

EVOLUTION WITH AGE OF METABOLIC CHARACTERISTICS OF SOME
LAMB MUSCLES IN RELATIONSHIP WITH PROTEIN SYNTHESIS *IN VIVO*

A. LACOURT & M. ARNAL

Station de Recherches sur la Viande, I.N.R.A. Theix, France

The evolution with age of metabolic characteristics and type of contraction in four lamb muscles was studied in relationship to protein synthesis *in vivo*. The muscles concerned were *m. Diaphragma* (red), *m. Tensor fasciae latae* (white) and *m. Rectus abdominis* and *Longissimus dorsi* (intermediate). The animals were divided into four groups with ages varying from 1 to 16 weeks (1, 5, 10 and 16 weeks). The lambs were injected with labelled lysin, then were slaughtered and dissected just after collecting blood samples.

The activities of succinic dehydrogenase and α -glycerophosphate dehydrogenase were important in young lambs at an age of one week. The activity of these enzymes decreased quickly with the growth in white muscles but maintain a constant rate in the red muscles. The percentage of fibers for each muscle, obtained by counting in histochemical sections, showed little change in function of the age of the animals.

At the same time, protein synthesis was equal in the different muscles studied. However, in the muscle *Tensor* the labelled lysin was incorporated more quickly than the muscle *Diaphragma* in young animals (1 week). The protein synthesis *in vivo* of white muscles decreased in function of the growth of the animals and, at an age of 16 weeks, the rate of incorporation of lysin was found to be lower than that of red muscles.

N₂

9. За и д е с А.Л. Структура коллагена и ее изменения при обработке. М., Ростехиздат, 1960.
- Ю. У ш а к о в С.А. Поливиниловый спирт и его производные, I, М-Л, АН СССР, 1960.
- II. М и х а й л о в А.Н. Коллаген кожного покрова и основы его переработки. М., "Легкая индустрия", 1971, 5.

ÄNDERUNGEN AM METABOLISMUS VON LAMMUSKELN MIT DEM ALTER IN
VERBINDUNG MIT *IN-VIVO* - EIWISSENAUFBAU

A. LACOURT & M. ARNAL

Station de Recherches sur la Viande, I.N.R.A. Theix, France

Die Änderungen am Metabolismus und an den Kontrakturmertkmalen wurden an 4 Lammuskeln untersucht: *Diaphragma* (rot) *Tensor Fasciae Latae* (weiss) und *Rectus abdominis* und *Longissimus dorsi* (dazwischenliegend).

Die Tiere wurden in 4 Altersgruppen geteilt: 1, 5, 10 und 16 Wochen. ¹⁴C-Lysin wurde eingespritzt, dann trat Schlachtung und anatomisches Präparieren ein.

Die succino-Dehydrogenase und α -glycerophosphat-Dehydrogenase Aktivitäten liegen hoch beim wochenalten Lamm. Sie nehmen rasch ab beim Wachsen in weissen Muskeln, scheinen aber stetig in roten Muskeln zu bleiben.

Die Faserverteilung (rot, weiss, und halb-rot) ändert sich wenig mit dem Alter der Tiere.

Gleichzeitig liegt der Eiweisssaufbau sehr nah in den verschiedenen untersuchten Muskelproben. Der *Tensor-Muskel* scheint jedoch ¹⁴C-Lysin schneller zu inkorporieren in Vergleich zum *Diaphragma* an jungen Tieren (1 Woche alt).

Der an weissen Muskeln in Vitro bestimmte Eiweisssaufbau nimmt beim Wachsen ab, so dass er am 16 Wochen-Stadium niedriger liegt im Vergleich zu roten Muskeln.

EVOLUTION EN FONCTION DE L'AGE DES CARACTERISTIQUES METABOLIQUES
DE MUSCLES D'AGNEAUX EN RELATION AVEC LA SYNTHÈSE PROTEIQUE *IN VIVO*

A. LACOURT & M. ARNAL

Station de Recherches sur la Viande, I.N.R.A. Theix, France

L'évolution avec l'âge des caractéristiques métaboliques et contractiles de quatre muscles d'agneaux est étudiée en relation avec la synthèse protéique *'in vivo'*. Les muscles considérés sont le muscle *Diaphragma* (rouge), le muscle *Tensor Fasciae Latae* (blanc) et les muscles *Rectus Abdominis* et *Longissimus dorsi* (intermédiaires). Les animaux sont répartis en quatre lots d'âges différents (1, 5, 10, 16 semaines), subissent une injection de lysine marquée, puis sont abattus et disséqués.

Les activités de la succinodéshydrogénase et de l' α -glycérophosphat déshydrogénase sont importantes chez les agneaux d'une semaine. Elles diminuent rapidement avec la croissance des animaux dans les muscles blancs mais semblent se maintenir à un niveau constant dans les muscles rouges. Les pourcentages de fibres de chaque muscle, obtenus par dénombrement au niveau de coupes histochimiques varie peu avec l'âge des animaux.

Dans le même temps, la synthèse protéique est équivalente dans les différents muscles étudiés. Toutefois le muscle *Tensor* semble incorporer la lysine marquée plus rapidement que le muscle *Diaphragma* lorsque l'animal est jeune (1 semaine). La synthèse protéique *in vivo* des muscles blancs diminue en fonction de la croissance des animaux pour atteindre à 16 semaines un niveau inférieur à celui des muscles rouges.

ВОЗРАСТНОЕ ИЗМЕНЕНИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ В МЫШЦАХ АГНЯТ
В СВЯЗИ С БЕЛКОВЫМ СИНТЕЗОМ *IN VIVO*

Проведено исследование изменения характеристики обмена веществ и сократительной деятельности четырех мышц у агнят, в связи с белковым синтезом *"in vivo"*. Изучались следующие мышцы: *Diaphragma* (красная), *Tensor Fasciae Latae* (белая) и *Rectus Abdominis* и *Longissimus dorsi* (промежуточные). Животных разделили на 4 возрастных группы 1, 5, 10, 16 недель, им вводился мечёный лизин и вслед за этим их забивали и производили вскрытие.

Наблюдается высокая деятельность суксидегидрогеназы и α -глицерофосфата у однопольных агнят. Эта деятельность снижается в белых мышцах в течение роста животных, но видимо не поддерживается на постоянном уровне в красных мышцах. Процент мышечных волокон каждого мускула полученный расчетным путем на уровне гистохимических срезов, мало изменяется с возрастом животных.

В то же время, наблюдается сходный белковый синтез во всех исследуемых мышцах. Однако же, у молодых животных *Tensor* видимо быстрее задерживает мечёный лизин чем мышца *Diaphragma*. Белковой синтез *in vivo* уменьшается в белых мышцах в связи с ростом животных и достигает к 16 неделям уровень ниже того который наблюдается в красных мышцах.

A. ЛАКУР и М. АРНАЛЬ.

REFRIGERATION, FREEZING AND THAWING

EVOLUTION EN FONCTION DE L'AGE DES CARACTERISTIQUES METABOLIQUES DE MUSCLES D'AGNEAUX EN RELATION AVEC LA SYNTHÈSE PROTÉIQUE *IN VIVO*.

A. LACOURT et ARNAL M.

Station de Recherches sur la Viande
I.N.R.A. THEIX - 63110 BEAUMONT
FRANCE

INTRODUCTION

Depuis plusieurs décennies les troupeaux d'animaux de boucherie sont sélectionnés selon des critères de production, tels l'indice de consommation, la croissance journalière ou la conformation des carcasses. Des efforts continus ont permis de rationaliser l'alimentation et les types d'élevage. Cet ensemble de facteurs se solde pour un poids identique de carcasse, par l'abattage d'animaux de plus en plus jeunes. Or il est maintenant reconnu que la fréquence des accidents survenant au cours de l'abattage augmente de façon parallèle. D'une façon générale la qualité de la viande, couleur, jutosité, texture, saveur, subit une dégradation qui est ressentie jusqu'au niveau du consommateur. On est tenté de penser qu'une croissance rapide peut être liée à une évolution du métabolisme musculaire vers le type anaérobie avec l'âge des animaux et à une qualité ultérieure de la viande plus faible. Ainsi BEECHER et al. (1965 a et b) mettaient en évidence chez le porc une relation existant entre le caractère blanc ou rouge des muscles et leur glycoanalyse post mortem. Chez le bovin HOLMES J.H.G. et AYMORÉ C.R. montrent que les animaux de type culard ont un métabolisme musculaire qui devient de plus en plus anaérobie avec l'âge.

Les fibres musculaires sont classées par les auteurs selon les propriétés oxydatives et glycolytiques caractérisant le type métabolique, et le critère de contraction rapide ou lente. Les cellules musculaires se répartissent ainsi en trois groupes principaux glycolytique-rapide (α W), oxydative-lente (β R) et oxydative-glycolytique rapide (α R). Les caractéristiques d'un muscle sont définies par le pourcentage et la taille des différentes fibres d'une part, et par la concentration et le niveau d'activité des différentes enzymes.

Si la constitution en fibres de différents types des muscles de l'âge commence à être bien connue (SUZUKI, 1973), son évolution avec l'âge reste peu étudiée surtout au cours des premières semaines de vie des animaux. Il est intéressant d'étudier sur un type d'animal donné, l'évolution des caractéristiques des muscles rouges et blancs en relation avec la synthèse protéique *in vivo*. Le travail présenté ici n'est que les résultats préliminaires d'une expérimentation en cours.

II - MATERIEL ET METHODES

Les animaux de race Berichon-Romanov-Limousin ont été abattus à 1, 5, 10 et 16 semaines. Nous nous bornerons, dans cette communication, à pré-

sentir l'évolution des caractéristiques métaboliques de quatre muscles représentatifs de la carcasse : m. *Diaphragma* (D), m. *Rectus abdominis* (RA), m. *Longissimus dorsi* prélevé au niveau de la 11^e côte (LD), et le muscle *Tensor faciae latae* (TFL). La synthèse protéique *in vivo* n'a été étudiée pour l'instant que dans un muscle rouge-lent (D) et un muscle blanc-rapide (TFL) à l'aide de L lysine ^{14}C .

21 - Etude histochimique des critères métaboliques et contractiles des muscles

Des coupes transversales sériées faites à l'aide d'un cryotome permettent de mettre en évidence au niveau des fibres musculaires :

a - L'activité succinodéshydrogénase mitochondriale (SDH) par la méthode au bleu de nitrotréazolum d'après PEARSE A.G.E. (1968)

b - L'activité α -glycérophosphate déshydrogénase totale (α GPDH) d'après PEARSE A.G.E. (1968). PETER et al. (1972) ont mis en évidence que cette enzyme est très abondante dans les fibres de type glycolytique chez le lapin et le cobaye. D'autre part elle joue un rôle essentiel au niveau d'un des principaux shunt oxydatif, comme nous en parlerons dans le chapitre Discussion et conclusion.

c - Le type d'activité ATPasique de la myosine par préincubation des coupes en milieu acide pH 4,4 (AA) ou basique pH 10,2 (AB) selon la méthode de PADYKULIA et HERMANN modifiée par GUTH L; et SAMAHA E.J. (1969).

22 - Mesure de la concentration en myoglobine et de quelques activités enzymatiques des muscles d'agneaux

a - La concentration en myoglobine est évaluée grâce à la mesure du fer hémique selon la méthode d'HORNSEY (1956)

b - Les activités enzymatiques initiales de la SDH et de l' α GPDH sont déterminées biochimiquement à partir des broyats totaux de muscles en mesurant la réduction dans le milieu d'incubation du ferriocyanure de potassium en ferrocyanure par enregistrement photométrique à 420 nm. Ceci en accord avec les techniques de BONKER (1955) pour la SDH et de BASS et al (1969) pour l' α GPDH.

c - L'activité ATPasique initiale de la myosine est déterminée par pHstat (pH 7,4) à l'aide de myofibrilles lavées mises en suspension dans un milieu d'incubation ajusté à la force ionique $\Gamma = 0,15$ et contenant du CaCl_2 0,25 mM, du MgCl_2 2,5 mM et de l'ATP à la concentration initiale de 4 mM.

23 - Mesure de la radioactivité incorporée *in vivo* dans les protéines musculaires à l'aide de L lysine ^{14}C

Les animaux sont abattus à 5, 10, 20, 80 minutes après injection intraveineuse de L lysine ^{14}C et disséqués. Les muscles étudiés sont congelés dans l'azote liquide. Les acides aminés libres sont extraits par broyage successifs des muscles dans une solution d'acide trichloracétique

III - RESULTATS

31 - Evolution avec l'âge des caractéristiques métaboliques et contractiles des muscles d'agneaux

311 - Pourcentage de fibres

Le tableau 1 rassemble les résultats obtenus par l'analyse de l'activité SDH entre individus pour tous les muscles. Ainsi il est impossible de mettre en évidence une évolution de % de fibres riches en fibres en α GPDH semblent rester avec l'âge en proportion constante dans les muscles blancs et diminuer très légèrement dans les muscles rouges (D et à un pourcentage moindre RA). Le pourcentage de fibres réagissant positivement à l'activité ATPasique type AB (contraction rapide) diminue avec l'âge des animaux pour le muscle LD.

312 - Concentration en pigment et activités enzymatiques

Les figures 1, 2, 3 et 4 représentent dans l'ordre l'évolution avec l'âge de la concentration en myoglobine et les activités enzymatiques, SDH et α GPDH, des muscles étudiés. Les paramètres des droites de régression sont rassemblés dans le tableau 2. Il est clair que si la myoglobine augmente significativement dans tous les muscles entre 1 semaine et 16 semaines, les activités enzymatiques ont au contraire toutes tendance à diminuer. Le cas le plus caractéristique est celui de la SDH, dont l'activité chute de 2500 pmoles/mn et par gramme à 1 semaine à la valeur de 1500 à 16 semaines pour le m. *Diaphragma*. Le m. T.F.L. a son activité divisée par 7 dans le même temps.

L'activité α GPDH diminue d'une façon homogène dans tous les muscles et est divisée par 2 entre 1 semaine et 16 semaines. La diminution de l'activité ATPasique globale de la myosine est beaucoup moins marquée au cours des 10 premières semaines, si bien que la corrélation n'est significative que dans le cas du m. *Diaphragma*.

313 - Comparaison de l'évolution avec l'âge des caractéristiques d'un muscle blanc (TFL) et d'un muscle rouge (D)

La figure 5 représente des diagrammes tenant compte de l'activité globale et du % de fibres positives des enzymes étudiées, SDH, ATPase, dans le cas de la succinic déshydrogénase on voit que si le muscle rouge (D) n'évolue que peu le m. TFL perd rapidement son activité initiale. Le deuxième diagramme met en évidence que, si le % de fibres riches en fibres reste constant entre 1 semaine et 16 semaines l'activité globale diminue de façon appréciable surtout au niveau du muscle blanc (TFL). La diminution de l'activité ATPasique existe surtout pour le muscle rouge (D) au niveau du % de fibres.

Il est intéressant de comparer ces diagrammes avec l'évolution de la synthèse protéique *in vivo* avec l'âge dans les mêmes

Muscle	Age animaux (semaines)	SDH %		α GPDH %		ATPase (AB) %	
		$\bar{x}$	CV	$\bar{x}$	CV	$\bar{x}$	CV
D	1	92,1	19	82,9	2	77,9	5
	5	85,0	31	76,7	6	75,0	7
	10	63,5	40	74,8	8	67,5	11
	16	96,6	9	75,0	20	54,8	9
RA	1	70,3	32	86,9	6	84,4	3
	5	50,5	15	83,9	2	82,7	4
	10	53,5	10	84,4	7	78,3	8
	16	65,4	11	80,1	8	79,1	5
LD	1	76,3	29	92,4	3	92,4	1
	5	48,5	29	94,3	3	93,6	1
	10	60,4	8	94,3	3	93,4	4
	16	72,5	7	94,1	3	93,3	3
TFL	1	44,5	16	100	0	95,6	1
	5	52,4	12	100	0	94,0	1
	10	48,3	10	100	0	92,5	4
	16	57,5	13	98,9	3	92,3	2

TABLEAU 1 : Moyenne des pourcentages de fibres existant dans les muscles d'agneaux, $\bar{x}$ = moyenne CV = coefficient de variation

1 semaine $\pm$ 5 animaux ; 5 semaines $\pm$ 3 animaux
10 semaines $\pm$ 5 animaux ; 16 semaines $\pm$ 6 animaux

REFRIGERATION, FREEZING AND THAWING

		D	RA	LD	TFL
Myoglobine	a	4,3	1,6	3,4	0,5
	b	76,5	44,2	36,8	42,7
	r	0,76++	0,70++	0,88++	0,24
Succinic DH	a	- 45,1	- 71,2	- 88,2	- 91,7
	b	2428	1476	1376	1664
	r	0,51+	0,76++	0,84++	0,74++
α GPDH	a	- 24,2	- 28,4	- 35,9	- 44,1
	b	907	712	702	1062
	r	0,50+	0,46+	0,63++	0,51+
ATPase	a	- 0,04	- 0,04	- 0,06	- 0,04
	b	1,96	2,17	2,82	1,99
	r	0,46+	0,37	0,36	0,40

TABLEAU 2 : Paramètres des droites de régression des caractéristiques biochimiques des muscles d'agneaux en fonction de l'âge (figures 1, 2, 3 et 4).

a : pente de la droite de régression
b : ordonnée à l'origine
r : coefficient de corrélation (significatif $P < 0,01++$
(significatif $P < 0,05+$

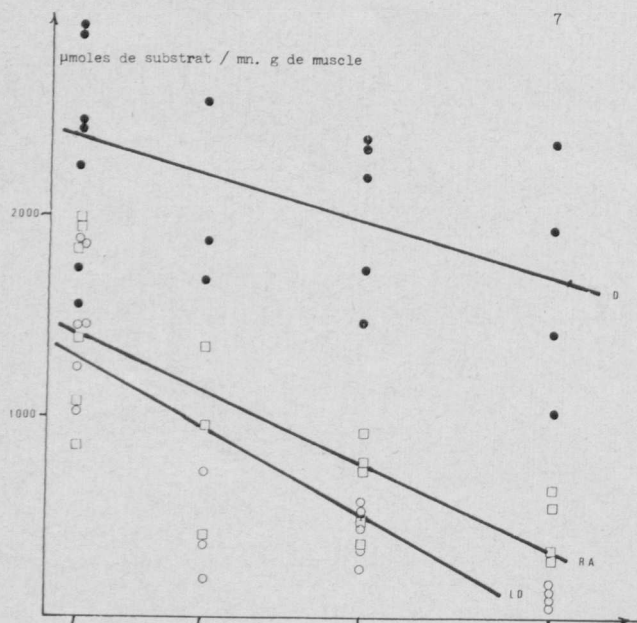


Figure 3: Evolution de l'activité SDH des muscles avec l'âge (semaines)
D = ●, RA = □, LD = ○.

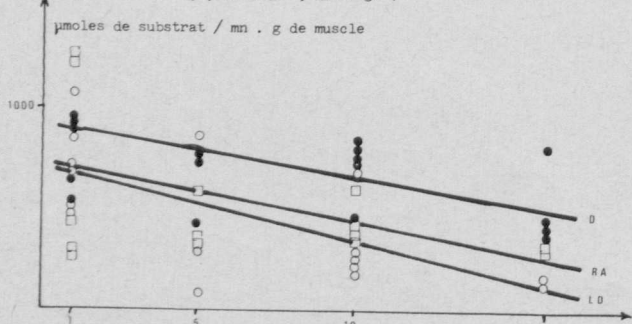


Figure 4: Evolution de l'activité α GPDH avec l'âge des animaux (semaines)
D = ●, RA = □, LD = ○.

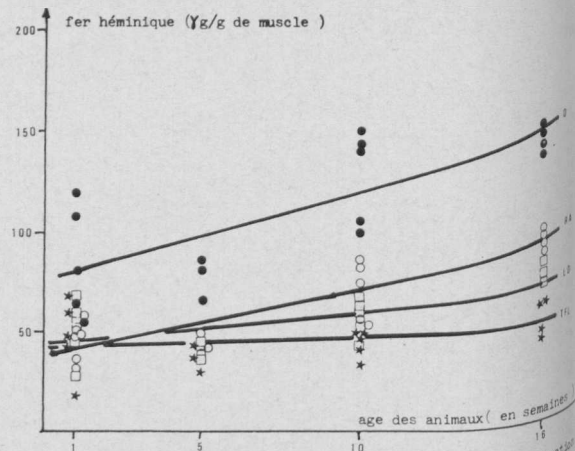


Figure 1: Evolution de la teneur en myoglobine des muscles en fonction de l'âge des animaux. D = ●, RA = □, LD = ○, TFL = *.

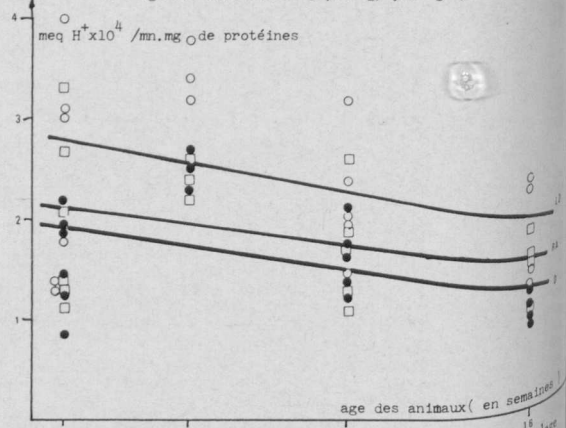


Figure 2: Evolution de l'activité ATPasique de la myosine avec l'âge des animaux. D = ●, RA = □, LD = ○.

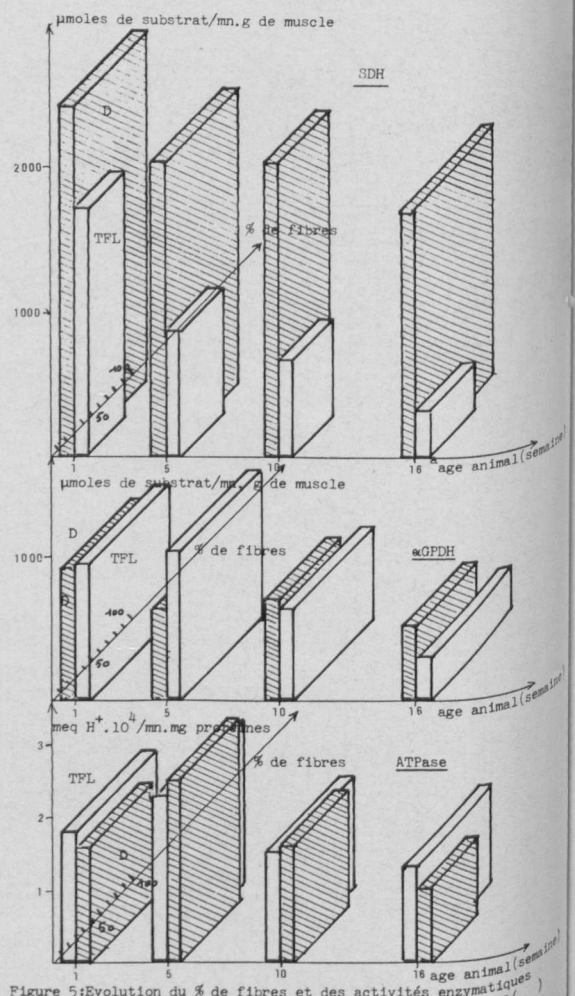


Figure 5: Evolution du % de fibres et des activités enzymatiques dans le muscle rouge D et le muscle blanc TFL.

REFRIGERATION, FREEZING AND THAWING

muscles (TFL et D).

32 - Synthèse protéique in vivo

La figure 6 représente l'incorporation de la radioactivité de L lysine ^{14}C dans les protéines musculaires en fonction du temps après injection intraveineuse. OBLÉD C et ARNAL (communication personnelle) ont montré que cette incorporation dans les protéines des muscles de la cuisse du rat obéit à une loi du type $y = a \ln t - b$. Dans le cas du muscle TFL, la vitesse d'incorporation de la L lysine ^{14}C dans les protéines, appréciée par la pente des droites, est beaucoup plus élevée à l'âge d'une semaine qu'aux autres âges étudiés ($P < 0,01$). Elle n'est pas significativement différente aux âges 5, 10 et 16 semaines. Dans le muscle Diaphragma, la vitesse d'incorporation n'est pas significativement différente entre 1, 5, 10 et 16 semaines mais la quantité de radioactivité incorporée dans les protéines de m. D à l'âge de 1 semaine est plus élevée qu'aux autres âges étudiés ($P < 0,01$). Les pentes de radioactivité incorporée dans les protéines de m. D à l'âge de 1 semaine ne sont pas significativement différentes aux différents âges mais la quantité de radioactivité incorporée dans le muscle Diaphragma au stade 16 semaines est significativement plus élevée ($P < 0,01$) que dans le muscle TFL.

DISCUSSION ET CONCLUSION

Au cours de la croissance entre 1 semaine et 16 semaines, les muscles en SDH. Le phénomène peut correspondre à la dilution d'un équipement enzymatique important dans les cellules des embryons, dilution due à l'augmentation du volume cellulaire. Mais elle peut être due également à la différenciation des fibres rouges rapide (αR) en fibres de type blanc rapide (αW). Il est généralement admis que les fibres musculaires au niveau de l'embryon (αR et βR) se différencient en βR , αR et αW au cours de la croissance.

La mise en évidence de la diminution de l'activité ATPasique globale et du pourcentage de fibres de type contraction rapide corrobore bien ce que nous avons mis en évidence chez le bovin (LACOURT, 1973). Ces résultats rendent plausible l'hypothèse d'une différenciation possible des fibres αR en fibres βR .

La caractérisation du métabolisme aérobie des cellules musculaires est habituellement obtenue par la mise en évidence d'enzymes mitochondriales comme le NADH, tétrazolium réductase ou coupes histochimiques. Or il est maintenant bien reconnu que le NAD ne peut pas traverser la paroi des mitochondries. Il est nécessaire que le NADH, produit par la glycolyse puisse s'effectuer normalement soit oxydé par des shunts oxydatifs ou à défaut par la réaction transformant l'acide pyruvique en acide lactique. Il est donc nécessaire pour caractériser le type métabolique aérobie de mettre en évidence en plus du cycle de Krebs, l'équipement enzymatique de ces shunts oxydatifs. Les deux principaux actuellement connus sont le shunt de l' α glycerophosphate et le cycle de l'aspartate. Nous n'avons mis en évidence que le premier. De toute façon si les échanges à travers la membrane mitochondriale sont mauvais la réaction produisant de l'acide lactique est très vite suscitée même avec un équipement mitochondrial important. Cependant nous avons mis en évidence, sur des veaux carencés en fer donc ayant des muscles pauvres en myoglobine, des

mitochondries pratiquement dépourvues de SDH, et cela même dans des muscles habituellement rouges comme le m. Diaphragma (LACOURT, 1972) si ce phénomène est valable pour l'équipement enzymatique des shunts oxydatifs, la mise en évidence des enzymes par histochimie peut prouver l'existence d'un fonctionnement normal in vivo. Ainsi le shunt oxydatif de l' α glycerophosphate devrait être particulièrement actif dans les fibres blanches (anaérobie) et permettre la glycolyse sans production d'acide lactique jusqu'à un niveau d'activité contractile relativement élevé.

Il semble y avoir une bonne corrélation entre l'activité SDH et l'évolution de la synthèse protéique en fonction de l'âge (diagramme 1 de la figure 5 et figure 6). D'autre part il est généralement admis que l'incorporation de radioactivité dans les protéines musculaires est plus importante dans les muscles rouges que dans les muscles blancs (GOLDBERG A.L., 1967). Nous trouvons l'inverse mais à un âge inférieur à 5 semaines.

Avec la participation technique de
Marie-Christine BAYLE

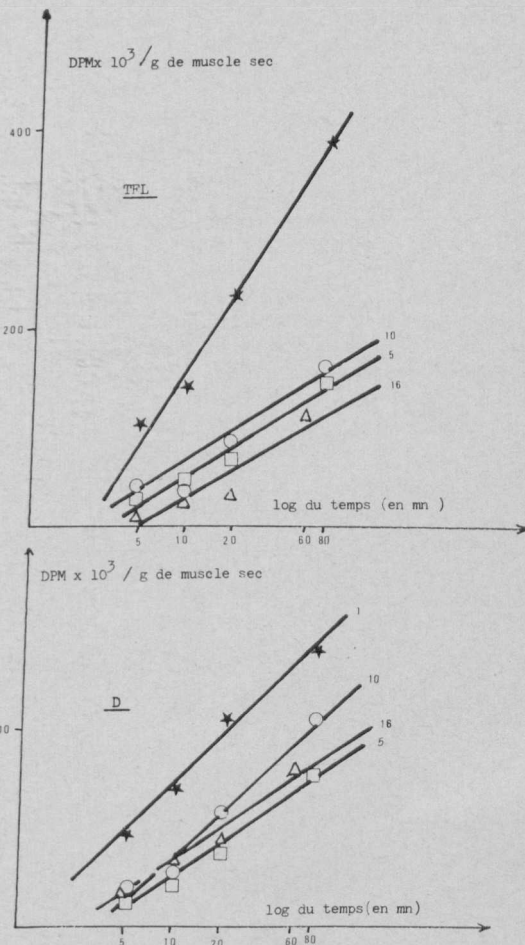


Figure 6: Incorporation de L lysine ^{14}C du sang dans les protéines des muscles TFL (blanc) et D (rouge). Chaque point représente la moyenne pour 3 animaux
1 semaine = $\star$, 5 semaines = $\square$, 10 sem = $\circ$, 16 semaines = $\triangle$

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BEECHER G.R., CASSENS R.G., HOEKSTRA W.G. and BRISKEY E.J., 1965b J. Food Sci., **30** (6), 969-976.
- BEECHER G.R., BRISKEY E.J. and HOEKSTRA W.G., 1965a J. Food Sci., **30** (3), 477-486.
- HOLMES J.H.G. and ASHMORE C.R., 1972 Growth, **26**, 351-372.
- PEARSE A.G.E., 1968 Histochemistry Theoretical and Applied, 3e Ed., J.A. CHURCHILL Ltd, London.
- PETER J.B., BARNARD R.S., EDGERTON V.R., GILLESPIE C.A. and STEMPEL K.E., 1972 Biochemistry, **11** (14), 2627.
- GUTH L and SAMAHA F.J., 1969 Expt. Neurol., **25**, 138.
- HORNSEY M.C., 1956 J. Sci. Food Agric., **7**, 534-540.
- BONKER, 1955 Methods Enzymology, 722.
- BASS A., BRADICZKA D., EYER P., HOFER S., PETTE O., 1969 Europ. J. Biochem., **10**, 198.
- LACOURT A., 1973 XIXe Réunion Européenne des Chercheurs en Viande, Paris 2-7 Sept., B/14, Tome 1 p. 417.
- LACOURT A., 1972 XVIIIth European Meeting of Meat Research Workers, Quelfh, Canada, August 20-25, vol. II, 637.
- GOLDBERG A.L., 1967 Nature, **216**, 1219-1220.
- SUZUKI A., 1973 Jap. J. Zootech. Sci., **44**(1), 50-58.