LES ACIDES AMINÉS ET LES ACIDES CARBOXYLIQUES DANS LE CÆCUM DU LAPIN ⁽¹⁾

Josette MARTY, P. RAYNAUD et J. CARLES*

*Laboratoire de Physiologie animale,
Institut de Physiologie,
84 Grande Rue Saint-Michel,
31078 Toulouse*

** Laboratoire de Biologie végétale,
Institut catholique,
31 rue de la Fonderie,
31068 Toulouse Cedex*

RÉSUMÉ

L'analyse biochimique des acides aminés libres et des acides carboxyliques intéresse le contenu de l'intestin grêle, du cæcum et du côlon de Lapin. Une étude comparative de ces trois régions intestinales, et les modifications provoquées par des variations alimentaires, permettent d'attribuer à la microflore intestinale un rôle prépondérant dans la production des substances étudiées à l'intérieur de la cavité cæcale.

INTRODUCTION

Bien que son existence soit signalée depuis fort longtemps dans le tube digestif de nombreuses espèces animales, on connaît assez mal la nature et le rôle de la microflore intestinale. L'utilisation d'animaux axéniques et holoxéniques a permis d'attribuer un rôle à certains microorganismes, notamment dans la fabrication d'acides aminés, d'acides organiques volatils, d'amines et de certaines vitamines (vitamines du groupe B).

Les nombreuses études consacrées au rumen ont montré le rôle très important des microorganismes chez les animaux polygastriques. En effet, l'absence de cellulase dans les sucs digestifs de l'hôte est compensée par l'action des cellulases microbiennes.

(¹) Ce travail est une partie de la Thèse d'État inscrite aux Archives originales du Centre de Documentation du C. N. R. S. sous le numéro A. O. 5241.

La dégradation des structures cellulosiques avant la mise en œuvre des sucs digestifs animaux ou bactériens augmente considérablement le coefficient d'utilisation digestive des végétaux ingérés.

Chez les monogastriques, les études poursuivies ces dernières années sur les animaux axéniques ont montré que les microorganismes ont une influence non seulement sur la composition du contenu digestif, mais aussi sur la morphologie de l'intestin et sur les métabolismes physiologiques de l'hôte (DUCLUZEAU et RAIBAUD, 1967 ; FAUCONNEAU et MICHEL, 1970).

Le rôle des microflores vivant dans le tube digestif n'est donc pas négligeable. C'est pourquoi nous nous sommes proposés dans le présent travail d'étudier l'action *in situ* des microorganismes sur le bol alimentaire après l'intestin grêle. Pour cette étude, nous avons choisi le Lapin qui représente un cas intermédiaire entre l'Homme et les Ruminants. C'est, en effet, un animal qui se nourrit de végétaux et possède un cæcum très développé. Mais à la différence des Ruminants, la microflore intestinale (surtout développée dans la partie postérieure du tube digestif) exerce essentiellement son activité, comme chez les Mammifères monogastriques, sur les composants alimentaires qui ont échappé à l'action des sucs digestifs et à l'absorption dans l'intestin grêle.

Les travaux effectués sur le Lapin cæcumectomisé (HERNDON et HOVE, 1955 ; BACQUES et PERRET, 1971) et sur le Lapin axénique (YOSHIDA *et al.*, 1968) montrent que la pratique de la cæcotrophie est liée à la double présence du cæcum et des microorganismes. Les auteurs concluent que dans le cæcum les microorganismes effectuent la transformation des différentes formes azotées et des substances non protéiques en protéines microbiennes possédant une plus grande valeur nutritive.

Pour comprendre comment s'effectuent ces transformations, nous avons cherché à préciser les conditions écologiques et métaboliques de la microflore considérée globalement. Pour cela, nous avons choisi d'étudier les produits du métabolisme intermédiaire, notamment les acides organiques et les acides aminés libres dont l'étude est liée à celle plus vaste de l'utilisation des résidus digestifs par les microorganismes pour l'édification de leurs structures protéiques.

MATÉRIEL, UTILISÉ ET TECHNIQUES D'ANALYSE

Notre but est de rechercher l'origine des acides aminés et des acides organiques libres susceptibles de se trouver dans la cavité cæcale. Des variations du régime alimentaire nous aideront à définir la part qui revient à la microflore dans la composition de ce contenu. Pour obtenir une interprétation physiologique des résultats acquis dans le cæcum, nous avons comparé la composition du contenu cæcal et celle du contenu présent avant et après le cæcum, c'est-à-dire dans l'intestin grêle considéré dans sa totalité ou dans sa région terminale (15 cm avant la valvule iléo-cæcale) puis dans le côlon proximal (10 cm après la valvule iléo-cæcale).

A. — Les animaux

L'ensemble des résultats que nous présentons porte sur une centaine de lapins issus de croisements non contrôlés, répartis en neuf lots constitués à différentes époques pendant trois années consécutives. Avant d'être soumis à l'expérimentation, nos animaux sont nourris pendant deux mois à l'animalerie du laboratoire où ils reçoivent une alimentation végétale constituée d'avoine

de luzerne, de carotte et d'eau. Au cours de l'expérimentation, ce régime alimentaire a été l'objet de deux modifications. Un lot a reçu uniquement de la carotte pendant dix jours. Un deuxième lot a été privé de nourriture pendant trois jours.

B. — L'échantillonnage

Pour conserver une homogénéité à l'ensemble des résultats, tous les échantillons prélevés ont été purifiés par un traitement identique en vue de l'analyse chromatographique. Ce traitement consiste en une extraction à chaud par l'alcool à 75°, suivie d'une extraction aqueuse. Après filtration et élimination de l'alcool, les deux extraits sont réunis et le fractionnement des composés organiques est effectué sur colonnes de résines échangeuses d'ions, les acides aminés sur Dowex 50, les acides organiques sur Dowex 1.

L'étude des protéines (corps microbiens du culot de centrifugation, tissus de la carotte) est faite sur le résidu par hydrolyse acide en ampoule scellée à l'autoclave à 120° pendant six heures.

C. — Les techniques chromatographiques

L'étude des acides aminés libres et des acides carboxyliques en solution dans le milieu liquide des différents échantillons est essentiellement une étude chromatographique bidimensionnelle sur papier, prolongée par une deuxième analyse quantitative permettant une évaluation de la quantité de chaque acide avec une précision de 5 p. 100. Cette dernière étude comporte un nombre d'analyses plus réduit qui est fonction de l'homogénéité des observations faites sur papier.

Les acides aminés. — Le dosage quantitatif des acides aminés est réalisé sur autoanalyseur Technicon automatisé par un programmeur (CARLES et ABRAVANEL, 1970). Le dosage est effectué dans deux colorimètres en série ($\lambda = 440$ et 570 nm) et nous estimons la sensibilité de la méthode au 1/1 000 de micromole. Compte tenu de l'intérêt des « familles » d'acides aminés dans la synthèse des protéines, nous avons classé les acides aminés selon les groupes le plus souvent admis par les différents auteurs (BERNFELD, 1963 ; COHEN, 1967).

Les acides carboxyliques. — Nous avons dosé les acides organiques par potentiométrie après élution sur colonne de célite par un gradient de butanol en solution dans le chloroforme (CARLES, 1968). La méthode permet de doser un micro-équivalent d'acide. Elle est donc moins sensible que la méthode du dosage des acides aminés sur Technicon puisque sa sensibilité maximale atteint seulement le 1/100 de micro-équivalent. Cependant, elle présente par rapport aux autres méthodes enzymologiques ou colorimétriques, l'avantage de séparer et doser simultanément chacun des acides en solution. Nous avons essayé en outre de doser sur un même enregistrement les acides carboxyliques fixes et volatils en alcanisant l'éluat à la sortie des colonnes. L'adaptation de la méthode s'est révélée délicate pour le contenu cæcal. La difficulté réside dans la complexité de ce matériel, encombré de pigments végétaux et bactériens qui rendent délicate l'extraction des acides dans leur totalité. En fait, nous nous sommes trouvés devant deux nécessités impérieuses et contradictoires ; d'une part, isoler tous les acides organiques ce qui est possible avec une extraction acide, d'autre part prévenir le dégagement des acides volatils ce qui exige un milieu alcalin. Nous avons adopté une solution intermédiaire : la double extraction alcoolique et aqueuse.

D. — Dosage de l'acidité organique totale

Pour doser l'acidité organique totale nous avons procédé en deux temps : dosage de l'acidité fixe au pH-mètre selon le principe de Pucher adapté par CARLES (1963) puis dosage par la soude N/200 de l'acidité volatile après entraînement des acides volatils par la vapeur d'eau. Dans les deux cas les acides carboxyliques sont libérés de leurs sels par un acide minéral. La somme des deux acidités nous indique l'acidité organique totale. Puisque l'étude des acides organiques a été effectuée sur l'extract alcoolique, nous avons dosé l'acidité organique de cet extrait. Pour certains échantillons du cæcum et du côlon, les valeurs obtenues sont inférieures aux valeurs obtenues après extraction acide. Cette différence est peut-être due à l'acide phosphorique libéré ou aux complexes organiques plus ou moins insolubles avant d'être déplacés par l'acide. Cependant, la différence doit être attribuée essentiellement aux pertes dues à la filtration nécessaire pour clarifier l'extract destiné au passage sur colonnes de résines échangeuses.

Nous avons été amenés à doser le phosphore (FLEURY, LECLERC, 1943) pour effectuer dans le dosage de l'acidité organique la correction relative à la deuxième fonction de l'acide phosphorique dont le pH égal à 7,2 se situe entre les limites du dosage des acides organiques et doit donc être nécessairement déduite.

E. — Les méthodes classiques ont été utilisées pour la chromatographie et le dosage des sucres. La concentration du sodium et du potassium a été mesurée au spectrophotomètre à flamme. La recherche de l'urée a été effectuée par la méthode de Conway en présence d'uréase. Pour le dosage des guanidines nous avons utilisé le circuit analytique Technicon en appliquant la réaction colorée caractéristique avec l' α -naphthol (CARLES, ABRAVANEL, 1970). Le dosage est effectué à la longueur d'onde de 550 nm.

F. — Nous avons essayé de donner une représentation valable des acides aminés des corps microbiens dans la mesure où il est possible de les isoler du milieu complexe que constitue le matériel digestif cæcal. La première étude a été faite en janvier 1968. Nous avons alors isolé les corps microbiens des résidus végétaux les plus volumineux par filtration sur tissu, lavages et centrifugation fractionnée (2 000 et 12 000 t/mn). Pour la deuxième étude (septembre 1969) nous avons effectué une centrifugation supplémentaire à 18 000 t/mn. Dans ce dernier cas, l'examen entre lame et lamelle montre que le culot est constitué essentiellement de micro-organismes. Cependant, on observe quelques résidus végétaux très clairsemés. Sur le matériel ainsi préparé et broyé à l'Ultraturrax, nous avons analysé les acides aminés libres et les acides aminés des protéines après hydrolyse acide.

G. — *Expression des résultats*

Nous avons choisi deux modes d'expression : les teneurs et les proportions relatives.

Les teneurs (ou concentrations) exprimées en quantités moléculaires ou en équivalents sont rapportées à 100 g soit de liquide digestif (après détermination de la teneur en eau du matériel digestif), soit de substance sèche (étude des protéines).

Dans le cas des proportions relatives, chaque acide aminé ou organique est exprimé par son pourcentage par rapport à l'ensemble des acides étudiés.

RÉSULTATS ANALYTIQUES

Pour une meilleure compréhension des faits observés, nous avons été amenés à rechercher certaines substances, en particulier les glucides, l'urée, les guanidines et certains cations. Ces résultats, plus succincts, seront énoncés avant d'aborder l'étude des acides organiques et des acides aminés.

Nous avons trouvé dans la partie terminale de l'intestin grêle de petites quantités de glucides (2 à 3 g pour 100 g de matériel frais). Ce sont surtout du glucose et du saccharose, mais aussi de petites quantités de fructose, de raffinose et de ribose. Ces sucres ne se retrouvent pas dans le cæcum où il faut cependant signaler la présence régulière d'osides, probablement du cellobiose provenant de la fermentation de la cellulose par les exocellulases bactériennes.

C'est en vain que nous avons recherché la présence de quantités appréciables d'urée dans le contenu digestif cæcal. Par contre, nous avons pu mettre en évidence outre l'arginine, plusieurs guanidines dans la liqueur digestive de l'intestin grêle, du cæcum et du côlon. Nous avons constaté en particulier, que le radical guanidine y est combiné à des acides carboxyliques volatils. C'est ainsi que nous avons trouvé, outre l'arginine et l'homoarginine, la créatinine, les acides guanidino-succinique, guanidino-acétique, guanidino-propionique, guanidino-butyrique et isobutyrique, en quantité environ dix à quarante fois inférieure aux deux premiers. Cependant, dans le contenu cæcal, alors que la plupart de ces acides prédominent, nous n'avons jamais obtenu la créatinine. Par contre, celle-ci est régulièrement présente dans l'intestin grêle et même souvent dans le côlon.

Le pH du contenu digestif a été mesuré systématiquement sur tous les prélè-

vements. Il est de l'ordre de 5,5 à 6 unités dans le cæcum. Il est légèrement plus élevé mais le plus souvent en-dessous de la neutralité dans le côlon proximal (6,1 à 7). La persistance d'un pH légèrement acide dans les parties terminales du tube digestif s'accompagne d'une diminution de la concentration du sodium, qui passe de 1,07 g/l dans l'intestin grêle, à 0,75 dans le cæcum et 0,7 g dans le côlon, et d'une augmentation de la concentration du potassium (0,78 g/litre dans l'intestin grêle, 0,9 dans le cæcum et 1,5 dans le côlon. Globalement, les deux cations représentent en moyenne 6,7 méq pour 100 g dans l'intestin grêle, 5,7 méq/100 g dans le cæcum et 7 méq/100 g dans le côlon.

A. — Étude des acides organiques

Acidité organique totale.

L'acidité organique (tabl. 1) du matériel prélevé dans l'intestin grêle total est en moyenne de 16,8 méq/100 g, elle est plus grande déjà dans l'intestin grêle terminal (18,1 méq/100g) et surtout dans le cæcum (27,1 méq/100 g) et le côlon proximal (23,2 méq/100 g). L'acidité organique au niveau du cæcum et du côlon est donc supérieure à celle observée dans l'intestin grêle.

TABLEAU I

Concentration des acides organiques en solution dans le liquide digestif

Les valeurs sont exprimées en méq d'acides dans 100 g de liquide.
Nous avons fait apparaître les limites de confiance au seuil P 0.05
() nombre de dosages

Partie étudiée	Acides organiques volatils (V)	Acides organiques fixes (F)	Acides organiques totaux (V + F)
IG total (5)	4,8 ± 0,97	12,0 ± 2,45	16,8 ± 3,42
IG ter. (12)	11,1 ± 1,32	7,0 ± 0,92	18,1 ± 2,24
Cæcum (20)	15,4 ± 1,81	12,1 ± 1,09	27,5 ± 2,89
Côlon (12)	11,7 ± 1,98	11,5 ± 2,46	23,2 ± 4,44

Dosage individuel des acides fixes et volatils dans les contenus cæcal et colique.

Sur la figure 1 où les courbes sont représentatives de l'ensemble de nos analyses, on peut voir que dans le cæcum, l'acide acétique est nettement prépondérant puisqu'il représente sensiblement le quart de l'ensemble des seize acides mis en évidence. Viennent ensuite l'acide butyrique (12 p. 100) et l'acide succinique (12 p. 100) dont les proportions relatives sont nettement supérieures à celles des acides restants. Les proportions des acides glycérique, glycolique et malique sont comprises entre 6 et 8 p. 100 alors que l'acide citrique (2,7 p. 100) n'est pas mieux représenté que l'acide malonique (2,9 p. 100) ou que l'acide formique (2,6 p. 100).

L'étude de la concentration de chacun des acides dans le cæcum et le côlon

proximal fait apparaître des variations importantes de certains acides que le dosage global ne laissait pas pressentir. Ainsi, la concentration de la plupart des acides est plus faible dans le côlon. Il convient de dire ici que dans nos différentes analyses, la composition du matériel digestif dans les premiers centimètres du côlon est sujette à des variations plus importantes que dans le cæcum. Parfois, la composition des deux contenus offre une ressemblance certaine. Mais le plus souvent cette composition est différente : dans ce cas, la concentration des acides fumarique et glutarique est nettement plus élevée.

FIG. 1. — *Acides carboxyliques des contenus cæcal et colique*

Les enregistrements 1 et 2 ont été obtenus sur le même lapin.

L'enregistrement 3 a été obtenu sur un autre lapin.

Les enregistrements sont réduits dans les mêmes proportions.

Connaissant la nature et l'importance des acides carboxyliques dans les parties terminales du tube digestif, nous avons cherché à expliquer leur présence. Pour cela, nous avons établi une comparaison avec le matériel digestif de l'intestin grêle. Pour cette étude, notre attention s'est portée essentiellement sur les acides fixes car les acides volatils très peu répandus chez les végétaux, sont connus principalement dans les phénomènes de fermentations notamment microbiennes.

Étude des acides carboxyliques fixes dans l'intestin grêle, le cæcum et le début du côlon.

Les concentrations.

La comparaison de chacun des acides fixes considérés successivement dans les contenus de l'intestin grêle, total et terminal, puis du cæcum, nous amène à reconnaître trois groupes d'acides selon la variation de leur concentration (fig. 2).

1° La concentration diminue pour l'acide lactique et surtout l'acide malonique. En effet, nous trouvons 3,5 méq d'acide malonique dans 100 g de liquide dans l'intestin grêle total, 2,98 dans la partie terminale et à peine 0,76 dans le cæcum.

2° La concentration augmente pour l'acide glycolique qui est deux fois plus abondant à la fin de l'intestin grêle, quatre fois plus dans le cæcum. Les acides glutarique, maléique, les acides uroniques apparaissent dans le cæcum.

3° La concentration diminue à la fin de l'intestin grêle puis augmente dans le cæcum sans atteindre les valeurs observées dans la totalité de l'intestin grêle pour les acides citrique, malique, mais en les dépassant largement pour les acides fumarique, glycérique, hydroxyglutarique et succinique. Ainsi, la concentration de l'acide citrique passe successivement de 1,86 méq p. 100 g à 0,2 puis à 0,74 alors que celle de l'acide succinique égale à 0,78 dans l'intestin grêle total, 0,51 dans l'intestin grêle terminal, atteint 4,25 méq dans le cæcum.

La concentration de la plupart des acides fixes diminue dans le côlon (acides glycérique, glycolique, hydroxyglutarique, malique, malonique, succinique). Par contre, la concentration de certains acides (acides fumarique, citrique, glutarique, maléique) augmente plus ou moins, parfois de façon assez inattendue. La concentration de l'acide glutarique passe de 0,23 à 2,67 méq p. 100 g si bien que cet acide devient dans le côlon aussi abondant que l'acide succinique (2,98 méq).

FIG. 2. — Concentrations des acides organiques fixes dans l'intestin

Valeurs moyennes obtenues à partir de 12 lapins

Les proportions relatives.

La répartition des acides fixes dans l'intestin grêle est donc totalement différente de celle observée dans le cæcum et le côlon proximal. Alors que l'acide malonique prédominait très nettement dans l'intestin grêle, il représente à peine 6 p. 100

des acides fixes du contenu du cæcum, 2 p. 100 dans le côlon proximal. Par contre, les proportions de l'acide succinique varient inversement, de 6 p. 100 dans l'intestin grêle, elles passent à 35 p. 100 dans le cæcum. Dans certains contenus cæcaux, c'est l'acide succinique qui représente plus de la moitié des acides fixes présents.

Dans le contenu du côlon proximal, comme dans le cæcum, l'acide succinique est l'acide le plus important. Mais la caractéristique essentielle est l'importance prise par l'acide glutarique. Très faiblement représenté dans l'intestin grêle et même dans le cæcum où l'on trouve plutôt l'acide hydroxyglutarique (ses proportions atteignent parfois 17 p. 100), dans le côlon proximal l'acide glutarique peut représenter jusqu'à 40 p. 100 des acides fixes mis en évidence.

B. — *Étude des acides aminés libres*

Le contenu cæcal.

Les proportions relatives des quatre familles d'acides aminés sont ordinairement assez homogènes puisque sur les quarante chromatogrammes analysés nous avons observé seulement cinq cas où les proportions sont différentes des valeurs portées sur le tableau 2.

TABLEAU 2

Proportions relatives des acides aminés, groupés selon leur origine, dans différents contenus cæcaux

Nous avons fait apparaître les limites de confiance au seuil P 0.05

Familles	Moyenne globale (14 cæca)
Acide α -céto-glutarique	52,5 $\pm$ 4,77
Acide oxalo-acétique	24,9 $\pm$ 2,23
Acide pyruvique	18,3 $\pm$ 4,81
Pentoses	4,5 $\pm$ 1,10

Le plus souvent sur nos chromatogrammes, les variations individuelles de la plupart des acides aminés n'ont guère de répercussion sur la composition globale, car leurs proportions sont faibles ; c'est le cas par exemple de l'ornithine dont les proportions varient de 0,8 à 1,5 p. 100, du glycocole 2,5 à 3,7 p. 100, de la sérine 0,6 à 3,4 p. 100 ou de la thréonine 0,3 à 2,8 p. 100. En fait, les variations les plus importantes sont celles de l'alanine, des acides aspartique et glutamique dont les proportions sont toujours considérables par rapport aux autres acides aminés. Ainsi, l'acide glutamique représente les trois quarts de son groupe, l'acide aspartique les deux tiers, l'alanine la moitié. Si nous réunissons ces trois acides aminés (fig. 3) nous constatons qu'ils représentent à eux seuls près des deux tiers de l'ensemble des acides aminés. La valeur moyenne de la somme de leurs proportions est 63,8. Les différentes valeurs sont groupées entre 60 et 70 p. 100.

Dans le cas général, on constate que les variations des trois principaux acides aminés sont telles qu'une faible proportion d'acide glutamique est compensée par une proportion plus importante d'alanine et surtout d'acide aspartique. La proportion de l'ensemble des autres acides aminés reste sensiblement constante (30 à 40 p. 100).

FIG. 3. — Variations relatives dans quelques contenus cœcaux des principaux acides aminés
A droite sur le graphique, un cas exceptionnel

Pour les cas exceptionnels que vous avons signalés, la proportion d'alanine et d'acide glutamique est nettement supérieure ou inférieure aux valeurs généralement observées. Dans ce dernier cas, le glyocolle, la leucine, la valine, la sérine sont plus abondants alors que l'alanine, l'acide aspartique, l'acide glutamique réunis représentent à peine 35 p. 100 des acides aminés libres totaux.

L'étude comparative des contenus de l'intestin grêle, du cæcum et du côlon.

Cette comparaison sera envisagée du double point de vue des proportions relatives et des concentrations.

Les proportions relatives.

L'étude des proportions relatives de chacun des acides aminés par rapport à leur ensemble, montre que dans les trois segments intestinaux étudiés (fig. 4) les résultats sont assez homogènes ce qui nous permet de donner une valeur moyenne pour chaque acide aminé. Dans l'intestin grêle total, sur les vingt-trois acides aminés mis en évidence, la moitié d'entre eux sont présents à un pourcentage supérieur à 4 p. 100, aucun n'étant prédominant. Ce sont par ordre d'importance décroissante : le glyocolle, l'alanine, l'acide glutamique, le thréonine, la leucine, la sérine, la valine, la lysine, l'acide aspartique, l'arginine et l'isoleucine ; les acides aminés tels l'ornithine, la citrulline, la méthionine sont présents à des pourcentages souvent inférieurs à 0,5 p. 100.

Dans la partie terminale de l'intestin grêle, la répartition ne s'éloigne guère de celle qu'on trouve dans l'ensemble de l'intestin grêle. Toutefois, on remarque certaines variations : ainsi, la proportion des acides aminés constitutifs de la famille

de la sérine diminue : 39 p. 100 des acides aminés au lieu de 48 p. 100 dans l'intestin grêle total. Par contre, celle de l'acide glutamique augmente : 31 au lieu de 17 p. 100.

Cette variation s'accroît fortement dans le cæcum et le côlon proximal ; en effet, alors que dans l'intestin grêle total les acides aminés constitutifs de la famille de la sérine représentent 48 p. 100 de l'ensemble, ils n'en représentent plus que 20 et 16,2 p. 100 dans le contenu du cæcum et du côlon proximal, tandis que la famille de l'acide glutamique représente plus de la moitié des acides aminés. Alors que dans l'intestin grêle un grand nombre d'acides aminés atteint des valeurs à peu près équivalentes, dans le cæcum et le côlon proximal l'alanine, l'acide aspartique et l'acide glutamique sont les seuls acides aminés dont la proportion est supérieure à 6 p. 100.

FIG. 4. — Proportions relatives en millimoles, des acides aminés libres dans l'intestin grêle, le cæcum et le côlon proximal

Les valeurs portées sur la figure sont les moyennes des valeurs obtenues sur 17 lapins. Seuls les acides aminés dont le pourcentage est supérieur à 4 p. 100 sont nommés sur la figure.

- famille de l'acide α -cétoglutarique
- famille de l'acide pyruvique
- famille de l'acide oxalo-acétique
- famille des pentoses

Les concentrations.

A la différence des acides carboxyliques dont les concentrations ne varient guère, les concentrations en acides aminés sont l'objet de variations beaucoup plus importantes (tabl. 3).

Dans l'intestin grêle, d'une série à l'autre, la concentration en acides aminés libres totaux est très variable : 427 à 4 700 μ moles d'acides aminés pour 100 g de contenu dans la région terminale de l'intestin grêle. Nous avons constaté des varia-

tions importantes suivant les époques mais aussi d'un individu à l'autre, à l'intérieur d'une même série expérimentale.

Dans le cæcum les valeurs des concentrations sont plus homogènes. Elles varient tout au plus du simple au double alors que l'écart était de 1 à 10 dans l'intestin grêle.

Dans le côlon proximal, la concentration est du même ordre de grandeur que la concentration observée dans le cæcum.

TABLEAU 3

*Concentration chez des Lapins alimentés normalement,
des acides aminés libres dans l'intestin grêle, le cæcum et le côlon proximal*

Les concentrations sont exprimées en micromoles pour 100 grammes de liquide digestif. Celui-ci est évalué à partir du poids moyen du contenu total prélevé dans chacun des segments intestinaux après élimination de la matière sèche. Le nombre d'animaux sur lesquels portent les dosages, est indiqué pour chaque série.

Partie étudiée	Poids du contenu		Concentration		Glu	
	total (g)	liquide (g)	AA libres totaux	Ala + Asp + Glu		
8 {	IG tot.	60	56,5	1 840	455	175
	Cæcum	133,0	105,0	730	415	228
5 {	IG ter.	7,5	7,0	659	210	72,5
	Cæcum	132,0	104,0	1 066	740	630
	Côlon	12,3	9,1	1 085	745	500
5 {	IG ter.	1,4	1,3	427	128	59
	Cæcum	76,6	60,5	1 368	885	650
	Côlon	8,3	6,1	1 315	910	695
10 {	IG prox.	9,5	8,9	3 800	1 030	460
	IG ter.	3,0	2,8	4 700	1 100	670
	Cæcum	160,0	126,0	680	440	314
	Côlon	27,0	20,0	712	447	335
3 {	Cæcum	116,0	86,0	535	372	285
	Côlon	22,0	16,2	554	361	245

La concentration en acides aminés libres totaux dans le cæcum est d'autant plus élevée que la concentration en acides aminés libres totaux dans l'intestin grêle est faible. En effet, à la concentration la plus élevée dans le cæcum (1 368 $\mu\text{M}/100\text{ g}$) correspond la plus faible des concentrations observées à la fin de l'intestin grêle (427 $\mu\text{M}/100\text{ g}$). Inversement, à une des concentrations les moins élevées dans le cæcum (680 μmoles) correspond la concentration la plus élevée dans l'intestin grêle terminal (4 700 μmoles). La concentration de l'ensemble [alanine, acide aspartique, acide glutamique] représente à peu près le quart de la concentration totale dans les différentes régions de l'intestin grêle, elle en représente les deux tiers dans le cæcum et le côlon proximal. La concentration du seul acide glutamique représente sensiblement la moitié de la concentration totale dans le cæcum et le côlon proximal, alors que le rapport est de un septième à un dixième dans l'intestin grêle.

C. — *Influence de l'apport alimentaire sur les concentrations et les proportions relatives des acides carboxyliques et aminés du contenu digestif*

Nous avons imposé à nos animaux deux sortes de régimes alimentaires. Tout d'abord, nous les avons nourris avec de la carotte. Ce choix a été motivé par la faible teneur en protéines de ce végétal et sa richesse en glucides. Ensuite, nous avons supprimé tout apport alimentaire en sucres et acides organiques par l'imposition d'un jeûne non hydrique de trois jours. Chaque lot ainsi constitué est comparé à un lot témoin d'animaux recevant le régime habituel.

Lapins nourris de carotte.

— Avant d'aborder cette étude, disons que l'absence de renseignements précis dans les tables de composition des aliments nous a amenés à étudier la composition de la carotte en acides aminés et en acides organiques.

Nous avons trouvé dans 100 g de carotte fraîche 0,1 à 0,2 millimole d'acides aminés libres et 1,6 millimole d'acides aminés protéiques soit 0,5 g d'azote total pour 100 g de carotte desséchée. Parmi les dix-huit acides aminés constitutifs des protéines de la carotte, les six acides aminés les plus importants sont l'acide aspartique (14,9 p. 100 des acides aminés protéiques totaux) l'alanine (14,5 p. 100) l'acide glutamique (8,6 p. 100) puis la valine et les leucines qui représentent à eux trois une proportion de 20,5 p. 100.

Par rapport à l'avoine et à la luzerne, les protéines de la carotte contiennent donc beaucoup moins d'acide glutamique, davantage d'alanine et surtout d'acide aspartique. L'acidité organique totale est de l'ordre de 10 méq. p. 100 g de matériel frais. Parmi les acides organiques mis en évidence, l'acide malique représente 60 à 65 p. 100 de cette acidité, l'acide succinique 10 à 13 p. 100, l'acide citrique 8 à 10 p. 100. Le reste est constitué par de petites quantités d'acide acétique, d'acide fumarique, d'acide lactique, d'acide glycerique, d'acide glycolique et d'acide malonique.

Par rapport à l'avoine et à la luzerne, la carotte contient beaucoup plus d'acide malique et très peu d'acide malonique puisque dans la luzerne cet acide représente jusqu'à 40 p. 100 des acides organiques présents (FAUCONNEAU, 1958).

— L'apport de carotte entraîne des modifications dans l'intestin grêle avec des proportions plus importantes d'acide aspartique, d'isoleucine, de leucine et de valine. Ces variations s'observent encore, mais très atténuées dans le cæcum. A la différence de ce qu'on observe dans l'intestin, les proportions relatives des quatre familles d'acides aminés ne varient pas, bien qu'on observe certaines différences à l'intérieur des groupes. Malgré la composition assez particulière de la carotte en acides aminés, les proportions de l'alanine, de l'acide aspartique et de l'acide glutamique y sont respectivement égales à 8, 14 et 47 p. 100, donc pratiquement inchangées par rapport aux témoins (8, 11 et 48 p. 100). On observe également une chute importante de la concentration de l'acide glutamique : en effet, alors que la concentration en acides aminés libres totaux pour 100 g de liquide digestif est de 725 μ moles à la fin de l'intestin grêle, elle passe à 417 μ moles dans le cæcum avec 190 μ moles seulement pour l'acide glutamique. Cette valeur est la plus faible que nous ayons observée dans l'ensemble des cæca analysés au cours de notre expérimentation.

— En ce qui concerne les acides organiques, l'ingestion accrue de saccharose

et d'acide malique se traduit de façon indirecte et assez inattendue, dans l'intestin grêle, par une augmentation très importante des proportions relatives des acides glycérique et glycolique. Dans le cæcum nous avons constaté une diminution de moitié des proportions relatives de l'acide succinique. L'acide malonique très peu abondant dans l'intestin grêle n'est présent qu'à l'état de traces dans le contenu cæcal.

Lapins soumis au jeûne.

Comme on pouvait s'y attendre, le jeûne s'accompagne d'une diminution pondérale du contenu qui atteint 20 à 50 p. 100, et d'une diminution de la concentration des acides aminés libres. Ceux-ci ne représentent plus dans l'intestin grêle que le quart de la valeur observée chez les témoins, le tiers dans le cæcum. La concentration en acides organiques n'a pas été étudiée.

— Cette restriction alimentaire peut se caractériser par l'importance prise dans l'intestin grêle par le glycole qui représente parfois à lui seul la moitié des acides aminés présents, et dans le cæcum par une chute des proportions relatives de l'acide glutamique 37 à 35 p. 100. mais surtout de l'alanine 11 à 8 p. 100 et de l'acide aspartique (17 à 11 p. 100).

— Dans l'intestin grêle total, le jeûne entraîne la disparition de presque tous les acides organiques fixes excepté l'acide lactique qui représente à lui seul plus de 80 p. 100 des acides.

Dans le contenu cæcal, l'acide malonique n'est plus dosable et les proportions des acides citrique et glycérique diminuent fortement. Pour d'autres acides, on constate une ressemblance avec la composition du contenu colique des témoins. Il en est ainsi notamment pour l'acide fumarique (10,6 et 10 p. 100) et l'acide succinique (26,4 et 25 p. 100). Il est en outre intéressant de remarquer que dans le cæcum des lapins inanitiés, les acides glutarique et hydroxyglutarique représentent à eux deux 23,5 p. 100 des acides fixes. La proportion est 24,8 p. 100 dans le côlon des témoins. Mais dans le cæcum des lapins soumis au jeûne, l'acide hydroxyglutarique reste le plus abondant, alors que c'est l'acide glutarique dans le côlon proximal.

D. — *Étude des corps microbiens*

Rappelons que l'étude du culot microbien isolé du contenu cæcal total a fait l'objet de deux séries expérimentales (fig. 5).

Les acides aminés libres.

Ce qui frappe au premier examen de la figure 5 c'est l'importance de l'alanine (0,33 mM p. 100 g dans la première série, 1,07 mM dans la seconde série) des acides aspartique (0,83 et 1,77) et glutamique (1,3 et 2,58) et pour une moindre part, du glycole (0,15 et 0,61) et de la lysine (0,13 et 0,38). La teneur globale de ces cinq acides est de 2,74 et 6,41 mM p. 100 g de matière sèche ce qui représente en proportions relatives 76 et 80 p. 100 des acides aminés libres considérés dans leur ensemble. L'alanine, l'acide aspartique et l'acide glutamique représentent à eux trois 2,47 et 5,4 mM soit 70 et 68 p. 100 des acides aminés libres totaux. Ces proportions sont remarquablement voisines des valeurs obtenues pour les acides aminés libres, dans l'étude du contenu cæcal considéré globalement.

FIG. 5. — Acides aminés protéiques et libres des corps microbiens, étudiés sur 2 séries de 6 lapins chacune

Série n° 1 (Janvier 1968)

Série n° 2 (Septembre 1969)

Les protéines microbiennes.

Dans les analyses présentées nous trouvons 150 (série 1) et 180 (série 2) millimoles d'acides aminés ce qui représente 3,2 et 37 g d'azote protéique pour 100 g de matériel sec. Dans les deux analyses, les acides aminés les plus abondants sont l'alanine (17,9 et 25,8 mM p. 100 g de matière sèche) l'acide glutamique (25 et 13), le glycocolle (13,4 et 14,7). Les acides aminés les moins abondants sont la tyrosine (4,5 et 3,8 mM p. 100 g) l'ornithine (2,7 à 3,2) l'histidine (2,15 et 1,8) la méthionine (0,8 et 1,7) et la cystine (1,3 et 0,9). Dans la première série l'acide glutamique est nettement prépondérant. Dans la deuxième série c'est l'alanine ; l'acide aspartique, la valine, l'isoleucine, la proline y sont plus abondants que dans la première série.

En moyenne les 3,5 g d'azote protéique sont pour moitié constitués par l'azote de la lysine (0,34 g d'azote p. 100 g de matière sèche) de l'alanine (0,30 g) de l'acide glutamique (0,28 g) de l'arginine (0,22 g) du glycocolle (0,2 g) de l'acide aspartique (0,19 g) et de la leucine (0,18 g). L'histidine, la cystine et la méthionine fournissent à peine 0,015 et 0,017 g de l'azote protéique microbien.

DISCUSSION

Étant donné que l'éthanol à forte concentration n'extrait pas tous les acides organiques (FAUCONNEAU, 1958) nous avons fait deux extractions successives : l'une par l'alcool à 75°, l'autre par l'eau. Ces deux extraits ont toujours été réunis avant

l'analyse. Il ressort de leur étude que dans le contenu du cæcum et du côlon proximal, on trouve des acides organiques en quantité sept à dix fois supérieures aux acides aminés. Il se produit en outre de grands changements dans les proportions relatives et la nature même des acides présents. Les transformations les plus remarquables sont :

- l'augmentation des acides volatils dès la région terminale de l'intestin grêle ;
- l'apparition en quantité importante de certains acides fixes : l'acide succinique dans le cæcum, l'acide fumarique et l'acide glutarique dans le côlon tandis que la plus grande partie de l'acide malonique trouvé dans l'intestin grêle disparaît à partir du cæcum ;
- l'augmentation progressive des proportions relatives de l'alanine, de l'acide aspartique et surtout de l'acide glutamique qui représente dans le côlon proximal et dans certains cæca, plus de la moitié des acides aminés libres totaux.

De nombreux facteurs sont susceptibles d'agir sur la teneur et les proportions relatives des acides organiques et des acides aminés du contenu digestif. Ce sont essentiellement l'absorption intestinale, l'apport endogène, la nature de l'alimentation et les microorganismes. Avant d'étudier le rôle de la microflore intestinale, nous rechercherons les incidences dans les différentes opérations digestives qui se déroulent de l'intestin grêle au côlon.

L'absorption intestinale

Certaines variations des proportions relatives pourraient être la conséquence d'une plus ou moins grande absorption par la paroi de l'intestin grêle. On sait, en effet, depuis les importants travaux de WILSON (1962) et WISEMAN (1964) que l'absorption des acides aminés est active et sélective. On peut penser que les acides organiques franchissent la barrière intestinale tout aussi bien que les glucides ou les acides gras supérieurs. On n'est donc pas surpris d'observer à la fin de l'intestin grêle une chute de la concentration de certains acides fixes. Si l'on en juge par la diminution de leur concentration dans la région terminale, l'acide malique, l'acide glycérique, l'acide citrique seraient absorbés beaucoup mieux que l'acide malonique.

Cependant, acides aminés et acides organiques n'ont pas totalement disparu à la fin de l'intestin grêle et pénètrent dans le cæcum. On peut se demander pourquoi une telle quantité d'acides échappe à l'absorption intestinale. Ce peut être d'abord, ainsi que nous venons de le voir, parce que la pénétration à travers la paroi intestinale est sélective : il est possible que la faible absorption de l'acide malonique soit due au fait que cet acide est un inhibiteur de la succinodéshydrogénase. Sa présence en grande quantité dans la muqueuse intestinale pourrait entraîner un mauvais fonctionnement des oxydations cellulaires. Ce peut être aussi parce que ces acides restent emprisonnés dans les corps bactériens et dans les cellules des tissus végétaux. On sait, en effet, que les enzymes digestives ne réalisent pas l'attaque de la cellulose et un pourcentage parfois élevé de structures végétales à peu près intactes peut arriver ainsi dans le cæcum.

Le matériel digestif prélevé à la fin de l'intestin grêle, contient encore non seulement des acides aminés libres, des acides organiques, mais également des guanidines et même des sucres. Ce matériel franchit la valvule iléo-cæcale et s'accumule dans le cæcum où la vitesse du transit intestinal est fortement ralentie.

Par ailleurs, la teneur en eau étant de l'ordre de 90 p. 100 dans l'intestin grêle, de 75 p. 100 dans le cæcum (tabl. 3) on peut penser que le départ de l'eau et la stase du contenu entraînent finalement une accumulation des produits solubles. Ceci peut expliquer la reconcentration de certains acides venus de l'intestin grêle. Mais si ce seul phénomène intervenait, la concentration de l'acide malonique devrait être très importante dans le contenu cæcal car il est peu vraisemblable que cet acide soit mieux absorbé par la muqueuse cæcale que par celle de l'intestin grêle. Or, nous observons une variation inverse : l'acide malonique est présent dans les contenus cæcal et colique à une concentration quatre et douze fois plus faible que dans l'intestin grêle. Cette disparition importante de l'acide malonique, l'absence dans le contenu cæcal de glucides simples, de la créatinine, la variation des proportions relatives de certains acides aminés et de certains acides organiques montrent qu'à côté des mécanismes que nous venons d'envisager d'autres facteurs interviennent.

L'apport endogène

La présence en aussi grande quantité d'acides aminés dans l'intestin grêle des Lapins inanitiés montre que l'apport endogène, essentiellement les desquamations épithéliales (FAUCONNEAU, MICHEL, 1971), compte pour une part probablement importante dans l'origine de certaines substances trouvées dans la cavité cæcale. Par ailleurs, LINDSTEDT et SJOVALL (1957) ont montré que la bile du Lapin contient surtout du glycocholate et que ce sel biliaire est l'objet dans l'intestin d'une réduction bactérienne. Il se forme du déoxycholate qui est absorbé. Il s'ensuit donc une libération de glycolle dans la cavité digestive qui peut expliquer l'importance de cet acide aminé pendant le jeûne, d'autant plus que la sécrétion biliaire est très abondante chez le Lapin. D'autre part, LE BARS *et al.* (1969) ont démontré chez le Lapin que l'acide lactique est présent de façon habituelle dans la bile et que cet acide est l'objet d'un cycle entérohépatique.

Malgré cette réabsorption il faut reconnaître que l'acide lactique est encore abondant dans les contenus cæcal et colique de nos animaux si bien que la possibilité d'une excrétion pariétale à différents niveaux du tube digestif doit être envisagée d'autant plus que l'origine endogène de l'acide lactique dans le cæcum du Rat a été montrée (DUCLUZEAU *et al.*, 1966).

L'influence alimentaire

Les acides organiques.

Alors que la plupart des acides fixes sont communs au règne végétal et au règne animal, l'acide malonique est un acide particulièrement abondant chez certains végétaux. Il peut donc être considéré comme un témoin à peu près sûr de l'influence des aliments sur la composition du contenu digestif. Quand les lapins reçoivent de la luzerne, végétal particulièrement riche en acide malonique, celui-ci se retrouve en abondance dans l'intestin grêle. Si la nourriture est pauvre en acide malonique (ingestion de carotte) il est nettement moins important et si l'apport alimentaire est supprimé (jeûne de trois jours) on ne trouve plus l'acide malonique dans l'intestin grêle. Ces variations alimentaires ont dans le cæcum le même résultat que dans l'intestin grêle. Donc, l'acide malonique trouvé normalement dans les contenus cæcal et colique

est vraisemblablement d'origine alimentaire. Il est possible qu'il en soit ainsi pour d'autres acides, notamment pour les acides citrique et malique très abondants dans les végétaux. Cependant, il est impossible d'attribuer une origine végétale à tous les acides organiques du contenu cæcal, surtout quand les acides les plus abondants dans ce contenu sont plutôt rares dans les végétaux constituant l'alimentation de nos animaux (acide acétique, acide glutarique, acide succinique).

Après l'ingestion de carotte c'est l'importance des acides glycérique et glycolique qui augmente dans le contenu de l'intestin grêle terminal, alors que l'apport en acides organiques est constitué presque exclusivement d'acide malique. Pour l'acide glycolique, la variation est encore sensible dans le contenu cæcal. La suppression de l'alimentation a pour effet principal de donner à certains acides du contenu cæcal l'importance qu'ils ont normalement dans le contenu colique (acides fumarique, hydroxyglutarique, glutarique).

L'influence alimentaire est donc manifeste ; mais elle paraît agir sur la nature des acides organiques de façon indirecte. On peut supposer que les acides organiques apportés par l'alimentation sont, avec d'autres résidus digestifs, l'objet de transformations aboutissant à l'apparition de nouveaux acides. En l'absence de diastases animales agissant sur les acides organiques alimentaires, le rôle des enzymes microbiennes reste en cause.

Les acides aminés.

La privation de nourriture pendant trois jours provoque une diminution de la concentration des acides aminés libres dans l'intestin grêle et dans le cæcum. Ces résultats montrent également que l'influence de l'alimentation sur la richesse du contenu en acides aminés, évidente dans l'intestin grêle, apparaît aussi jusque dans la cavité cæcale. Non seulement l'alimentation a une influence certaine sur la concentration des acides aminés libres, mais elle permet d'expliquer la présence de certains d'entre eux dans le contenu cæcal. En effet, alors que les protéines de la carotte sont constituées pour une part importante d'isoleucine, de leucine, et de valine, l'ingestion accrue de ce végétal provoque une augmentation des proportions relatives de ces trois acides aminés dans l'intestin grêle et aussi dans le cæcum bien que l'effet y soit beaucoup plus atténué.

Mais la nature de l'alimentation n'explique pas les variations les plus caractéristiques des acides aminés du contenu cæcal. Ainsi, malgré la composition originale des protéines de la carotte, la proportion du groupe alanine, acide aspartique, acide glutamique, dans le contenu cæcal est aussi importante chez les Lapins nourris de carotte (69 p. 100) que chez les Lapins témoins (67 p. 100). Ceci nous amène à penser que le déficit en acides aminés provoqué par l'apport unique de carotte est compensé grâce à des mécanismes biosynthétiques d'origine microbienne qui restent à préciser, par un apport plus important en glucides et en acides organiques.

L'influence microbienne

La faible influence des aliments sur la composition des contenus cæcal et colique nous amène donc à penser que les substrats venus de l'intestin grêle sont rapidement transformés par les microorganismes. Le bilan de ce métabolisme microbien, considéré globalement, se traduit par une accumulation relative dans le milieu d'acide acétique,

des acides glycérique, succinique, fumarique et glutarique, d'alanine, d'acide aspartique et surtout d'acide glutamique. Nous nous proposons maintenant d'étudier les variations de ces acides et de rechercher la signification métabolique de leur présence.

Les acides carboxyliques.

L'apparition dès la région terminale de l'intestin grêle de quantités importantes d'acide glycérique et d'acides volatils témoigne sans nul doute d'une activité microbienne. Les espèces entrant en activité à ce niveau du tube digestif disposant de glucides, on peut concevoir que la production d'énergie s'effectue selon le mécanisme classique de la glycolyse et du cycle citrique. Peu abondants dans l'intestin grêle terminal, les acides citrique, fumarique, malique, succinique deviennent plus importants dans le cæcum où on observe en outre une accumulation d'acide succinique. Ce fait présente un grand intérêt car l'accumulation d'acide succinique dans un milieu biologique est due souvent au fonctionnement du cycle glyoxylique.

L'apparition de l'acide succinique pourrait donc s'interpréter comme la conséquence dans le milieu cæcal de conditions anaérobies. Bien que nos conditions expérimentales ne nous aient pas permis de mesurer le potentiel d'oxydo-réduction du contenu cæcal, notre hypothèse paraît d'autant plus vraisemblable que le liquide du rumen d'un animal sain a un potentiel redox bien défini aux environs de -400 mV (BROBERG, 1958 ; HUNGATE, 1960). D'autre part, bien que la microflore intestinale soit peu connue on sait que les espèces anaérobies du genre *Bactéroides* prédominent (DUCLUZEAU, 1969).

L'établissement dans la région terminale du tube digestif d'un milieu réducteur explique l'importance prise par certains acides notamment les acides fumarique, hydroxyglutarique et glutarique. Rappelons que ces acides surtout abondants dans certains contenus coliques, apparaissent en quantité beaucoup plus importante dans les cæca des lapins soumis au jeûne. Or, pendant le jeûne le principal apport nutritif dont disposent encore les microorganismes est constitué par les protéines et les acides aminés apportés par les sécrétions du tube digestif, les desquamations et l'autolyse microbienne. C'est donc plutôt dans le catabolisme des acides aminés que nous recherchons les transformations susceptibles de conduire à l'apparition de ces acides. On peut constater alors, que ces acides organiques pourraient provenir d'une désamination hydrolytique des acides aminés les plus abondants de ce même contenu. Ainsi, la désamination hydrolytique de l'acide glutamique conduirait à l'acide hydroxyglutarique. Pour passer de l'acide hydroxyglutarique à l'acide glutarique une réduction serait nécessaire. Le même processus transformerait l'acide aspartique en acide malique et succinique, le glyco-colle en acide glycolique et acétique, l'alanine en acides lactique et propionique. Ce type de désamination est décrit à propos des désaminases des bases puriques (JAVILLIER *et al*, 1964). Ces enzymes sont douées d'une grande spécificité et la connaissance des mécanismes impliqués sont très fragmentaires. L'existence de ce type de désamination chez les microorganismes hébergés dans le tube digestif du Lapin est donc une hypothèse chimiquement séduisante mais qui demande à être vérifiée par une étude biochimique approfondie. Cependant, dans le cadre de cette hypothèse, il est tout à fait remarquable que nous expliquions la formation des principaux acides organiques du contenu à partir des acides aminés les plus caractéristiques de ce même contenu.

Quoi qu'il en soit, nous arrivons à la conception d'un métabolisme de plus en plus

réducteur quand les substrats dont disposent les microorganismes sont surtout de nature protidique. La contre-expérience nous est fournie chez les animaux nourris exclusivement de carotte : en effet, dans le cæcum de ces animaux, la proportion relative de l'acide succinique diminue de moitié. Donc, à l'inverse de l'apport essentiellement azoté, l'apport essentiellement glucidique favorise un métabolisme plus oxydatif.

Remarquons enfin que les proportions relatives des acides organiques fixes et volatils sont l'objet de variations parfois importantes d'un lapin à l'autre. Nous pensons qu'elles correspondent à l'état métabolique de la microflore considérée dans sa totalité. En effet, on peut dire qu'on s'adresse à une mosaïque d'espèces probablement caractérisées par des métabolismes différents. D'une part, chaque espèce en accumulant des déchets de son propre métabolisme, crée son environnement. D'autre part, des espèces voisines peuvent s'associer symbiotiquement, créant une sorte de relais des métabolismes. On peut ainsi penser que le potentiel d'oxydo-réduction varie d'un point à l'autre de la cavité cæcale et que les différents mécanismes envisagés coexistent dans un milieu aussi complexe.

Les acides aminés.

Si l'on effectue dans le cæcum une comparaison entre le contenu total et le milieu microbien, il ressort nettement que la répartition des acides aminés libres dans le contenu total est essentiellement le reflet de la répartition des acides aminés libres intra-microbiens ; le fait est indéniable en ce qui concerne l'alanine et les diacides (fig. 4 et 5). La présence dans les cellules bactériennes d'acides aminés libres en concentrations nettement plus élevées que dans le milieu extérieur est un fait connu. GALE (1947) a remarqué en particulier que le milieu intracellulaire de *Streptococcus faecalis* peut avoir des concentrations en acide glutamique quatre cent fois plus élevées que celle du milieu ambiant. Si l'on se réfère aux études faites sur les rats axéniques (COMBE *et al.*, 1965) on constate que dans la fraction alcoolique du contenu cæcal des rats normaux se trouve une forte proportion d'acide glutamique (et de glutamine) d'acide aspartique et d'alanine (69 p. 100 à eux quatre). Par contre, dans le cæcum des rats privés de microflore, ces trois acides aminés ont beaucoup moins d'importance (28,7 p. 100) ; la sérine y est représentée (12,1 p. 100) en proportion égale à celle de l'acide glutamique (13 p. 100) et on y trouve autant de thréonine (6,6 p. 100) que d'alanine (6,2 p. 100). Ces proportions ne sont pas sans rappeler celles que nous avons observées dans l'intestin grêle de nos lapins et très exceptionnellement dans certains cæca. Pour ces derniers, l'explication la plus logique est celle d'une déficience microbienne due peut-être à un transit intestinal trop rapide ?

Dans le cæcum des rats normaux, la proportion du groupe alanine, acide aspartique, acide glutamique par rapport à l'ensemble des acides aminés est du même ordre de grandeur (69 p. 100) que celle que nous observons dans le cæcum de Lapin (65 p. 100). Il paraît donc très probable que dans le cæcum du Lapin, comme dans le cæcum de Rat, l'action des enzymes microbiennes s'exerce sur les substances protéiques des résidus végétaux, des microbes morts, des sucs digestifs et des desquamations pariétales ; la plupart des acides aminés résultant de cette digestion protéique sont utilisés pour les synthèses microbiennes. Subsisteraient alors essentiellement à l'état libre l'alanine, l'acide aspartique et l'acide glutamique. On peut penser *a priori* que leur accumulation relative résulte d'une plus grande abondance dans les protéines

hydrolysées par rapport aux besoins microbiens. Cependant l'étude de la composition des protéines alimentaires et du culot microbien (fig. 5) montre que cette explication est insuffisante. En effet, d'autres acides aminés, par exemple le glycolle et la leucine, aussi abondants que l'alanine, l'acide aspartique et l'acide glutamique dans les protéines, le sont beaucoup moins à l'état libre. Il semble donc qu'il faille plutôt rechercher une explication dans les mécanismes biosynthétiques.

Il est tout à fait remarquable (fig. 3) que la proportion du groupe alanine-acide aspartique-acide glutamique reste par rapport aux autres acides aminés, pratiquement constante d'un animal à l'autre dans l'ensemble de nos séries expérimentales. Une diminution de l'apport alimentaire en protéines ne modifie pas cette proportion. Par contre, un jeûne de trois jours abaisse cette proportion à 50 p. 100. Il y a donc un lien entre les proportions relatives des acides aminés libres et l'apport alimentaire. Ceci nous amène à penser que ce rapport traduit en quelque sorte un équilibre métabolique caractérisant l'activité microbienne dans le cæcum, où les conditions écologiques sont stables et mettent la microflore à l'abri de grandes perturbations.

Les microorganismes utiliseraient donc indifféremment tous les substrats dont ils disposent pour fabriquer leur énergie et leurs protéines. Bien que tel ou tel acide aminé soit indispensable à certaines souches microbiennes, on sait que la plupart des bactéries sont capables de synthétiser leurs acides aminés. Cette synthèse s'effectue selon des mécanismes parfois très compliqués mais que l'on peut réunir en quatre groupes selon le point de départ de la synthèse (BERNFELD, 1963 ; COHEN, 1967). Trois de ces groupes ont pour point de départ respectif l'acide pyruvique, l'acide oxaloacétique et l'acide α -céto-glutarique. Les premiers acides aminés synthétisés à partir de ces trois acides carboxyliques sont l'alanine, l'acide aspartique, l'acide glutamique. On peut donc concevoir que les différentes opérations cataboliques aboutissent aisément à la synthèse de ces acides aminés, les premiers synthétisés. Certains acides aminés situés en bout de chaîne, plus longs à synthétiser, ne s'accumulent pas car ils sont intégrés dans les structures protéiques dès leur formation ; leur raréfaction pouvant d'ailleurs créer des points d'inhibition provoquant une accumulation des produits initiaux.

Si l'ensemble alanine-acide aspartique-acide glutamique reste constant, à l'intérieur du groupe on constate des variations qui vont maintenant retenir notre attention.

On peut constater, en effet (fig. 3) que dans les différents cæca étudiés, une faible proportion d'acide glutamique est compensée par une proportion plus importante d'alanine et d'acide aspartique. Inversement, quand les proportions d'acide glutamique augmentent, les proportions de l'alanine et de l'acide aspartique diminuent.

Quand on compare les proportions relatives des acides aminés libres présents dans l'intestin grêle, le cæcum et le début du côlon (fig. 4) on assiste à une augmentation progressive de l'acide glutamique.

Enfin, nos résultats semblent bien montrer que chez les animaux recevant une alimentation riche en protéines végétales, la quantité d'acide glutamique libre dans le cæcum est d'autant plus grande que la quantité d'acides aminés libres totaux dans l'intestin grêle terminal est plus faible (tabl. 3).

Cet ensemble de faits expérimentaux nous conduit à expliquer l'accumulation préférentielle de l'acide glutamique par le rôle très particulier que cet acide aminé joue dans les phénomènes de transamination pour la synthèse des acides aminés et

par une difficulté croissante à l'accomplissement de cette synthèse. Puisque cette synthèse fait disparaître l'acide glutamique, il devient d'autant plus abondant que cette synthèse est difficile.

Par contre, chez les animaux recevant une alimentation relativement riche en glucides et acides organiques, et bien que les acides aminés soient abondants dans l'intestin grêle, la quantité d'acide glutamique dans le cæcum est la plus faible que nous ayons observée.

Il semblerait donc que la plus ou moins grande accumulation d'acide glutamique dans le cæcum dépende non seulement de l'abondance des réserves susceptibles de participer au métabolisme microbien, mais aussi de leur nature. L'apport d'aliments énergétiques favorisant la synthèse microbienne, on constate en accord avec notre hypothèse, que l'acide glutamique devient moins abondant dans le milieu cæcal.

CONCLUSION

Le matériel digestif présent dans la cavité cæcale est caractérisé par une composition biochimique très différente de celle du contenu de l'intestin grêle, par une acidité organique supérieure et un changement très important des proportions relatives des acides fixes et volatils, ainsi que des acides aminés libres totaux. Les points les plus originaux sont l'apparition en quantités importantes des acides acétique, glycolique, hydroxyglutarique et succinique, l'accumulation relative de l'alanine, de l'acide aspartique et de l'acide glutamique.

Nous avons pu mettre en évidence l'influence profonde de la flore bactérienne sur la physiologie du cæcum qui ne saurait pourtant, même de ce point de vue, être étudiée indépendamment du tube digestif.

L'ensemble de nos résultats nous amène à dire qu'il ne faut pas considérer le cæcum comme un réservoir dans lequel s'accumulent passivement les déchets de la digestion opérée dans l'intestin grêle, mais plutôt comme une niche écologique favorable au développement de la microflore intestinale. Le contenu cæcal constitue un milieu biologique au sein duquel les microorganismes établissent, par leurs enzymes, une sorte d'équilibre entre la dégradation des substrats utilisables et la synthèse de leurs protéines. Dans nos conditions expérimentales, cet équilibre se traduit par une accumulation plus ou moins importante d'acide glutamique libre, d'acides organiques fixes et volatils. La nature, l'accumulation et les variations de ces substances, ne s'expliquent que si l'on considère globalement les microorganismes comme un système biochimique essentiellement réducteur. Dans un tel système, le fonctionnement du cycle citrique est perturbé, relayé en partie par le fonctionnement du cycle glyoxylique et par des mécanismes biochimiques tels que des désaminations hydrolytiques qui s'accompagneraient de la fixation d'hydrogène, ce qui suppose un milieu pauvre en oxygène et la présence d'espèces bactériennes anaérobies.

SUMMARY

AMINO ACIDS AND CARBOXYLIC ACIDS IN THE RABBIT CAECUM

The digestive contents present in the caecal cavity are characterized by a very different biochemical composition than those found in the small intestine, a higher organic acidity, and a very great change in the relative proportions of fixed and volatile acids, as well as in total free amino acids. The most interesting points are the appearance of large quantities of acetic, glycolic, hydroxyglutaric and succinic acids, and the relative accumulation of alanine, aspartic acid and glutamic acid.

We have shown the deep influence of bacterial flora on caecum physiology which, however, cannot be studied independently of the digestive tract, even from this point of view.

Our results lead us to believe that the caecum cannot be considered as a reservoir in which digestive waste from the small intestine passively accumulates. It is rather an ecological site favorable to the development of intestinal microflora. The caecal contents constitute a biological medium in which microorganisms, by means of enzymes, establish a sort of balance between the degradation of usable substrates and their protein synthesis. In our experimental conditions, this balance is expressed by a somewhat large accumulation of free glutamic acid, and fixed and volatile organic acids. The nature, accumulation and variations of these substances are only explainable if the microorganisms as a whole are considered essentially as a biochemical reducing system. In such a system, citric cycle function is disturbed, partly relayed by glyoxylic cycle function and biochemical mechanisms such as hydrolytic desaminations which accompany hydrogen fixation. This supposes an oxygen-poor medium and the presence of anaerobic bacteria.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BACQUES C., PERRET J.-P., 1971. Modifications apportées par la caecumectomie à la répartition et à la nature des constituants lipidiques du contenu digestif du Lapin. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, **11**, 113-127.
- BERNFELD P., 1963. *Biogenesis of natural compounds*. Pergamon Press, Oxford.
- BROBERG G., 1958. Measurements of the redox potentiel in rumen contents. IV. *In vivo* measurements. *Nord. Vet. Med.*, **10**, 263-268.
- CARLES J., 1968. Le dosage automatique des acides organiques par potentiométrie. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **50**, 1341-1345.
- CARLES J., ABRAVANEL G., 1970. Dosage automatique et simultané des acides aminés et des guanidines. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **52**, 453-454.
- CARLES J., ALQUIER-BOUFFARD A., 1963. Le dosage de l'acidité organique des tissus végétaux. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **45**, 157-163.
- COHEN G., 1967. *Le métabolisme cellulaire et sa régulation* Hermann. Paris,
- COMBE E., PENOT E., CHARLIER H., SACQUET E., 1965. Métabolisme du Rat « germ-free ». Teneur des contenus digestifs en certains composés azotés. en sodium et en potassium. Teneurs de quelques tissus en acides nucléiques. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, **5**, 189-206.
- DUCLUZEAU R., 1963. Influence de l'espèce zoologique sur la microflore du tractus gastro-intestinal. *Revue d'Immunologie*, **33**, 345-384.
- DUCLUZEAU R., RAIBAUD P., 1967. L'animal sans germe : un instrument biologique riche de promesses pour la recherche agronomique. I. Caractéristiques de la vie sans germe. *Cahiers des Ingénieurs agronomes*, 214, 9-12.
- DUCLUZEAU R., RAIBAUD P., SACQUET E., MOCQUOT G., 1966. Mise en évidence *in vivo* d'une production d'acide lactique dans le tube digestif de Rats axéniques et à monoflore de Lactobacilles. *C. R. Acad. Sc. Paris*, **263**, 321-324.
- FAUCONNEAU G., 1958. Les acides organiques des plantes fourragères. *Ann. Physiol. vég.*, suppl. 1, 1-13.
- FAUCONNEAU G., MICHEL M. C., 1970. The role of the gastrointestinal tract in the regulation of protein metabolism. In *Mammalian Protein Metabolism*. Munro IV, London, Academic Press New York, London, 481-522.

- FLEURY P., LECLERC M., 1943. La méthode nitro-vanado-molybdique de Misson pour le dosage colorimétrique du phosphore. Son intérêt en biochimie. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **25**, 201-205.
- GALE E. F., 1947. The assimilation of aminoacids by bacteria. I. The passage of certain aminoacids across the cell wall and their concentration in the internal environment of *Streptococcus faecalis*. *J. Gen. Microbiol.*, **1**, 53-76.
- HERNDON J. F., HOVE E. L., 1955. Surgical removal of the caecum and its effect on digestion and growth in rabbits. *J. Nutrit., U. S. A.*, **57**, 261-270.
- HUNGATE R. E., 1960. Symposium : selected topics in microbial ecology. I. Microbial ecology of the rumen. *Bacteriol. Rev.*, **24**, 353-364.
- JAVILLIER M., POLONOVSKI M., FLORKIN M., BOULANGER P., LEMOIGNE M., ROCHE J., WURMSER R., 1964. *Biochimie générale. Les enzymes*, Paris, Masson, tome 2, fasc. 2.
- LE BARS H., MAHBOUB S., DEMAUX G., GUEMON L., 1969. Existence d'un cycle entérohépatique de l'acide lactique chez le Lapin. *Journée d'Étude sur le Lapin*, Alfort, 28 mai 1969.
- LINDSTEDT S., SJOVALL J., 1957. On the formation of deoxycholic from cholic acid in the Rabbit. *Acta Chem. Scand.*, **11**, 421-426.
- WILSON T. H., 1962. *Intestinal absorption*. Saunders, Philadelphia, London.
- WISEMAN G., 1964. *Absorption from the intestine*. Acad. Press, New York.
- YOSHIDA T., PLEASANTS J. R., REDDY B. S., WOSTMANN B. S., 1968. Efficiency of digestion in germ-free and conventional Rabbits. *Brit. J. Nutrit.*, **22**, 723-737.
-