MÉTABOLISME DE LA MÉTHIONINE-³⁵S CHEZ LE VEAU PRÉRUMINANT

P. PATUREAU-MIRAND, J. PRUGNAUD, M. ARNAL et R. PION

avec la collaboration technique de
Françoise BARRÉ, Simone BOCHE, Marie-Claude VALLUY et Gérard BAYLE

*Laboratoire d'Études du Métabolisme de l'Azote,
Centre de Recherches de Clermont-Ferrand, I. N. R. A.,
Domaine de Theix,
63110 Beaumont*

RÉSUMÉ

Afin d'étudier le métabolisme de la méthionine chez le veau préruminant, après une période de mesure du bilan azoté, 2 et 5 mCi de méthionine-³⁵S furent respectivement injectés dans la veine jugulaire de 2 veaux *Frisons* de 52,8 kg (veau A) et 85,2 kg (veau B). L'aliment d'allaitement distribué aux animaux contenait 24,8 p. 100 de protéines de lait de vache supplémentées en lysine, thréonine, arginine et méthionine. Des prélèvements de sang, de peau et de muscle furent effectués 2 h 30 et 5 h après l'injection. A l'abattage des veaux A et B (10 h et 7 h 30 après l'injection), des échantillons de sang, de peau, de muscle, le foie, le pancréas, l'intestin, les reins et la rate furent prélevés pour y étudier la répartition du marqueur entre la méthionine et ses métabolites dans la fraction soluble ou insoluble dans l'acide trichloroacétique de ces tissus ou organes.

La taurine, les méthionines sulfoxydes, le glutathion réduit ou oxydé, la cystine, la cystathionine et la méthionine ont été identifiés parmi les composés marqués de la fraction soluble. Les composés marqués des protéines étaient la méthionine et la cystine. L'abondance de métabolites marqués de la transsulfuration indique que cette voie métabolique est particulièrement active dans le foie et le pancréas. Cela est confirmé par l'importante proportion de la radioactivité qui est incorporée dans les protéines de ces organes sous forme de cystine-³⁵S. Les autres tissus dans lesquels la transsulfuration paraît active aussi, sont les reins et la peau. La mesure de la quantité de méthionine-³⁵S dans les protéines a montré que dans le pancréas, le foie, l'intestin, les reins et la rate, la synthèse protéique était particulièrement intense. Dans la peau et surtout le muscle, l'utilisation métabolique de la méthionine est la moins forte. La répartition des principaux composés marqués dans l'ensemble de la radioactivité retrouvée dans les tissus des veaux A et B, est la suivante: méthionine 58,4 et 61,7 p. 100 (44,5 et 44,6 p. 100 sous forme de méthionine-³⁵S incorporée dans les protéines), cystine 16,7 et 19,4 p. 100 (13,9 et 14,6 p. 100 sous forme de cystine-³⁵S incorporée dans les protéines). De l'estimation des quantités de méthionine et de cystine retenues par la méthode du bilan azoté, on déduit que 25 et 37 p. 100 du soufre ingéré sous forme de méthionine seraient retenus dans la méthionine des protéines des veaux A et B.

On en déduit que dans un régime équilibré, la méthionine doit nécessairement représenter plus de 33 p. 100 des acides aminés soufrés.

INTRODUCTION

Les voies les plus importantes de l'utilisation métabolique de la méthionine sont la transméthylation, la transsulfuration et la synthèse protéique. Ces deux dernières sont particulièrement importantes puisqu'elles conditionnent la synthèse de la cystéine et celle des protéines. Lorsqu'on étudie le besoin en acides aminés soufrés, il importe de déterminer la part respective de ces 2 voies du métabolisme de la méthionine. En effet, alors qu'il existe un besoin propre en méthionine pour la synthèse des protéines, le besoin en cystéine peut être satisfait soit par la transsulfuration, soit par un apport alimentaire de cystine. Il convient donc de déterminer, dans le besoin global en acides aminés soufrés, la part minimale de la méthionine ou celle qui peut être satisfaite indifféremment par l'apport de cystine ou de méthionine.

Dans des travaux précédents, nous avons montré que la méthionine libre s'accumulait dans le sang de veaux préruminants ingérant des aliments d'allaitement dont les matières azotées contenaient 0,9 p. 100 de cystine et plus de 3,5 p. 100 de méthionine (PATUREAU-MIRAND, PRUGNAUD et PION, 1973). Cette accumulation qui traduisait la mauvaise utilisation métabolique de l'excès de méthionine indiquait que le besoin en méthionine était satisfait. Toutefois, l'apparente inefficacité des supplémentations en cystine, l'accumulation importante de la méthionine libre dans le sang pour des niveaux de supplémentation assez bas, la présence de cystathionine dans le sang, nous ont conduits à supposer que l'une des voies du catabolisme de la méthionine (la transsulfuration) pouvait être plus ou moins active. Or, nous avons vu quel rôle capital joue cette voie métabolique dans la définition du besoin en acides aminés soufrés.

Nous avons donc entrepris l'étude du métabolisme de la méthionine dans la synthèse protéique et dans la transsulfuration, à l'aide de méthionine-³⁵S. Cette étude du métabolisme du soufre de la méthionine fut complétée par la détermination du bilan azoté et une estimation des quantités d'acides aminés soufrés retenues.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Cette expérience fut réalisée en 2 essais successifs fondés sur le même principe. Toutefois, les remarques faites à la suite du premier essai ont permis d'améliorer certains détails du protocole pour le second (dose de radioactivité, temps d'abattage et agents d'extraction).

1. — Animaux et régimes

Ce travail fut effectué avec 2 veaux mâles de la race *Française Frisonne Pie Noire* (veaux A et B). Ces animaux étaient logés en cases individuelles sur caillebotis dans un local dont la température était de 19°C et l'hygrométrie voisine de 65 p. 100. En début d'expérience, le poids des veaux A et B était respectivement : 39,0 et 54,5 kg. La composition de l'aliment expérimental est rapportée dans le tableau 1. L'aliment a été supplémenté par 0,12 p. 100 de lysine HCl,

0,05 p. 100 de thréonine et 0,35 p. 100 d'arginine, afin d'éviter des carences éventuelles en ces acides aminés et par un léger excès de méthionine (0,45 p. 100) de façon à favoriser l'étude du métabolisme de la méthionine. La quantité de poudre offerte par jour était de 60 g par unité de poids métabolique : $P^{0,75}$ (kg). L'aliment était distribué en 2 repas sous forme de lait reconstitué à 12 p. 100 de matière sèche par addition d'eau à 40°C.

TABLEAU I

Composition de l'aliment de base
(p. 100 g de poudre)

Poudre de lait écrémé Spray.....	66
Suif	22
Glucose	4
Amidon cru	3
Amidon pré-géliné	3
Saccharo-glycérides	0,7
BHT	0,02
Acides aminés	0,95

Mélange minéral et vitaminique dont la composition pour 100 kg de poudre est la suivante :

Chlorure de magnésium : $MgCl_2$, 6 H_2O	200 g	Vitamine B ₆	720 mg
Chlorure de zinc	0,4 g	Vitamine B ₁₂	5 mg
Chlorure de cobalt	0,06 g	Acide pantothénique	220 mg
Sulfate de manganèse	0,4 g	Acide nicotinique	220 mg
Iodure de potassium	0,8 g	Acide folique	100 mg
Vitamine A.....	1 200 000 UI	Acide para-amino-benzoïque	990 mg
Vitamine D ₃	600 000 UI	Biotine	75 mg
Vitamine E	10 g	Chlorure de choline	180 g
Vitamine K	200 mg	Vitamine C	10 g
Vitamine B ₁	640 mg	Furoxone à 10 % de furazolidone	50 g
Vitamine B ₂	300 mg	Chlortétracycline	6 g

Teneur en énergie brute (valeur calculée) : 510 kcal

Teneur en matières azotées ($N \times 6,25$) : 24,8 g

2. — Schéma expérimental

A partir de l'âge de 15 jours environ, les 2 veaux reçoivent le régime expérimental pendant une période de 25 jours. Pendant la semaine précédant celle de l'injection de méthionine-³⁵S, les urines et les fèces sont récoltées à l'aide de bambinettes et sacs à fèces, de façon à pouvoir estimer le bilan azoté de ces animaux. Quatre jours après la fin de la période de mesure du bilan azoté et deux heures après le repas du matin, les veaux A et B reçoivent respectivement 2 mCi (r.a.s. ⁽¹⁾ : 79 mCi/mM) et 5 mCi (r.a.s. : 286 mCi/mM) de L-méthionine-³⁵S, à l'aide d'un cathéter placé la veille dans la veine jugulaire.

3. — Prélèvements

Grâce à un second cathéter, les prélèvements de sang jugulaire sont effectués 2 h 30 et 5 h après l'injection de méthionine marquée. De plus aux mêmes moments, sur l'une puis l'autre cuisse, environ 20 g du muscle semi-membraneux et 10 g de la peau rasée recouvrant cette

(¹) r.a.s. : radioactivité spécifique.

région sont prélevés sous anesthésie locale par biopsie. L'urine et les fèces éventuellement excrétées après l'injection sont recueillies de la même façon que pendant la période de mesure du bilan azoté. Les veaux A et B sont abattus 10 h ou 7 h 30 après l'injection de méthionine- ^{35}S . Outre un échantillon de sang, de peau et de muscle, sont alors prélevés les organes suivants : le foie, l'intestin, le pancréas, la rate, les reins et l'urine contenue dans la vessie.

Une fraction des échantillons de sang est recueillie dans l'éthanol froid 95° additionné de 2 p. 100 de thiodiglycol comme antioxydant (veau A) ou dans une solution d'acide trichloracétique (ATC) 10 p. 100 contenant 2 p. 100 de thiodiglycol (veau B). L'autre fraction est centrifugée pour obtenir du plasma qui est rapidement congelé à l'azote liquide.

Les échantillons de muscle et de peau prélevés par biopsie ou après l'abattage sont rapidement découpés et congelés dans l'azote liquide. Le foie est perfusé par du sérum physiologique froid de façon à être lavé de son sang puis rapidement découpé en petits morceaux et congelé. Pour éliminer le sang ou d'autres contaminants, les reins, le pancréas, et la rate sont découpés en petits morceaux et triturés dans du sérum physiologique, puis congelés à l'azote liquide. L'intestin est vidé de son contenu par pression des doigts, rincé à l'acide trichloracétique 10 p. 100 froid puis congelé dans l'azote liquide.

Les tissus et organes prélevés sont conservés à -15°C avant échantillonnage et analyse.

4. — Échantillonnage

Tous les tissus ou organes congelés, à l'exception de la peau, sont broyés au Waring Blendor dans l'azote liquide de façon à obtenir une poudre homogène et préparer des échantillons de 10 à 30 g. La peau est broyée dans l'azote liquide à l'aide d'un broyeur à billes Dangoumeau.

5. — Analyses

a) Détermination de la teneur en matière sèche et en matières azotées.

La teneur en matière sèche de l'aliment et des refus est déterminée par dessiccation dans une étuve ventilée à 85°C , celle des fèces, par lyophilisation. Les matières azotées de l'aliment, des fèces, de l'urine et des échantillons des tissus ou organes sont dosées selon la méthode de Kjeldahl.

b) Extraction des composés libres et préparation des échantillons.

Les acides aminés soufrés et leurs dérivés libres sont extraits selon la méthode des épuisements successifs. A l'aide d'un homogénéiseur Waring Blendor ou Ultra-Turrax, 10 à 30 g de tissu sont intimement mélangés à 7 fois leur poids d'agent d'extraction froid. Le soluble est séparé du reste du tissu par centrifugation à 5 000 g pendant 15 minutes. Le culot de centrifugation est repris par une quantité d'agent d'extraction légèrement inférieure et traité de la même façon. Cette dernière opération est répétée une autre fois. Les solvants utilisés sont l'ATC 10 p. 100 pour tous les tissus du veau A à l'exception du sang qui est traité par l'éthanol 82° additionné de 2 p. 100 de thiodiglycol. Pour tous les tissus du veau B, les extractions sont faites à l'ATC 10 p. 100 contenant 2 p. 100 de thiodiglycol. Les extraits à l'ATC sont débarrassés de la majeure partie de l'ATC par passage sur résine échangeuse d'anions Dowex 2×8 . La résine est rincée par de l'acide chlorhydrique 0,02 N qui est éliminé de l'effluent par des évaporations successives à l'évaporateur rotatif sous vide (source chaude 38° - 40°C). Enfin, l'échantillon est repris par du tampon citrate de sodium pH 2,2 (0,2 M) et amené à un volume connu. Les extraits alcooliques de sang du veau A sont purifiés par passage sur résine échangeuse de cations Amberlite IR 120 (PAWLAK et PRION, 1968).

c) Préparation des échantillons pour le dosage des acides aminés soufrés des protéines.

Les résidus de la 3^e extraction sont lavés sur Büchner au méthanol-acétate de sodium neutralisé et à l'éther pour éliminer l'ATC, puis séchés à l'alcool. Les résidus secs sont broyés au broyeur à billes Dangoumeau afin d'obtenir une poudre homogène pour le dosage de l'azote et des acides aminés soufrés. La teneur en méthionine et en cystine de ces résidus est déterminée après oxydation à l'acide performique puis hydrolyse à l'acide chlorhydrique 5,5 N environ, pendant 24 h selon la méthode décrite par PRION et FAUCONNEAU (1966).

6. — Dosage des acides aminés

Les acides aminés soufrés et la plupart de leurs dérivés soufrés sont séparés et dosés par chromatographie sur résine échangeuse de cations selon une méthode dérivée de celle de MOORE, SPACKMAN et STEIN (1958).

7. — Mesure de la radioactivité

La radioactivité globale des extraits et des résidus est mesurée par scintillation liquide à l'aide d'un spectromètre Packard Tri-Carb 3375 (ARNAL, FAUCONNEAU et PECH, 1971). Le liquide scintillant est de l'Instagel (Packard). Les résultats sont corrigés pour le « quenching » par la méthode du standard externe, et pour la décroissance de la radioactivité en fonction du temps.

La radioactivité des composés des extraits ou des protéines est déterminée par radiochromatographie des échantillons à l'aide d'un spectromètre à cellule d'anthracène (Packard Flow Detector) placé à la suite de la colonne de résine échangeuse d'ions de l'analyseur d'acides aminés. Ce spectromètre est étalonné à l'aide de standards dont la radioactivité est mesurée grâce au spectromètre Tri-Carb. La radioactivité des différents composés marqués détectés peut être exprimée en pour cent de la radioactivité globale des échantillons, puis calculée en valeur absolue grâce à cette dernière.

8. — Calcul du bilan de l'azote et des acides aminés soufrés

La vitesse de croissance dans les jours précédant immédiatement l'injection de méthionine-³⁵S, est estimée à partir de la consommation mesurée pendant cette période et de l'indice de consommation calculé pendant les périodes précédentes. Il semble en effet que ce soit la méthode simple la plus fiable pour l'estimation du gain de poids journalier sur de très courtes périodes. Grâce au bilan azoté et à la vitesse de croissance, la rétention azotée moyenne dans les jours précédant immédiatement l'injection de méthionine-³⁵S peut être estimée. Une évaluation des quantités de méthionine et de cystine fixées quotidiennement pendant cette période, peut alors être faite à partir de la composition moyenne en acides aminés soufrés des protéines des veaux.

RÉSULTATS

1. — Croissance et bilan azoté

Les vitesses de croissance et consommations journalières rapportées dans le tableau 2 sont très différentes pour les 2 veaux. Il en est de même des bilans azotés; et les coefficients d'utilisation pratique de l'azote sont respectivement de 44 et 67 pour les veaux A et B.

2. — Composés soufrés des tissus

Protéines.

Dans le tableau 3 sont rassemblées les compositions en méthionine et cystine des protéines des tissus ou organes analysés. Les teneurs en méthionine de la peau, du foie et du sang sont particulièrement basses, alors qu'elles sont les plus élevées dans le muscle. Les teneurs en cystine sont les plus importantes dans le pancréas et le sang. Elles semblent variables dans la peau rasée, le foie et le sang.

TABLEAU 2

Consommation, croissance et rétention azotée

	Veau A	Veau B
<i>Période 1 : 10 jours</i>		
Consommation journalière (g)	639	1 251
Croissance journalière (g)	410	1 043
Indice de consommation	1,56	1,20
<i>Période 2 : 14 jours dont 5 ou 8 pour la mesure du bilan azoté</i>		
Consommation journalière (g)	987	1 330
Croissance journalière (g)	628	1 130
Indice de consommation	1,57	1,18
Matières azotées ingérées (g/j)	240	318
Matières azotées fixées (g/j)	106	212
<i>Période 3 : 4 jours avant injection de méthionine-³⁵S</i>		
Consommation journalière (g)	1 070	1 190
Croissance journalière estimée (g)	681	1 010
Matières azotées fixées (g/j)	115	190
Méthionine fixée (g/j)	2,87	4,75
Cystine fixée (g/j)	1,55	2,85
Poids des veaux mesuré le jour de l'injection (kg)	52,8	85,2

TABLEAU 3

Teneurs en acides aminés soufrés des protéines des différents tissus (g p. 16 g N)

Tissus	Veaux	Sang	Muscle	Peau rasée	Foie	Pancréas	Intestin	Rein	Rate	Moy.
Méthionine	A	1,6	3,05	1,1	1,8	1,7	2,4	2,75	2,05	2,5
	B	1,55	3,45	1,15	1,45	1,9	2,5	2,5	2,1	2,5
Cystine	A	1,5	1,3	1,15	1,5	2,35	1,4	1,75	1,4	1,5
	B	2,05	1,5	0,7	0,95	2,1	1,7	1,85	1,4	1,35

Fraction libre (tabl. 4).

Dans les extraits, certains métabolites des acides aminés soufrés ont pu être dosés en même temps que ces derniers car ils ne se trouvaient ni en trop grande, ni en trop faible quantité, étaient convenablement séparés par chromatographie et réagissaient à la ninhydrine (taurine, méthionine sulfoxyde, cystine, cystathionine,

TABLEAU 4
Composés soufrés des extraits purifiés (1)

	Veaux	Sang	Muscle	Peau rasée	Foie	Pancréas	Intestin	Rein	Rate
AC (2)	A	+	+	+	+	+	+	+	+
	B	—	—	E	+	+	+	+	+
Taurine	A	+	17,2	9,1	+	+	35,2	56,0	+
	B	+	+	+	98,4	77,3	24,5	58,7	67,5
Méthionine sulfoxydes	A	+	+	+	+	+	+	+	+
	B	—	—	—	E	—	—	—	E
Glutathions	A	+	+		+		+		
	B	+	+	+	+	+	+	+	+
Cyst(é)ine (3)	A	+	+	+	+	+	7,34	14,4	+
	B	3,1	1,4	1,0	17,6	8,6	+	11,2	11,5
Cystathionine	A	1,9	+	3,4	8,3	+	17,8	5,0	+
	B	2,2	5,8	12,5	20,7	60,3	73,4	24,0	85,9
Méthionine	A	6,4	6,4	5,3	8,4	6,0	5,3	8,9	7,4
	B	4,0	6,3	3,3	6,0	7,5	5,2	6,4	8,0
SAM (4)	A		+		+	+	+		+
	B	+	+	+	+	+	+	+	—

(1) mg p. 100 g de tissu lorsque ces composés ont pu être dosés ; sinon + : composé détecté ; E : à l'état de traces ; — : non détecté par radiochromatographie.

(2) Composés acides pouvant être de l'acide cystéique ou cystéine sulfinique.

(3) Cystéine + Cystine. Cependant les valeurs indiquées sont celles des teneurs en cystine.

(4) Composés fortement retenus sur résine échangeuse de cations pouvant être en particulier de la S-adénosyl méthionine.

méthionine). En outre, d'autres composés ont été détectés sur le chromatogramme ou le radiochromatogramme ; il s'agit de l'acide cystéique ou cystéine sulfinique, des glutathions, de la cystéine et de la S-adenosyl méthionine. Cependant tous ces composés n'ont pas été identifiés avec certitude. Ainsi, certains composés acides réagissant à la ninhydrine pourraient être de l'acide cystéique ou de l'acide cystéine sulfinique ; de la même façon, 2 composés fortement retenus sur les colonnes échangeuses de cations (« composés basiques ») pourraient être de la S-adénosyl méthionine et une amine soufrée. Enfin, il convient de remarquer qu'au cours de la purification des extraits par passage sur résine échangeuse d'anions (Dowex 2), en milieu

acide (pH 0,8), les composés les plus acides sont retenus. D'après GAITONDE et GAULL (1967), il s'agirait essentiellement de sulfate ou 3'-phosphoadénosine 5'-phosphosulfate, β -mercaptopyruvate, β -sulfinyl pyruvate, γ -méthiol- α -cétobutyrate, acide cystéique, acide homocystéique. Ce sont des métabolites de la cystéine à l'exception de l'acide γ -méthiol- α -cétobutyrique et de l'acide homocystéique qui proviennent du catabolisme direct de la méthionine. Le sulfate qui est le principal catabolite de la cystéine, peut aussi provenir directement du catabolisme de la méthionine. L'addition de thiodiglycol à l'ATC (veau B) a effectivement protégé la méthionine de l'oxydation puisque dans les extraits ainsi traités, nous n'avons trouvé de méthionine sulfoxyde qu'à l'état de traces. Les méthioninémies observées sont voisines de celles constatées au cours d'une expérience précédente chez des veaux ingérant des quantités semblables de méthionine (PATUREAU-MIRAND, PRUGNAUD et PRON, 1973).

3. — Distribution de la radioactivité des extraits

La radioactivité de certains composés de la fraction libre des tissus et organes étudiés est rapportée dans le tableau 5. Les compartiments dans lesquels la radioactivité totale libre est la plus élevée sont le foie et le pancréas ; de plus, c'est dans ces organes que la part de la radioactivité des composés dérivés de la méthionine dans

TABLEAU 5

Répartition de la radioactivité des extraits de différents tissus

$$\left(\frac{\text{dpm/g tissu}}{\text{r.a.i./g poids vif}} \times 10^{-2} \right) ^{(1)}$$

Tissus	Veaux	Sang	Muscle	Peau	Foie	Pancréas	Intestin	Rein	Rate
Radioactivité des extraits	A		31,4	44,8	196,0	77,0	35,1	49,3	28,5
	B	25,5	29,5	34,9	252,5	153,9	40,7	78,4	34,0
Méthionine	A		16,4	14,7	29,4	9,7	11,5	13,5	12,7
	B	12,7	23,0	13,6	13,5	15,1	15,2	18,2	14,0
Cystathionine	A			3,4	4,1	26,8	E	1,0	1,5
	B			7,5	8,8	96,9	3,6	2,7	2,2
Cyst(é)ine	A				62,3	8,5	1,8	12,0	3,0
	B				130,1	16,0	2,7	36,3	
Taurine	A				15,4	2,6	1,1	3,6	1,9
	B				40,3	2,3	3,2	4,8	2,0
Composés acides	A		9,0	26,5	17,1	10,5	12,7	13,3	5,7
	B	8,7	2,1	8,6	11,9	7,7	7,0	7,4	8,5
Total	A		25,4	44,6	128,3	58,1	27,1	43,4	24,8
	B	21,4	25,1	29,7	204,6	138,0	31,7	69,4	26,7

⁽¹⁾ dpm : désintégrations par minute ;
r.a.i. : radioactivité injectée.

la radioactivité totale de l'extrait est la plus forte. Il y a donc une utilisation métabolique intense de la méthionine notamment pour la synthèse de cystéine dans le foie et de cystathionine dans le pancréas. La voie de la transsulfuration semble donc active dans ces 2 organes. Dans l'intestin, les reins, la rate et la peau, la méthionine libre renferme 20 à 45 p. 100 de la radioactivité libre totale ; les autres composés marqués de façon importante dans ces organes et tissus, sont les composés acides retenus sur la colonne Dowex 2 ainsi que la cystéine dans le rein et la cystathionine dans la peau. Ces 2 derniers compartiments semblent aussi être actifs dans la transformation de la méthionine en cystine. C'est enfin dans le sang et surtout dans le muscle, que le métabolisme de la méthionine paraît le moins important : nous en retrouvons une grande quantité sous forme libre alors que nous ne détectons pas de composés de la transsulfuration.

Évolution de la radioactivité spécifique de la méthionine libre.

Sur la figure 1 sont représentées en coordonnées semi-logarithmiques, les variations de la radioactivité spécifique libre dans le sang, le plasma, le muscle et la peau. Il semble que, d'une façon générale dans les tissus étudiés, les variations de la radio-

FIG. 1. — Évolution de la radioactivité spécifique de la méthionine libre

- Sang
- △ Plasma
- Muscle
- Peau

activité spécifique de la méthionine libre, entre 2 h 30 et 7 h 30 ou 10 h puissent être représentées par une exponentielle simple. Les radioactivités spécifiques moyennes extrapolées à l'origine du temps sont voisines de $650 \cdot 10^3$ et $1330 \cdot 10^3$ dpm/mg de méthionine dans les tissus des veaux A et B.

4. — *Distribution de la radioactivité dans les protéines* (tabl. 6)

Les protéines dont la radioactivité est la plus élevée sont celles du foie et du pancréas. C'est aussi dans ces protéines que se trouvent les activités spécifiques de la méthionine et de la cystine les plus élevées. Dans les protéines de l'intestin, l'acti-

TABLEAU 6

Répartition de la radioactivité des protéines de différents tissus $\left(\frac{\text{dpm/g AAS}^{(1)}}{\text{r.a.i./g poids vif}} \right)$

Tissus	Veaux	Sang	Muscle	Peau	Foie	Pancréas	Intestin	Rein	Rate
Radioactivité des protéines (dpm 10 ³ p. 100 g de tissu)	A B	3 500	3 700 6 340	3 400 10 300	15 190 24 950	32 900 99 100	15 350 30 440	12 150 26 800	13 300 20 300
Méthionine	A B	15,5	9,0 6,9	12,1 18,8	59,6 71,1	100,8 134,0	59,1 68,6	34,1 44,1	43,3 33,5
Cystéine	A B	13,9	3,2 2,5	5,8 7,9	44,9 61,3	63,4 136,5	19,5 22,9	22,4 18,0	13,2 9,8
r.a.s. ⁽²⁾ cystéine r.a.s. méthionine	A B	0,89	0,36 0,36	0,48 0,42	0,86 0,75	1,02 0,64	0,33 0,33	0,41 0,65	0,29 0,36

⁽¹⁾ AAS : méthionine ou cystéine selon le cas.⁽²⁾ r.a.s. : radioactivité spécifique (dpm p. mg AAS). FIG. 2. — Évolution de l'incorporation de la méthionine-³⁵S

○ Peau
● Muscle

tivité spécifique de la méthionine est voisine de celle du foie, mais celle de la cystine est beaucoup plus basse. Le tissu dont les protéines sont les moins marquées est le muscle. Cela conduit à penser que l'activité de la synthèse protéique y est plus faible que dans les autres tissus ou organes étudiés. De plus, le muscle est avec la rate, le seul tissu dans lequel on observe une valeur de la radioactivité incorporée plus élevée à 7 h 30 (veau B) qu'à 10 h (veau A) après l'injection de méthionine-³⁵S. L'étude du rapport de la radioactivité spécifique de la cystéine à celle de la méthionine indique que dans le foie et le pancréas, la transformation de la méthionine en cystéine est active puisque ce rapport est voisin de 0,8. La valeur observée dans le sang, elle aussi élevée, doit plutôt refléter l'origine hépatique d'une fraction importante des protéines du sang. Dans la peau et les reins, ce rapport est proche de 0,5 alors qu'il est peu éloigné de 0,35 dans le muscle, l'intestin et la rate. Il semblerait donc que dans ces 3 compartiments, les enzymes de la transsulfuration soient moins actives ou que le catabolisme de la cystéine soit plus intense.

Évolution de la quantité de méthionine-³⁵S incorporée

La figure 2 indique que l'incorporation de la méthionine dans les protéines du muscle et de la peau, semble se faire de façon linéaire jusque vers 7 h 30 après l'injection de méthionine-³⁵S (veau B). Il semblerait qu'il y ait un léger ralentissement par la suite (veau A).

5. — Distribution de la radioactivité dans l'ensemble du corps

A partir de l'ensemble des résultats observés dans la fraction soluble et dans les protéines, du poids mesuré ou estimé des organes ou tissus analysés, nous avons entrepris de calculer la distribution de la radioactivité selon les composés et les compartiments (tabl. 7). Du fait de sa taille, le compartiment musculaire est celui qui renferme le plus de radioactivité, puis viennent le foie, l'intestin, la peau et le sang. Ce calcul confirme que dans le foie et le pancréas, l'incorporation de la méthionine dans les protéines et le catabolisme de la méthionine par transsulfuration sont particulièrement actifs et qu'il en est de même, à un moindre degré, dans le rein et la peau. En revanche, la forte utilisation de la méthionine dans l'intestin et la rate qui se traduit par une faible radioactivité de cet acide aminé, semble correspondre surtout à la synthèse protéique. Il n'y a en effet que peu de cystine marquée dans les protéines de ces organes. Comme ces protéines sont assez riches en cystine, on peut alors supposer que la cystine est fortement réutilisée, ou que ces organes bénéficient de l'apport de cystine par les protéines plasmatiques (EAGLE H. *et al.*, 1960 ; FROMM et NORDLIE, 1959).

Pour compléter ce tableau, nous y avons ajouté une estimation de la part de la radioactivité retrouvée sous forme de méthionine, de cystine ou de composés acides dans l'ensemble des tissus du veau. Cela permet de mieux mesurer l'importance de l'utilisation de la méthionine pour la synthèse protéique. Ainsi peut-on voir que les radioactivités de la méthionine et de la cystine incorporées dans les protéines sont respectivement voisines de 45 p. 100 et de 14 p. 100 de la radioactivité injectée retrouvée dans l'ensemble des tissus ou organes étudiés.

Enfin pour avoir un bilan plus complet de la radioactivité injectée, dans le tableau 8, nous avons montré la répartition de la radioactivité en tenant compte de

TABLEAU 7
Distribution de la radioactivité dans l'ensemble du corps

		Veaux	Sang	Muscle	Peau	Foie	Pancréas	Intestin	Rein	Rate	Total
Poids des tissus et organes (% poids vif)		A	10,4 ⁽¹⁾	36,6 ⁽³⁾	7,9 ⁽⁴⁾	2,21	0,08	4,21	0,5	0,4	62,3
		B	10,7 ⁽²⁾	38,1 ⁽³⁾	7,9 ⁽⁴⁾	2,56	0,06	4,19	0,4	0,3	64,2
Radioactivité totale (dpm 10 ⁶)		A	324	1 158	225	344	17	398	42	32	2 540
		B	989	3 378	1 017	1 251	61	1 126	124	65	8 011
Méthionine (% r.a. ⁽⁵⁾ tissus)	libre	A	21,4	20,0	16,7	7,3	1,8	4,7	6,2	5,9	13,9*
		B	16,2	30,5	12,4	3,2	1,7	6,5	6,7	7,7	17,1*
	protéique	A	26,2	53,2	42,0	31,4	45,6	72,1	49,4	62,5	44,5*
		B	31,1	52,6	46,4	25,4	36,9	68,1	54,8	67,5	44,6*
	totale	A	47,6	73,2	58,7	38,7	47,4	76,8	55,6	68,4	58,4*
		B	47,3	83,1	58,8	28,6	38,6	74,6	61,5	75,2	61,7*
Cystéine (% r.a. ⁽⁵⁾ tissus)	libre	A				19,8	1,8	1,1	5,5		2,7*
		B				30,0	1,6	0,4	13,4		4,7*
	protéique	A	29,7	8,5	20,8	20,2	39,2	14,0	27,8	14,9	13,9*
		B	35,6	8,3	19,6	14,9	41,4	14,6	16,4	13,8	14,6*
	totale	A	29,7	8,5	20,8	40,0	41,0	15,1	33,3	14,9	16,7*
		B	35,6	8,3	19,6	44,9	43,0	15,0	29,8	13,8	19,4*
Composés acides + taurine		A		11,0	13,7	8,0	2,6	2,7	7,8	3,6	10,2*
		B	11,1	2,8	7,9	13,3	1,0	3,8	4,5	5,8	6,7*

(¹) FAYET (1968) ; (²) STAHL et DALE (1958) ; (³) BUTTERFIELD, JOHNSON et PRYOR (1971) ; (⁴) ROY *et al.* (1964).
(⁶) r.a. : radioactivité.
* Pour 100 de la radioactivité retrouvée dans les tissus animaux, les contenus intestinaux et l'urine.

TABLEAU 8
Répartition de la radioactivité entre les principaux composés soufrés dans l'ensemble des tissus animaux, les contenus intestinaux et l'urine (p. 100)

	Veau A	Veau B
Radioactivité retrouvée (% r.a.i.)	72	71,8
Méthionine	58,9	63,3
Cystéine	17,7	20,2
Composés acides + taurine	20,3	10,8
Composés basiques	1,2	4,6
Total	98,1	98,9

celle des contenus intestinaux et de l'urine. Dans les 72 p. 100 de la radioactivité injectée retrouvée dans 64,2 ou 62,3 p. 100 du poids des animaux, la méthionine a la part la plus importante à l'abattage.

6. — Vitesses de synthèse protéique et temps de renouvellement des protéines

A partir de l'évolution de la radioactivité spécifique de la méthionine libre et de la radio activité incorporée sous forme de méthionine-³⁵S dans la peau et le muscle, il nous est possible d'évaluer la quantité de méthionine incorporée par heure dans les protéines et le temps de renouvellement des protéines de ces tissus selon la méthode décrite par ARNAL, FAUCONNEAU et PECH (1971) (tabl. 9). Comme on pouvait le déduire des observations précédentes, c'est dans le muscle que le temps de renouvellement des protéines est le plus long.

TABLEAU 9

*Vitesse d'incorporation de la méthionine (K_s)
et temps de renouvellement (T) des protéines du muscle et de la peau*

Tissus	Intervalle de temps	Veau A		Veau B	
		K_s (1)	T (j) (2)	K_s	T (j)
Muscle	0-5 h	0,91	18,3	0,77	23,0
	0-abattage	0,90	20,2	0,76	25,6
	2 h 30-abattage	0,91	22,9	0,87	26,5
	Moyenne	0,91	20,5	0,80	25,0
Peau	0-5 h	0,81	13,9	1,5	6,2
	0-abattage	0,68	16,2	1,46	7,2
	2 h 30-abattage	0,75	13,9	1,19	9,1
	Moyenne	0,75	14,7	1,38	7,5

(1) K_s : mg de méthionine incorporée par heure dans 100 g de tissu ;
= radioactivité de la méthionine incorporée/valeur de l'intégrale
de l'évolution de la r.a.s. en fonction du temps $\times$ longueur
de l'intervalle de temps considéré.

(2) T (j) = $\frac{\text{Teneur en méthionine protéique p. 100 g de tissu}}{K_s \times 24}$.

DISCUSSION

I. — Méthodologie

a) Animaux.

Les 2 veaux étudiés étaient assez différents puisqu'au début de l'expérience, ils avaient des poids assez éloignés et que pendant l'expérience, leurs vitesses de croissance furent très différentes. Cependant les résultats observés rapportés au

poids des animaux sont assez comparables. Ainsi les vitesses de croissance des deux veaux sont égales à 12 p. 100 du poids vif. Cela peut être une des raisons pour lesquelles les résultats obtenus sur les 2 veaux sont voisins.

b) *Prélèvements et abattage.*

Les prélèvements de sang, plasma, muscle et peau rasée effectués au cours de la journée étaient destinés à étudier le métabolisme de la méthionine et de la cystine dans ces tissus (incorporation dans les protéines, catabolisme). Cependant, si les échantillons de muscle et de peau rasée peuvent permettre d'estimer et de comparer les vitesses d'incorporation de la méthionine- ^{35}S dans les protéines puisque les tissus prélevés à chaque fois sont très voisins, ils ne sauraient être considérés avec certitude comme des échantillons représentatifs de la masse musculaire et de la peau. Nous en ferons l'hypothèse malgré tout en première approximation. Bien qu'il ait été montré (FROMM et NORDLIE, 1959) qu'à la suite de blessures, la vitesse d'incorporation de la méthionine et de la cystine dans le tissu cicatriciel et la transformation de la méthionine en cystine dans le foie soient plus importantes, nous ne pensons pas que les biopsies de muscle et de peau aient modifié profondément le métabolisme de ces acides aminés dans l'ensemble de l'organisme des veaux pendant les quelques heures qui suivirent les prélèvements.

Des intervalles de temps assez longs entre l'injection de méthionine- ^{35}S et l'abattage étaient nécessaires de façon à pouvoir observer le catabolisme du marqueur et l'incorporation des composés radioactifs dans les protéines. Cependant des temps trop longs ne nous auraient pas permis de mesurer correctement l'intensité de la synthèse protéique dans la peau et le muscle. C'est pourquoi nous avons choisi 10 h, puis 7 h 30, car au bout de 10 heures, l'incorporation de la méthionine- ^{35}S dans ces tissus semblait être légèrement ralentie.

c) *Radioactivité injectée et mesure de la radioactivité des composés soufrés par radiochromatographie.*

La dose de radioactivité injectée au veau A (2 mCi) était un peu faible pour détecter et doser certains composés soufrés dans les extraits ou les protéines. Ainsi, dans les protéines du muscle et de l'intestin du veau A, nous n'avons pas trouvé de quantités mesurables de cystine- ^{35}S ; or nous en avons trouvé dans celles du veau B. L'estimation de la quantité de cystine- ^{35}S qui pourrait être incorporée dans ces protéines chez le veau A, à partir du rapport de la radioactivité de la cystine à celle de la méthionine incorporée dans les protéines de muscle ou de l'intestin du veau B, conduit à des valeurs légèrement inférieures au seuil de détection de ce composé. Ce sont ces valeurs estimées que nous avons retenues comme représentant la radioactivité incorporée sous forme de cystine- ^{35}S dans les protéines musculaires et intestinales. Il est permis de penser que les phénomènes sont identiques chez les 2 veaux et que l'absence de cystine- ^{35}S détectable dans les protéines de muscle et d'intestin du veau A est due à la trop faible radioactivité injectée à cet animal.

2. — *Catabolisme de la méthionine*

Comme 7 h 30 et 10 h après injection de méthionine- ^{35}S , seulement 62 p. 100 et 58 p. 100 de la radioactivité sont retrouvés sous forme de méthionine, nous pouvons en déduire que le catabolisme de la méthionine est considérable pour un acide aminé

indispensable. Les études du catabolisme oxydatif du squelette carboné de ce composé l'ont souvent confirmé (KWONG et BARNES, 1963; FROST et MANN, 1966; HSU, ANTHONY et BUCHANAN, 1969; BENEVENGA et HARPER, 1970; AGUILAR, HARPER et BENEVENGA, 1972).

Transsulfuration.

Outre la transméthylation que nous n'avons pas étudiée, l'une des voies importantes du catabolisme de la méthionine est la transsulfuration par laquelle le soufre de la méthionine est incorporé à la cystéine. Si la transsulfuration a été signalée chez le Rat dans la peau (TARVER et SCHMIDT, 1939), dans le rein (FROMM et NORDLIE, 1959) ou le pancréas (BARNES et KWONG, 1965), c'est surtout dans le foie qu'elle a été étudiée. Chez le Veau, elle semble également la plus active dans le pancréas, le foie, le rein et la peau alors qu'elle est peu importante dans le muscle. L'étude de la teneur des tissus ou organes en cystine-³⁵S ou composés intermédiaires de la transsulfuration doit être rapprochée de celle de l'activité des 3 enzymes principales de cette voie (méthionine adénosyl-transférase, cystathionine- β -synthétase, γ -cystathionase) effectuée par MUDD *et al.* (1965) chez le Rat. C'est dans le foie, le pancréas et les reins que l'activité de ces 3 enzymes est la plus élevée alors qu'elle est faible dans le muscle. Les accumulations importantes de cystathionine observées dans la rate, le pancréas ou l'intestin (tabl. 4) pourraient indiquer que, comme chez le Rat, l'activité cystathionasique est plus faible dans ces organes par rapport à celle des 2 autres enzymes. Nous devons toutefois rappeler que le marquage important d'un tissu par la cystine-³⁵S ne signifie pas nécessairement que la transsulfuration est active dans ce tissu, car une partie de la cystine ³⁵S peut y avoir été transportée par les protéines plasmatiques.

Au niveau de l'animal entier, il semblerait que le catabolisme de la méthionine par transsulfuration soit quantitativement important puisque la cystine-³⁵S représente près de la moitié des catabolites de la méthionine à l'abattage (tabl. 7); l'autre moitié correspond soit à des intermédiaires du catabolisme de la méthionine vers la cystine (S-adenosyl méthionine, cystathionine), soit à des produits du catabolisme de la cystine (taurine), soit à des composés non identifiés avec certitude mais qui pour l'essentiel dérivent du catabolisme de la cystine ou éventuellement de la méthionine (sulfate).

L'importance de la transsulfuration dans le catabolisme de la méthionine a aussi été mis en évidence par LASTER *et al.* (1965) qui ont montré que la méthioninémie augmentait considérablement et que l'excrétion de sulfate dans l'urine restait faible après administration d'une surcharge de méthionine à des patients souffrant d'une déficience en cystathionine synthétase.

3. — *Catabolisme de la cystine*

N'ayant isolé et identifié avec certitude parmi les catabolites de la cystine que la taurine, il nous est difficile de quantifier l'importance du catabolisme de la cystine. Cependant nous avons vu que les différents composés soufrés retenus sur Dowex 2 étaient principalement des produits du catabolisme de la cystine.

Il semblerait donc que si le catabolisme direct de la méthionine est faible,

le catabolisme de la cystine soit intense puisqu'une proportion importante de la radioactivité qui n'est pas sous forme de méthionine est représentée par des catabolites de la cystine.

4. — *Incorporation de la méthionine-³⁵S*

Les organes ou tissus classés dans l'ordre décroissant des activités spécifiques de la méthionine sont : le pancréas, le foie, l'intestin, les reins ou la rate, la peau, le sang et le muscle. Ces résultats sont en partie en accord avec ceux signalés par ailleurs. Ainsi, une synthèse des observations de différents auteurs ayant comparé, après administration de méthionine-³⁵S, l'incorporation dans divers organes, du soufre marqué (FRIEDBERG, TARVER et GREENBERG, 1948, MURUMATSU, SATO et ASHIDA, 1963 chez le Rat, et PETRICHEV et LAZAROV, 1970 chez le Cobaye) ou de la méthionine-³⁵S (HSU et WOOSLEY, 1972, COHEN *et al.*, 1973 chez le Rat), montre que c'est dans les protéines du pancréas ou de la muqueuse intestinale que se trouvent les activités les plus fortes, puis viennent les protéines du foie ou du rein ; les activités les plus faibles se rencontrent dans le sang et le muscle. Si, dans l'intestin, l'activité spécifique de la méthionine que nous avons mesurée est nettement inférieure à celle du pancréas, c'est sans doute parce que notre analyse a porté sur la paroi intestinale entière et non sur la seule muqueuse intestinale. Pour résumer ces observations, il semblerait que l'on puisse distinguer schématiquement deux groupes ; l'un particulièrement actif qui comporte le pancréas, le foie, l'intestin, le rein et la rate, l'autre beaucoup moins actif qui comprend la peau, le sang et le muscle.

5. — *Incorporation de la cystine-³⁵S*

Les tissus contenant le plus de cystine-³⁵S provenant du catabolisme de la méthionine ³⁵S sont ceux dans lesquels on notait la plus forte incorporation de méthionine-³⁵S : pancréas et foie. Il n'en est pas nécessairement de même pour les autres tissus ou organes, car une forte incorporation de cystine-³⁵S nécessite à la fois un apport important de cystine-³⁵S provenant de la transsulfuration et une active synthèse protéique. C'est la raison pour laquelle nos résultats diffèrent quelque peu de ceux de HSU et ANTHONY (1971) et de COHEN *et al.* (1973) qui étudient l'incorporation de cystine-³⁵S après injection de cystine-³⁵S. Dans ces conditions en effet, l'incorporation de la cystine-³⁵S dépend uniquement de la synthèse protéique. Ainsi dans le foie, nous observons une activité spécifique de la cystine après injection de méthionine-³⁵S, plus élevée que dans la plupart des organes, alors que selon ces auteurs elle est inférieure à celle de la muqueuse intestinale ou des reins. Cela pourrait signifier que dans le foie, la transsulfuration est particulièrement active. La peau qui est le tissu le plus marqué chez le Rat après injection de cystine-³⁵S (HSU et ANTHONY, 1971) est beaucoup moins marquée par la cystine-³⁵S après injection de méthionine-³⁵S chez le Veau. Il est possible que cette différence tienne au mode d'expression des résultats puisque HSU et ANTHONY mesurent l'activité spécifique de la protéine et que nous avons calculé celle de la cystine. Elle pourrait aussi signifier que l'intensité de la synthèse protéique dans ce tissu l'emporte sur celle de la transsulfuration.

6. — *Bilan azoté*

De l'évaluation de la quantité d'azote fixée par jour, nous avons déduit les quantités de méthionine et de cystine retenues. Connaissant la teneur en soufre de ces acides aminés, nous pouvons calculer la quantité de soufre venant de la méthionine qui est retenue dans les protéines sous forme de méthionine et de cystine (tabl. 10).

TABLEAU 10

Estimation du bilan des acides aminés soufrés

	Veau A			Veau B		
	Acide aminé	Soufre	% ⁽¹⁾	Acide aminé	Soufre	% ⁽¹⁾
Méthionine ingérée (g) ...	11,33	2,417	100	12,85	2,740	100
Cystine ingérée (g)	2,26	0,603		2,57	0,685	
Méthionine fixée (g)	2,87	0,612	25	4,75	1,014	37
Cystine fixée (g)	1,55	0,414		2,85	0,760	
Méthionine non fixée (g) .	8,46	1,805	75	8,10	1,730	63
Cystine fixée provenant de la méthionine (g) ⁽²⁾ ...	1,70	0,452	18,7	2,04	0,543	20

⁽¹⁾ Quantité de soufre des acides aminés en pour cent de la quantité de soufre de la méthionine.

⁽²⁾ Quantités estimées de la façon suivante :

$$\frac{\text{S cystine fixée} \times \text{S méthionine non fixée}}{\text{S méthionine non fixée} + \text{S cystine ingérée}} = \text{S cystine fixée provenant de la méthionine.}$$

Là encore, le catabolisme de la méthionine paraît intense puisque 63 à 75 p. 100 de la quantité journalière ingérée seraient dégradés. Si on suppose que la totalité du soufre de la méthionine catabolisée est incorporée dans la cystine, c'est 20 à 19 p. 100 du soufre de la méthionine ingérée par jour qui seraient fixés dans les protéines sous forme de cystine. Ces résultats sont voisins du pourcentage de radioactivité injectée retrouvée sous forme de cystine à l'abattage (tabl. 7).

7. — *Conséquences*

Les résultats de l'étude du métabolisme de la méthionine par l'intermédiaire du bilan azoté ne semblent pas en contradiction avec ceux obtenus à l'aide de méthionine-³⁵S. Les différences constatées dans l'estimation de la quantité de méthionine retenue dans les protéines : 45 p. 100 de la méthionine-³⁵S (tabl. 7) ou 25 à 37 p. 100 de la méthionine ingérée (tabl. 10) peuvent s'expliquer de plusieurs façons. Tout d'abord, il est compréhensible que le métabolisme de la méthionine ingérée puis absorbée, soit quelque peu différent de celui de la méthionine injectée directement dans la veine jugulaire (STEGINK et DEN BESTEN, 1972) puisque, dans ce dernier cas, on élimine l'incidence de l'absorption et on minimise l'importance du tractus intestinal et du foie. Or nous avons déjà souligné chez le Veau le rôle considérable de ces

2 organes dans la synthèse protéique et le catabolisme de la méthionine. De plus, si les résultats estimés par la méthode des bilans représentent les valeurs moyennes journalières de phénomènes mesurés sur plusieurs jours, ceux obtenus par dosage de la radioactivité correspondent à l'ensemble des phénomènes mesurés sur 7 h 30 ou 10 h. Enfin, il faut reconnaître que la précision de ces résultats est affectée par les diverses approximations ou estimations que nous avons dû faire (poids de certains tissus, échantillonnage, quantités d'acides aminés soufrés fixés).

De la même façon, les 3 hypothèses évoquées pour la méthionine peuvent contribuer à expliquer les différences constatées entre les 2 estimations pour la cystine. Les différences sont beaucoup plus faibles si à la quantité de cystine ^{-35}S retenue dans les protéines, nous ajoutons la cystéine ^{-35}S soluble dont une fraction considérable est incorporée dans le glutathion (tabl. 7). La concordance des résultats ainsi obtenus semblerait justifier l'hypothèse que nous avons faite pour calculer la quantité de cystine retenue provenant du catabolisme de la méthionine, selon laquelle l'essentiel du soufre de la méthionine dégradée est transféré à la cystéine.

De la comparaison de ces 2 méthodes d'étude du métabolisme de la méthionine, il paraît découler que chez des veaux ayant une bonne croissance (veau B) et recevant un régime riche en méthionine, près de 40 p. 100 de la méthionine ingérée est retenue dans les protéines tandis que le reste, catabolisé par transsulfuration, fournit de la cystine et d'autres métabolites. Il en résulte qu'avec ce régime trop riche en acides aminés soufrés (4,5 g de méthionine et 0,9 g de cystine pour 100 g de matières azotées), la quantité de méthionine nécessaire à la synthèse protéique est voisine de 33 p. 100 du total des acides aminés soufrés du régime. Il semble donc que dans un régime convenablement équilibré, la méthionine doive nécessairement représenter plus de 33 p. 100 des acides aminés soufrés. Cela est en accord avec les 40 à 50 p. 100 obtenus par PION (1972), BYINGTON, HOWE et CLARK (1972) chez le Rat en croissance, GRABER, SCOTT et BAKER (1971) chez le Poulet, BAKER *et al.* (1969) chez le Porc, mais s'oppose quelque peu aux 30 p. 100 trouvés chez le Rat par RAO, NORTON et JOHNSON (1961) et SOWERS, STOCKLAND et MEADE (1972) ou chez le Porc par MITCHELL *et al.* (1968).

CONCLUSION

Bien que cette étude du métabolisme de la méthionine- ^{35}S ait été conduite sur 2 animaux seulement qui, de plus, étaient assez différents, les principales voies du métabolisme des acides aminés soufrés ont pu être retrouvées chez le Veau préruminant. Dans l'organisme de veaux recevant un régime riche en méthionine et pauvre en cystine (teneurs respectives : 4,5 g et 0,9 g p. 100 g de matières azotées), la méthionine est rapidement incorporée ou catabolisée pour donner de la cystéine. Les organes les plus actifs dans l'utilisation métabolique de la méthionine sont le pancréas et le foie ; dans le muscle au contraire, la synthèse protéique et le catabolisme de la méthionine paraissent moins intenses que dans tous les autres tissus ou organes étudiés. Chez le Veau préruminant de plus d'un mois, le besoin en cystéine semblerait pouvoir être satisfait pour une grande part au moins, par un apport convenable de méthionine, comme chez la plupart des autres mammifères ; l'apport de cystine dans le régime devrait permettre de diminuer l'apport de méthionine.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier MM. C. RONGÈRE, J. LEFAIVRE et C. CHAMPREDON de l'aide particulière qu'ils nous ont apportée pour la réalisation de cette expérience.

SUMMARY

METABOLISM OF ³⁵S-METHIONINE IN THE PRERUMINANT CALF

Two and five mCi of ³⁵S-methionine are injected respectively into the jugular vein of 2 *Friesian* calves weighing 52.8 kg (calf A) and 85.2 kg (calf B) in order to study methionine metabolism in the preruminant calf. Milk replacer distributed to the animals contains 24.8 p. 100 cow milk proteins supplemented with lysine, threonine, arginine and methionine. Samples of blood, skin and muscle are taken 2 1/2 and 5 hours after injection. When calves A and B are slaughtered (10 and 7 1/2 hours after injection), samples of blood, skin, muscle, liver, pancreas, intestine, kidneys and spleen are taken to study the distribution of ³⁵S between methionine and its metabolites in the trichloroacetic acid soluble or insoluble fractions of these tissues or organs.

Taurine, methionine sulphoxides, reduced or oxidized glutathion, cystine, cystathionine and methionine are identified among the labelled components of the soluble fraction. Labelled components of proteins are methionine and cystine (tabl. 6). Abundance of labelled metabolites of transsulphuration indicates that this metabolic pathway is particularly active in liver and pancreas. This is confirmed by the large proportion of radioactivity incorporated in the proteins of these organs in the form of ³⁵S-cystine. Other tissues in which transsulphuration also seems active are kidneys and skin. The amount of ³⁵S-methionine measured in proteins shows that in pancreas, liver, intestine, kidneys and spleen, protein synthesis is very intense (tabl. 7). In skin, and especially in muscle, metabolic utilization of methionine is less intense. Distribution of main labelled components in the total radioactivity found in tissues of calves A and B, respectively, is the following : methionine 58.4 and 61.7 p. 100 (44.5 and 44.6 p. 100 in the form of ³⁵S-methionine incorporated in proteins), cystine 16.7 and 19.4 p. 100 (13.9 and 14.6 p. 100 in the form of ³⁵S-cystine incorporated in proteins) (tabl. 7). Using the nitrogen balance method to estimate quantities of methionine and cystine retained, it is found that 25 and 37 p. 100 of sulphur ingested in the form of methionine is retained in methionine of the proteins of calves A and B. It is concluded from our results that methionine may be actively converted into cystine and dietary cystine may have a sparing-effect on methionine requirement of the preruminant calf.

However, in a balanced diet, methionine should represent more than 33 p. 100 of sulphur amino acids.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AGUILAR T. S., HARPER A. E., BENEVENGA N. J., 1972. Efficiency of utilization of indispensable amino acids for growth by the rat. *J. Nutr.*, **102**, 1199-1208.
- ARNAL M., FAUCONNEAU G., PECH R., 1971. Étude de la synthèse protéique *in vivo* ; mesure de l'activité anabolisante de divers tissus du rat en croissance à l'aide de la lysine -¹⁴C (U). *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, **11**, 245-264.
- BAKER D. H., CLAUSING W. W., HARMON B. G., JENSEN A. H., BECKER D. E., 1969. Replacement value of cystine for methionine for the young pig. *J. Anim. Sci.*, **29**, 581-584.
- BARNES R. H., KWONG E., 1965. Effect of soybean trypsin inhibitor and penicillin on cystine biosynthesis in the pancreas and its transport as exocrine protein secretion in the intestinal tract of the rat. *J. Nutr.*, **86**, 245-252.
- BENEVENGA N. J., HARPER A. E., 1970. Effect of glycine and serine on methionine metabolism in rats fed diets high in methionine. *J. Nutr.*, **100**, 1205-1214.

- BUTTERFIELD R. M., JOHNSON E. R., PRYOR W. J., 1971. A study of growth in calves. I. Carcass tissues. *J. Agric. Sci. Camb.*, **76**, 453-458.
- BYINGTON M. H., HOWE J. M., CLARK H. E., 1972. Effect of different levels and proportions of methionine, cystine, choline and inorganic sulfur on growth and body composition of young rats. *J. Nutr.*, **102**, 219-228.
- COHEN P. A., SCHNEIDMAN K., GINSBERG-FELLNER F., STURMAN J. A., KNITTLE J., GAULL G. E., 1973. High pyridoxine diet in the rat : possible implications for megavitamin therapy. *J. Nutr.*, **103**, 143-151.
- EAGLE H., DYAMA V. I., PIEZ K. A., 1960. The reversible binding of half-cystine residues to serum protein and its bearing on the cystine requirement of cultured mammalian cells. *J. Biol. Chem.*, **235**, 1719-1726.
- FAYET J. C., 1968. Recherches sur le métabolisme hydrominéral chez le veau normal ou en état de diarrhée. III. Les compartiments liquidiens. *Rech. vétér.*, **1**, 117-126.
- FINKELSTEIN J. D., 1970. In MUTH O. H. et OLDFIELD J. E., *Symposium : sulfur in nutrition*. The A. V. I. publishing Company. Westport Connecticut p. 46-60.
- FRIEDBERG F., TARVER H., GREENBERG D. M., 1948. The distribution pattern of sulphur labeled methionine in the protein and the free amino acid fraction of tissues after intravenous administration. *J. Biol. Chem.*, **173**, 353-361.
- FROMM H. J., NORDLIE R. C., 1959. Redistribution of methionine and cystine during experimental wound healing. *Biochim. Biophys. Acta.*, **31**, 357-367.
- FROST A. B., MANN G. V., 1966. Effects of cystine deficiency and trypsin inhibitor on the metabolism of methionine. *J. Nutr.*, **89**, 49-54.
- GAITONDE M. K., GAULL G. E., 1967. A procedure for the quantitative analysis of the sulphur amino acids of rat tissues. *Biochem. J.*, **102**, 959-975.
- GRABER G., SCOTT H. M., BAKER D. H., 1971. Sulfur amino acid nutrition of the growing chick : effect of age on the capacity of cystine to spare dietary methionine. *Poultry Sci.*, **50**, 1450-1455.
- Hsu J. M., ANTHONY W. L., BUCHANAN P. J., 1969. Zinc deficiency and oxidation of L-methionine-methyl ¹⁴C in rats. *J. Nutr.*, **97**, 279-285.
- Hsu J. M., ANTHONY W. L., 1971. Impairment of cystine-³⁵S incorporation into skin protein by zinc-deficient rats. *J. Nutr.*, **101**, 445-452.
- Hsu J. M., WOOSLEY R. L., 1972. Metabolism of L-methionine-³⁵S in zinc deficient rats. *J. Nutr.*, **102**, 1181-1186.
- KWONG E., BARNES R. H., 1963. Effect of soybean trypsin inhibitor in methionine cystine utilization. *J. Nutr.*, **81**, 392-398.
- LASTER L., MUDD S. H., FINKELSTEIN J. D., IRREVERRE F., 1965. Homocystinuria due to cystathionine synthetase deficiency : the metabolism of L-methionine. *J. Clin. Invest.*, **44**, 1708-1719.
- MITCHELL J. R., BECKER D. E., HARMON B. G., NORTON H. W., JENSEN A. H., 1968. Some amino acid needs of the young pig fed a semi-synthetic diet. *J. Anim. Sci.*, **27**, 1322-1326.
- MOORE S., SPACKMAN D. H., STEIN H. W., 1958. Chromatography of amino acids on sulfonated polystyrene resins. *Analyt. Chem.*, **30**, 1185-1190.
- MUDD S. H., FINKELSTEIN J. D., IRREVERRE F., LASTER L., 1965. Transsulfuration in mammals. Microassays and tissue distributions of three enzymes of the pathway. *J. Biol. Chem.*, **240**, 4382-4392.
- MURUMATSU K., SATO T., ASHIDA K., 1963. Dietary protein level and the turnover rate of tissue proteins in rats. *J. Nutr.*, **81**, 427-433.
- PATUREAU-MIRAND P., PRUGNAUD J., PION R., 1973. Influence de la supplémentation en acides aminés soufrés d'un aliment d'allaitement sur l'acido-aminoacidémie. Estimation du besoin en méthionine du veau prédominant. *Ann. Biol. anim. Biochim. Biophys.* (sous presse).
- PAWLAK M., PION R., 1968. Influence de la supplémentation des protéines du blé par des doses croissantes de lysine sur la teneur en acides aminés libres du sang et du muscle du rat en croissance. *Ann. Biol. anim. Biochim. Biophys.*, **8**, 517-530.
- PETRICHEV M., LAZAROV V., 1970. Étude de l'incorporation de méthionine-³⁵S dans les protéines de certains organes des cobayes. *C. R. Soc. Biol.*, **164**, 16-19.
- PION R., FAUCONNEAU G., 1966. Les acides aminés des protéines alimentaires : méthodes de dosage et résultats obtenus, in *Amino acids, peptides, protéines*. Cahier n° 6, 159-175. A. E. C. Société de Chimie organique et biologique. Paris.
- PION R., 1972. In de CUENCA C. L., VANBELLE M., 1972. *Protéines et acides aminés en nutrition humaine et animale*. Gráficas Orbe. Madrid.
- RAO R., NORTON H. W., JOHNSON B. C., 1961. The amino acid composition and nutritive value of proteins. IV. Phenylalanine, tyrosine, methionine and cystine requirements of the growing rat. *J. Nutr.*, **73**, 38-42.
- ROY J. H. B., GASTON H. J., SHILLAM K. W. G., THOMPSON S. Y., STOBO I. J. F., GREATOREX J. C., 1964. The nutrition of the veal calf. The effect of anemia and of iron and chlortetracycline supplementation on the performance of calves given large quantities of whole milk. *Br. J. Nutr.*, **18**, 467-502.
- SOWERS J. E., STOCKLAND W. L., MEADE R. J., 1972. L-methionine and L-cystine requirements of the growing rat. *J. Anim. Sci.*, **35**, 782-788.

- STAHL P. R., DALE H. E., 1958. Blood volumes of dairy calves comparing ⁵¹Cr tagged red blood cells and T 1824 plasma dilution methods. *Am. J. Physiol.*, **198**, 244-248.
- STEGINK L. D., DEN BESTEN L., 1972. Synthesis of cysteine from methionine in normal adult subjects : effect of route of alimentation. *Science*, **178**, 514-516.
- TARVER H., SCHMIDT C. L. A., 1939. The conversion of methionine to cystine : experiments with radioactive sulfur. *J. Biol. Chem.*, **130**, 67-80.
-