**CONTENUS EN PROTÉINES
ET EN ACIDES NUCLÉIQUES DU FOIE HYPERTROPHIÉ
APRÈS LA LIBRE INGESTION
DE DI-TERTIO-BUTYL-HYDROXY-TOLUÈNE (BHT)
CHEZ LE RAT, LE PORC ET LE POULET EN CROISSANCE
INFLUENCE DU TAUX PROTÉIQUE DE LA RATION**

G. DURAND, G. PASCAL, B. DESMOULIN* et P. DELPECH**
avec la collaboration technique de Noëlle BOURGÉAUX

*Station de Recherches de Nutrition,
Centre national de Recherches zootechniques, I. N. R. A.,
78350 Jouy en Josas*

* *Station de Recherches sur l'Élevage des Porcs,
Centre national de Recherches zootechniques, I. N. R. A.,
78350 Jouy en Josas*

** *Institut national agronomique Paris-Grignon,
78850 Thiverval Grignon*

RÉSUMÉ

Les effets de l'ingestion de BHT sur l'appétit, la vitesse de croissance et l'hypertrophie hépatique sont étudiés chez le Rat, le Porc et le Poulet en croissance. L'hypertrophie hépatique est envisagée sous l'angle de l'accumulation des protéines ($N \times 6,25$) et des acides nucléiques, l'ADN en particulier. De plus, chez le Rat, les effets de l'antioxygène sur ces mêmes facteurs sont étudiés en fonction du taux protéique du régime.

Des lots de Rats mâles reçoivent des régimes contenant 0,2 p. 100 de BHT, et 8 p. 100, 13 p. 100 ou 18 p. 100 de protéines. Des lots de Porcs, mâles castrés ou femelles, reçoivent des régimes contenant 0,6 p. 100 ou 1,2 p. 100 de BHT et 19 p. 100 de protéines. Des lots de Poulets mâles reçoivent des régimes contenant de 0,2 p. 100 à 1,6 p. 100 de BHT et 24 p. 100 de protéines. Ces lots sont comparés à des lots témoins alimentés *ad libitum* et, éventuellement, à des lots témoins restreints.

Les résultats permettent de dégager les points suivants :

— L'addition de BHT, à la concentration de 0,2 p. 100 dans le régime, réduit légèrement l'appétit des Rats (de — 3 p. 100 à — 8,5 p. 100) ; cependant, l'addition de l'antioxygène reste sans effet sur l'appétit des Porcs, même à la concentration de 1,2 p. 100, et sur l'appétit des Poulets, même à la concentration de 1,6 p. 100.

— La vitesse de croissance des Rats dont le régime contient 0,2 p. 100 de BHT est équivalente à celle des témoins restreints correspondants, lorsque le régime contient suffisamment de protéines (13 p. 100 et 18 p. 100) ; mais elle lui est inférieure lorsque l'apport protéique est insuffisant (8 p. 100). La vitesse de croissance des Porcs n'est pas modifiée, même lorsque la concentration de l'antioxygène dans le régime atteint 1,2 p. 100. La vitesse de croissance du Poulet n'est pas modifiée pour une concentration de 0,8 p. 100, mais diminue de 55 p. 100 pour une concentration de 1,6 p. 100.

— L'addition de BHT dans le régime alimentaire provoque une hypertrophie hépatique chez les trois espèces, mais pour des concentrations différentes, le Rat étant le plus sensible, puis le Porc et enfin le Poulet. L'hypertrophie hépatique est généralement accompagnée d'augmentations proportionnelles des contenus en protéines et en ARN du foie ; par contre, l'effet du BHT sur l'accumulation d'ADN hépatique varie selon les espèces ; cet effet est nul chez le Poulet, stimulant chez le Porc et le Rat ; cependant, chez le Rat, l'effet stimulant est contrebalancé par l'autorestriction alimentaire.

INTRODUCTION

Le di-tertio-butyl-hydroxy-toluène (BHT) est l'un des antioxygènes couramment utilisés pour la conservation des produits alimentaires sensibles à la peroxydation. Les effets biochimiques et physiologiques que l'ingestion de ce composé induit dans l'organisme ont fait l'objet d'un assez grand nombre de travaux, passés en revue récemment par PASCAL et TERROINE (1966 *a*) et PASCAL (1974). Ces travaux concernent plus particulièrement les effets du BHT :

— sur l'appétit et la vitesse de croissance (DEICHMANN et coll., 1955 ; BROWN et coll., 1959 ; GAUNT et coll., 1955 *a* et *b* ; FRAWLEY et coll., 1965 ; PASCAL et coll., 1970 ; DURAND et PASCAL, 1973) ;

— sur la digestibilité des protéines et des lipides (PASCAL et DURAND, 1970 ; PASCAL et TERROINE, 1972) ;

— sur le métabolisme énergétique (JOHNSON et HOLDSWORTH, 1968 ; PASCAL et TERROINE, 1969 *b*, 1972 ; PASCAL et DURAND, 1970 ; PASCAL, 1971) ;

— sur le foie, dont la taille est augmentée par l'ingestion de fortes doses de l'additif ; cette hypertrophie hépatique a particulièrement retenu l'attention, et un grand nombre d'études que PASCAL (1974) analyse dans sa revue sont consacrées à ses aspects histologiques et biochimiques. Il apparaît, à ce propos, que la relation entre l'hypertrophie du foie d'une part, l'accumulation des protéines et des acides nucléiques d'autre part, est insuffisamment connue.

On relève également des études qui portent sur les relations entre le BHT et d'autres composés, tels que la vitamine E, ou certains agents hépatotoxiques ; ajoutons encore les recherches concernant les effets de l'ingestion régulière de BHT sur la longévité ; cette question est analysée dans une récente revue (DURAND, 1972).

Cependant, hormis le domaine des vitamines E et A, il est à noter que très peu de travaux se rapportent à l'étude des relations entre les effets du BHT et la composition du régime alimentaire ; on peut citer, à ce propos, BROWN et coll. (1959), JOHNSON et HOLDSWORTH (1968), PASCAL et TERROINE (1972) qui s'intéressent à diverses actions du BHT en fonction du taux et/ou de la nature des lipides du régime, et DURAND et PASCAL (1973) qui démontrent que le Rat mâle adulte ne peut tolérer plus de 300 mg/kg/jour de l'additif lorsque le régime ne contient que 13 p. 100 de protéines équilibrées, tandis qu'il en tolère jusqu'à 630 mg/kg/j lorsque le régime en contient 26 p. 100. Ce sont-là, à notre connaissance, avec celle de SPORN et SCHOBESCH (1961), les seules publications relatives à cette question.

Par ailleurs, comme le font remarquer MILNER (1967) et PASCAL et TERROINE (1969 *a*), « la quasi totalité des observations sont effectuées chez le Rat, parfois chez

la Souris ». Toute la législation concernant l'usage du BHT en alimentation repose sur des expériences effectuées chez ces deux rongeurs, et surtout chez le Rat.

Dans le présent travail, nous nous proposons d'étudier l'effet de l'ingestion de BHT, ajouté à de fortes concentrations dans le régime, sur l'appétit, la vitesse de croissance et l'hypertrophie hépatique chez plusieurs espèces animales : le Rat, le Porc et le Poulet. De plus, chez le Rat, l'influence du taux protéique de la ration sur les effets du BHT est étudiée. L'hypertrophie hépatique est surtout envisagée sous l'angle peu exploré de l'accumulation des protéines ($N \times 6,25$) et des acides nucléiques, l'ADN en particulier.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. 1. *Rats*

Quatre-vingt-dix Rats mâles *Wistar*, âgés de 4 semaines et pesant $70 \text{ g} \pm 2 \text{ g}$, sont répartis en 3 groupes de 30 animaux qui reçoivent respectivement des régimes renfermant 8 p. 100, 13 p. 100 et 18 p. 100 de protéines : ces régimes sont dits régimes témoins (Rt_1 , Rt_2 et Rt_3), et leur composition centésimale figure sur le tableau 1.

TABLEAU 1

Rats
Composition centésimale des régimes alimentaires

Régime	Rt_1	Rt_2	Rt_3
Protéines p. 100 du régime ⁽¹⁾ ($N \times 6,25$)	8	13	18
Farine de Hareng de Norvège	110	180	250
Amidon de Maïs ⁽²⁾	516,7	446,2	375,7
DL-méthionine	0,8	1,3	1,8
Sucre cristallisé	220	220	220
Huile d'arachide	92,5	92,5	92,5
Mélange minéral	30	30	30
Mélange vitaminique	10	10	10
Agar-Agar	20	20	20

⁽¹⁾ Par rapport à la matière sèche.

⁽²⁾ Dans les régimes expérimentaux (E_1 , E_2 , E_3), 2 g de BHT sont ajoutés aux dépens de l'amidon de Maïs.

Chaque groupe est lui-même divisé en 3 lots de 10 animaux :

- 1 lot, dit témoin (T_1 , T_2 ou T_3), reçoit le régime témoin correspondant à son groupe ;
- 1 lot, dit expérimental (E_1 , E_2 ou E_3) reçoit le régime témoin additionné de 0,2 p. 100 de BHT ;
- 1 lot, dit témoin restreint (TR_1 , TR_2 ou TR_3), reçoit le régime témoin, mais la quantité d'ali-

ment distribuée à chaque animal de ce lot est alignée sur la consommation moyenne des animaux du lot E correspondant de même poids.

La pesée des Rats et la mesure de leur consommation alimentaire sont effectuées quotidiennement. Tous les lots sont sacrifiés à 300 g et peuvent ainsi être comparés à poids égal ; les animaux sont mis au jeûne 15 heures avant le sacrifice, ce qui explique les pertes de poids accusées lors de la dernière pesée, qui apparaissent sur les courbes de croissance (fig. 2) ; les animaux sont saignés sous anesthésie à l'éther ; leur foie est prélevé, pesé et conservé dans l'azote liquide jusqu'au moment du traitement analytique.

1. 2. *Porcs.*

Soixante-douze Porcs *Large White* dont 36 mâles castrés et 36 femelles, âgés de 10 semaines et pesant 25 kg environ, sont répartis en 3 lots pour chaque sexe, soit au total 6 lots de 12 sujets.

Un lot de castrats et un lot de femelles reçoivent un régime, dit régime témoin, contenant 19 p. 100 de protéines et dont la composition centésimale figure sur le tableau 2 ; ces deux lots constituent les lots témoins (lots TM et TF). Les quatre autres lots dits expérimentaux, reçoivent le régime témoin additionné de BHT, soit à la concentration de 0,6 p. 100 (lots EM₁ et EF₁), soit à la concentration de 1,2 p. 100 (lots EM₂ et EF₂). Les animaux sont pesés chaque semaine et la consommation alimentaire moyenne de chaque lot est mesurée. Tous les animaux sont abattus au poids de 100 kg, par électrocution, après un jeûne de 15 heures ; ils sont saignés aussitôt après et leur foie est prélevé ; l'organe est ensuite pesé et immédiatement broyé au hachoir à viande ; une partie du broyat, 100 g environ, est conservée dans l'azote liquide avant traitement.

TABIEAU 2

Porcs

Composition centésimale du régime alimentaire

Protéines (N × 6,25) p. 100 du régime ⁽¹⁾	19
Mais ⁽²⁾	74
Tourteau de Soja	15
Farine de poisson	3
Son	4
Mélange minéral	3
Mélange vitaminique	1

⁽¹⁾ Par rapport à la matière sèche.

⁽²⁾ Dans les régimes expérimentaux : 0,6 p. 100 ou 1,2 p. 100 de BHT sont ajoutés aux dépens du Mais.

1. 3. *Poulets.*

Trente-six Poulets mâles *Hubard* âgés de 5 semaines, pesant 948 ± 50 g, sont répartis en 3 lots de 12 sujets qui sont alimentés comme indiqué ci-dessous :

a) *De l'âge de 5 semaines à celui de 9 semaines :*

- 1 lot, dit lot témoin (T), reçoit un régime contenant 24 p. 100 de protéines et 8 p. 100 de lipides ; ce régime constitue le régime témoin (Rt) ;
- 1 lot (A) reçoit le régime témoin additionné de 0,2 p. 100 de BHT (régime (Ra₁) ;
- 1 lot (B) reçoit le régime témoin additionné de 0,4 p. 100 de BHT (régime (Rb₁).

b) *De l'âge de 9 semaines à celui de 11 semaines :*

- le lot T reçoit encore le régime témoin (régime Rt) ;
- le lot A reçoit le régime témoin, additionné de 0,8 p. 100 de BHT (régime (Ra₂) ;
- le lot B reçoit le régime témoin, additionné de 1,6 p. 100 de BHT (régime (Rb₂).

La composition centésimale des régimes figure sur le tableau 3. Les animaux sont pesés chaque semaine, et leur consommation alimentaire est mesurée. A l'âge de 11 semaines, les animaux sont sacrifiés par saignée, après un jeûne de 15 heures ; leur foie est prélevé, pesé et conservé dans l'azote liquide.

TABLEAU 3

Poulets

Composition centésimale des régimes alimentaires

Régimes	Rt	Ra ₁	Rb ₁	Ra ₂	Rb ₂
Protéines p. 100 du régime ⁽¹⁾ (N × 6,25)	24	24	24	24	24
Maïs	52	51,8	51,6	51,2	51,4
Tourteau de Soja	33	33	33	33	33
Farine de Luzerne	2	2	2	2	2
Farine de Poisson	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5
Huile d'arachide	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5
Complément minéral et vitaminique	4	4	4	4	4
BHT	—	0,2	0,4	0,8	1,6

(¹) Par rapport à la matière sèche.

2. — Méthodes analytiques

Les méthodes analytiques qui conduisent à la détermination des contenus hépatiques en protéines (N × 6,25) et en acides nucléiques ont déjà fait l'objet d'une description détaillée (DURAND et coll., 1969).

RÉSULTATS

Expression des résultats : les quantités d'acides nucléiques, ARN et ADN, sont exprimées en micromoles de bases (μ M-bases) puriques et pyrimidiques ; il est aisé de transformer ces données en μ g de P-ARN ou P-ADN en les multipliant par 31, ou en mg d'ARN ou d'ADN en les multipliant par 0,34.

Certains résultats sont donnés sous forme de moyennes accompagnées de l'erreur standard. Les calculs portent sur l'analyse de variance.

1. — Rats

1. 1. Effets de l'ingestion de BHT sur la consommation alimentaire et la vitesse de croissance. Incidence du taux protéique de la ration (tabl. 4).

Lorsque la ration contient 0,2 p. 100 de BHT, il apparaît que l'appétit des animaux reste inférieur à celui des témoins pour les trois taux protéiques considérés.

La consommation alimentaire est diminuée de — 8,5 p. 100 pour E₁ par rapport à T₁, de — 3,1 p. 100 pour E₂ par rapport à T₂, de — 5,8 p. 100 pour E₃ par rapport à T₃. Cependant, sur l'ensemble de la période expérimentale, aussi bien pour les lots T

TABLEAU 4

Rats

Effets de l'ingestion de BHT (0,2 p. 1000 de la ration) sur la consommation alimentaire et la vitesse de croissance du Rat

N° des lots	T ₁	TR ₁	E ₁	T ₂	TR ₂	E ₂	T ₃	TR ₃	E ₃
Nbre d'animaux par lot	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Protéines p. 100 de la ration (N × 6,25)	8	8	8	13	13	13	18	18	18
BHT p. 100 de la ration ..	0	0	0,2	0	0	0,2	0	0	0,2
Poids vif initial (g)	69	69	69	71	72	71	71	71	71
Poids vif final (g)	309	304	312	313	312	311	315	309	318
Durée de l'expérience (j) ..	62	75	86	41	47	48	34	38	38
Gain de poids/jour (g)	3,87	3,13	2,82* ⁽¹⁾	5,90	5,10	5,00	7,18	6,26	6,50
Aliment ingéré/j (g)	15,3	13,7	14,0	16,3	15,8	15,8	17,1	16,0	16,1
Indice de consommation ..	3,96	4,36	4,95	2,76	3,09	3,17	2,38	2,56	2,48

⁽¹⁾ Les données statistiques résultent de la comparaison entre les lots expérimentaux (E) et lots témoins restreints (TR).

* $p \leq 0,05$.

que E, l'appétit augmente en même temps que le taux protéique du régime : de 15,3 g/j à 17,1 g/j pour les témoins et de 14,0 g/j à 16,1 g/j pour les expérimentaux. Toutefois, il faut noter qu'entre les lots témoins, les différences de consommation journalière deviennent surtout sensibles lorsque le poids vif des animaux dépasse 200 g. La consommation alimentaire des lots T et E, exprimée en g de matière sèche par jour en fonction du poids vif des animaux, est portée sur la figure 1.

De même que l'appétit, la vitesse de croissance augmente avec le taux protéique du régime, tant chez les témoins que chez les expérimentaux. Cependant, dans tous les cas, la vitesse de croissance des lots E est inférieure à celle des lots T correspondants, et cela d'autant plus que le taux protéique de la ration est plus faible : soit — 27 p. 100 pour E₁ par rapport à T₁, — 15 p. 100 pour E₂ par rapport à T₂, — 9,5 p. 100 pour E₃ par rapport à T₃. Dans le cas de régimes qui contiennent 13 p. 100 et 18 p. 100 de protéines, les vitesses de croissance des lots E et TR correspondants sont identiques et, par conséquent, la diminution de la consommation alimentaire suffirait à elle seule pour expliquer la vitesse de croissance réduite des lots E₂ et E₃ par rapport à T₂ et T₃ respectivement ; par contre, lorsque le régime ne contient que 8 p. 100 de protéines, la vitesse de croissance du lot E₁ est diminuée de 10 p. 100 par rapport à celles du lot TR₁ : ainsi l'effet dépressif du BHT est-il accru, ce qui laisse supposer que l'additif présente dans ces conditions des effets métaboliques différents. Les courbes de croissance des différents lots sont portées sur la figure 2.

Pour l'ensemble des lots, l'indice de consommation (quantité d'aliment ingéré/gain de poids) décroît en même temps qu'augmente le taux protéique du régime : soit par exemple 3,96 ; 2,76 ; 2,38 pour les lots T₁, T₂, T₃ respectivement.

FIG. 1. — Consommation alimentaire quotidienne de Rats mâles témoins et expérimentaux (0,2 p. 100 de BHT dans la ration) en fonction de leur poids vif. Influence du taux protéique de la ration

Pour un même régime alimentaire, l'indice de consommation des lots E est toujours plus élevé que celui des lots T correspondants ; il est équivalent à celui des lots TR lorsque les régimes contiennent 13 p. 100 ou 18 p. 100 de protéines, mais, lorsque le régime ne contient que 8 p. 100 de protéines, il est nettement supérieur à celui du lot TR correspondant, soit 4,95 au lieu de 4,36.

FIG. 2. — Courbes de croissance de Rats mâles témoins, témoins restreints et expérimentaux (0,2 p. 100 de BHT dans la ration). Influence du taux protéique de la ration

1. 2. Effets de l'ingestion de BHT sur la taille du foie. Contenus en protéines et en acides nucléiques (tabl. 5).

On remarque d'abord que le poids moyen du foie passe de 7,5 g pour le lot T₁ à 8,5 g pour le lot T₂ et 9,3 g pour le lot T₃, soit des gains respectifs de + 13,5 p. 100 et + 24 p. 100 pour les régimes renfermant respectivement 13 p. 100 et 18 p. 100 de protéines, par rapport au régime qui n'en contient que 8 p. 100 ; ainsi, comme l'appétit et la vitesse de croissance, le poids de l'organe est d'autant plus élevé que le taux protéique du régime est plus fort.

Pour un taux protéique déterminé du régime, on constate que le poids du foie des animaux E est plus élevé que celui des animaux T correspondants : soit

TABLEAU 5

Rats

Effets de l'ingestion de BHT sur le contenu en protéines et en acides nucléiques du foie. Influence du taux protéique de la ration

N° des lots	T ₁	TR ₁	E ₁	T ₂	TR ₂	E ₂	T ₃	TR ₃	E ₃
Protéines p. 100 de la ration (N × 6,25)	8	8	8	13	13	13	18	18	18
BHT p. 100 de la ration	0	0	0,2	0	0	0,2	0	0	0,2
Poids vif des animaux à jeun (g) ..	292	294	299	294	300	293	293	295	299
Poids du foie (g)	7,5	7,0	9,4***	8,5	8,1	10,0***	9,3	8,1	11,2***
Poids du foie p. 100 poids vif	2,57	2,40	3,16	2,89	2,75	3,36	3,17	2,75	3,75
Protéines p. 100 poids frais	18,8	18,7	18,7	18,8	19,0	19,2	19,8	19,5	19,7
Protéines totales (g) (N × 6,25) ...	1,41	1,31	1,76***	1,60	1,54	1,92***	1,84	1,58	2,21***
ARN total (μM bases)	190,2	167,0	238,8***	214,1	206,2	246,9**	241,1	195,9	282,2***
ADN total (μM bases)	63,1	59,0	72,5*	68,5	68,6	73,2	78,2	75,5	83,4
Poids frais (mg)	119	119	129	124	119	137	121	107	135
ADN (μM bases)									
Protéines (mg)	22,4	22,4	24,3	23,3	22,5	26,3	23,5	21,0	26,5
ADN (μM bases)									
ARN	3,01	2,84	3,27	3,13	3,00	3,37	3,08	2,61	3,38
ADN									

(1) Les données statistiques résultent de la comparaison entre lots expérimentaux (E) et lots témoins restreints (TR).

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

+ 25 p. 100, + 18 p. 100, + 20 p. 100 pour E₁, E₂, E₃ par rapport à T₁, T₂, T₃ respectivement. Le poids du foie des animaux TR étant légèrement inférieur à celui des animaux T correspondants, la supériorité du poids des foies E par rapport aux foies TR est encore plus marquée ; on relève ainsi des écarts de + 34 p. 100, + 23 p. 100, + 38 p. 100 entre les lots E₁, E₂, E₃ et TR₁, TR₂, TR₃ respectivement. Ces différences sont hautement significatives et paraissent indépendantes du taux protéique du régime.

Les contenus en protéines et en ARN du foie varient approximativement comme la taille de l'organe et, en conséquence, les foies hypertrophiés des animaux E contiennent significativement plus de protéines et d'ARN que ceux des animaux T et TR correspondants.

La quantité totale d'ADN hépatique augmente également en même temps que le taux protéique de la ration, à peu près proportionnellement à la taille de l'organe chez les animaux T et TR, mais moins que proportionnellement chez les animaux E. Finalement, pour un taux protéique donné, le foie des animaux E contient toujours plus d'ADN que celui des animaux T (soit + 15 p. 100, + 7 p. 100, + 7 p. 100 pour E₁, E₂, E₃ par rapport à T₁, T₂, T₃ respectivement), et, à plus forte raison, que celui des animaux TR (soit + 23 p. 100, + 7 p. 100, + 10 p. 100 pour E₁, E₂, E₃ par rapport à TR₁, TR₂, TR₃ respectivement). Toutefois, cet accroissement n'est significatif que dans le cas où le régime ne contient que 8 p. 100 de protéines.

Enfin, le poids frais du foie et ses contenus protéique et ribonucléique augmentent beaucoup plus fortement sous l'influence du BHT que son contenu en ADN, il en résulte que les rapports poids frais/ADN, protéines/ADN et ARN/ADN sont toujours plus élevés chez les animaux E que chez les animaux T et TR.

2. — Porcs

2. 1. Effets de l'ingestion de BHT sur la consommation alimentaire et la vitesse de croissance (tabl. 6).

L'addition de BHT au régime alimentaire, même à la concentration de 1,2 p. 100, ne modifie pas l'appétit des Porcs, aussi bien mâles castrés que femelles ; la vitesse de croissance se trouve légèrement augmentée chez les animaux qui ingèrent du BHT, mais les différences qui varient de + 1 p. 100 à + 11 p. 100 ne sont pas significatives ; du moins peut-on affirmer que l'addition de BHT jusqu'à 1,2 p. 100 du régime n'a pas d'effet dépressif sur la vitesse de croissance de porcs mâles castrés et femelles. Il résulte de ce qui précède que les indices de consommation sont aussi satisfaisants, voire meilleurs, chez les animaux qui reçoivent l'antioxygène que chez les témoins.

2. 2. Effets de l'ingestion de BHT sur la taille du foie. Contenus en protéines et en acides nucléiques (tabl. 6 et 7).

L'ingestion de BHT provoque chez le Porc, pour les deux sexes étudiés, une hypertrophie hépatique importante. Chez les mâles castrés, celle-ci est proportionnelle à la concentration de l'additif dans le régime puisque l'augmentation du poids du foie est de + 24 p. 100 et + 49,8 p. 100 lorsque la concentration de l'antioxygène dans le régime est de 0,6 p. 100 et 1,2 p. 100 respectivement ; chez les femelles, l'hypertrophie atteint + 41 p. 100, dès que la concentration de BHT est de 0,6 p. 100,

TABLEAU 6

Porcs

Effets de l'ingestion de BHT sur la consommation alimentaire, la vitesse de croissance et le poids du foie

N° des lots	TM	EM ₁	EM ₂	TF	EF ₁	EF ₂
Nombre d'animaux	12	12	12	12	12	12
Protéines p. 100 de la ration (N × 6,25).....	16	16	16	16	16	16
BHT p. 100 de la ration	0	0,6	1,2	0	0,6	1,2
Poids vif initial (kg)	26,1	25,4	24,6	25,0	26,1	25,9
Poids vif final (kg)	100,9	100,7	101,2	98,8	100,5	100,0
Durée de l'expérience (jour)	107	97	108	114	105	107
Gain de poids/j (g)	701	780	707	646	708	692
Aliment ingéré/j (kg)	2,40	2,46	2,28	2,08	2,33	2,24
Indice de consommation	3,45	3,19	3,42	3,53	3,30	3,27
Poids du foie (g)	1 644	2 045***	2 463***	1 509	2 129***	2 228***
Poids du foie p. 100 poids vif ...	1,62	2,03	2,43	1,53	2,12	2,23
Augmentation p. 100	0	+ 24,4	+ 49,8	0	+ 41,1	+ 47,6

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

TABLEAU 7

Porcs

Effet de l'ingestion de BHT sur le contenu en protéines et en acides nucléiques du foie

N° des lots	TM	EM ₂	TF	EF ₂
Nombre d'animaux	9	8	6	6
BHT p. 100 de la ration	0	1,2	0	1,2
Poids vif des animaux à jeun (g)	100,4	100,9	99,5	100,0
Poids du foie (g)	1 572	2 406***	1 481	2 145**
Poids du foie p. 100 poids vif	1,56	2,38	1,48	2,14
Protéines p. 100 poids frais	19,1	18,6*	18,0	18,2
Protéines totales (g) (N × 6,25).....	300	449**	268	391***
ARN total (μM-bases)	24 450	35 149***	22 414	30 908***
ADN total (μM-bases)	10 836	15 032***	10 635	12 764**
Poids frais (g)	146	162	140	168
ADN (mM-bases)				
Protéines (g)	27,7	29,9	25,2	30,6
ADN mM-bases)				
ARN	2,26	2,35	2,11	2,42
ADN				

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

et n'excède pas + 48 p. 100, lorsque le régime renferme 1,2 p. 100 de l'additif. Il apparaît, dès lors, que mâles castrés et femelles réagissent différemment à l'ingestion de l'antioxygène.

Les contenus en protéines et en acides nucléiques ne sont mesurés que sur une partie des Porcs, castrats et femelles, appartenant aux lots témoins et aux lots expérimentaux dont la ration contient 1,2 p. 100 de BHT (tabl. 7).

La teneur du foie en protéines, qui se situe entre 18 p. 100 et 19 p. 100, ne dépend pas du sexe et n'est pas modifiée par l'introduction de BHT dans le régime alimentaire. Il en résulte que le contenu protéique de l'organe varie approximativement comme son poids et que, sous l'effet de l'antioxygène, il présente des augmentations de + 50 p. 100 et + 46 p. 100 chez les castrats et les femelles respectivement. Les foies des témoins mâles castrés contiennent davantage d'ARN que ceux des témoins femelles (+ 9 p. 100); cette différence n'est pas significative. Dans les organes hypertrophiés, le capital en ARN est augmenté de + 44 p. 100 chez les castrats et de + 37 p. 100 chez les femelles : on constate donc une augmentation plus accusée chez les castrats ; toutefois, dans les deux cas, l'augmentation du contenu ribonucléique du foie reste inférieure à l'accroissement du poids frais et du contenu protéique de l'organe, contrairement à ce que l'on observe chez le Rat.

Chez les témoins, la quantité d'ADN hépatique n'est pas différente suivant le sexe. Chez les animaux qui ingèrent du BHT, on relève une augmentation très marquée de l'ADN hépatique, soit + 39 p. 100 pour les castrats et + 20 p. 100 pour les femelles : les castrats révèlent sur ce point une plus grande sensibilité à l'additif.

Le rapport poids frais/ADN est accru de + 11 p. 100 chez les castrats et de + 20 p. 100 chez les femelles soumis au BHT ; le rapport protéines/ADN subit des variations très voisines, soit + 8 p. 100 et + 20 p. 100 pour les castrats et les femelles respectivement. Quant au rapport ARN/ADN, il apparaît, avec une valeur de 2,26 contre 2,11, un peu plus élevé chez les témoins mâles castrés que chez les femelles ; sous l'effet du traitement par le BHT, ce rapport augmente plus chez les femelles, où il passe de 2,11 à 2,42, que chez les castrats où, en passant seulement de 2,26 à 2,35, il ne varie pas sensiblement.

3. — Poulets

3. 1. *Effets de l'ingestion de BHT sur la consommation alimentaire et la vitesse de croissance* (tabl. 8).

Il ressort clairement des résultats que l'addition de BHT aux concentrations de 0,2 p. 100 et 0,4 p. 100 n'a aucun effet ni sur l'appétit, ni sur la vitesse de croissance de Poulets mâles âgés de 5 à 9 semaines.

De l'âge de 9 semaines à celui de 11 semaines, lorsque les concentrations de l'antioxygène sont quadruplées dans les deux régimes, on constate que la concentration de 0,8 p. 100 est également sans effet sur l'appétit et sur la vitesse de croissance. Par contre, l'ingestion d'un régime contenant 1,6 p. 100 de BHT, bien qu'il ne provoque qu'une légère diminution de l'appétit, soit — 7,5 p. 100, entraîne une chute spectaculaire de la vitesse de croissance qui tombe de 43-44 g/jour chez les témoins à 19,4 g/jour chez les expérimentaux.

Il en résulte une altération considérable de l'indice de consommation qui

atteint 7,72 chez les Poulets expérimentaux du lot B, alors qu'il est de 3,66 chez le lot témoins. On remarque également chez les animaux du lot B une augmentation importante de la teneur en eau des fèces : 25 p. 100 au lieu de 15 p. 100 pour les autres lots.

TABLEAU 8

Poulets

Effets de l'ingestion de BHT sur la consommation alimentaire, la vitesse de croissance et le poids du foie

N° des lots	T	A	B	T	A	B
Nombre d'animaux	12	12	12	12	12	12
Protéines p. 100 de la ration	24	24	24	24	24	24
BHT p. 100 de la ration ...	0	0,2	0,4	0	0,8	1,6
Age (semaines)	5 → 9	5 → 9	5 → 9	9 → 11	9 → 11	9 → 11
Poids vif (g)	949 → 2 460	947 → 2 406	947 → 2 432	2460 → 3 075	2406 → 3 010	2432 → 2704**
Gain de poids vif/j (g)	54,0	52,1	53,0	43,9	43,1	19,4
Consommation alim./j (g)	131,8	128,8	132,0	161,0	159,6	149,7
Indice de consommation	2,44	2,47	2,49	3,66	3,70	7,72
Poids du foie (g)				40,4	45,8*	55,8**
P. 100 d'augmentation					+ 13,3	+ 38,1
Poids du foie p. 100 poids vif				1,31	1,55	2,06
BHT ingéré/kg/j (mg)	0	154	312	0	472	933

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

Ainsi, si l'on s'en rapporte seulement à l'aspect extérieur, à l'appétit et à la vitesse de croissance, le Poulet tolère parfaitement un régime alimentaire contenant 0,8 p. 100 de BHT ; en revanche, le taux de 1,6 p. 100 limite fortement la vitesse de croissance, ce qui peut être un symptôme du dépassement du seuil de toxicité.

Si l'on considère la quantité de BHT (mg) ingérée par kg de poids vif/jour, il apparaît que le seuil de tolérance à l'additif du Poulet en croissance se situe entre 500 mg/kg/jour et 900 mg/kg/jour, lorsque l'antioxygène est inclus dans un régime renfermant 24 p. 100 de protéines.

3. 2. Effets de l'ingestion de BHT sur la taille du foie. Contenus en protéines et en acides nucléiques (tabl. 9).

Chez les animaux sacrifiés à l'âge de 11 semaines, on constate une hypertrophie du foie, légère mais significative (+ 13,3 p. 100 ; $p < 0,05$), chez les animaux qui reçoivent 0,8 p. 100 de BHT, et une hypertrophie importante (+ 38,1 p. 100 ; $p < 0,001$) chez les animaux qui reçoivent 1,6 p. 100 de BHT. L'organe représente

1,31 p. 100 du poids vif d'un animal témoin et 2,06 p. 100 du poids vif d'un animal du lot B.

Les dosages de protéines ($N \times 6,25$), de RNA et DNA sont effectués pour chaque lot sur six foies choisis au hasard. Les résultats indiquent que la concentration des protéines dans l'organe n'est pas modifiée par l'ingestion de l'antioxygène et que, par conséquent, le contenu protéique total des foies évolue parallèlement à l'hypertrophie ; il en va de même pour le RNA, de sorte que le rapport protéines/RNA reste inchangé.

TABLEAU 9

Poulets

Effets de l'ingestion de BHT sur les contenus en protéines en acides nucléiques du foie

Lots	T	A	B
P. 100 BHT dans la ration	0	0,8	1,6
Nombre d'animaux	6	6	6
Poids vif poulet (g)	3 156 $\pm$ 120,5	3 021 $\pm$ 121,3	2 718 $\pm$ 57,0**
Poids du foie (g)	40,6 $\pm$ 3,1	48,2 $\pm$ 2,1*	54,3 $\pm$ 2,6**
P. 100 d'augmentation		+ 18,7	+ 33,7
Poids frais p. 100 poids vif	1,29	1,60	2,00
Protéines totales (g)	7,57	8,73*	9,61**
RNA total (μ M bases)	968	1 156*	1 207**
DNA total (μ M bases)	432	460 NS	453 NS
Poids frais (mg)			
DNA (μ M bases)	94,0	104,8	119,9
Protéines (mg)			
DNA (μ M bases)	17,5	19,0	21,2
Protéines (mg)			
RNA (μ M bases)	7,82	7,55	7,96
RNA			
DNA	2,25	2,51	2,66

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Au contraire, la concentration d'ADN est diminuée, d'une façon inversement proportionnelle à l'hypertrophie, si bien que la quantité totale d'ADN n'est pas modifiée significativement, même chez les animaux dont le régime contient 1,6 p. 100 de BHT.

Compte tenu de cela, les rapports poids frais/ADN, protéines/ADN et ARN/ADN sont augmentés proportionnellement à l'hypertrophie de l'organe.

DISCUSSION

*Rats**I. Appétit et vitesse de croissance.*

Les résultats de ce travail montrent que l'ingestion de BHT, incorporé à raison de 0,2 p. 100 dans des régimes alimentaires équilibrés contenant de 8 p. 100 à 18 p. 100 de protéines, déprime systématiquement l'appétit et la vitesse de croissance, et détériore l'indice de consommation de Rats mâles dont le poids passe de 70 g à 300 g. Cependant, les effets de l'additif sur ces critères sont d'autant moins marqués que le taux protéique est plus élevé ; par ailleurs, si le taux protéique de la ration est optimal (18 p. 100) ou sub-optimal (13 p. 100), les animaux qui reçoivent 0,2 p. 100 de BHT présentent des vitesses de croissance et des indices de consommation équivalents à ceux des témoins dont la consommation alimentaire quotidienne est alignée au même niveau (témoins restreints). Sans plus ample investigation, on pourrait ainsi penser que le seul effet du BHT est de restreindre la consommation alimentaire et que les animaux BHT et témoins restreints sont identiques ; en fait, il n'en est rien car les animaux BHT sont significativement plus maigres que les témoins restreints correspondants (résultats à paraître), ce qui confirme des données précédentes (PASCAL et DURAND, 1970 ; PASCAL, 1971). De plus, l'ingestion de BHT est toujours accompagnée d'une hypertrophie hépatique, tandis que les témoins restreints présentent une hypotrophie hépatique, souvent légère, mais systématique.

Lorsque le taux protéique du régime est insuffisant, les effets dépressifs du BHT sont accrus et les deux critères — vitesse de croissance et indice de consommation — deviennent alors moins satisfaisants chez les Rats BHT que chez les témoins restreints correspondants. Les corps des uns et des autres renfermant des quantités de protéines comparables, il apparaît que l'ingestion de BHT est suivie d'un certain gaspillage des protéines alimentaires qui se situe, selon toute vraisemblance, au plan de l'utilisation métabolique, puisque PASCAL et TERROINE (1972) et DURAND et PASCAL (résultats non publiés) ont montré que la présence de BHT dans la ration n'exerce aucune influence sur la digestibilité des protéines.

L'effet de l'ingestion de BHT sur l'appétit et la vitesse de croissance a été assez fréquemment observé chez le Rat au cours des vingt dernières années. DEICHMANN et coll. (1955), avec des régimes contenant 0,8 p. 100 et 1 p. 100 de BHT constatent une diminution d'appétit de 16 p. 100 et des diminutions de vitesse de croissance de 40 p. 100 et 78 p. 100. BROWN et coll. (1959) montrent que le BHT incorporé à la concentration de 0,1 p. 100 dans un régime contenant 10 p. 100 de lard n'a pas d'effet sur la vitesse de croissance, tandis qu'il la réduit de moitié environ lorsque sa concentration est portée à 0,5 p. 100. GAUNT et coll. (1965 *a*) ne trouvent pas d'effet sur la vitesse de croissance pour une concentration de BHT de 0,1 p. 100. FRAWLEY et coll. (1965) font, pour 0,1 p. 100, la même observation, tandis qu'à la concentration de 0,3 p. 100, le poids des animaux est réduit de 15 p. 100 en moyenne. PASCAL *et al.* (1970) constatent que l'addition de BHT au taux de 0,1 p. 100 dans un régime contenant 13 p. 100 de protéines diminue la consommation alimentaire de — 5,5 p. 100

et la vitesse de croissance de — 8,3 p. 100, mais ces données sont à la limite de la signification statistique ; lorsque le taux de BHT est porté à 0,5 p. 100, la consommation alimentaire quotidienne est diminuée de — 18,5 p. 100 et la vitesse de croissance de — 40 p. 100, ces différences étant hautement significatives ; l'indice de consommation n'est pratiquement pas modifié pour le taux de 0,1 p. 100, mais considérablement augmenté pour le taux de 0,5 p. 100. DURAND et PASCAL (1973) observent que chez des Rats mâles adultes, auxquels est distribué un régime contenant 13 p. 100 de protéines et du BHT dont la concentration augmente de 0,1 p. 100 à 2,1 p. 100, l'appétit marque, dès 0,1 p. 100, une légère diminution ; celle-ci s'aggrave lentement lorsque le taux de l'additif augmente, et devient dramatique à partir de 1,3 p. 100. Par contre, lorsque la concentration protéique du régime est portée à 26 p. 100, les animaux peuvent tolérer 2,1 p. 100 de BHT. Ainsi, alors que l'organisme du Rat mâle adulte ne peut supporter plus de 300 mg de BHT/kg de poids vif/jour lorsque la ration contient 13 p. 100 de protéines, il peut tolérer jusqu'à 630 mg/kg/jour lorsque le régime renferme 26 p. 100 de protéines. Ces données sont à rapprocher des résultats de GONTZEA et coll. (1964-1968), GARNER et McLEAN (1969), MARCH et coll. (1968) qui montrent que la toxicité de nombreuses drogues est diminuée lorsque le taux protéique du régime augmente. Un apport supplémentaire de protéines, qui favorise la formation de nombreuses enzymes, permet peut-être une synthèse accrue de la BHT-oxydase hépatique, principal agent du métabolisme du BHT dans l'organisme (GILBERT et GOLBERG, 1967). Il faut toutefois remarquer que le Rat impubère peut supporter, relativement à son poids vif, des doses très supérieures à celles que tolère l'adulte (PASCAL et coll., 1970).

Seuls et contrairement aux autres auteurs, SPORN et SCHOBESH (1961) signalent une certaine stimulation de la croissance chez des rats qui reçoivent un régime renfermant 0,2 p. 100 de BHT.

En résumé, on peut affirmer à l'heure actuelle que chez le Rat recevant un régime normalement équilibré, contenant de 13 p. 100 à 18 p. 100 de protéines, la concentration de 0,1 p. 100 de BHT dans le régime est une concentration seuil, au-delà de laquelle on constate un effet dépressif de l'additif sur l'appétit, la vitesse de croissance et l'efficacité alimentaire. Mais d'une manière générale, la concentration « seuil » dépend au premier chef de la concentration en protéines du régime alimentaire.

II. BHT et hypertrophie hépatique.

1. Lorsque l'on considère des animaux de même poids, il ressort des résultats du présent travail les éléments suivants :

a) Chez les témoins, le poids des foies des animaux est d'autant plus important et contient d'autant plus de protéines, d'ARN et d'ADN, que le régime alimentaire est plus riche en protéines, ce qui est en accord avec les conclusions de précédents travaux (SUGAHARA et coll., 1969 ; DURAND, 1973) ; toutefois, les concentrations de ces divers composés n'étant pas modifiées, les rapports poids frais/ADN et protéines/ADN, utilisés habituellement comme critères de la taille des cellules, restent inchangés. Mais on ne peut pas en conclure que l'augmentation du contenu hépatique en ADN, parallèle à l'augmentation du poids de l'organe, est due à l'hyperplasie ; il est probable, en effet, que le taux de polyploïdie des noyaux des hépatocytes,

sensible aux insuffisances nutritionnelles (NADAL et ZAJDELA, 1966), s'accroisse en même temps que le taux de protéines du régime se rapproche de l'optimum ;

b) L'addition de BHT au régime, à la concentration de 0,2 p. 100, provoque une hypertrophie hépatique variant de 23 p. 100 à 38 p. 100, indépendamment du taux protéique du régime ; on sait par ailleurs que l'effet hypertrophiant de l'additif est déjà net lorsque sa concentration atteint 0,1 p. 100 (PASCAL et coll., 1970), et semble se manifester chez les deux sexes à partir de 0,05 p. 100 (PASCAL et TERROINE 1969 b) ; cette concentration correspond à l'ingestion de doses de BHT variant de 70 mg/j/kg à 33 mg/j/kg pour des Rats mâles dont le poids vif passe de 70 g à 300 g ; ces données sont très comparables à celles fournies par GILBERT et GOLBERG (1965). Les contenus en protéines et en ARN augmentent proportionnellement à la taille du foie, ce qui confirme les résultats d'un précédent travail (PASCAL et coll., 1970) ; la synthèse d'ADN est moins stimulée puisque, à poids égal d'animal, la quantité d'ADN hépatique des Rats BHT n'est pas significativement différente de celle des témoins et témoins restreints, lorsque les régimes contiennent 13 p. 100 et 18 p. 100 de protéines. Cependant, lorsque le régime ne contient que 8 p. 100 de protéines, la quantité de DNA hépatique est significativement augmentée par rapport à celle des témoins restreints.

TABLEAU 10

Rats en croissance

Effets de l'ingestion de BHT sur les quantités d'ADN d'ARN et de protéines accumulées par jour dans le foie des rats témoins (T), témoins restreints (TR), ou expérimentaux (E). Influence du taux protéique de la ration

N° du lot	T	TR	E	E p. 100 T	E p. 100 TR	TR p. 100 T
BHT p.100 de la ration	0	0	0,2			
<i>Protéines (%)</i> ↓						
ADN/j (μ M-bases) { 8 ..	0,62	0,46	0,56	— 9,7	+ 21,7	— 25,8
13 ..	1,07	0,93	1,01	— 5,6	+ 8,6	— 13,1
18 ..	1,57	1,34	1,54	— 1,9	+ 14,9	— 14,6
ARN/j (μ M-bases) { 8 ..	1,83	1,21	1,89	+ 3,2	+ 56,2	— 33,9
13 ..	3,36	2,76	3,55	+ 5,6	+ 28,6	— 17,8
18 ..	4,84	3,14	5,41	+ 11,7	+ 72,3	— 35,1
Protéines/j (mg) { 8 ..	15,8	11,7	15,5	— 1,9	+ 32,5	— 25,9
13 ..	28,5	23,6	31,0	+ 8,8	+ 31,3	— 17,2
18 ..	41,5	30,3	46,8	+ 12,8	+ 54,4	— 26,9

2. Mais considérons maintenant les quantités moyennes d'ADN, d'ARN et de protéines accumulées par jour chez les différents lots, sachant qu'au début de l'expérience le foie des rats (70 g, 4 semaines) contient approximativement : 24,7 μ M-bases d'ADN ; 76,5 μ M-bases d'ARN ; 0,43 g de protéines ($N \times 6,25$) (DURAND et PENOT, 1970). Il apparaît (tabl. 10) que les animaux BHT accumulent par jour davantage d'ADN que les témoins restreints, mais moins que les animaux témoins

nourris *ad libitum* : il en résulte que le BHT a bien une action stimulante sur la synthèse d'ADN, mais qui ne compense pas, ou parvient tout juste à compenser l'effet dépressif que manifeste, sur cette accumulation, la restriction qu'il provoque par ailleurs (DURAND et coll., 1967 ; DURAND, 1973). Finalement, malgré les apparences, la synthèse d'ADN est moins forte chez les animaux BHT que chez les témoins nourris *ad libitum*, et cette infériorité tend à disparaître lorsque le taux protéique de la ration augmente.

L'examen des quantités moyennes d'ARN et de protéines accumulées par jour montre que ces quantités sont plus élevées chez les animaux BHT que chez les témoins restreints et qu'elles sont également plus élevées que chez les témoins nourris *ad libitum*, contrairement à ce que l'on constate pour l'ADN. Ces phénomènes sont d'autant plus accentués que le taux protéique du régime est plus élevé.

On parvient finalement aux conclusions suivantes :

Chez le Rat, l'administration de BHT dans le régime *en un temps donné* ;

a) N'accroît pas le contenu hépatique en ADN par rapport à des témoins nourris *ad libitum*. Il ne peut que le diminuer lorsque le taux de l'additif est trop élevé par rapport au taux protéique de la ration. Ceci est en accord avec les résultats de PASCAL et coll. (1970), qui montrent que les foies de Rats recevant du BHT au taux de 0,1 p. 100 et 0,5 p. 100, ajouté à un régime contenant 13 p. 100 de protéines, renferment moins d'ADN que les foies de témoins *de même âge* nourris *ad libitum* :

b) Peut accroître l'accumulation de protéines et d'ARN, ceci d'autant plus que le taux protéique du régime est plus élevé.

Il en résulte *qu'à âge égal* on peut émettre l'hypothèse que l'hypertrophie du foie devient d'autant plus forte que le taux protéique de la ration s'élève.

Certains auteurs (LANE et LIEBER, 1967 ; KERR et coll., 1966) affirment que l'hypertrophie hépatique chez le Rat est accompagnée d'un nombre accru de mitoses et d'une incorporation augmentée de thymidine tritiée ; ils concluent de leurs travaux que l'hypertrophie du foie s'accompagne d'une certaine stimulation de l'hyperplasie. Si ces auteurs comparent leurs animaux expérimentaux à des témoins restreints, leurs résultats ne sont pas en contradiction avec les nôtres ; s'ils établissent la comparaison avec des animaux nourris *ad libitum*, l'augmentation modérée du nombre de mitoses pourrait s'expliquer dans l'hypothèse où le BHT limiterait la polyploïdie ; mais s'il en est ainsi, l'augmentation de l'incorporation de thymidine radioactive signalée par KERR et coll. paraît surprenante, à moins qu'il ne s'agisse d'une accélération du turnover du nucléotide. Quoi qu'il en soit, ces auteurs reconnaissent par ailleurs une forte augmentation de la dimension des hépatocytes qui permet d'expliquer, en grande partie, l'hypertrophie hépatique constatée.

Porcs

I. Appétit et vitesse de croissance.

Nos résultats indiquent qu'entre 25 kg et 100 kg, l'appétit et la vitesse de croissance de Porcs mâles castrés et femelles ne sont pas modifiés, même si l'on ajoute jusqu'à 1,2 p. 100 de BHT dans leur régime alimentaire contenant 19 p. 100 de protéines.

Précédemment, DESMOULIN et coll. (1972) ne constatent aucun effet de l'additif

sur l'appétit, la vitesse de croissance et l'indice de consommation chez des Porcs mâles castrés recevant, depuis le poids de 25 kg jusqu'à celui de 100 kg, des régimes alimentaires renfermant 19 p. 100 de protéines et jusqu'à 0,8 p. 100 de BHT. Chez des Porcs mâles entiers dont le poids passe de 20 kg à 120-140 kg, et recevant 19 p. 100 de protéines, DESMOULIN et coll. (1973) constatent que l'addition de BHT au régime, à la concentration de 0,4 p. 100, reste sans effet sur l'appétit et la vitesse de croissance des animaux, tandis qu'à la concentration de 0,8 p. 100, l'antioxygène semble provoquer une légère diminution de ces facteurs : peut-être s'agit-il là de la concentration au-delà de laquelle l'antioxygène agirait sur l'appétit et la vitesse de croissance du Porc mâle entier, mais des vérifications sont nécessaires.

Quoi qu'il en soit, on constate que le Rat mâle tolère moins bien le BHT que le Porc, femelle ou mâle castré, puisque le premier commence à réduire sa consommation alimentaire dès que le taux de BHT dans sa ration atteint 0,1 p. 100, tandis que le second peut consommer une ration contenant 1,2 p. 100 de BHT sans répercussion ni sur l'appétit, ni sur la vitesse de croissance ; chez le Porc, dont le poids passe de 25 kg à 100 kg, cela correspond à des ingestions de BHT variant de 800 mg/kg/j à 400 mg/kg/j. Peut-être la BHT-oxydase est-elle plus active chez le Porc que chez le Rat ?

II. BHT et hypertrophie hépatique.

DESMOULIN et coll. (1972) montrent que les Porcs mâles castrés abattus à 100 kg après avoir reçu de 25 kg à 100 kg, un régime renfermant 19 p. 100 de protéines et 0,4 p. 100 de BHT, présentent une hypertrophie hépatique de + 15 p. 100 ; cette hypertrophie atteint + 30 p. 100 lorsque la concentration de l'additif s'élève à 0,8 p. 100 et nos résultats montrent qu'elle atteint + 24 p. 100 et + 50 p. 100 lorsque la concentration de l'additif s'élève à 0,6 p. 100 et 1,2 p. 100 respectivement. Chez le mâle castré, l'hypertrophie est donc proportionnelle à la concentration du BHT dans le régime.

Il n'en est pas de même pour la femelle, chez qui l'hypertrophie hépatique atteint + 41 p. 100 lorsque le taux de BHT est de 0,6 p. 100, mais tend ensuite à plafonner, puisqu'elle ne dépasse pas + 48 p. 100 lorsque le taux de l'additif s'élève à 1,2 p. 100.

Il semble que chez le Porc mâle entier, l'effet de l'antioxygène soit moins marqué, puisque l'hypertrophie hépatique ne dépasse pas + 9 p. 100 et + 14 p. 100 chez des animaux abattus à 120 kg-140 kg après avoir reçu depuis le sevrage des régimes contenant 0,4 p. 100 et 0,8 p. 100 de BHT respectivement (DESMOULIN et coll., 1973).

Pour la concentration de 0,4 p. 100 de BHT, l'hypertrophie hépatique, chez les castrats et surtout chez les mâles entiers, est à la limite de la signification statistique. On peut raisonnablement penser qu'elle apparaît chez le Porc à partir d'une concentration de 0,2 p. 100 de BHT ; cette proportion de l'antioxygène dans la nourriture est à rapprocher de celle de 0,05 p. 100, à partir de laquelle apparaît l'hypertrophie hépatique chez le Rat : il est à noter que la consommation alimentaire *rapportée à l'unité de poids vif* est de deux à trois fois moins importante chez le Porc que chez le Rat, à stade de développement équivalent : ceci peut expliquer en partie que les effets du BHT se font sentir chez le Porc pour des concentrations plus élevées.

Les résultats du présent travail montrent que l'hypertrophie hépatique induite par le BHT s'accompagne d'un accroissement du capital protéique de l'organe proportionnel à l'hypertrophie.

La quantité d'ARN du foie est également fortement augmentée, mais toutefois relativement moins que la quantité de protéines, ce qui différencie quelque peu le Porc du Rat. La quantité d'ARN hépatique n'est pas significativement différente chez les témoins mâles castrés et femelles de 100 kg ; toutefois, cette quantité semble inférieure à celle que contient le foie du mâle entier de même poids (DURAND et coll., 1967). De plus, sous l'effet du BHT, l'augmentation relative du capital ribonucléique est sensiblement plus élevée chez les castrats que chez les femelles.

A poids égal d'animal, la quantité d'ADN hépatique est équivalente chez le mâle castré et chez la femelle, mais elle semble être légèrement supérieure chez le mâle entier (DURAND et coll., 1967). Chez le castrat et la femelle, l'hypertrophie hépatique consécutive à l'ingestion de BHT est accompagnée d'une stimulation de la synthèse d'ADN. Dans nos conditions expérimentales, cette stimulation est très importante chez le castrat (+ 39 p. 100), plus modérée, mais pourtant très nette chez la femelle (+ 20 p. 100).

Si l'on estime que la quantité d'ADN est approximativement de 5 000 μ M-bases dans le foie du Porc de 20 kg (DURAND et coll., 1967), cette quantité est multipliée par 2,1 chez les castrats et femelles témoins, et par 3 et 2,5 chez les castrats et femelles expérimentaux respectivement, au cours de la période qui conduit les animaux de 20 kg à 100 kg. Cependant, on ne sait pas si cette accumulation accrue d'ADN correspond à un nombre plus grand de cellules, à une variation du taux d'une éventuelle polyploïdie, ou à la somme des deux phénomènes. En effet, alors que la polyploïdie a été étudiée chez le Rat par de nombreux auteurs, chez l'Homme (SWARTZ, 1956), chez la Souris, le Bœuf, la Brebis, l'Ane, le Chat (CAVALLI et coll., 1964), rien, à notre connaissance, n'a été publié concernant l'évolution du contenu en ADN des noyaux des hépatocytes porcins.

Finalement, diverses indications suggèrent que le retentissement de l'ingestion de BHT diffère suivant le sexe de l'animal, en particulier l'ampleur de l'hypertrophie hépatique et l'action stimulante sur la synthèse d'ADN. Ceci est à rapprocher des travaux passés en revue par CONNEY (1967) qui laissent à penser que le BHT, en stimulant l'activité des hydroxylases hépatiques dont les stéroïdes sont des substrats, est susceptible d'intervenir dans le métabolisme des hormones sexuelles. Peut-on, dès lors, émettre l'hypothèse selon laquelle le BHT n'aurait pas les mêmes effets avant et après la maturité sexuelle?

On peut en effet le supposer, car si le jeune Rat mâle peut ingérer librement des quantités de BHT dépassant 500 mg/kg/j (PASCAL et coll., 1970), le Rat mâle adulte ne peut en ingérer plus de 300 mg/kg/j (DURAND et PASCAL, 1973). Il y a là l'objet d'une nouvelle série d'investigations.

Poulet

I. Appétit et vitesse de croissance.

Il ressort de nos résultats que l'addition de BHT à un régime renfermant 24 p. 100 de protéines ne provoque pas de modification sensible de l'appétit du Poulet ; même pour une concentration de 1,6 p. 100 de l'antioxygène, la légère diminution constatée n'est pas significative.

Par ailleurs, l'addition de BHT à la ration reste sans effet sur la vitesse de crois-

sance jusqu'au taux de 0,8 p. 100 ; toutefois, pour 1,6 p. 100, on relève une chute spectaculaire de la vitesse de croissance, qui ne représente alors pas même la moitié de ce qu'elle est chez les témoins. On peut, dès lors, penser que le seuil de tolérance de l'additif est franchi, seuil qui se situerait, dans les conditions expérimentales utilisées, entre 500 et 900 mg/kg poids vif/jour.

De plus, lorsque ce seuil de tolérance est dépassé, on assiste à une augmentation de l'indice de consommation, évidemment accompagné d'un gaspillage de protéines alimentaires. On retrouve le phénomène observé chez des Rats recevant un régime contenant 0,2 p. 100 de BHT et seulement 8 p. 100 de protéines ; ainsi, chez le Poulet comme chez le Rat, le régime alimentaire doit comporter des proportions relatives convenables de BHT et de protéines.

Par ailleurs, il semble que le Poulet, contrairement au Rat et peut-être comme le Porc, ne possède pas de mécanisme de régulation de l'appétit qui lui permette une autolimitation de l'ingestion de l'additif.

II. BHT et hypertrophie hépatique.

Chez le Poulet mâle, comme chez les mammifères, l'ingestion de BHT à forte dose provoque une certaine hypertrophie du foie. Cependant, celle-ci n'excède pas + 13 p. 100 lorsque le régime renferme 0,8 p. 100 de l'additif, et se situe alors à la limite de la signification statistique. On peut penser qu'elle ne devient décelable que lorsque le régime contient au moins 0,4 p. 100 de l'antioxygène, ce qui correspond environ à une ingestion de 250 mg/kg de poids vif/jour, c'est-à-dire à une dose 5 fois plus forte que celle qui peut provoquer un début d'hypertrophie hépatique chez le Rat.

Chez le Poulet, comme chez les autres espèces étudiées, l'hypertrophie du foie s'accompagne d'une augmentation pratiquement proportionnelle des contenus protéique et ribonucléique de l'organe. En revanche, l'accumulation de DNA n'est pas modifiée : cette différence tranchée entre l'oiseau et les deux mammifères, qui présentent d'ailleurs sur ce point des différences entre eux, reste inexpliquée.

A notre connaissance, le taux de polyploïdie des hépatocytes de Poulet n'a pas été étudié, non plus que celui des hépatocytes de Porc ; toutefois, dans le cas du Poulet, la quantité d'ADN n'étant pas modifiée, il y a tout lieu de penser que l'hypertrophie hépatique est due exclusivement à l'hypertrophie des hépatocytes.

Reçu pour publication en janvier 1974.

SUMMARY

PROTEIN AND NUCLEIC ACID CONTENT OF THE HYPERTROPHIED
LIVER AFTER FREE INTAKE OF DI-TERTIO-BUTYL-HYDROXY-TOLUENE (BHT)
IN THE GROWING RAT, PIG AND CHICKEN.
EFFECT OF PROTEIN CONTENT OF THE RATION

The effects of BHT intake on appetite, growth rate and hepatic hypertrophy are studied in the growing rat, pig and chicken. Hepatic hypertrophy is studied as related to the accumulation of protein ($N \times 6.25$) and nucleic acids, DNA in particular. In the rat, effects of the antioxygen on these same factors are examined in terms of the protein content of the diet.

Lots of male rats are fed diets containing 0.2 p. 100 of BHT and 8 p. 100, 13 p. 100 or 18 p. 100 of protein. Lots of castrated male or female pigs are given diets containing 0.6 p. 100 or 1.2 p. 100 of BHT and 19 p. 100 of protein. Lots of male chickens are fed diets having 0.2 p. 100 to 1.6 p. 100 of BHT and 24 p. 100 of protein. These lots are compared to *ad libitum* fed control groups, and eventually to restricted control group.

The results show the following facts :

— addition of BHT of the diet at a concentration of 0.2 p. 100 slightly reduces the appetite of rats (from — 3 p. 100 to — 8.5 p. 100) ; however, addition of the antioxygen has no effect on the appetite of pigs, even at a concentration of 1.2 p. 100, nor on the appetite of chickens even at a concentration of 1.6 p. 100 ;

— growth rate of rats fed a diet containing 0.2 p. 100 of BHT is equal to that of the corresponding restricted controls when the protein content of the diet is sufficient (13 p. 100 and 18 p. 100, but it is lower when protein concentration is insufficient (8 p. 100). Growth rate in pigs is unchanged, even when antioxygen content in the diet reaches 1.2 p. 100. Chicken growth rate is unchanged with a concentration of 0.8 p. 100, but decreases by 55 p. 100 with a concentration of 1.6 p. 100.

— the addition of BHT in the diet causes hepatic hypertrophy in the three species but at different concentrations, the rat being the most sensitive followed by the pig and the chicken. Hepatic hypertrophy is usually accompanied by proportional increases of protein content and liver RNA. On the contrary, the effect of BHT on hepatic accumulation of DNA varies according to species. It has no effect in the chicken and a stimulating effect in the pig and the rat. However, the stimulating effect in the rat is counterbalanced by autorestrictive feeding.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BROWN W. D., JOHNSON A. R., O'HALLORAN, 1959. The effect of the level of dietary fat on the toxicity of phenolic antioxidants. *Aust. J. exp. Biol.*, **37**, 533-548.
- CAVALLI G., BORTOLAMI R., ORLANDI F., SCARDOVI I., 1964. Della relazione tra contenuto in acido desossiribonucleico (ADN) e volume nucleare degli epatociti mononucleati in varie specie di mammiferi. *Bioch. Biol. Speriment.*, **3**, 304-342.
- CONNEY A. H., 1967. Pharmacological implications of microsomal enzyme induction. *Pharmacol. Rev.* **19**, 317-366.
- DEICHMAN W. B., CLEMMER J. J., RAKOCZY R., BIANCHINE J., 1955. Toxicity of ditertiarybutyl-methylphenol. *Arch. Ind. Health*, **11**, 93-101.
- DESMOULIN B., PASCAL G., DURAND G., 1972. Addition d'un antioxygène (BHT) dans l'alimentation du Porc mâle castré : constitution des graisses résidus tissulaires. *18th European Meeting of meat Research Workers, Guelph* (Canada), 286-292.
- DESMOULIN B., DUMONT B. L., PASCAL G., 1973. Qualité des carcasses et des viandes de Porcs mâles entiers de 120 kg et 140 kg. Addition de BHT aux régimes Mais Soja ou Orge Soja. *J. Rech. Porc. en France, Paris*, 201-209.
- DURAND G., FAUCONNEAU G., PENOT E., 1967. Croissance des tissus du Rat et réduction de l'apport énergétique de la ration ; influence sur la teneur en acides nucléiques. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, **7**, 145-155.
- DURAND G., FAUCONNEAU G., PENOT E., 1967. Évolution des teneurs en acides nucléiques et en protéines du foie du Porc au cours de la croissance post-natale. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **49**, 361-370.
- DURAND G., FAUCONNEAU G., PENOT E., 1969. Répartition des cellules entre les tissus du Rat adulte, préalablement soumis à une sous nutrition énergétique temporaire à deux stades de la croissance. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, **9**, 55-73.
- DURAND G., PENOT E., 1970. Effets du maintien à poids constant pendant de longues durées chez le Rat sevré. Reprise de la croissance. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, **10**, 385-399.
- DURAND G., 1972. Quelques données sur la longévité du Rat et de la Souris soumis : a) à des régimes alimentaires additionnés d'agents antioxygènes ; b) à des restrictions alimentaires. *Expérimentation animale*, **5**, 291-307.
- DURAND G., PASCAL G., 1973. Effets du di-tertio-butyl-hydroxy-toluène (BHT) ajouté en concentration croissante dans la ration, sur l'appétit et le poids vif du Rat mâle adulte. Influence du taux protéique. *Ann. Nutr. Alim.*, **27**, 11-24.
- DURAND G., 1973. Effets comparés de restrictions protéiques et de restrictions énergétiques sur les contenus en protéines et en acides nucléiques des tissus du Rat en croissance. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, (sous presse).
- FRAWLEY J. P., KOHN F. E., KAY J. H., CALANDRA J. C., 1965. Progress report on multigeneration reproduction studies in Rat fed butylated hydroxytoluene (BHT). *Food Cosmet. Toxicol.*, **3**, 377-386.

- GARNER R. C., McLEAN A. E., 1969. Increased susceptibility to carbon tetrachloride poisoning in the Rat after pretreatment with oral phenobarbitone. *Biochim. Pharmacol.*, **18**, 645-650.
- GAUNT I. F., FEUER G., FAIRWEATHER F. A., GILBERT D., 1965 a. Liver response tests. IV. Application to short term feeding studies with butylated hydroxytoluene (BHT) and butylated hydroxyanisole (BHA). *Food Cosmet. Toxicol.*, **3**, 433-443.
- GAUNT I. F., GILBERT D., MARTIN D., 1965 b. Liver response tests. V. Effect of dietary restriction on a short term feeding study with butylated hydroxytoluene (BHT). *Food Cosmet. Toxicol.*, **3**, 445-456.
- GILBERT D., GOLBERG L., 1965. Liver response tests. III. Liver enlargement and stimulation of microsomal processing enzyme activity. *Food Cosmet. Toxicol.*, **3**, 417-432.
- GILBERT D., GOLDBERG L., 1967. BHT-oxydase. A liver microsomal enzyme induced by the treatment of Rats with butylated hydroxytoluene. *Food Cosmet. Toxicol.*, **5**, 481-490.
- GONTZEA I., SUTZESCO P., COCORA D., LUNGU D., 1964. Importance de l'apport de protéines sur la résistance de l'organisme à l'intoxication par le plomb. *Arch. Sci. Physiol.*, **18**, 211-224.
- GONTZEA I., BISTRICEANU E., DRAGHICESCO M., MANEA M., 1968. Le rôle des protéines dans l'intoxication chronique au toluène. *Arch. Sci. Physiol.*, **22**, 394-409.
- JOHNSON A. R., HOLDSWORTH E. S., 1968. The effect of the antioxydant butylated-hydroxy-toluène on the lipid metabolism of the Rat. *J. Nutr. Dietet.*, **5**, 147-153.
- KERR R., LEFEVRE A., LANE B. P., LIEBER C. S., 1966. Liver growth induced by butylated hydroxytoluene (BHT). *Clin. Res.*, **14**, 299.
- LANE B. P., LIEBER C. S., 1967. Effects of butylated hydroxytoluene on the ultrastructure of Rat hepatocytes. *Lab. Invest.*, **16**, 342-348.
- MARCH B. E., BIELY J., COATES V., 1968. The influence of diet on toxicity of the antioxydant 1, 2-dihydro-6-éthoxy-2, 2, 4-triméthylquinoline. *Canad. J. Physiol. Pharmacol.*, **46**, 145-149.
- MILNER S. M., 1967. Effects of the food additive butylated hydroxytoluene on monolayer cultures of primate cells. *Nature*, **216**, 557-560.
- NADAL C., ZAJDELA F., 1966. Polyploïdie dans le foie de Rat. II. Le rôle de l'hypophyse et de la carence protéique. *Exptl. Cell Res.*, **42**, 117-129.
- PASCAL G., TERROINE T., 1969 a. Effets biochimiques et physiologiques d'un additif alimentaire : le di-tertio-butyl-hydroxy-toluène (BHT). *Ann. Nutr. Alim.*, **23**, 15-62.
- PASCAL G., TERROINE T., 1969 b. Influence du butyl-hydroxy-toluène (BHT) sur l'activité de la cytochrome oxydase du foie de Rat. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **268**, 1529-1531.
- PASCAL G., 1969. Influence de l'ingestion de butyl-hydroxy-toluène (BHT) sur l'activité de la phosphatase acide du foie de Rat. *Ann. Nutr. Alim.*, **23**, 73-101.
- PASCAL G., DURAND G., PENOT E., 1970. Influence de l'ingestion de di-tertiobutyl-hydroxy-toluène (BHT) sur la croissance corporelle et la composition du tissu hépatique du Rat blanc. *Arch. Sci. Physiol.*, **24**, 37-54.
- PASCAL G., DURAND G., 1970. Influence du Butyl-hydroxy-toluène (BHT) sur l'accumulation des lipides dans l'organisme du Rat. *J. Physiol., Paris*, **62**, supplément 1, 201-202.
- PASCAL G., 1971. Effets métaboliques d'un additif alimentaire à propriété anti-oxygène : le BHT. *J. Physiol., Paris*, **63**, 260-261 A.
- PASCAL G., TERROINE T., 1972. Effets de l'ingestion d'un additif alimentaire, le di-tertio-butyl-hydroxy-toluène (BHT) sur les échanges respiratoires du Rat mâle. *Ann. Nutr. Alim.*, **26**, 33-52.
- PASCAL G., 1974. Physiological and metabolic effects of antioxydant food additives. *World Rev. Nutr. Diet.*, **19**, 237-299.
- SPORN A., SCHOBESCH O., 1961. Research on the toxicity of butylated hydroxytoluene. *Ig. Microbiol. Epidem. Buc.*, **9**, 113, d'après GAUNT et coll. *Food Cosmet. Toxicol.*, 1965, **5**, 433-443.
- SUGAHARA M., BAKER D. M., HARMON B. G., JENSEN A. H., 1969. Effect of excess level of dietary crude protein on carcass development in Swine. *J. anim. Sci.*, **29**, 598-601.
- SWARTZ F. J., 1956. The development in the human liver of multiple DNA classes and their relationship to the age of the individual. *Chromosoma*, **8**, 53-61.