

# La sensibilité à l'insuline en tant que modulateur de la composition corporelle et ses effets sur la lipogenèse et l'expression génique chez les porcs à l'engraissement

Hector SALGADO (1, 2), Aline REMUS (1), Marie France PALIN (1), Hélène LAPIERRE (1),  
Marie-Pierre LETOURNEAU-MONTMINY (2), Candido POMAR (1)

(1) Sherbrooke Research and Development Centre, Agriculture and Agri-Food Canada, Sherbrooke, QC J1M 0C8, Canada

(2) Département des sciences animales, Université Laval, Québec, QC G1V 0A6, Canada

candido.pomar@agr.gc.ca

## La sensibilité à l'insuline en tant que modulateur de la composition corporelle et ses effets sur la lipogenèse et l'expression génique chez les porcs à l'engrais

Les variations de la composition corporelle des porcs seraient associées aux différences de sensibilité à l'insuline compte tenu de son effet anabolique sur la synthèse des lipides. Ce projet vise à caractériser cette association et à comparer la lipogenèse *de novo* ainsi que l'expression de gènes impliqués dans le métabolisme des lipides et la sensibilité à l'insuline dans le tissu adipeux des porcs gras et maigres. Trente porcs de 95 kg cathétérisés à la veine jugulaire ont reçu une dose orale de glucose (1,75 g /kg de poids vif) après 18 heures de jeûne. Des prélèvements sanguins répétés ont été faits avant et après le repas sur une durée de 6 heures pour calculer les indices de sensibilité à l'insuline (QUICKI et Matsuda) en conditions basales et pendant les 6 heures suivant l'ingestion de glucose. Les huit porcs les plus gras et les huit plus maigres (22,0 % et 17,2 % de lipides corporels, respectivement) ont été utilisés afin de déterminer la lipogenèse *de novo* et l'abondance relative des ARNm par analyses qPCR en temps réel. La lipogenèse a été déterminée en mesurant l'incorporation de [U-<sup>13</sup>C]glucose dans les lipides. L'indice QUICKI est négativement corrélé avec la teneur en lipides corporels ( $r = -0,67$  ;  $P < 0,01$ ) et la lipogenèse *de novo* ( $r = -0,58$  ;  $P < 0,01$ ). Les porcs gras ont eu une sensibilité à l'insuline plus faible et l'expression relative des enzymes lipogéniques (*ACACA* et *ACLY* ;  $P < 0,05$ ) est plus élevée que chez les porcs maigres ( $P < 0,05$ ). Nos résultats suggèrent également que la diminution en sensibilité à l'insuline des porcs gras serait associée à une plus haute expression du glucose-6-phosphate déshydrogénase ( $P < 0,05$ ) et à une diminution de l'expression du récepteur gamma activé par les proliférateurs de peroxyosomes ( $P < 0,05$ ). En conclusion, les porcs gras ont une sensibilité à l'insuline plus faible qui est associée à une augmentation de la lipogenèse.

## Insulin sensitivity as a modulator of body composition with implications for lipogenesis and gene expression in finishing pigs

Variations in body composition among pigs can be associated with differences in insulin sensitivity given the anabolic effect of insulin during lipid synthesis. The study objectives were to characterize this association and to compare *de novo* lipogenesis and the relative mRNA abundance of genes associated with lipid metabolism and insulin sensitivity in the adipose tissue of fat and lean pigs. Thirty 95 kg pigs, catheterized in the jugular vein, received an oral dose of glucose (1.75 g/kg of body weight after 18 hours of fasting). Blood samples were collected before and during 6 hours following the glucose ingestion. Insulin sensitivity indexes were calculated during basal conditions and after the glucose ingestion (QUICKI and Matsuda). The 8 fattest and 8 leanest pigs (22.0 % and 17.2 % body lipids, respectively) were studied to determine *de novo* lipogenesis and the relative mRNA abundance of studied genes using real-time qPCR analyses. The rate of lipogenesis was estimated by measuring the incorporation [U-<sup>13</sup>C]glucose into lipids. The QUICKI index correlated negatively with total body lipids ( $r = -0.67$ ;  $P < 0.001$ ) and *de novo* lipogenesis ( $r = -0.58$ ;  $P < 0.01$ ). Fat pigs had reduced insulin sensitivity and higher relative mRNA abundance of lipogenic enzymes (*ACACA*, *ACLY*;  $P < 0.05$ ) than lean pigs. Our results suggest that the reduced insulin sensitivity observed in fat pigs could be associated to a higher expression of glucose-6-phosphate dehydrogenase combined with the lower expression of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma. In conclusion, pigs with increased body lipids have lower insulin sensitivity which is associated with increased *de novo* lipogenesis.

## INTRODUCTION

Chez le porc, le dépôt de lipides est contrôlé par de nombreux facteurs, tels que la nutrition, le sexe, la génétique ou la température ambiante (Dunshea et D'Souza, 2003). Cependant, lorsque ces facteurs sont fixes, une variation importante de la teneur en gras entre les animaux est encore observée. La variation de la composition corporelle chez les porcs pourrait s'expliquer en partie par des facteurs reliés aux processus métaboliques associés à la régulation énergétique. Parmi ces facteurs, la sensibilité à l'insuline est un candidat clé vu que l'insuline est généralement considérée comme un régulateur positif de la synthèse des acides gras et de l'adiposité corporelle (Benoit *et al.*, 2004). En fait, la perfusion d'insuline chez le porc peut augmenter de 50 % la lipogenèse *de novo* dans le tissu adipeux (Dunshea *et al.*, 1992).

Chez le porc, le principal site de lipogenèse *de novo* est le tissu adipeux, le glucose en étant le précurseur privilégié (Bergen et Mersmann, 2005). En plus de son rôle dans la synthèse et le stockage des lipides, la cellule adipeuse produit et sécrète des hormones appelées adipokines, qui modulent la sensibilité à l'insuline et peuvent influencer le métabolisme et la dépense énergétique (Saltiel et Kahn, 2001). La dysrégulation des lipides dans un modèle de souris obèse (Park *et al.*, 2005) et une masse grasse corporelle élevée chez les humains résistants à l'insuline (Kahn *et al.*, 2001) sont quelques exemples du lien étroit entre la sensibilité à l'insuline et le métabolisme des lipides dans le tissu adipeux.

Des études récentes ont montré une plus grande sensibilité à l'insuline dans des lignées de porcs maigres que dans des lignées obèses (Rodriguez-Lopez *et al.*, 2021). Cependant, cette relation n'a pas été étudiée chez des porcs ayant un bagage génétique similaire. Ainsi, les objectifs de cette étude sont de caractériser l'association entre la composition corporelle, la synthèse des lipides et la sensibilité à l'insuline chez des porcs à l'engrais, et de déterminer si l'expression de gènes intervenant dans le métabolisme des lipides et la sensibilité à l'insuline diffèrent entre les porcs gras et maigres.

## 1. MATÉRIEL ET MÉTHODES

Le projet a été autorisé par le comité de protection des animaux du CRD d'Agriculture et Agroalimentaire Canada de Sherbrooke. Trente porcs castrés ( $36 \pm 3,8$  kg de poids vif, PV) d'un bagage génétique Yorkshire  $\times$  Duroc (Benjoporc et Akama, Sainte-Geneviève-de-Batiscan, QC, Canada) ont été expédiés au complexe porcin d'Agriculture et Agroalimentaire Canada (Sherbrooke, QC, Canada). La période expérimentale, qui comptait deux essais, a commencé lorsque les porcs ont atteint 95 kg. Le premier essai consistait en un test d'hyperglycémie provoqué par voie orale (HGPO) pour évaluer la variabilité entre les animaux du glucose plasmatique, de la réponse insulinaire et de la sensibilité à l'insuline, ainsi que la relation entre ces paramètres et la teneur en lipides corporels. Le deuxième essai effectué en utilisant une injection bolus de [U- $^{13}$ C]glucose visait à déterminer sur une partie de ces porcs le taux individuel de lipogenèse *de novo* et l'expression relative d'enzymes lipogéniques et de marqueurs génétiques associés à la sensibilité à l'insuline chez les porcs gras et maigres du groupe initial.

### 1.1. Essai 1

Les porcs ( $n = 30$ ) ont été munis d'un cathéter dans la veine jugulaire (Matte, 1999) et placés dans des loges individuelles. Le

jour du test d'HGPO (jour 7), une dose orale de glucose (1,75 g/kg de poids vif (PV)) mélangée à une solution de 300 ml de collagène hydrolysé et d'eau (23,3 mg/ml) a été offerte à chaque porc après 18 heures de jeûne. Des échantillons de 10 ml de sang ont été prélevés à -20, -10 et 5, 10, 15, 20, 25, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 300 et 360 min après l'ingestion du glucose pour l'analyse d'insuline et du peptide C (tubes héparinés). Un deuxième échantillon de 2 ml a été prélevé pour l'analyse du glucose (tubes avec fluorure de sodium/oxalate de potassium).

La concentration d'insuline a été mesurée avec une trousse commerciale de dosage radio-immunologique pour l'insuline porcine (no PI-12K; EMD Millipore Corporation, Saint Charles, MO, États-Unis). Les concentrations plasmatiques de glucose ont été mesurées en utilisant une trousse enzymatique (no 997-03001, Wakolife Sciences, Mountain View, CA, États-Unis) et les concentrations du peptide C ont été mesurées avec une trousse ELISA (C-Peptide porcine no 10-1256-01, Mercodia Inc, Winston-Salem, NC, États-Unis).

#### 1.1.1. Détermination des concentrations plasmatiques, de la sensibilité à l'insuline et des paramètres connexes

Les réponses de l'insuline, du peptide C et du glucose dans le plasma ont été évaluées d'après l'aire totale sous la courbe ( $ASC_{0-360}$ ) obtenue avec la méthode trapézoïdale entre 0 et 360 min après l'ingestion du glucose. La sensibilité à l'insuline a été estimée à l'état basal et après l'ingestion de glucose avec les indices du Quantitative Insulin Sensitivity Check (QUICKI; Katz *et al.*, 2000) et de Matsuda (MI; Matsuda et DeFronzo, 1999), respectivement. La résistance à l'insuline (HOMA-IR) et la fonctionnalité des cellules  $\beta$  (HOMA- $\%B$ ) ont été estimées avec le modèle d'évaluation de l'homéostasie (HOMA; Levy *et al.*, 1998) à partir des concentrations plasmatiques basales de l'insuline et du glucose. La sécrétion d'insuline pendant le test d'HGPO a été calculée avec l'indice de disposition orale ( $ODI_{cpep}$ ; Galderisi *et al.*, 2019) en utilisant les concentrations plasmatiques du peptide C et du glucose.

#### 1.1.2. Composition corporelle

Le gras corporel total et la teneur en maigre ont été mesurés par absorptiométrie aux rayons X (DXA; GE Lunar Prodigy Advance; GE Healthcare, Madison, WI, États-Unis) 5 jours avant l'HGPO. Les porcs ont été examinés en position ventrale avec le mode de balayage du corps total (GE Lunar enCORE, version 8.10.027; GE Healthcare). Pour l'examen, l'anesthésie a été induite avec du sevoflurane (7 %) et maintenue avec de l'isoflurane (5 %). Les valeurs DXA de la masse maigre et de la masse grasse du corps ont été converties en leur équivalent chimique protéique et lipidique, selon l'approche proposée par Pomar et Rivest (1996).

## 1.2. Essai 2

Une semaine après avoir terminé l'essai 1, les 8 animaux les plus gras et les 8 plus maigres du groupe initial ont été choisis pour participer au deuxième essai ( $108,9 \pm 2,8$  kg de PV). Comme pour l'essai 1, les porcs ont été munis de cathéters (une nouvelle insertion) et logés dans des cages individuelles pendant une semaine avant de procéder à la mesure de la lipogenèse. Ils ont reçu une ration commerciale (2,9 kg/j) une fois par jour, sauf pendant les 4 derniers jours de l'étude (y compris le jour de l'injection du bolus), où ils ont été nourris six fois par jour, soit toutes les 4 h à partir de 08h00. Ceci a servi à atteindre un état stable d'absorption et d'utilisation des éléments nutritifs, lequel est nécessaire pour mesurer la

lipogenèse *de novo*. Le jour de l'essai, un bolus intraveineux de [ $U\text{-}^{13}\text{C}$ ]glucose (12 mg/kg de PV; 1,6 mmol/g de solution saline) a été administré à chaque porc, par son cathéter, 2 h après le repas de 08h00. Des échantillons de sang ont été prélevés et immédiatement transférés dans des tubes héparinés à -5, 2, 4, 6, 9, 12, 15, 20, 30, 40, 60, 80, 100, 120, 150, 180, 210 et 240 min après l'injection du traceur, afin d'analyser l'enrichissement isotopique (EI) et la concentration du glucose dans le plasma. Quatre heures après l'injection du bolus, les porcs ont été euthanasiés à l'aide d'un pistolet à tige perforante, puis saignés, et du tissu adipeux a immédiatement été prélevé sur le côté droit de la ligne médiane, dans une zone située entre 4 et 12 cm de la dernière côte lombaire. Les échantillons ont été congelés dans de l'azote liquide et conservés à -80 °C jusqu'à l'analyse de l'enrichissement isotopique en  $^{13}\text{C}$  des lipides et l'analyse de l'expression génique.

### 1.2.1. Estimation de l'enrichissement isotopique du glucose plasmatique et des lipides du tissu adipeux

L'EI du glucose a été déterminé en fonction de la masse des ions 242 et 247 mesurée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GCMS:GC, système de GC en réseau 6890N couplé au réseau MS 5973; Agilent Technologies, Wilmington, DE, États-Unis) en mode impact électronique. Le GC-MS analyse des fragments de la molécule de glucose dérivatisée, donnant ainsi les résultats sous forme de pourcentage molaire en excès (MPE). L'EI en  $^{13}\text{C}$  et la teneur en C des lipides extraits des tissus adipeux ont été déterminés après combustion sur un analyseur élémentaire interfacé à un spectromètre de masse à ratio isotopique (IRMS; Delta Advantage, Thermo, Allemagne). Les résultats sont exprimés en pourcentage atomique en excès (APE).

### 1.2.2. Estimation de la lipogenèse

La lipogenèse *de novo* a été mesurée selon l'incorporation du  $^{13}\text{C}$  du glucose marqué dans les lipides et la procédure adaptée proposée par Salgado *et al.* (2021). En supposant que tout l'EI des lipides provient du glucose marqué, le  $R_{\text{glucose-lipides}}$  a été calculé comme suit :

$$R_{\text{glucose-lipides}}(t) = \frac{\Delta IE_{\text{lipides}} \times Cm_{\text{lipides extraits}}}{\sum_0^t IE_{\text{glucose plasmatique}} \times Cm_{\text{glucose}}}$$

où le  $R_{\text{glucose-lipides}}$  [( $\mu\text{g}$  de glucose)/(min  $\times$  g de lipides)] est mesuré du temps 0 au temps t,  $\Delta IE_{\text{lipides}}$  est la différence entre l'IE des lipides au temps t (abattage) et l'abondance naturelle, et  $\Delta IE_{\text{glucose plasmatique}}$  est l'aire cumulée sous la courbe de l'EI du glucose plasmatique, exprimée en MPE, déterminée par l'intégration de la courbe à double exponentielle ajustée à l'EI du glucose du temps 0 au temps t [ $IE_{\text{glucose}}(t) = \alpha e^{-k_1 t} + \beta e^{-k_2 t}$ ];  $Cm_{\text{lipides extraits}}$  représente la contribution relative de la masse du carbone à la masse totale de lipides dans chaque échantillon de tissu adipeux, obtenu avec l'analyseur élémentaire, tandis que pour le glucose, la  $Cm_{\text{glucose}}$  égale 0,40 selon le rapport du C à la masse totale ( $6 \times 12 / 180$ ) où 6 est le nombre de C dans 1 mole de glucose, 12 est la masse atomique du C (g) et 180 est la masse molaire du glucose (g).

### 1.2.3. Expression relative des gènes

L'expression génique de facteurs de transcription et d'enzymes intervenant dans le métabolisme des lipides et la sensibilité à l'insuline (Tableau 1) a été déterminée par amplification PCR en temps réel. L'amplification des gènes a été faite en triplicat à l'aide d'un système ABI 7500 Fast Real-Time PCR (PE Applied Biosystems) et la spécificité des fragments amplifiés a été confirmée par l'analyse de la courbe de fusion tel que décrit dans Farmer et Palin (2021). Pour chaque gène, des courbes

d'étalonnage ont été générées avec des dilutions en série de pools d'ADNc (Labrecq *et al.*, 2009) et analysées en double pour obtenir une quantification relative de l'ARNm à l'aide de la méthode de la courbe d'étalonnage (User Bulletin n° 2; Applied Biosystems, 1997).

**Tableau 1** – Gènes analysés intervenant dans le métabolisme des lipides et la sensibilité à l'insuline dans le tissu adipeux

Gènes	Amorces (5'-3')	GenBank
ACACA	(F)CCGTAGAAATCAAATTCGCAG (R)CCTTCAGCTTGCTCTCCAG	NM_001 114269
ACLY	(F)TCACAACACCATCATCTGCG (R)CTTACTGAACATCTTGCTGC	NM_001 257276
ADIPOQ	(F)ATGATGTCACCACTGGCAAATTC (R)GACCGTGACGTGGAAGGAGA	EF601160
ChREBP	(F)ATGTTTCGATGACTATGTCCGG (R)ACACCATCCATTGAAGGAC	XM_0139 95540
FASN	(F)CTCAACTCCGAGACGTCATG (R)ACCATTCCCATCAGCG	NM_001 099930
GAPDH	(F)CCCAACGTGTCGGTTGT (R)CTCGGACGCTGCTTAC	NM_001 206359
G6PD	(F)AGATGATGACCAAGAAGCCC (R)GCAGAAGACGTCCAGGATG	XM_0210 80744
LEP	(F)GGCCCTATCTGTCTACGTTGA (R)CTTGATGAGGGTTTTGGTGTCAT	NM_213 840
PPAR- $\gamma$	(F)CCTTTGGTGACTTATGGAGC (R)TCGATGGGCTTCACATTCAG	NM_214 379
SREBP-1c	(F)GCTTCCAGAGGGACCTGAG (R)CTCAGACTGCGGTCCAG	NM_214 157

ACACA, acétyl CoA carboxylase ; ACLY, ATP citrate lyase ; ADIPOQ, adiponectine ; ChREBP, facteur de transcription sensible au glucose ; FASN, acide gras synthase ; GAPDH, glyceraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase ; G6PD, glucose-6-phosphate déshydrogénase ; LEP, leptine ; PPAR- $\gamma$ , récepteur gamma activé par les proliférateurs de peroxyosomes ; SREBP-1c, protéine 1c de liaison à l'élément de régulation des stérols. F, « Forward » ; R, « Reverse »

### 1.3. Analyses statistiques

Toutes les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide des logiciels SAS (version 9.4; SAS Institute Inc., Cary, NC, États-Unis) et Minitab (version 19; Minitab Inc., State College, PA, États-Unis). Pour déterminer la relation entre la sensibilité à l'insuline et la composition corporelle, des corrélations de Spearman ont été effectuées entre les indices de sensibilité à l'insuline obtenus pendant l'HGPO et les lipides et les protéines corporelles totales. Des régressions linéaires ont été réalisées pour quantifier la variation expliquée par la sensibilité à l'insuline dans la composition corporelle.

L'expression relative de chaque gène étudié, la lipogenèse *de novo* et les indices de sensibilité à l'insuline des porcs gras et maigres ont été comparés avec la procédure MIXED selon un plan expérimental complètement aléatoire, avec le type de porc (gras et maigre) comme facteur fixe. Une analyse multivariée a permis d'évaluer la gamme d'interactions entre les variables quantitatives selon la procédure des variables en grappes de Minitab. Pour l'analyse multivariée, les données brutes des variables utilisées ont été standardisées à l'aide de la procédure Standard de SAS.

## 2. RESULTATS ET DISCUSSION

Quatre porcs n'ont pas terminé le test d'hyperglycémie et deux porcs ont perdu leur cathéter pendant l'expérience; les données de ces porcs n'ont donc pas été utilisées dans l'analyse. Les concentrations plasmatiques basales du glucose et de

l'insuline étaient similaires aux valeurs rapportées chez des verrats Duroc de 145,8 kg (Castellano *et al.*, 2010; Tableau 2). Cependant, les CV entre les porcs pour la valeur basale de l'insuline (CV = 48 %) et l'ASC<sub>0-360</sub> insuline (CV = 27,9 %) étaient considérablement plus élevés que ceux obtenus pour la valeur basale du glucose (CV = 5,3 %) et l'ASC<sub>0-360</sub> glucose (CV = 5,7 %). Ceci pourrait indiquer une diminution de la sensibilité à l'insuline chez ces porcs qui ont eu besoin de plus grandes quantités d'insuline pour réguler la glycémie.

**Tableau 2-** Statistiques descriptives de la composition corporelle, du glucose et de l'insuline plasmatique des porcs soumis à une hyperglycémie provoquée par voie orale

Variable	Moyenne	Écart-type	Min.	Max.
Poids vif (kg)	94,8	3,4	88,3	101,2
Lipides corporels (%)	19,8	1,5	16,2	22,3
Protéines corporelles (%)	16,3	0,3	15,8	17,1
Glucose basal (mmol/l)	4,2	0,2	3,9	4,7
Insuline basal (μU/ml)	9,8	4,7	3,6	19,4
ASC <sub>0-360</sub> <sup>1</sup> glucose (mmol×min/l)	1485	84	1338	1690
ASC <sub>0-360</sub> insuline (μU×min/ml)	6220	1733	3025	9269
QUICKI <sup>2</sup>	0,36	0,03	0,31	0,41
MI <sup>2</sup>	6,3	2,4	2,9	13,2
HOMA2-IR <sup>2</sup>	1,2	0,6	0,5	2,4
HOMA-%B <sup>2</sup>	88,8	40,6	33,7	184,9
oDI <sub>cpep</sub> <sup>2</sup>	539,4	157,1	254,1	853,6

<sup>1</sup>ASC<sub>0-360</sub> = aire sous la courbe des concentrations plasmatiques de glucose ou d'insuline obtenues du temps 0 à 360 pendant l'HGPO.

<sup>2</sup>Indices estimés en fonction des concentrations du glucose et de l'insuline (QUICKI: Quantitative Insulin Sensitivity Check, HOMA2-IR: La résistance à l'insuline, HOMA-%B: fonctionnalité des cellules β, oDI<sub>cpep</sub>: indice de disposition orale; MI: indice de Matsuda).

### 2.1. Relation entre les indices de sensibilité à l'insuline et la composition corporelle chez les porcs

Des corrélations modérées à fortes ont été observées entre les lipides corporels totaux, les protéines corporelles totales et les indices de sensibilité à l'insuline (Tableau 3). Il y avait une corrélation négative entre les lipides corporels totaux et la sensibilité à l'insuline estimée par QUICKI et MI (-0,67 et -0,59;  $P < 0,01$ , respectivement). De plus, une corrélation positive a été constatée entre l'indice HOMA2-IR et les lipides corporels totaux ( $r = 0,58$ ;  $P < 0,01$ ). Il y avait une corrélation positive entre la sécrétion d'insuline basale (HOMA-B) et les lipides corporels totaux ( $r = 0,45$ ;  $P < 0,05$ ). Une relation inverse a été observée avec les protéines corporelles totales. Lorsque la concentration de glucose est augmentée après l'ingestion de glucose, une faible fonctionnalité des cellules β, mesurée par oDI<sub>cpep</sub>, est associée à une augmentation des lipides corporels totaux ( $r = -0,60$ ;  $P < 0,01$ ), tandis que les porcs plus maigres étaient associés à une meilleure fonctionnalité des cellules β ( $r = 0,58$ ;  $P < 0,01$ ). Ces corrélations sont conformes aux résultats de Castellano *et al.* (2010) qui ont rapporté des corrélations positives entre les lipides corporels totaux et une faible sensibilité à l'insuline chez les porcs en finition. La relation entre la sensibilité à l'insuline et les lipides corporels a aussi été observée chez l'humain. En effet, il est admis que l'obésité et la

répartition de la graisse corporelle sont étroitement associées à la résistance à l'insuline, et cette association pourrait expliquer l'hétérogénéité observée pour la sensibilité à l'insuline chez les humains en bonne santé (Kahn *et al.*, 2001).

Le contenu élevé en lipides corporels a été corrélé avec une sécrétion accrue d'insuline à l'état basal (HOMA-%B), ce qui peut être expliqué par une augmentation compensatrice de la sécrétion d'insuline par les cellules β pancréatiques en réponse à une plus faible sensibilité à l'insuline (Bergman *et al.*, 1981). Toutefois, lors du test au glucose, la corrélation négative entre l'oDI<sub>cpep</sub> et les lipides corporels indique une perte de fonctionnalité des cellules β, laquelle réduit leur capacité à compenser la résistance à l'insuline. Les analyses de régression entre la composition corporelle et les indices de sensibilité à l'insuline indiquent qu'une proportion modérée de la variation des lipides et les protéines corporelles était expliquée par les indices de sensibilité à l'insuline, comme le montre le R<sup>2</sup> des régressions individuelles, qui variaient de 25 % à 45 % (données non présentées).

**Tableau 3-** Corrélations entre la composition corporelle et les indices de sensibilité à l'insuline et de sa sécrétion

	Lipides corporels totaux		Protéines corporelles totales	
	r	P	r	P
<b>Sensibilité à l'insuline</b>				
QUICKI <sup>1</sup>	-0,67	< 0,001	0,66	< 0,001
MI <sup>2</sup>	-0,59	< 0,01	0,60	< 0,01
HOMA2-IR <sup>1</sup>	0,58	< 0,01	-0,59	< 0,01
<b>Sécrétion d'insuline</b>				
HOMA-%B <sup>1</sup>	0,45	< 0,05	-0,48	< 0,05
oDI <sub>cpep</sub> <sup>2</sup>	-0,60	< 0,01	0,58	< 0,01

<sup>1</sup>Indices estimés en fonction des concentrations basales du glucose et de l'insuline (QUICKI: Quantitative Insulin Sensitivity Check, HOMA2-IR: La résistance à l'insuline, HOMA-%B: fonctionnalité des cellules β).

<sup>2</sup>Indices estimés après l'ingestion du glucose (oDI<sub>cpep</sub>: indice de disposition orale; MI: indice de Matsuda).

### 2.2. Sensibilité à l'insuline, expression des gènes et lipogenèse *de novo* dans le tissu adipeux

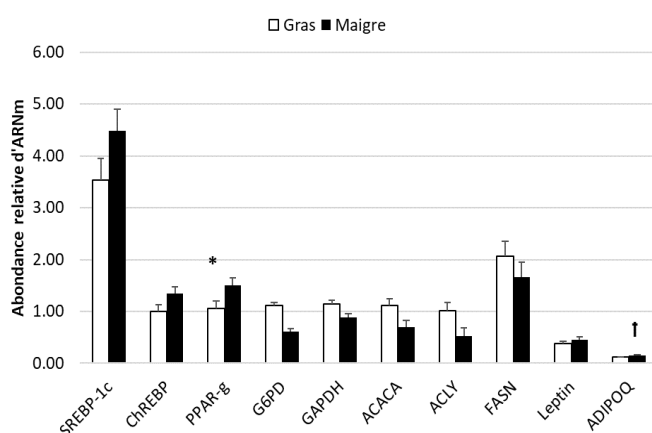
Chez les porcs maigres et gras, le teneur en lipides corporels totaux était en moyenne de 17,4 ± 0,9 % et 22,0 ± 1,0 %, respectivement. La sensibilité à l'insuline et la fonctionnalité des cellules β étaient plus élevées chez les porcs maigres par rapport aux porcs gras (QUICKI = 0,38 vs 0,34, et oDI<sub>cpep</sub> = 674,4 vs 421,3;  $P < 0,05$ ). De plus, la corrélation négative entre la sensibilité à l'insuline (QUICKI) et la sécrétion d'insuline (HOMA-%B) observée dans l'essai 1 ( $r = -0,81$   $P < 0,01$ ) indique que chez les porcs gras, la sécrétion d'insuline est généralement plus importante que chez les porcs maigres.

#### 2.2.1. L'expression des gènes associés à la sensibilité à l'insuline et à la lipogenèse *de novo*

Certains des gènes (*G6PD*, *GAPDH*, *ACACA* et *ACLY*) qui participent à la lipogenèse *de novo* présentaient une expression relative plus faible chez les porcs maigres que chez les porcs gras ( $P < 0,05$ ; Figure 1), tandis que l'expression relative du facteur de transcription *PPAR-γ* était plus élevée chez les porcs maigres (1,06 vs 1,51;  $P < 0,05$ ). De plus, il y avait une tendance à une expression relative plus élevée du facteur de transcription *ChREBP* et de l'adipokine adiponectine (*ADIPOQ*) chez les porcs maigres comparativement aux porcs gras.

Chez les porcs gras, la faible sensibilité à l'insuline était associée à une expression plus élevée du gène codant la *G6PD* et une

expression plus faible de *PPAR-γ* comparativement au groupe maigre. La surexpression de la *G6PD* a été corrélée à une dysrégulation lipidique et à une résistance à l'insuline dans des modèles de souris obèses (Park *et al.*, 2005). La *G6PD* pourrait favoriser la diminution de la sensibilité à l'insuline de deux façons. Premièrement, sa surexpression dans le tissu adipeux entraîne une augmentation de la concentration cellulaire du NADPH, ce qui stimule la lipogenèse dans les adipocytes (Park *et al.*, 2005). Cette situation entraîne une accumulation de lipides, qui est en corrélation positive avec une perte de sensibilité à l'insuline indépendamment de l'obésité (Boden, 2002). Deuxièmement, la surexpression de la *G6PD* modifie l'expression des adipokines en augmentant l'expression de la résistine, mais en diminuant celle de l'adiponectine, deux phénomènes étroitement liés à une diminution de la sensibilité à l'insuline (Park *et al.*, 2005). Dans notre étude, les porcs gras présentaient une tendance à avoir une plus faible expression de l'adiponectine que chez les porcs maigres.



**Figure 1** – Abondance relative d'ARNm codant pour des protéines intervenant dans le métabolisme des lipides et du glucose dans le tissu adipeux des porcs gras et maigre

\*\* , \* et † signifient respectivement  $P < 0,01$ ,  $P < 0,05$  et  $P < 0,10$

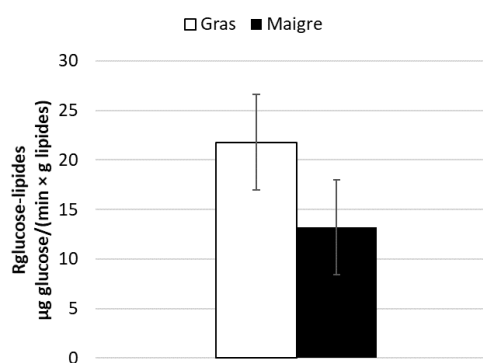
Le facteur de transcription *PPAR-γ* a été identifié comme un médiateur essentiel de la sensibilité à l'insuline de l'organisme tout entier et il est principalement exprimé dans les cellules adipeuses (Rosen *et al.*, 2000). Il est exprimé plus abondamment chez les porcs maigres que chez les porcs gras, et notre étude a montré une corrélation positive entre l'expression de *PPAR-γ* et l'indice QUICKI ( $r = 0,71$ ;  $P < 0,01$ ). Le rôle de *PPAR-γ* dans la différenciation des adipocytes est bien établi, mais ses autres fonctions sont peu connues. Kintscher et Law (2005) ont toutefois démontré que le *PPAR-γ* adipeux garantit l'équilibre et une sécrétion adéquate d'adiponectine et de leptine, deux adipokines médiatrices de l'action de l'insuline dans les tissus périphériques. Aussi, le *PPAR-γ* présent dans le tissu adipeux protège les tissus non adipeux contre une surcharge lipidique excessive et maintient la fonction normale des organes (foie, muscles squelettiques; Kintscher et Law, 2005).

L'expression plus élevée des gènes intervenant dans la voie de la lipogenèse *de novo*, observée dans cette étude, peut être partiellement expliquée par la sécrétion accrue d'insuline chez les porcs ayant une sensibilité plus faible à l'insuline. Une étude récente a en effet montré que l'insuline stimule l'expression des gènes codant pour les enzymes lipogéniques *ACACA* et *ACLY*

(Ho-Palma *et al.*, 2019). En plus de la stimulation directe par l'insuline, la lipogenèse *de novo* peut être régulée à la hausse au niveau transcriptionnel par la surexpression de *SREBP-1c* et *ChREBP*, deux facteurs de transcription qui sont stimulés par l'insuline et les glucides alimentaires dans le foie (Krycer *et al.*, 2010). Cependant, l'absence de différences observée dans notre étude pour ces facteurs de transcription entre les porcs gras et maigres indique que, dans le tissu adipeux du porc, les enzymes *ACACA* et *ACLY* seraient stimulées par un mécanisme indépendant de *SREBP-1c* et *ChREBP*.

### 2.2.2. Lipogenèse *de novo*

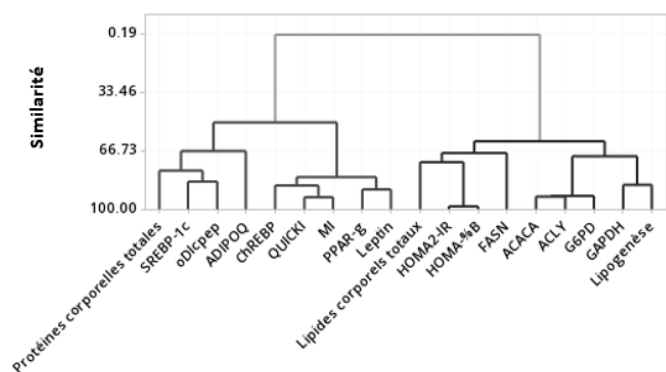
Malgré l'augmentation de la lipogenèse *de novo* observée chez les porcs gras par rapport aux porcs maigres [21,9 vs 13,4  $\mu\text{g}$  glucose/(min  $\times$  g lipide)], cette différence n'était pas significative ( $P > 0,05$ ; Figure 2). Cela peut s'expliquer par la grande variation de la lipogenèse *de novo* entre les animaux de chaque groupe. En effet, chez les porcs maigres qui présentaient une lipogenèse similaire à celle des porcs gras, les lipides corporels totaux étaient les plus élevés et la sensibilité à l'insuline, la plus faible de leur groupe. De plus, les corrélations entre la lipogenèse *de novo*, les lipides corporels totaux et l'indice QUICKI ont indiqué que la lipogenèse est probablement plus associée à une faible sensibilité à l'insuline ( $r = -0,58$ ;  $P < 0,05$ ) qu'aux lipides corporels totaux ( $r = 0,39$ ;  $P > 0,05$ ).



**Figure 2** – Estimations du taux d'incorporation du glucose dans les lipides ( $R_{\text{glucose-lipides}}$ ) des porcs gras et maigres 4 h après une injection de  $[U-^{13}\text{C}]$ glucose

### 2.2.3. Intégration du métabolisme du glucose, de l'expression des gènes et de la lipogenèse *de novo*

Le métabolisme du glucose, la lipogenèse et l'expression génique ont été étudiés en utilisant les mêmes animaux dans cette étude (Figure 3). Les résultats de l'analyse multivariée ont révélé deux groupes principaux avec une similarité de 56 %. Le premier groupe contenait les indices positivement associés à la sensibilité à l'insuline (QUICKI, MI et  $\text{oDI}_{\text{cpep}}$ ), à l'expression des gènes associés à une sensibilité accrue à l'insuline (*LEP*, *PPAR-γ* et *ADIPOQ*) et aux protéines corporelles totales. Le deuxième groupe contenait les indices positivement associés à la résistance à l'insuline ( $\text{HOMA2-IR}$  et  $\text{HOMA-\%B}$ ), aux gènes associés à la résistance à l'insuline et à la lipogenèse *de novo* (*G6PD*, *GAPDH*, *FASN*, *ACACA* et *ACLY*), à la lipogenèse *de novo* et aux lipides corporels totaux. L' $\text{HOMA2-IR}$ , l' $\text{HOMA-\%B}$  et l'expression du gène *FASN* étaient étroitement liées aux lipides corporels totaux, tandis que les protéines corporelles totales étaient étroitement liées à l' $\text{oDI}_{\text{cpep}}$  et à l'expression du gène *SREBP-1c*.



**Figure 3** – Dendrogramme obtenu par l'analyse multivariée des indices de sensibilité à l'insuline, de l'expression des gènes et de la composition corporelle chez les porcs en finition

L'analyse multivariée indique que les mécanismes intervenant dans la sensibilité à l'insuline ont des conséquences importantes sur l'utilisation de l'énergie alimentaire et la composition corporelle chez le porc.

## CONCLUSION

La sensibilité à l'insuline, qui est corrélée avec la composition corporelle des porcs, explique environ 45 % de la variation des protéines et des lipides corporels totaux. Les porcs gras ont une faible sensibilité à l'insuline comparativement aux porcs maigres. La faible sensibilité à l'insuline des porcs gras est potentiellement associée à une expression plus élevée des gènes *G6PD* et de *GAPDH* et celle plus faible du *PPAR-γ*. Comparativement aux porcs maigres, l'expression génique des enzymes lipogéniques clés, comme *ACACA* et *ACLY*, était plus élevée chez les porcs gras, ce qui pourrait être le résultat d'une sécrétion d'insuline accrue comme mécanisme compensatoire des pertes de sensibilité à l'insuline. La corrélation négative entre la sensibilité à l'insuline et la lipogenèse *de novo* montre que la sensibilité à l'insuline est un facteur déterminant de l'utilisation de l'énergie alimentaire et des éléments nutritifs. Enfin, cette étude fait ressortir le potentiel de la sensibilité à l'insuline pour manipuler la composition corporelle des porcs de finition.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Benoit S.C., Clegg D.J., Seeley R.J., Woods S.C., 2004. Insulin and leptin as adiposity signals. *Recent Prog. Horm. Res.*, 59, 267-286.
- Bergen W.G., Mersmann H.J., 2005. Comparative aspects of lipid metabolism: Impact on contemporary research and use of animal models. *J. Nutr.*, 135, 2499-2502.
- Bergman R.N., Phillips L.S., Cobelli C., 1981. Physiologic evaluation of factors controlling glucose tolerance in man: measurement of insulin sensitivity and beta-cell glucose sensitivity from the response to intravenous glucose. *J. Clin. Invest.*, 68, 1456-1467.
- Boden G., 2002. Interaction between free fatty acids and glucose metabolism. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*, 5, 545-549.
- Castellano C.-A., Audet I., Laforest J.-P., Chouinard Y., Matte J.J., 2010. Fish oil diets do not improve insulin sensitivity and secretion in healthy adult male pigs. *Brit. J. Nutr.*, 103, 189-196.
- Dunshie F., D'Souza D., 2003. Review: fat deposition and metabolism in the pig. *Manipulating pig production IX*. (Ed. JE Paterson) pp, 127-150.
- Dunshie F., Harris D., Bauman D., Boyd R., Bell A., 1992. Effect of porcine somatotropin on in vivo glucose kinetics and lipogenesis in growing pigs. *J. Anim. Sci.*, 70, 141-151.
- Farmer C., Palin M.F., 2021. Hyperprolactinemia using domperidone in prepubertal gilts: Effects on hormonal status, mammary development and mammary and pituitary gene expression. *Domest. Anim. Endocrin.*, 76, 106630.
- Galderisi A., Polidori D., Weiss R., Giannini C., Pierpont B., Tricò D., Caprio S., 2019. Lower insulin clearance parallels a reduced insulin sensitivity in obese youths and is associated with a decline in  $\beta$ -cell function over time. *Diabetes*, 68, 2074-2084.
- Ho-Palma A.C., Toro P., Rotondo F., del Mar Romero M., Alemany M., Remesar X., Fernández-López J.A., 2019. Insulin controls triacylglycerol synthesis through control of glycerol metabolism and despite increased lipogenesis. *Nutrients*, 11, 513.
- Kahn S.E., Prigeon R.L., Schwartz R.S., Fujimoto W.Y., Knopp R.H., Brunzell J.D., Porte Jr D., 2001. Obesity, body fat distribution, insulin sensitivity and islet  $\beta$ -cell function as explanations for metabolic diversity. *J. Nutr.*, 131, 354S-360S.
- Katz A., Nambi S.S., Mather K., Baron A.D., Follmann D.A., Sullivan G., Quon M.J., 2000. Quantitative insulin sensitivity check index: a simple, accurate method for assessing insulin sensitivity in humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 85, 2402-2410.
- Kintscher U., Law R.E., 2005. PPAR $\gamma$ -mediated insulin sensitization: the importance of fat versus muscle. *Am. J. Physiol.-Endoc. M.*, 288, E287-E291.
- Krycer J.R., Sharpe L.J., Luu W., Brown A.J., 2010. The Akt-SREBP nexus: cell signaling meets lipid metabolism. *Trends Endocrin. Met.*, 21, 268-276.
- Labrecque, B., Beaudry, D., Mayhue, M., Hallé, C., Bordignon, V., Murphy, B. D., Palin, M. F., 2009. Molecular characterization and expression analysis of the porcine paraoxonase 3 (PON3) gene. *Gene*, 443(1-2), 110-120.
- Levy J.C., Matthews D.R., Hermans M.P., 1998. Correct homeostasis model assessment (HOMA) evaluation uses the computer program. *Diabetes care*, 21, 2191-2192.
- Matte, J. J. 1999. A rapid and non-surgical procedure for jugular catheterization of pigs. *Lab. Anim.* 33:258-264.
- Matsuda M., DeFronzo R.A., 1999. Insulin sensitivity indices obtained from oral glucose tolerance testing: comparison with the euglycemic insulin clamp. *Diabetes Care*, 22, 1462-1470.
- Park J., Rho H.K., Kim K.H., Choe S.S., Lee Y.S., Kim J.B., 2005. Overexpression of glucose-6-phosphate dehydrogenase is associated with lipid dysregulation and insulin resistance in obesity. *Mol. Cell. Biol.*, 25, 5146-5157.
- Pomar C., Rivest J., 1996. The effect of body position and data analysis on the estimation of body composition of pigs by dual energy X-ray absorptiometry (DEXA). In: *Proceedings of the 46th Annual Conference of the Canadian Society of Animal science*. Lethbridge, AB, Canada. p. 26.
- Rodríguez-López J.M., Lachica M., González-Valero L., Fernández-Figares I., 2021. Determining insulin sensitivity from glucose tolerance tests in Iberian and Landrace pigs. *PeerJ*, 9, e11014.
- Rosen E.D., Walkey C.J., Puigserver P., Spiegelman B.M., 2000. Transcriptional regulation of adipogenesis. *Gene. Dev.*, 14, 1293-1307.
- Salgado H.H., Remus A., Pomar C., Létourneau-Montminy M.-P., Lapiere H., 2021. In vivo estimation of lipogenesis using a bolus injection of [ $^{13}\text{C}$ ] glucose in pigs. *J. Anim. Sci.*, 99, 1-6.
- Saltiel A.R., Kahn C.R., 2001. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature*, 414, 799-806.