

Acides gras des triglycérides du tissu adipeux abdominal de deux lignées de poulets rendus maigres ou gras par sélection

P. LEGRAND, P. LEMARCHAL

avec la collaboration technique de Michèle RIMASSON

*Ecole Nationale Supérieure Agronomique,
Laboratoire de Biochimie,
65, rue de Saint-Brieuc, 35000 Rennes, France.*

Summary. *Triglyceride fatty acids of abdominal adipose tissue in two lines of chickens selected for low or high adiposity.*

Newly-hatched chickens from two lines selected for high or low abdominal fat/live weight ratio, were fed on a stock low-lipid diet (2.9 wt % lipids) for nine weeks. Linoleic acid made up 54.3 % of dietary fatty acids. Their abdominal adipose tissue and liver triglycerides were then isolated for fatty acid analysis.

The linoleic acid content of abdominal fat triglycerides was higher in lean than in fat chickens (19.2 vs 16.4 % of triglyceride fatty acids, respectively). This difference was highly significant. Conversely, the level of monounsaturated fatty acids in the abdominal fat triglycerides was significantly lower (especially palmitoleic acid) in lean than in fat chickens.

The proportion of linoleic acid in liver triglycerides was also higher in lean than in fat chickens (12.2 vs 5.5 % of triglyceride fatty acids).

The higher dilution of dietary linoleic acid within the depot fat of the fat line chickens shows that the flux of endogenous fatty acids from the liver was larger in these animals than in the lean ones. Moreover, the elevated amounts of palmitoleic acid (virtually absent from the diet) in the depot and liver triglycerides of fat chickens, was most likely caused by a higher $\Delta 9$ -desaturating activity in the liver of the latter animals.

Introduction.

A partir d'une même population de poulets, deux lignées ont été sélectionnées au Centre de Recherches Avicoles de Tours (France), différant par la masse de graisse abdominale déposée au cours de la croissance (Leclercq, Boyer et Blum, 1980). Dans la perspective de mieux comprendre la régulation génétique du dépôt adipeux pendant la croissance, diverses recherches ont été entreprises pour connaître les mécanismes biochimiques responsables de la différence d'adiposité entre les deux lignées de poulets. Il a été montré, tout d'abord, que cette diffé-

rence n'est pas due à une différence de consommation alimentaire (Leclercq et Saadoun, 1982). De ce fait, il est difficile de comparer ce modèle avec les autres modèles d'obésité génétique que sont les rats de Zucker (Zucker et Zucker, 1961) et les souris obèses (Abraham et Beloff-Chain, 1971), car dans ces deux cas les animaux présentent une hyperphagie très importante. Des expériences effectuées *in vivo* ont montré une lipogenèse hépatique légèrement plus active chez les poulets de la lignée grasse (Saadoun et Leclercq, 1983). De plus, il a été établi que la concentration plasmatique des « very low density lipoproteins » (VLDL) est plus élevée chez les poulets gras que chez les maigres (Whitehead et Griffin, 1982 ; Hermier, Chapman et Leclercq, 1984). Ceci suggère que la sécrétion hépatique des VLDL dans le plasma est, quantitativement, plus importante chez les premiers. D'autre part, des recherches effectuées *in vitro* dans ce laboratoire ont montré que l'activité $\Delta 9$ -désaturante du foie est significativement plus élevée chez les animaux de la lignée grasse que chez ceux de la lignée maigre (Legrand *et al.*, 1987b. Or, la $\Delta 9$ -désaturase permet la synthèse hépatique d'acides gras monoinsaturés, et facilite ainsi l'incorporation des lipides hépatiques dans les VLDL, donc leur transport vers le tissu adipeux (Jeffcoat, 1979).

Afin de confirmer l'hypothèse d'un transfert plus important de lipides d'origine hépatique vers le tissu adipeux chez les poulets de la lignée grasse, nous avons étudié la composition en acides gras des triglycérides du foie et du tissu adipeux des poulets des deux lignées. Nous avons étudié en particulier la teneur en acides monoinsaturés (palmitoléique et oléique) qui proviennent pour une part de la $\Delta 9$ désaturation. Nous nous sommes intéressés enfin à la teneur en acide linoléique. En effet, l'acide linoléique ayant une origine exclusivement alimentaire, un apport plus important d'acides gras endogènes (saturés et monoinsaturés) provenant du foie, devrait s'accompagner, chez les poulets de la lignée grasse, d'une diminution de la proportion d'acide linoléique dans les acides gras du tissu adipeux. Ce sont les résultats de ces recherches que nous présentons dans ce mémoire.

Matériel et méthodes.

Des poulets mâles, 10 de chacune des lignées maigre et grasse, provenant de la Station de Recherches Avicoles de Tours-Nouzilly, sont nourris dès la naissance avec un régime standard (pourcentage pondéral : glucides 57,5 ; protéines 20 ; lipides 2,5 ; matières minérales 6 ; humidité 14) de la Société Guyomarc'h (BP 235, 56006 Vannes). La composition en acides gras du régime est présentée dans le tableau 1. Les animaux sont sacrifiés à l'âge de 9 semaines. Les lipides du tissu adipeux sont extraits par le mélange chloroforme-méthanol (Folch, Lees et Sloane-Stanley, 1957). Les triglycérides sont isolés sur colonne d'acide silicique selon une technique dérivée de celle de Hirsch et Ahrens (1958). Les acides gras des triglycérides sont libérés par saponification (KOH 2N), puis méthylés. Les esters méthyliques d'acides gras sont ensuite analysés en chromatographie gazeuse (chromatographe GIRA), sur colonne remplie de butane-diol-succinate à

215 °C. Dans l'expression des résultats, les valeurs moyennes sont présentées pour chaque lignée, avec l'écart-type correspondant.

La composition en acides gras des triglycérides du foie utile pour la discussion, a été obtenue à partir de 12 autres animaux (6 de chaque lignée), élevés dans les mêmes conditions de régime et sacrifiés au même âge (9 semaines). Les acides gras ont été analysés par la même méthode.

TABLEAU 1
Composition en acides gras des lipides du régime
(en poids % du total des acides gras).

Acides gras	%
Palmitique	15,8
Palmitoléique	—
Stéarique	1,9
Oléique	26,1
Linoléique	54,3
α -linoléique	1,7

A l'exception de l'acide palmitoléique présent à l'état de traces, les acides gras dont la proportion est inférieure à 1 % n'ont pas été représentés.

Résultats et discussion.

Les données pondérales concernant les animaux et leur tissu adipeux abdominal sont rassemblées dans le tableau 2. Ces résultats font apparaître que pour un poids vif égal chez les deux lignées de poulets, le poids de tissu adipeux abdominal est 3 à 4 fois plus grand chez les poulets de la lignée grasse par rapport à la lignée maigre. On observe aussi que la quantité de lipides totaux par g de tissu adipeux est significativement plus grande chez les poulets de la lignée grasse. Cette observation est vérifiée parallèlement par la quantité significativement plus grande d'acides gras des triglycérides par g de tissu adipeux chez les poulets gras.

TABLEAU 2
Données pondérales concernant l'animal entier et son tissu adipeux abdominal.

	Lignée maigre	Lignée grasse
Poids vif (kg)	2,75 \pm 0,35	2,67 \pm 0,37
Poids tissu adipeux (g)	<u>30,7</u> \pm <u>12,9</u>	<u>100,9</u> \pm <u>34,5</u>
Quantité de lipides totaux (mg) par g de tissu adipeux	<u>793</u> \pm <u>84</u>	<u>892</u> \pm <u>51</u>
Acides gras des triglycérides (mmol) par g de tissu adipeux	<u>3,04</u> \pm <u>0,36</u>	<u>3,39</u> \pm <u>0,27</u>

Chaque valeur est la moyenne sur 18 animaux \pm l'écart type.

Les valeurs soulignées correspondent à des différences significatives (test de Student) entre les lignées ($p < 0,05$).

Cette dernière donnée permet de rapprocher nos résultats de ceux de Saadoun et Leclercq (1983) montrant une hypertrophie de la cellule adipeuse chez les poulets gras, ce phénomène n'excluant pas totalement l'hypothèse d'une hyperplasie (Simon et Leclercq, 1983).

La composition en acides gras des triglycérides du tissu adipeux abdominal des poulets des deux lignées est présentée sur le tableau 3. On observe chez les deux lignées d'animaux une proportion comparable d'acide palmitique (environ 30 %) conforme aux résultats de Pikul (1985) ; par contre, il y a une proportion plus forte en acide stéarique chez les poulets maigres. Il est possible d'interpréter ceci en considérant que l'acide stéarique est un substrat de la $\Delta 9$ -désaturase, enzyme dont nous avons montré l'activité supérieure dans le foie des poulets de la lignée grasse (Legrand *et al.*, 1987b).

Il est intéressant de considérer les monoènes correspondants : la proportion d'acide palmitoléique est significativement plus grande chez les poulets gras. Par contre, l'acide oléique ne présente pas de différence significative entre les lignées bien que son pourcentage soit plus élevé chez les poulets gras. On peut tenter d'interpréter ces résultats en considérant que l'acide palmitoléique, absent dans le régime (tabl. 1), reflète la capacité de désaturation hépatique. Nous avons, en effet, montré antérieurement que la $\Delta 9$ -désaturase est significativement plus active dans le foie des poulets gras (Legrand *et al.*, 1987b). Ce phénomène n'est pas aussi net dans le cas de l'acide oléique (on n'observe pas de différence significative entre les 2 lignées), car cet acide gras peut provenir comme l'acide palmitoléique de la $\Delta 9$ -désaturation mais aussi du régime alimentaire (26,15 % des acides gras du régime). Cet apport alimentaire rend délicate l'interprétation de la différence entre lignées et explique peut-être l'absence de signification.

L'acide linoléique, apporté exclusivement par l'aliment, est présent en proportion significativement plus grande dans le tissu adipeux des poulets maigres. Ce résultat pourrait suggérer que, chez les poulets gras, il est davantage dilué par les acides gras synthétisés *de novo*, dans la mesure où il n'y a pas de différence

TABLEAU 3
Composition en acides gras des triglycérides du tissu adipeux abdominal
(en poids % du total des acides gras).

Acides gras	Lignée maigre	Lignée grasse
Myristique	1,1 ± 0,1	0,9 ± 0,2
Palmitique	29,7 ± 2,4	31,2 ± 3,1
Palmitoléique	5,9 ± 1,1	7,8 ± 1,3**
Stéarique	8,6 ± 2,8	6,3 ± 0,7*
Oléique	36,6 ± 2,4	38,2 ± 2,6
Linoléique	19,2 ± 2,2	16,4 ± 1,9**

Chaque valeur est la moyenne sur 10 animaux ± l'écart type.

Les acides gras dont la proportion est inférieure à 0,9 n'ont pas été représentés.

Les valeurs soulignées correspondent à des différences significatives entre les lignées (test de Student).

* : $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$.

importante de consommation alimentaire entre les deux lignées de poulets (Leclercq et Saadoun, 1982).

A l'aide des données présentées dans le tableau 2, on peut aussi raisonner non plus en composition, mais en quantité d'acides gras présents dans le tissu adipeux abdominal. Ceci conduit à appuyer notre hypothèse concernant l'acide palmitoléique : les poulets maigres ayant moins d'acides gras par g de tissu adipeux, la différence entre lignées s'accroît (les deux lignées maigre et grasse ont respectivement 0,18 et 0,26 millimoles d'acide palmitoléique par g de tissu adipeux). On met ainsi en évidence de façon encore plus marquée une synthèse endogène accrue chez les poulets gras.

Ce mode de présentation appliqué à l'acide linoléique conduit à trouver encore une quantité supérieure d'acide linoléique par g de tissu adipeux chez les poulets de la ligne maigre : $0,58 \pm 0,037$ et $0,54 \pm 0,051$ millimoles/g respectivement pour la lignée maigre et la lignée grasse. Ce résultat est cette fois à la limite de la signification.

Ces résultats acquis sur le tissu adipeux semblent considérablement renforcés par ceux obtenus sur le foie des poulets des 2 lignées (tabl. 4). Dans le cas du foie, on se bornera à discuter des proportions des acides gras par rapport au total des acides gras, car nous avons montré (Legrand *et al.*, 1987a) que la quantité d'acides gras des triglycérides du foie est la même chez les deux lignées d'animaux. On constate en effet que la différence significative observée avec l'acide palmitoléique dans le tissu adipeux se manifeste également dans la composition en acides gras des triglycérides du foie. Ceci est en accord avec les nombreuses études montrant que la synthèse *de novo* s'effectue principalement dans le foie chez cette espèce animale (O'Hea et Leveille, 1969 ; Brady, Romsos et Leveille, 1976).

Concernant l'acide linoléique, nous observons une proportion plus grande de cet acide gras dans les triglycérides hépatiques des poulets de la lignée maigre, la différence étant significative. Ceci semble cohérent avec ce qu'on obtient dans le tissu adipeux. On constate néanmoins que la proportion d'acide linoléique des

TABLEAU 4
Composition en acides gras des triglycérides du foie
(en poids % du total des acides gras).

Acides gras	Lignée maigre	Lignée grasse
Myristique	0,6 ± 0,2	0,5 ± 0,2
Palmitique	<u>25,8 ± 2,8</u>	<u>29,2 ± 2,1*</u>
Palmitoléique	<u>2,7 ± 0,8</u>	<u>5,6 ± 2,2**</u>
Stéarique	14,7 ± 4,4	10,3 ± 2,4
Oléique	44,1 ± 7,7	49,1 ± 3,9
Linoléique	<u>12,2 ± 5,0</u>	<u>5,5 ± 3,8*</u>

Chaque valeur est la moyenne sur 6 animaux ± l'écart type.

Les acides gras dont la proportion est inférieure à 0,5 % n'ont pas été représentés.

Les valeurs soulignées correspondent à des différences significatives entre lignée (test de Student).

* : $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$.

triglycérides est plus grande dans le tissu adipeux que dans le foie, et ceci chez les deux lignées d'animaux. Cette observation conduit à supposer qu'une part des acides gras d'origine exogène, ici représentée par l'acide linoléique, ne transite pas par le foie avant d'être stocké dans le tissu adipeux. Ceci explique qu'il est difficile d'interpréter la faible différence obtenue entre les quantités d'acide linoléique, exprimées par g de tissu adipeux.

Nos résultats nous permettent néanmoins d'exprimer l'hypothèse suivante : la quantité plus élevée d'acide palmitoléique des dépôts adipeux chez les poulets gras d'une part, la proportion supérieure d'acide linoléique dans les dépôts adipeux des poulets maigres d'autre part, constituent une preuve indirecte mais convaincante d'un flux plus élevé de lipides d'origine hépatique vers le tissu adipeux chez les animaux de la lignée grasse.

Reçu en octobre 1986.

Accepté en avril 1987.

Références

- ABRAHAM R. R., BELOFF-CHAIN A., 1971. Hormonal control of intermediary metabolism in obese hyperglycemic mice. *Diabetes*, **20**, 522-534.
- BRADY L., ROMSOS D. R., LEVEILLE G. A., 1976. *In vivo* estimation of fatty acid synthesis in the chicken utilizing $^3\text{H}_2\text{O}$. *Comp. Biochem. Physiol.*, **54 B**, 403-407.
- FOLCH J., LEES 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.
- HERMIER D., CHAPMAN M. J., LECLERCQ B., 1984. Plasma lipoprotein profile in fasted and refed chickens of two strains selected for high or low adiposity. *J. Nutr.*, **114**, 1112-1121.
- HIRSCH J., AHRENS E. H., 1958. The separation of complex lipid mixtures by the use of silicic acid chromatography. *J. biol. Chem.*, **233**, 311-320.
- JEFFCOAT R., 1979. The biosynthesis of unsaturated fatty acids and its control in mammalian liver. *Assays Biochem.*, **15**, 1-36.
- LECLERCQ B., BOYER J. P., BLUM J. C., 1980. Selecting broiler for low or high abdominal fat : initial observations. *Brit. Poultry Sci.*, **21**, 107-113.
- LECLERCQ B., SAADOUN A., 1982. Selecting broilers for low or high abdominal fat : comparison of energy metabolism of the lean and fat lines. *Poultry Sci.*, **61**, 1799-1803.
- LEGRAND P., MALLARD J., BERNARD-GRIFFITHS M. A., DOUAIRE M., RUSSEIL P., LEMARCHAL P., 1987a. Lipid biosynthesis and deposition in genetically lean and fat chickens. *Comp. Biochem. Physiol.*, **86B**, 791-796.
- LEGRAND P., MALLARD J., BERNARD-GRIFFITHS M. A., DOUAIRE M., LEMARCHAL P., 1987b. Hepatic lipogenesis in genetically lean and fat chickens. *In vitro* studies. *Comp. Biochem. Physiol.* (in press.).
- O'HEA E. K., LEVEILLE G. A., 1969. Lipid biosynthesis and transport in the domestic chick. *Comp. Biochem. Physiol.*, **30**, 149-159.
- PIKUL J., 1985. Total lipids, fat composition, and malonaldehyde concentration in chicken liver, heart, adipose tissue and plasma. *Poultry Sci.*, **64**, 469-475.
- SAADOUN A., LECLERCQ B., 1983. Comparison of *in vivo* fatty acid synthesis of the genetically lean and fat chickens. *Comp. Biochem. Physiol.*, **75 B**, 641-644.
- SIMON J., LECLERCQ B., 1983. Relation entre insulinémie et adiposité dans deux lignées de poulets rendus maigres ou gras par sélection. *Reprod. Nutr. Dévelop.*, **23**, 443-451.
- WHITEHEAD C. C., GRIFFIN H. D., 1982. Plasma lipoprotein concentration as an indicator of fatness in broilers : effect of age and diet. *Brit. Poultry Sci.*, **23**, 299-305.
- ZUCKER L. M., ZUCKER T. F., 1961. Fatty, a new mutation in the rat. *J. Hered.*, **52**, 275-278.