexamers y 5 mM DTT siguiendo las instrucciones del fabricante. Los cDNAs fueron diluidos 1:30 en DEPC-H₂O y congelados a -40°C. Para el estudio de expresión se utilizaron los cebadores, condiciones y método de análisis descritos en ESTANY ET AL. (2014).

Análisis estadísticos: El efecto de la dieta y el haplotipo *SCD* se calculó utilizando un modelo lineal que incluía la dieta (rica o baja en carotenoide), el haplotipo (H1H1 y H2H2) y la interacción entre ambos. Además, se incluyó como covariable la edad (para caracteres de peso y grasa dorsal e intramuscular), el contenido de grasa tisular (para la composición de ácidos grasos en hígado y músculo) y el espesor de grasa dorsal a 190d (para la composición en la grasa subcutánea). Para los datos de expresión génica se utilizó el mismo modelo sin ninguna covariable adicional. Todos los análisis se realizaron con el paquete estadístico JMP Pro 12 (SAS Institute Inc.).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como en estudios anteriores, el haplotipo *SCD* no afectó al contenido de grasa de los tejidos (Tabla 1). Por el contrario, la restricción de carotenoides en la dieta aumentó el contenido de grasa en el hígado ($P < 0,05$) y en *gluteus medius* ($P < 0,01$), pero no afectó el espesor de grasa dorsal (Tabla 1) ni el peso vivo a 190 d. En el músculo, el haplotipo *SCD* influyó más la composición de la grasa que la dieta. En particular, el contenido de MUFA, que se considera un tipo de grasa más saludable, fue mayor en los cerdos H1H1 ($P < 0,01$) a expensas del contenido de SFA ($P < 0,05$). Este efecto también se detectó en la grasa dorsal y el hígado. Además, la composición de la grasa se vio modificada por el contenido de carotenoides en la dieta, sobre todo en la grasa dorsal y el hígado. La dieta rica en carotenoides promovió el depósito de MUFA a

expensas de PUFA en la grasa dorsal ($P < 0,05$), mientras que el efecto opuesto se detectó en el hígado ($P < 0,001$). No se evidenciaron interacciones significativas entre dieta y haplotipo.

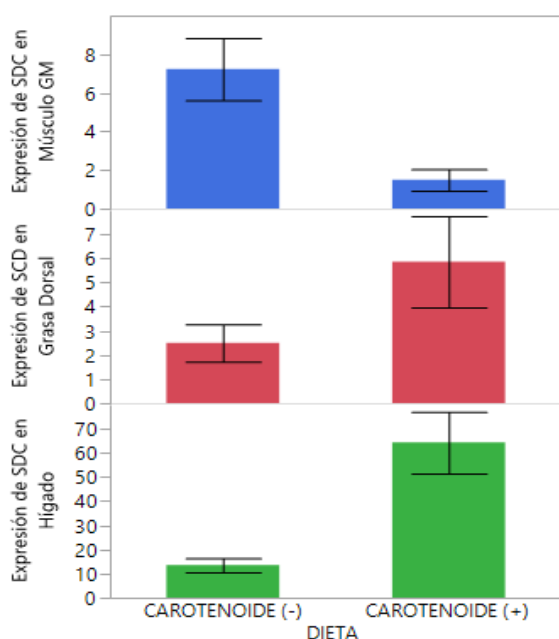


Figura 2. Niveles de expresión relativa del gen *SCD* en varios tejidos de cerdos alimentados con una dieta baja (-) o rica (+) en carotenoides.

Se investigó la participación del enzima *SCD* en la acumulación de MUFA a través de su nivel de expresión (Figura 2). La expresión del gen *SCD* en el músculo *gluteus medius* fue menor en los cerdos alimentados con la dieta rica en carotenoides, mientras que tanto en la grasa como en el hígado fue mayor ($P < 0.01$). La expresión de *SCD* en hígado y grasa subcutánea muestran una alta correlación positiva ($r = 0.69$; $P < 0.01$) mientras que no se observa ninguna correlación entre estos datos y los niveles de ARNm para *SCD* en músculo. Los cambios de expresión debidos a la aportación de carotenoides en la dieta son más evidentes en los cerdos de haplotipo H1H1 que en los H2H2, lo que refuerza la hipótesis sobre la localización de una de las mutaciones del haplotipo *SCD* en un sitio de unión para receptores del ácido retinoico. Dentro de este estudio también hemos investigado la expresión de factores de transcripción activados por retinol. Los genes *RARA*, *RARB* y *RARG*, de la familia de los receptores de retinol, están más activos en la grasa y el hígado de los cerdos alimentados con la dieta alta en carotenoides, al contrario que el gen *PPARD*, un potente iniciador de la adipogénesis.

Tabla 1: Medias cuadráticas \pm error estandard del contenido y composición de la grasa en músculo, grasa dorsal e hígado de cerdos con distintos haplotipos para el gen *SCD* (H1/H2) y alimentados con dietas bajas (-) o ricas (+) en carotenoides.

	Haplotipo <i>SCD</i>		Dieta (Maiz)	
	H1H1	H2H2	CAROTENOIDE (-)	CAROTENOIDE (+)
ms. <i>gluteus medius</i>				
Grasa total, %MS	20,9 \pm 1,6	21,6 \pm 1,8	25,5 \pm 1,7 ^a	17,1 \pm 1,6 ^b
SFA, %AG	33,9 \pm 0,4 ^a	35,2 \pm 0,5 ^b	34,5 \pm 0,5	34,6 \pm 0,5
MUFA, %AG	53,7 \pm 0,4 ^a	51,6 \pm 0,5 ^b	52,2 \pm 0,5	53,2 \pm 0,5
PUFA, %AG	12,4 \pm 0,5	13,1 \pm 0,2	13,2 \pm 0,6	12,3 \pm 0,5
Grasa subcutánea				
Grasa dorsal, mm	13,0 \pm 0,4	12,3 \pm 0,4	12,5 \pm 0,4	12,9 \pm 0,4
SFA, %AG	35,0 \pm 0,6 ^a	37,1 \pm 0,7 ^b	36,0 \pm 0,7	36,2 \pm 0,6
MUFA, %AG	48,0 \pm 0,4 ^a	46,7 \pm 0,4 ^b	46,7 \pm 0,4 ^a	48,0 \pm 0,4 ^b
PUFA, %AG	17,0 \pm 0,5	16,2 \pm 0,3	17,4 \pm 0,5 ^a	15,8 \pm 0,5 ^b
Hígado				
Grasa total, %MS	4,6 \pm 0,2	4,3 \pm 0,3	5,0 \pm 0,3 ^a	4,0 \pm 0,3 ^b
SFA, %AG	34,5 \pm 0,2 ^A	35,0 \pm 0,2 ^B	34,6 \pm 0,2	34,9 \pm 0,2
MUFA, %AG	21,3 \pm 0,5 ^a	19,5 \pm 0,6 ^b	22,4 \pm 0,6 ^a	18,4 \pm 0,6 ^b
PUFA, %AG	44,1 \pm 0,5 ^A	45,5 \pm 0,6 ^B	43,0 \pm 0,6 ^a	46,8 \pm 0,6 ^b

MS: materia seca; SFA: ácidos grasos saturados; MUFA: ácidos grasos monoinsaturados; PUFA: ácidos grasos poliinsaturados; AG: ácido graso. Dentro de línea y factor, los diferentes índices indican diferencias significativas (minúsculas: $P < 0,05$; mayúsculas: $P < 0,1$).

En conclusión, en cerdos, la restricción de carotenoides en la dieta al final del engorde promueve una mayor acumulación de grasa intramuscular sin modificar el espesor de la grasa dorsal. Además, en los cerdos con haplotipo H1H1 para el gen *SCD* la grasa es más rica en ácidos grasos monoinsaturados. Es, por tanto, posible combinar ambos factores para mejorar la grasa intramuscular, tanto en cantidad como en composición, sin acumular grasa dorsal no deseada. En un futuro sería interesante determinar si este efecto se potencia al iniciar la restricción de vitamina A (o sus precursores) a edades más tempranas.

REFERENCIAS

Ayuso M. et al. J Anim Sci, 2015. 93(6): 2730-44 • Bosch L. et al. Meat Science, 2009. 82(4): 432-7 • Estany J. et al. PLoS ONE, 2014. 9(1): e86177 • Gorocica-Buenfil M.A. et al. J Anim Sci, 2007. 85(12): 3355-66. • D'Souza D.N. et al. Animal Production Science, 2012. 52: 276-82 • Zhu C. et al. PNAS, 2008. 105(47): 18232-7.