

CARACTERISATION DES REPONSES DU MUSCLE A UN STRESS DE TRANSPORT-CONTENTION CHEZ LE POULET – 2 - METABOLISME MUSCULAIRE ET INDICATEURS DE QUALITE DES VIANDES

Fernandez Xavier^{2,1}, Berri Cécile³, Jlali Maamer³, Molette Caroline^{1,2}, Hazard Dominique^{1,2}, El Rammouz Rabih^{1,2}, Wadih-Moussa Ziad^{1,2}, Rémignon Hervé^{1,2}

¹*Université de Toulouse ; INPT, ENVT ; UMR 1289 Tandem, Tissus Animaux, Nutrition, Digestion, Ecosystème et Métabolisme; ENSAT, F-31326 CASTANET-TOLOSAN, France*

²*INRA ; UMR 1289 Tandem, Tissus Animaux, Nutrition, Digestion, Ecosystème et Métabolisme; Chemin de Borde-Rouge, Auzeville, F-31326 CASTANET-TOLOSAN, France*
³*INRA, UR83 Recherches Avicoles, NOUZILLY, F-37380*

RÉSUMÉ

Les conditions de pré-abattage (facteurs environnementaux, manipulations) sont connues pour affecter les qualités des viandes, par les réponses de stress qu'elles génèrent. De nombreuses données expérimentales montrent que les hormones du stress produites par l'axe corticotrope (glucocorticoïdes) et le système nerveux sympathique (catécholamines) ont un rôle majeur dans les processus métaboliques associés à la composition des carcasses et aux qualités des viandes. Cependant, les mécanismes par lesquels les réponses de stress influencent les qualités restent mal connus. L'objectif général de cette étude est donc d'analyser les mécanismes moléculaires par lesquels les réponses de stress pourraient affecter les qualités des viandes en utilisant les outils génériques de la biologie intégrative. Des poulets standards âgés de 6 semaines sont placés en situation contrôle ou soumis à un stress de contention individuelle dans une boîte (30x25x15 cm) combiné à un transport pendant une durée de 2 heures. Dans les muscles de la cuisse immédiatement après l'abattage, le transport a induit une activation de la glycogénolyse et de la glycolyse mais sans accumulation d'acide lactique, suggérant une meilleure oxydation du pyruvate, en accord avec les résultats obtenus dans le volet 'transcriptomique' de ce projet. Les valeurs de pH dans la cuisse à 20 min et 24 h *post mortem* sont significativement plus élevées chez les animaux transportés. Aucun effet n'est mis en évidence dans le muscle pectoral en ce qui concerne les métabolites et les valeurs de pH. Le transport affecte certains paramètres de la couleur du muscle pectoral mais ces effets ne s'expliquent pas par des variations de pH.

ABSTRACT

Preslaughter conditions (environmental factors, handling) are known to affect meat quality. Numerous experimental results show that stress hormones produced by corticotropic axis (glucocorticoids) and sympathetic nervous system (catecholamines) have an important effect on metabolic processes involved in the determination of carcass composition and meat quality. However, the mechanisms involved in the relationships between stress responses and meat quality are poorly investigated. The aim of this study was to determine the molecular mechanisms involved in the relationship between stress responses and meat quality using tools of integrative biology. Six week-old standard broiler chickens were either non-treated or submitted individually to a restraint stress in a crush cage during 2 hours concomitantly with transport. Immediately after slaughter, metabolite concentrations in thigh muscles indicate that transport enhanced glycogenolysis and glycolysis without lactate accumulation. This result, together with other data obtained in the transcriptomic approach, suggest a better oxidation of pyruvate in thighs of transported broilers. The pH values at 20 min and 24 h *post mortem* were significantly higher in thigh muscles of experimental birds. However, in breast muscle, no stress effect was recorded for metabolites and pH values. Some colour coordinates were significantly affected by transport in breast muscle but these effects were not due to variations in the kinetic of *post mortem* pH fall.

INTRODUCTION

De nombreuses études montrent que les conditions de pré-abattage (facteurs environnementaux, manipulations...) influencent les qualités des viandes. Chez les volailles, l'élévation de la température (Aksit et al., 2006 ; Debut et al., 2003), la mise en cage combinée au transport (Debut et al., 2003; Kannan et al., 1997), l'allongement de la durée d'accrochage sur la chaîne d'abattage (Berri et al., 2005; Debut et al., 2003, 2005) ou encore le mode de capture (mécanique vs manuel) (Nijdam et al., 2005) peuvent être associés à la détérioration de la qualité des viandes. Des mesures physiologiques et comportementales réalisées au sein de ces études suggèrent que des réponses aux stress de pré-abattage seraient à l'origine de ces phénomènes. Les mécanismes par lesquels les réponses aux stress influencent la qualité des viandes ne sont que partiellement connus. Jusqu'à présent les travaux concernant l'effet du stress d'abattage sur les qualités des viandes se sont essentiellement intéressés à la mobilisation des réserves énergétiques du muscle, à l'origine de l'acidification *post mortem* (Fernandez et Tornberg, 1991). Ce mécanisme n'explique cependant que partiellement la variabilité des qualités des viandes observée. Les hormones du stress produites par l'axe corticotrope (glucocorticoïdes) et le système nerveux sympathique (catécholamines) pourraient être impliquées dans la relation entre le stress et la qualité des viandes du fait de leur rôle majeur dans les processus métaboliques associés à la composition des carcasses et aux qualités des viandes. L'élévation des taux de glucocorticoïdes est en effet associée, au niveau du muscle, à une augmentation de l'oxydation des lipides, une activation du transport du glucose (Wang, 2005), une augmentation de la protéolyse (Menconi et al., 2007), une diminution de l'activité de l'enzyme de synthèse du glycogène (Henriksen et al., 1999) ou encore une inhibition de l'expression des gènes impliqués dans la synthèse protéique (Menconi et al., 2007). De même, les catécholamines sont corrélées positivement au pH ultime (Foury et al., 2005), ont une action anabolique sur le métabolisme musculaire (Navegantes et al., 2001, 2002) et inhibent l'expression de gènes codant pour des protéases musculaires ou des acteurs clés du métabolisme du glycogène (Viguerie et al., 2004). Notre objectif est donc d'étudier les mécanismes moléculaires par lesquels les réponses aux stress pourraient affecter les qualités des viandes de poulet en intégrant les approches transcriptomique, protéomique et biochimique. Ce second volet des travaux complète la communication de Hazard et al. (2009) et rapporte les résultats obtenus sur le plan du métabolisme musculaire et des indicateurs de qualités des viandes.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Animaux et échantillons

Les conditions d'obtention des animaux utilisés dans cette expérience sont décrites dans la communication précédente (Hazard et al., 2009). Les poulets ont été soit non traités (groupe contrôle, n=15), soit soumis à un stress de contention individuelle dans une boîte (30 x 25 x 15 cm) combiné à un transport pendant une durée de 2 h (groupe stress, n=15). Les poulets ont été sacrifiés par décapitation immédiatement après leur capture dans la case d'élevage ou après 2 h de contention combinée au transport. Un échantillon de muscle *Pectoralis major* du filet ainsi que les muscles de la cuisse (*Tensor fascia latae* et *Biceps femoris*) ont été prélevés immédiatement après le sacrifice, congelés et broyés dans l'azote liquide (les deux muscles de la cuisse sont broyés ensemble) et conservés à -80°C jusqu'aux analyses. A 20 min *post mortem*, un échantillon de 2 g a été prélevé sur le muscle pectoral et sur la cuisse controlatérale au premier prélèvement. Cet échantillon était broyé dans 18 ml de iodoacétate 0.5 M pour la mesure du pH (pH₂₀) selon Jeacocke et al. (1977).

1.2. Indicateurs de qualité des viandes

Seul le muscle pectoral a fait l'objet de ces mesures, à l'exception du pH_u mesuré sur la cuisse.

Mesures réalisées à 24 h post mortem : Le pH a été mesuré par insertion directe d'une électrode combinée dans le tissu musculaire (tiers antérieur du muscle pectoral). Les coordonnées trichromatiques (L*, a*, b*) ont été mesurées sur une coupe fraîche du muscle pectoral et sur sa surface (tiers antérieur, face ventrale) à l'aide d'un chromamètre Minolta CR300. Un échantillon de muscle pectoral a été découpé, conditionné sous vide puis congelé par immersion dans un bain d'éthanol refroidi à -20°C pendant 2 h avant d'être stocké à -20°C jusqu'à l'analyse de la texture. Le reste du muscle pectoral a été pesé puis suspendu au froid (+4°C) en sachet plastique pour la mesure de l'exsudat selon Honickel et al. (1994), après 48 h de stockage (soit à 72 h *post mortem*).

Mesures réalisées à 72 h post mortem : le muscle pectoral a été retiré du sachet puis pesé pour la détermination des pertes par exsudation. Les coordonnées trichromatiques ont été de nouveau mesurées sur une coupe fraîche du muscle pectoral et sur sa surface. Un échantillon a été congelé dans les mêmes conditions que celles décrites à 24 h *post mortem* pour la mesure de la texture.

Pour la mesure de la texture, les échantillons ont été décongelés 2 h dans un bain d'eau à 10°C. La texture a été évaluée par le test de compression by-cyclique sur échantillon cru, selon la méthode décrite par Lepetit et al. (1984 ou 1986 ?). Lors de ce test, les contraintes verticales enregistrées à 20 et 80 % de la déformation, soit K₂₀ et K₈₀, sont

enregistrées et exprimées en N/cm². Le K₂₀ mesure principalement la réponse de la structure myofibrillaire du muscle à la contrainte verticale et le K₈₀ la réponse de la structure conjonctive (Lepetit et al., 1984 ou 1986 ?).

1.3. Détermination de l'activité AMPK

L'AMP-activated protein kinase, ou AMPK, est une enzyme impliquée dans la régulation du métabolisme du glycogène. Son niveau de phosphorylation (ou d'activation) favorise la glycogénolyse. Il a été étudié dans les deux muscles prélevés immédiatement après l'abattage. Les mesures ont été réalisées par Western Blot sur 6 animaux par groupe (ceux utilisés pour l'analyse du transcriptome ; Hazard et al., 2009) en utilisant des anticorps spécifiques dirigés contre l'AMPK phosphorylée ou non sur la thréonine172. Les données ont été normalisées par la vinculine (protéine de référence).

1.4. Analyses des métabolites musculaires

Les concentrations de glycogène et de ses principaux métabolites entrant dans le calcul du potentiel glycolytique ou PG (Monin et Sellier, 1985), ont été mesurées sur les deux muscles prélevés immédiatement après le sacrifice. Le glycogène et l'acide lactique ont été déterminés par des méthodes enzymatiques classiques, après hydrolyse du glycogène par l'amyloglucosidase (Dalrymple et Hamm, 1973, pour le glucose et le glucose-6-phosphate ; Bergmeyer, 1974, pour le lactate). Le PG représente la quantité de composés glucidiques susceptibles de se transformer en acide lactique lors de la glycolyse *post mortem*. Cette quantité est exprimée en μmol d'« équivalents lactate » par gramme de tissu frais :

$\text{PG} = 2 ([\text{glycogène}] + [\text{glucose}] + [\text{glucose-6-P}]) + [\text{lactate}]$

Les composés phosphorylés (ATP, AMP, IMP, phosphocréatine et créatine) ont été séparés par HPLC. La concentration des différents composés a été calculée par rapport à une gamme étalon et exprimée en $\mu\text{mol/g}$.

1.5. Analyses statistiques

L'effet du traitement a été testé par analyse de variance. Sauf indication contraire, les données sont présentées sous la forme moyenne \pm SEM (SEM ; erreur standard de la moyenne).

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Valeurs de pH et métabolites

Seules les valeurs de pH enregistrées dans les muscles de la cuisse étaient significativement influencées par le traitement (transport + contention) (Figure 1). Les animaux ayant subi le traitement présentaient des valeurs de pH à 20 min

et 24 h *post mortem* supérieures à celles obtenues chez les témoins.

Figure 1 : Effet d'un stress de pré-abattage sur les valeurs de pH dans les muscles de poulet à 20 min (pH₂₀) et 24 h (pH_u) *post mortem* (n=15 ; moyenne \pm E.T.)

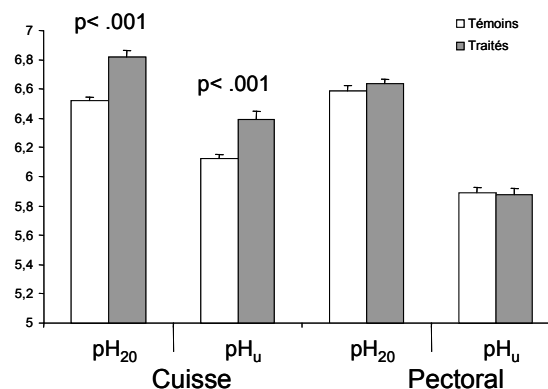


Tableau 1 : Effet d'un stress sur les métabolites musculaires immédiatement après l'abattage des poulets (n = 15 ; moyenne \pm E.T.)

	Témoins	Traités	P
<i>Cuisse</i>			
Créatine	65,0 \pm 1,2	66,4 \pm 0,9	NS
Créatine-P	3,7 \pm 0,7	5,1 \pm 0,9	NS
IMP	2,2 \pm 0,2	2,5 \pm 0,3	NS
AMP	0,26 \pm ,02	0,31 \pm ,04	NS
ATP	5,2 \pm 0,3	4,9 \pm 0,4	NS
Glycogène	5,8 \pm 1,1	3,7 \pm 0,7	NS
Glucose	1,8 \pm 0,1	1,0 \pm 0,1	***
Glucose-6-P	1,4 \pm 0,2	0,7 \pm 0,1	***
Lactate	36,1 \pm 1,6	28,7 \pm 2,6	*
PG	54,1 \pm 2,1	39,4 \pm 3,4	***
<i>Pectoral</i>			
Créatine	82,9 \pm 0,8	79,8 \pm 1,0	*
Créatine-P	15,4 \pm 1,0	15,6 \pm 1,5	NS
IMP	1,3 \pm 0,1	1,1 \pm 0,1	NS
AMP	0,29 \pm ,04	0,22 \pm ,05	NS
ATP	7,2 \pm 0,2	6,8 \pm 0,2	NS
Glycogène	27,0 \pm 2,2	24,0 \pm 2,4	NS
Glucose	1,3 \pm 0,1	1,4 \pm 0,1	NS
Glucose-6-P	0,9 \pm 0,2	0,4 \pm 0,1	NS
Lactate	35,1 \pm 3,3	33,7 \pm 2,2	NS
PG	93,3 \pm 3,8	85,2 \pm 3,4	NS

***, p < 0.001 ; *, p < 0.05 ; NS, non significatif.

Les concentrations de métabolites dans le muscle pectoral n'étaient pas influencées par le traitement, à l'exception de la concentration en créatine qui était significativement supérieure chez les témoins (Tableau 1). Dans la cuisse, le potentiel glycolytique (PG) était significativement réduit chez les animaux traités mais cette différence était essentiellement due à une différence de concentration de lactate. Les animaux ayant subi le traitement présentaient en outre des concentrations inférieures en glucose et glucose-6-P dans la cuisse. La concentration en glycogène enregistrée dans le muscle pectoral est proche de celles enregistrées chez le poulet par d'autres auteurs (Debut *et al.*, 2003 ; El Rammouz *et al.*, 2004). Il est notable que la concentration en glycogène était très faible dans la cuisse. Bien que les valeurs de PG de la cuisse

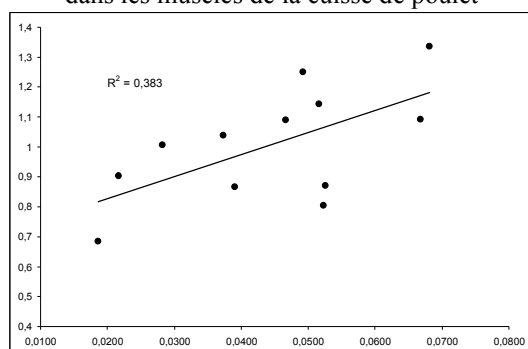
observées dans la présente étude (environ 45 $\mu\text{mol/g}$) soient plus faibles que celles déjà reportées chez le poulet (de l'ordre de 75 $\mu\text{mol/g}$; Debut *et al.*, 2005), il apparaît dans les deux études que le lactate contribue pour une très grande part (plus de 80 %) à la valeur du PG dans les muscles de la cuisse.

2.2. Phosphorylation de l'AMPK

La part relative d'AMPK phosphorylée, exprimée par rapport à la protéine de référence ne dépendait pas significativement du traitement, et ce quel que soit le muscle considéré ($1,01 \pm 0,03$ et $1,00 \pm 0,05$; dans le pectoral et la cuisse, respectivement). La phosphorylation de l'AMPK est en grande partie contrôlée par le rapport AMP/ATP. Celui-ci augmente avec le niveau d'activité contractile du muscle.

Dans le cas présent, les animaux étaient transportés en contention et leur mobilité était de ce fait réduite. C'est sans doute la raison pour laquelle le traitement n'affectait pas significativement la phosphorylation de l'AMPK. Néanmoins, au-delà de l'effet du traitement, on peut constater, dans la cuisse seulement, l'existence d'une relation positive et significative ($p < 0,05$) entre le niveau de phosphorylation de l'AMPK et le ratio AMP/ATP qui est un indicateur du turn over de l'ATP, et donc du niveau d'activité contractile du muscle (Figure 2). Cette relation n'est en revanche pas significative dans le muscle pectoral.

Figure 2 : Relation entre le niveau de phosphorylation de l'AMPK et le ratio AMP/ATP dans les muscles de la cuisse de poulet



2.3. Indicateurs des qualités de la viande (muscle Pectoral)

A 24 h *post mortem*, les différences observées entre les animaux témoins et traités étaient peu nombreuses : seuls les paramètres de couleur b^* sur la coupe et L^* sur la surface différaient (Tableau 2), les variations étant toutefois de faible amplitude. La différence d'indice de jaune (b^*) observée à 24 h *post mortem* sur la coupe ne se retrouvait plus après 48 h de stockage. En revanche, la différence de luminosité (L^*) était confirmée à 72 h *post mortem* : les animaux traités présentaient une

moindre luminosité que les animaux témoins. Cet effet ne peut s'expliquer par des différences de pH (vitesse ou amplitude) puisque les animaux transportés présentaient des valeurs de pH dans le muscle pectoral identiques à celles des témoins.

Tableau 2. Effet d'un stress de pré-abattage (transport + contention) sur les indicateurs de qualité de viande dans le muscle pectoral ($n = 15$; moyenne \pm E.T.)

	Témoins	Traités	P
24 h post mortem			
coupe			
L^*	$55,1 \pm 1,0$	$54,7 \pm 0,9$	NS
a^*	$1,9 \pm 0,3$	$1,6 \pm 0,2$	NS
b^*	$13,1 \pm 0,5$	$14,6 \pm 0,5$	*
surface			
L^*	$54,9 \pm 0,8$	$52,3 \pm 0,7$	*
a^*	$4,9 \pm 0,7$	$5,0 \pm 0,7$	NS
b^*	$13,4 \pm 0,7$	$14,3 \pm 0,7$	NS
K_{20} (N/cm ²)	$4,2 \pm 0,4$	$4,4 \pm 0,4$	NS
K_{80} (N/cm ²)	$18,2 \pm 1,0$	$19,2 \pm 1,0$	NS
72 h post mortem			
coupe			
L^*	$55,8 \pm 0,6$	$55,2 \pm 0,6$	NS
a^*	$0,6 \pm 0,2$	$0,7 \pm 0,2$	NS
b^*	$14,3 \pm 0,4$	$15,6 \pm 0,6$	NS
surface			
L^*	$56,8 \pm 0,5$	$53,9 \pm 0,6$	**
a^*	$1,2 \pm 0,2$	$1,2 \pm 0,2$	NS
b^*	$14,8 \pm 0,6$	$14,9 \pm 0,7$	NS
K_{20} (N/cm ²)	$3,5 \pm 0,5$	$3,8 \pm 0,5$	NS
K_{80} (N/cm ²)	$19,3 \pm 0,5$	$18,8 \pm 1,0$	NS
Exsudat (%)	$1,1 \pm 0,1$	$0,9 \pm 0,05$	NS

**, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$; NS, non significatif.

DISCUSSION GENERALE - CONCLUSION

Ce second volet de l'étude concernant les réponses du muscle au stress était consacré à certaines réponses phénotypiques en lien avec le déterminisme de la qualité des viandes (métabolisme énergétique). Les résultats indiquent que les réponses métaboliques au test de contention + transport dépendent du muscle considéré. La glycogénolyse et la glycolyse ont été activées pendant le transport dans les muscles de la cuisse, comme l'indiquent les différences de concentration, en glucose et en glucose-6-P ainsi que la réduction du PG, mais pas dans le muscle pectoral. L'absence d'effet marqué du traitement dans les muscles de la cuisse sur la phosphorylation de l'AMPK pourrait suggérer que l'activation métabolique ne résulterait pas d'une activité physique intense. Néanmoins, contrairement au muscle pectoral, les muscles de la cuisse sont impliqués dans le maintien de la posture et on peut raisonnablement supposer qu'ils aient été métaboliquement plus sollicités pendant le transport que les muscles pectoraux (les poulets n'avaient pas la possibilité de battre des ailes). D'autre part, les animaux transportés présentaient une concentration de lactate inférieure à celle des animaux témoins dans les muscles de la cuisse, alors qu'ils ont consommé une plus grande quantité de glycogène.

Cette différence pourrait s'expliquer par le fait que le muscle s'est adapté à ces modifications biochimiques en accélérant l'évacuation de l'acide lactique vers le foie, par la circulation sanguine. Mais nous pouvons également faire l'hypothèse d'une activation de l'oxydation de l'acide pyruvique, produit final de la glycolyse, via le cycle de Krebs, en réponse au stress. L'observation réalisée par Hazard et al. (2009) sur ces animaux et concernant la diminution d'expression du gène codant pour l'enzyme lactate déhydrogénase (impliquée dans la réduction du pyruvate en lactate) milite en faveur de cette dernière hypothèse.

Les réponses métaboliques observées dans ce volet sur le plan phénotypique sont en cohérence avec les résultats obtenus par Hazard et al. (2009) montrant un effet du stress sur l'expression de gènes en lien avec le métabolisme du glucose. Nos résultats montrent donc pour la première fois chez une espèce d'intérêt agronomique que la régulation du

métabolisme musculaire en réponse à un stress à court terme ne met pas en jeu seulement des mécanismes biochimiques classiques (phosphorylation, régulation allostérique,...) mais également la variation d'expression de certains gènes.

D'autre part, nos résultats suggèrent que les modifications métaboliques dans les muscles de la cuisse ne sont pas déterminées par une augmentation significative du niveau d'activité physique. Ces modifications sembleraient résulter plutôt d'autres composantes des réponses de stress. Enfin, certains paramètres de la couleur varient significativement dans le muscle pectoral en réponse au transport et ces variations ne sont pas déterminées par des variations de pH. Les mécanismes par lesquels les réponses de stress affectent ces indicateurs de qualités des viandes méritent d'être étudiés plus en détail.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Aksit M., Yalcin S., Ozkan S., Metin K. and Ozdemir D., 2006. *Poult Sci*, (85), 1867-1874.
- Almon R. R., Dubois D. C., Yao Z., Hoffman E. P., Ghimbovski S. and Jusko W. J., 2007. *Physiol. Genomics*, (30), 282-299.
- Bergmeyer H.U., 1974. In: *Methods of enzymatic analysis*. Bourne G.H. (ed.). New York Academic Press. : Pages 1127, 1196, 1238, 1464.
- Berri C., Debut M., Sante-Lhoutellier V., Arnould C., Boutten B., Sellier N., Baeza E., Jehl N., Jégou Y., Duclos M. J. and Le Bihan-Duval E., 2005. *Br Poult Sci*, (46), 572-9.
- Dalrymple R.H. & Hamm R., 1973. *J. Food Technol.*, 8: 439-444.
- Debut M., Berri C., Baeza E., Sellier N., Arnould C., Guemene D., Jehl N., Boutten B., Jégou Y., Beaumont C. and Le Bihan-Duval E., 2003. *Poult Sci*, (82), 1829-1838.
- Debut M., Berri C., Arnould C., Guemene D., Sante-Lhoutellier V., Sellier N., Baeza E., Jehl N., Jégou Y., Beaumont C. and Le Bihan-Duval E., 2005. *Br Poult Sci*, (46), 527-35.
- El Rammouz, R., Berri, C., Le Bihan-Duval, E., Babilé, R., Fernandez, X. 2004. *Poult. Sci.*, 83 : 1445-1451.
- Fernandez X. and Tornberg E., 1991. *J. Muscle Food*, (2), 209-235.
- Foury A., Devillers N., Sanchez M.-P., Griffon H., Le Roy P. and Mormède P., 2005. *Meat Sci.*, 69, 703-707.
- Hazard D., Molette C., Rémignon H. & Fernandez X. (2009). *Huitièmes Journées de la Recherche Avicoles*, dates, lieu, sous presse.
- Henriksen J. E., Alford F., Vaag A., Handberg A. and Beck-Nielsen H., 1999. *Metabolism*, (48), 1128-1135.
- Jeacocke R.E., 1977. *J. Food Technol.*, 12 : 375-386.
- Lepetit J., Ouali A. & Salé P., 1986 ou 1984 ? . *Meat Sci.*, 16, 161-174.
- Kannan G., Heath J., Wabeck C., Souza M., Howe J. and Mench J., 1997. *Poult Sci*, (76), 523-529.
- Menconi M., Fareed M., O'Neal P., Poylin V., Wei W. and Hasselgren P. O., 2007. *Crit Care Med*, (35), S602-8.
- Monin G. & Sellier P., 1985. *Meat Sci.*, 13, 49-63.
- Navegantes L. C., Migliorini R. H. and do Carmo Kettelhut I., 2002. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*, 5 : 281-286 ?.
- Navegantes L. C., Resano N. M. Z., Migliorini R. H. and Kettelhut I. C., 2001. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, (281), E449-454.
- Nijdam E., Delezie E., Lambooi E., Nabuurs M., Decuypere E. and Stegeman J., 2005. *Poult Sci*, (84), 467-474.
- Viguerie N., Clement K., Barbe P., Courtine M., Benis A., Larrouy D., Hanczar B., Pelloux V., Poitou C., Khalfallah Y., Barsh G. S., Thalamas C., Zucker J.-D. and Langin D., 2004. *J Clin Endocrinol Metab*, (89), 2000-2014.
- Wang M., 2005. *Nutrit. & Metabol.*, 2 : 3.