

ÉTUDE CINÉTIQUE DE LA COMPOSITION EN ACIDES AMINÉS DU SANG PORTE CHEZ LE PORC

R. PION, G. FAUCONNEAU et A. RERAT

avec la collaboration technique de Madeleine FORIGNON,
Jeanine WAGNER et J. D'ANGELO.

*Laboratoire des Métabolismes, et Station de Recherches sur l'Élevage des Porcs,
Centre national de Recherches zootechniques, Jouy-en-Josas (Seine-et-Oise)*

Après avoir discuté l'intérêt et la signification de la composition en acides aminés libres du sang de la veine porte, nous rappellerons brièvement les conditions expérimentales et les méthodes utilisées, et examinerons les résultats obtenus; puis nous formulerons les conclusions qui se dégagent de ces expériences, et examinerons l'orientation à donner aux études futures.

INTÉRÊT DE L'ÉTUDE DE LA TENEUR EN ACIDES AMINÉS LIBRES DU SANG DE LA VEINE PORTE

Les produits d'hydrolyse des protéines alimentaires sont absorbés par la paroi intestinale. Ces produits, transformés ou non au cours de leur passage à travers la muqueuse intestinale, peuvent être transportés sous diverses formes et par deux voies : le sang provenant du tube digestif finalement collecté par la veine porte, et la lymphe. Les formes de transport possibles sont : les acides aminés libres, des peptides et des protéines, qui seraient rapidement synthétisées dans la paroi du tube digestif, ou qui seraient éventuellement absorbées directement.

Des variations de la composition en acides aminés libres de la lymphe ont été signalées chez le chien par LEVENSON et col. (1959); DAWSON et PORTER (1962) ont constaté chez le rat ayant ingéré une protéine de chlorelle marquée au ^{14}C une évolution similaire de la teneur en acides aminés libres marqués dans le sang et dans la lymphe. Toutefois, ils estiment que le transport par la voie lymphatique est quantitativement très faible par rapport au transport par la voie sanguine.

La présence dans le sang porte de peptides ou l'incorporation immédiate des acides aminés alimentaires dans des protéines semblent plus controversées.

Si l'on trouve des peptides en quantité notable dans la lumière intestinale, ceux-ci n'apparaissent pas, ou peu, dans le sang de la veine porte (DAWSON et HOLDSWORTH, 1962, et nombreuses expériences sur l'absorption). Ils seraient donc hydrolysés dans la muqueuse intestinale.

La paroi intestinale semble être également le siège d'une synthèse protéique intense. HARTMANN (1959) estime, à la suite d'expériences au ^{35}S chez le chien, qu'il s'y produit une synthèse de certaines protéines sanguines, qui sont ensuite libérées dans le sang. Mais SCHLUSSEL (1959) utilisant des levures marquées au ^{35}S et DAWSON et HOLDSWORTH

(1962) utilisant des chlorelles marquées au ^{14}C (sur le rat), s'ils constatent également une synthèse protéique dans la paroi intestinale à partir des produits de la digestion, estiment que ces protéines sont utilisées pour les sécrétions digestives, et pour le renouvellement des tissus desquamés; l'intestin se renouvellerait comme les autres tissus, en prélevant au passage les acides aminés qui lui sont nécessaires. Les acides aminés libres constitueraient la principale forme de transport des composés azotés, et les protéines plasmatiques seraient synthétisées à partir de ceux-ci. Par contre, FROMM et NORDLIE (1959) ont trouvé, sur des rats dont les besoins en acides aminés soufrés étaient artificiellement exagérés par des blessures expérimentales que, si la cystine marquée était entièrement présente sous forme libre, la méthionine marquée semblait transportée en grande partie dans les protéines sanguines.

L'importance quantitative des acides aminés libres a également été mise en évidence par l'étude de la synthèse des protéines au niveau de la glande mammaire. Plus de 70 % des acides aminés indispensables des protéines synthétisées proviendraient des acides aminés libres, 10 % seulement des protéines plasmatiques.

Enfin, si les protéines sanguines et les peptides semblent jouer un rôle assez limité quantitativement dans le transport des produits de la digestion des protéines, un certain nombre d'expériences ont mis en évidence des variations importantes dans la teneur en acides aminés libres du sang de la veine porte, tant chez le chien que chez le rat. (DENT et SCHILLING, 1949, DENTON et ELVEHJEM, 1954, GUGGENHEIM et al., 1960, WHELER et MORGAN, 1958).

Les acides aminés libres du sang porte sont donc probablement une des principales formes de transport des produits de la digestion des protéines alimentaires. En tenant compte de l'utilisation par les tissus (qui modifie la composition du sang artériel qui vient irriguer l'intestin), des variations possibles du débit du sang porte, du rôle de la muqueuse intestinale, et des divers apports endogènes possibles, la composition en acides aminés libres du sang porte est corrélative de :

- la vitesse d'arrivée des protéines dans le duodénum (liée à la nature de la protéine, et à celle des autres constituants de la ration; et en particulier, à la quantité d'aliment ingéré au cours d'un repas);
- la composition en acides aminés de cette protéine;
- la vitesse de libération des différents acides aminés qui la constituent.

MATÉRIEL ET MÉTHODE

Les expériences ont été effectuées sur 4 porcelets de 20 à 25 kg, munis de fistules de la veine porte (ARSAC et RERAT, 1963). Les repas expérimentaux étaient consommés le matin. Le repas du soir était complété de façon à compenser les déficits énergétique ou azoté éventuels du repas expérimental par rapport à la ration de base.

La ration de base était la suivante (%) :

- farine de hareng de Norvège (F. P.) : 21,6;
- amidon : 65,4;
- cellulose : 5;
- huile d'arachide : 5;
- minéraux et vitamines : 3.

Les rations utilisées dans les repas expérimentaux ont été :

- la ration de base;
- le même aliment dont le taux protidique était modifié en faisant varier les teneurs respectives en amidon et en farine de poisson;

— l'aliment sans azote : ration de base dans laquelle la totalité de la farine de poisson est remplacée par de l'amidon;

— la farine de hareng seule;

— de l'orge, additionnée de condiment minéral et vitaminique.

Les prélèvements ont été effectués au début du repas (temps zéro) et à des temps variables après celui-ci. Le sang obtenu sans créer de forte dépression dans la canule, est mélangé immédiatement avec environ 7 fois son volume d'éthanol froid (— 5° C environ). La quantité prélevée est mesurée par pesée. Les acides aminés libres et amides du sang total sont extraits, puis dosés par chromatographie quantitative sur papier. Les résidus d'extraction alcooliques sont séchés (65° C) et pesés, l'azote est dosé sur un aliquote.

TABLEAU 1
Composition des repas.

N° du repas	Aliment			N° du porc
	Nature	Quantité	Teneur en matière azotée p. 100	
I	Sans azote	150 g	—	4804
II	Orge	350 g	—	4839
III	Orge	500 g	—	4804
IV	Farine de poisson + amidon	400 g	7,1	4804
V	Farine de poisson + amidon	275 g	16,3	4794
VI	Farine de poisson + amidon	400 g	16,3	4839
VII	Farine de poisson + amidon	400 g	16,3	4821
VIII	Farine de poisson + amidon	340 g	22,9	4804
IX	Farine de poisson	60 g	74	4794
X	Farine de poisson	76 g	74	4804

RÉSULTATS

Pour éviter l'interférence possible d'une dilution éventuelle du sang au cours de la digestion, les teneurs en acides aminés ont été rapportées à la matière sèche du résidu d'extraction alcoolique (très voisine de la matière sèche du sang).

1° *Composition du sang porte des animaux à jeun.*

Les concentrations des divers acides aminés du sang porte sont relativement constantes (cf. tableau 2) chez des porcs à jeun depuis une douzaine d'heures. Les valeurs trouvées pour les trois premiers animaux (sensiblement du même poids, en croissance, et soumis au même régime alimentaire) sont très voisines pour la plupart des acides aminés, mais les teneurs étaient beaucoup plus élevées chez le quatrième porcelet (n° 4839), dont la croissance était très irrégulière.

La constance de l'aminocidémie porte chez un même animal semble liée à un bon état physiologique : dès que la croissance des animaux est ralentie ou arrêtée (influence de prélèvements répétés ou autres causes), l'aminocidémie peut augmenter rapidement et de façon importante (de 50 à 150 %).

TABLEAU 2

Composition en acides aminés libres du sang porte des animaux à jeun. $\mu\text{g/g}$ de matière sèche du résidu d'extraction.

Porc n°	4 804	4 821	4 794	4 839
Nombre d'échantillons	7	2	1	5
Acide aspartique	20	23	22	45
Acide glutamique	69	102,5	91	153
Sérine	56	70	50	78
Glycine	227	241,5	119	385
Thréonine	45	53	30	54
Alanine	107	158	114	197
Glutamine	81	136	99	126
Valine	99	106,5	85	160
Leucine, Isoleucine, Phénylalanine	156	189,5	175	324
Proline	52**	62*	80	118
Tyrosine	32	28	19	55
Lysine	39**	85	45	107
Ornithine	36***	35	19	47
Citrulline	34	53	36	51

* 1 seule détermination.

** 6 déterminations.

*** 5 déterminations.

Les proportions des différents acides aminés libres et amides dans le sang total porte sont différentes de celles que l'on observe dans d'autres tissus (muscles par exemple). Les acides aminés non indispensables constituent environ 50 à 55 % du total, et sont représentés principalement par la glycine (13 à 23 %), l'acide glutamique (8 à 10 %), l'alanine (10 à 12 %), la glutamine (8 à 11 %), la sérine (5 à 6 %) et la proline (5 à 6 %). La teneur en acide aspartique est faible (de l'ordre de 2 % du total). Parmi les acides aminés indispensables, les proportions sont : 13 à 15 % pour le groupe leucine, isoleucine, phénylalanine, 8, 5 à 10 % pour la valine, 4 % pour la thréonine, 4 à 7 % pour la lysine. En outre, le sang contient quelques acides aminés non alimentaires et provenant du métabolisme intermédiaire : citrulline, ornithine (cycle de l'urée), acide α aminobutyrique.

Les proportions d'acides aminés non indispensables sont beaucoup plus fortes dans les extraits alcooliques de muscle (premiers résultats sur des muscles prélevés après abattage sous anesthésie) : 9 % d'acide glutamique, 9 % de glycine, 16 % d'alanine, 34 % de glutamine.

2° Évolution au cours de la digestion.

Les résultats obtenus sur 10 repas différents consommés par les 4 animaux ont été exprimés graphiquement (graphiques 1 à 5) en % de la teneur du sang à jeun (temps 0 du repas considéré). Les traits hachurés représentent la quantité de l'acide aminé considéré ingérée par l'animal au cours du repas étudié. Nous avons indiqué pour chaque repas : le numéro de l'animal, la nature de l'aliment (A : amidon, F. P. : farine de poisson), le taux protidique de la ration et la quantité d'aliment ingérée (tableau 1).

a) *Acides aminés indispensables et semi-indispensables.*

La valine et le groupe leucine, isoleucine, phénylalanine, évoluent de façon similaire : l'augmentation est de l'ordre de 50 % aussi bien après ingestion du repas sans azote que de l'orge, de l'ordre de 200 % après ingestion du mélange farine de poisson, amidon, de 300 à 500 % après ingestion du poisson seul. Les maxima semblent être obtenus pour le poisson 3 à 4 heures après le début du repas.

La thréonine et la tyrosine évoluent de façon similaire, la première variant davantage dans le cas de l'orge, la deuxième dans le cas du poisson seul.

La lysine a probablement un comportement assez voisin, mais la variabilité est plus grande. L'augmentation observée après ingestion d'un repas sans azote est peut-être due à une mauvaise estimation de la teneur dans le sang à jeun correspondant.

b) *Acides aminés non indispensables.*

La teneur en acide aspartique, déjà très faible dans le sang à jeun, ne varie que faiblement au cours de la digestion, alors que les apports alimentaires sont assez élevés.

La sérine et la proline évoluent de façon similaire dans le cas de la farine de poisson (avec ou sans amidon). Toutefois, la proline est le seul acide aminé pour lequel nous ayons constaté une augmentation importante dans le cas de l'orge.

L'évolution des teneurs en glycine, alanine, acide glutamique + glutamine est beaucoup plus variable que celle des autres composés; l'influence de la présence ou de l'absence d'amidon dans la ration ne se manifeste pas comme dans le cas des acides aminés indispensables.

3° *Relation entre la composition du sang porte et l'apport alimentaire.*

Ne disposant pas d'un nombre suffisant de points expérimentaux dans le cas de l'orge, nous nous sommes limités pour cette étude au cas de la farine de poisson. Nous avons divisé, pour chaque point expérimental, l'augmentation de teneur dans le sang porte (teneur observée au point considéré, moins teneur dans le sang à jeun correspondant) par la quantité de l'acide aminé considéré ingérée. Par convention, nous avons attribué aux résultats la valeur zéro toutes les fois que la teneur était plus faible que celle du sang à jeun. Les résultats figurent sur les graphiques 6 et 7.

L'influence de la présence d'amidon dans les régimes (qui se traduit notamment par une augmentation de la quantité de matière sèche ingérée pour une même quantité d'azote) est extrêmement nette dans le cas de la valine, du groupe leucine, isoleucine, phénylalanine, de la thréonine et de la tyrosine : quelle que soit la quantité de matière sèche ingérée, le taux azoté de la ration et l'animal, on obtient une seule courbe assez aplatie pour tous les repas contenant de l'amidon : taux azoté maximum, 22,9 %, quantité minimum d'aliment ingérée 275 g.

La courbe obtenue après ingestion de farine de poisson seule (deux repas sur deux animaux différents) monte beaucoup plus vite. Nous n'avons malheureusement pas de points expérimentaux qui nous permettent de dire si la descente est également plus rapide, ou si la surface de la courbe est plus grande que dans le cas précédent, ce qui signifierait qu'une libération trop rapide de ces composés entraîne une moins bonne utilisation. Les phénomènes sont beaucoup moins nets dans le cas de la lysine. La sérine et la proline semblent également donner des courbes reproductibles d'un repas à l'autre et d'un animal à l'autre.

La variabilité est beaucoup plus grande pour la glycine, l'alanine et la somme : acide glutamique + glutamine. Les courbes moyennes tracées pour ces composés n'ont que peu de signification. On observe en outre dans le cas de l'alanine des maxima aussi élevés, que la ration contienne ou ne contienne pas d'amidon.

Les variations observées sont très faibles dans le cas de l'acide aspartique. Nous ne pouvons toutefois en tirer aucune conclusion, ne connaissant pas les teneurs correspondantes en asparagine.

DISCUSSION

Les dosages ont été effectués sur l'azote non protéique du sang total (plasma + globules). Nous évitons ainsi les échanges qui pourraient se produire entre plasma et cellules sanguines au cours de leur séparation. DAWSON et PORTER (1962) ont constaté chez des rats ayant ingéré une protéine de chlorelle marquée au ^{14}C que la teneur en acides aminés libres marqués variait aussi bien dans le plasma que dans les cellules. Dans le sang porte, la courbe observée pour les cellules est similaire à celle observée pour le plasma, mais le maximum atteint est moins élevé. Si le même phénomène se produit chez le porc, ce qui est vraisemblable, l'estimation des produits de la digestion ne peut pas se faire par la seule analyse du plasma.

La précision de la méthode de dosage que nous utilisons est relativement faible. Mais les variations observées au cours de la digestion sont très importantes, et n'ont aucune commune mesure avec les erreurs expérimentales. Cette méthode présente l'avantage de ne nécessiter qu'une prise d'essai assez faible, ce qui est indispensable si l'on ne veut pas modifier l'état physiologique de l'animal par des prélèvements excessifs. Le principal inconvénient de la méthode est qu'elle ne permet pas de doser tous les acides aminés indispensables : l'histidine et l'arginine, les acides aminés soufrés n'ont pu être dosés. En outre, les résultats des dosages de leucine, isoleucine, phénylalanine sont entachés d'une erreur systématique : comme ces composés ne sont généralement pas séparés sur les chromatogrammes, il n'est pas possible de savoir si leurs proportions varient. Par contre, la chromatographie sur papier permet de séparer certains composés difficiles à séparer sur colonne : glutamine, citrulline.

Les animaux utilisés avaient une ration de base contenant des protéines de poisson. Il est possible que la teneur en acides aminés libres du sang à jeun soit liée à ce régime, et que les résultats obtenus pour un repas d'orge soient différents de ceux que l'on obtiendrait sur un animal ayant une ration de base contenant de l'orge comme seule source de protéine. Mais les phénomènes seraient difficilement comparables à ceux obtenus pour la farine de poisson, car les animaux n'auraient certainement pas la même croissance.

CONCLUSIONS

L'étude de l'évolution de l'aminoacidémie porte au cours de la digestion semble être une méthode d'approche intéressante pour l'étude de la digestion des protéines. La composition du sang à jeun est relativement constante dans des conditions bien déterminées, et les variations observées sont assez reproductibles, au moins pour la plupart des acides aminés indispensables, et pour plusieurs acides aminés non indispensables.

Les teneurs semblent généralement passer par un maximum 3 à 4 heures après le début du repas, dans le cas de la farine de poisson.

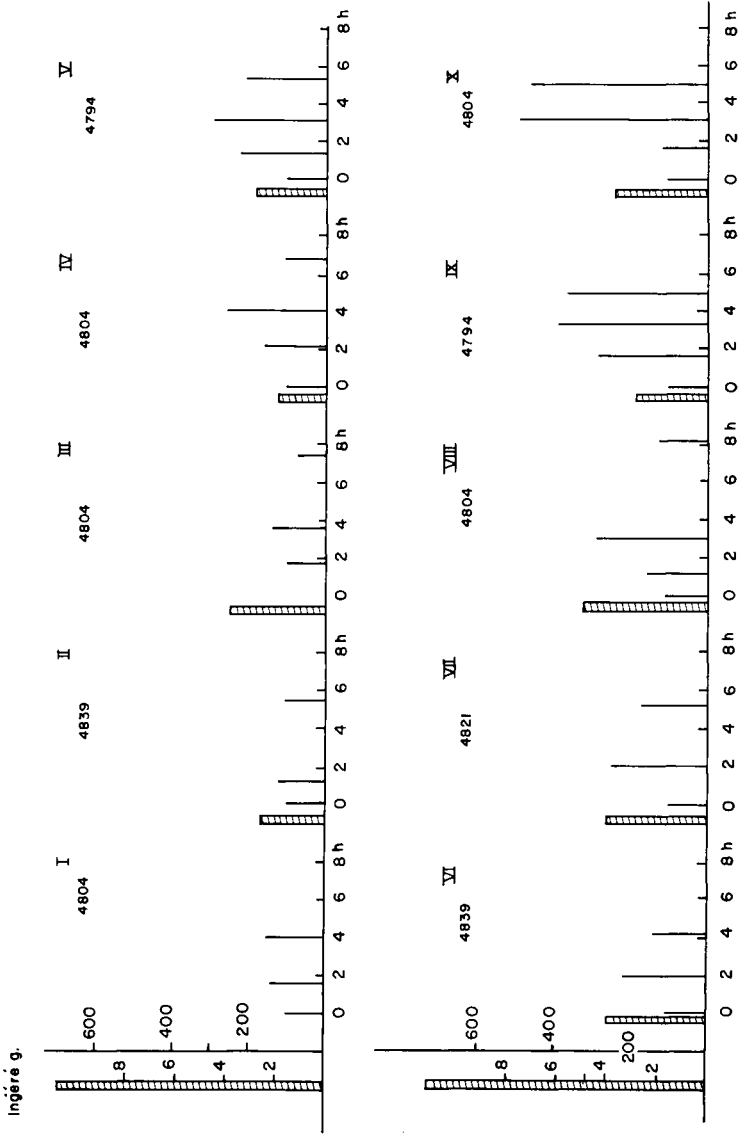
Il est nécessaire pour pouvoir tirer des conclusions définitives de compléter ces expériences par un certain nombre de repas expérimentaux effectués dans les mêmes conditions sur de nouveaux animaux. Les courbes obtenues après ingestion de repas sans azote et d'orge doivent en particulier être précisées. Un plus grand nombre de points expérimentaux est également souhaitable dans le cas des farines de poisson. La manière dont les teneurs diminuent après être passées par un maximum dans le sang des animaux n'ayant ingéré que la farine de poisson seule mérite en particulier d'être précisée.

Si les résultats obtenus mettent en évidence une similitude assez nette entre les courbes obtenues après ingestion de la farine de poisson seule, et de la farine de poisson additionnée d'amidon, il sera possible pour étudier la digestion d'une protéine donnée de la faire consommer à un taux protéique élevé. Les courbes de variation ainsi obtenues seront plus nettes, permettant des conclusions plus précises.

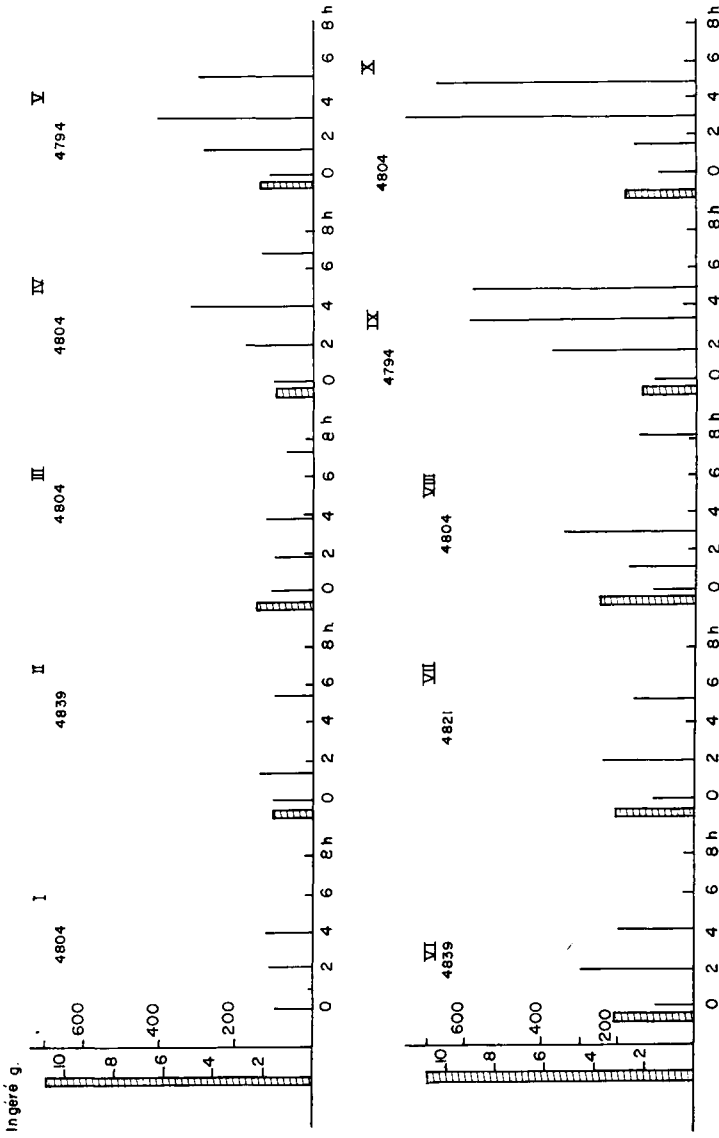
Il sera également nécessaire d'étudier ou de contrôler le transit digestif (animaux munis de canules duodénales), car la vitesse de vidange de l'estomac est certainement un facteur important des variations entre repas ou animaux.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

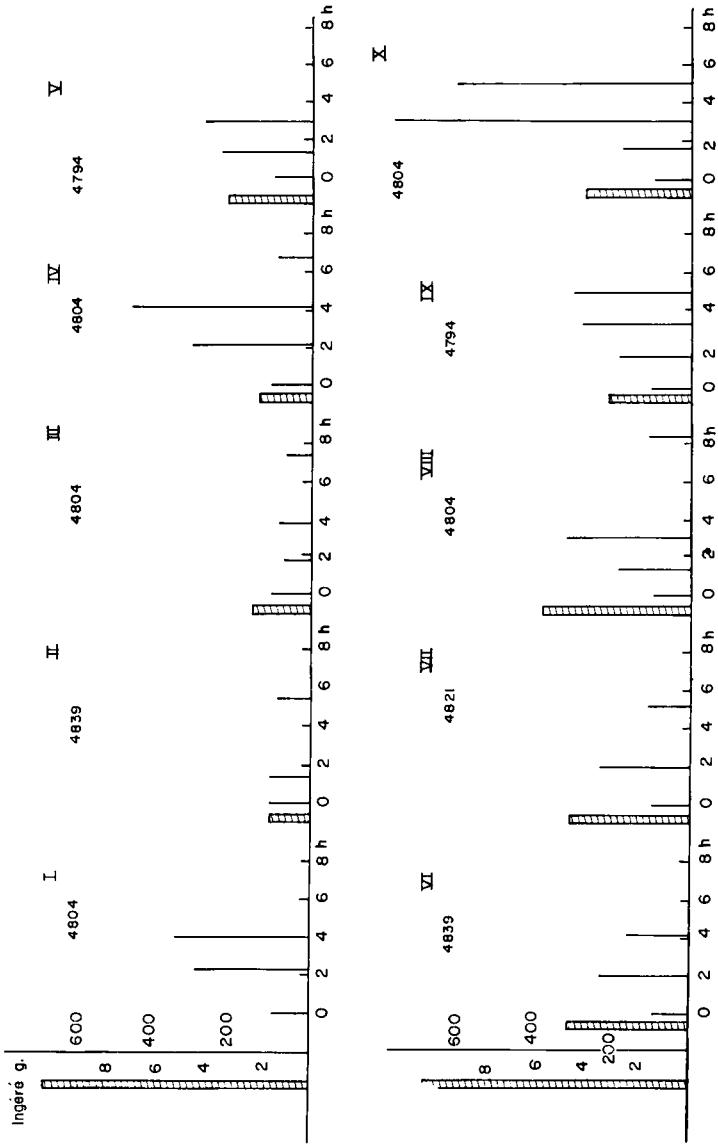
- ARSAC M., RERAT A., 1962. Technique de fistulation de la veine porte chez le porc. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, **2**, 335-343.
- DAWSON R., HOLDSWORTH E. S., 1962. An investigation into protein digestion with ¹⁴C labelled protein. I. The general pattern of ¹⁴C incorporation in body tissues and fluids of the rat up to 3 h. after feeding. *Brit. J. Nutr.*, **16**, 13-25.
- DAWSON R., PORTER J. W. G., 1962. An investigation into protein digestion with ¹⁴C labelled protein. 2. The transport of ¹⁴C labelled nitrogenous compounds in the rat and cat. *Brit. J. Nutr.*, **16**, 27-38.
- DENT C. E., SCHILLING J. A., 1949. Studies on the absorption of proteins: the amino acid pattern in the portal blood. *Biochem. J.*, **44**, 318-333.
- DENTON A. E., ELVEHJEM C. A., 1954. Availability of amino acids in vivo. *J. Biol. Chem.*, **206**, 449-454.
- FROMM H. J., NORDLEE R. C., 1959. Redistribution of Methionine and Cystine during experimental wound healing. *Biochim. biophys. Acta*, **31**, 351-364.
- GUGGENHEIM K., HALEVY S., FRIEDMANN N., 1960. Levels of lysine and methionine in portal blood of rats following protein feeding: *Arch. Biochem. Biophys.*, **91**, 6-10.
- HARTMANN F., 1958. In PEETERS H. *Protides of the biological fluids, Proceedings of the sixth colloquium Bruges*, 204-211, Elsevier Publishing Company, Amsterdam.
- LEVENSON S. M., ROSEN H., UPJOHN H. L., 1959. Nature and appearance of protein digestion products in upper mesenteric blood. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, **101**, 178-180.
- SCHLÜSSEL H., 1959. The use of radio sulphur in the analyses of protein resorption in the intestine. *Clin. Chim. Acta.*, **4**, 748-751.
- WHEELER P., MORGAN A. F., 1958. The absorption by immature and adult rats of amino acids from raw and autoclaved fresh pork. *J. Nutrition*, **64**, 137-150.



Graphique I
Variation de la teneur en valine libre du sang porte au cours de la digestion (exprimée en % de la teneur dans le sang à jeun).

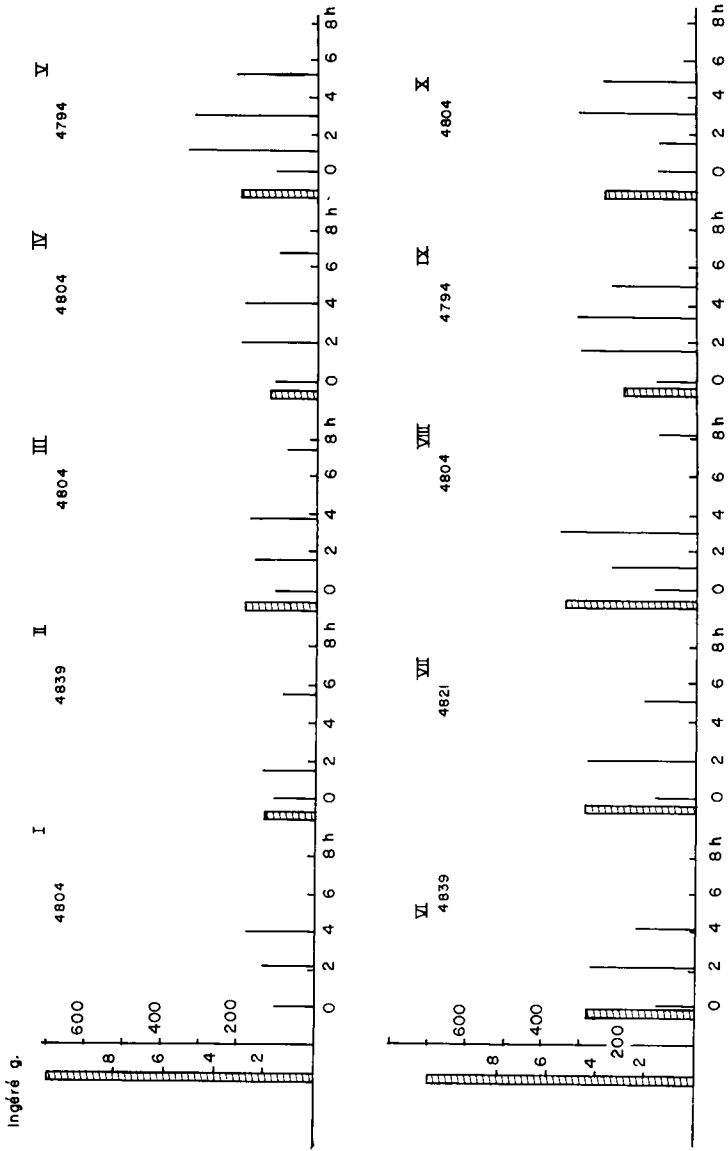


Graphique 2
Variation de la teneur en thréonine libre du sang porte au cours de la digestion (exprimée en % de la teneur dans le sang à jeun).



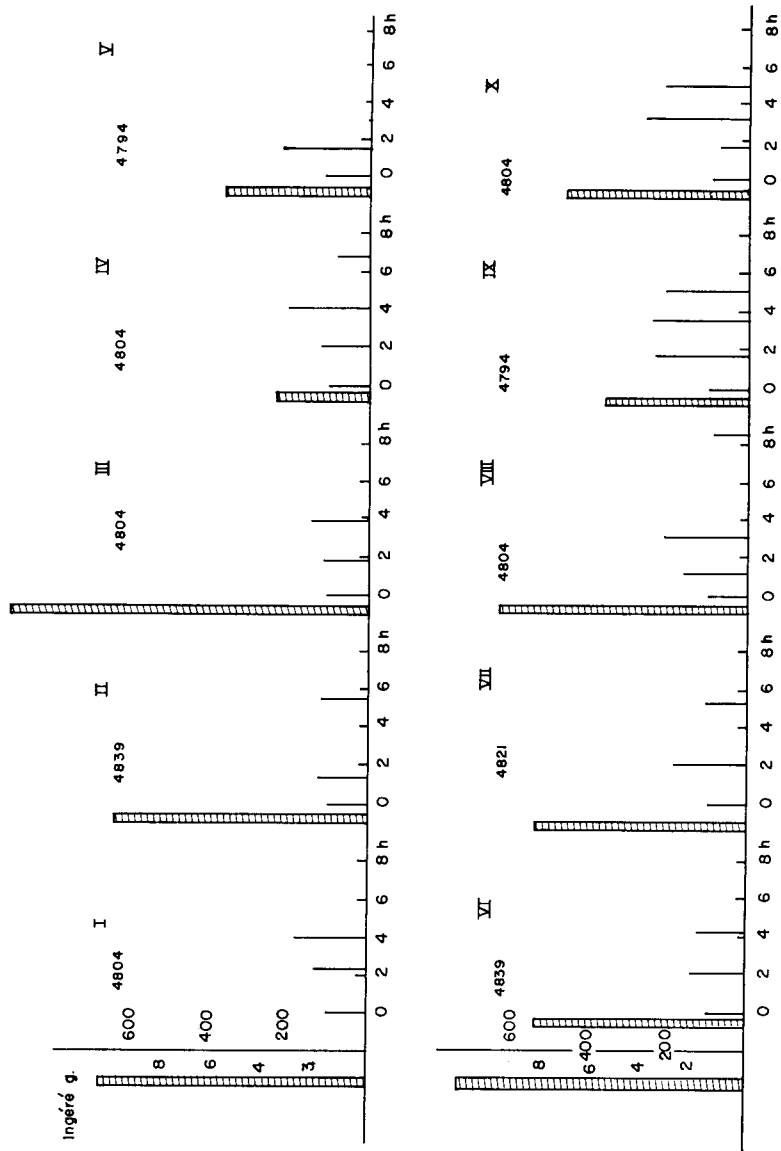
Graphique 3

Variation de la teneur en lysine libre du sang porte au cours de la digestion (exprimée en % de la teneur dans le sang à jeun).



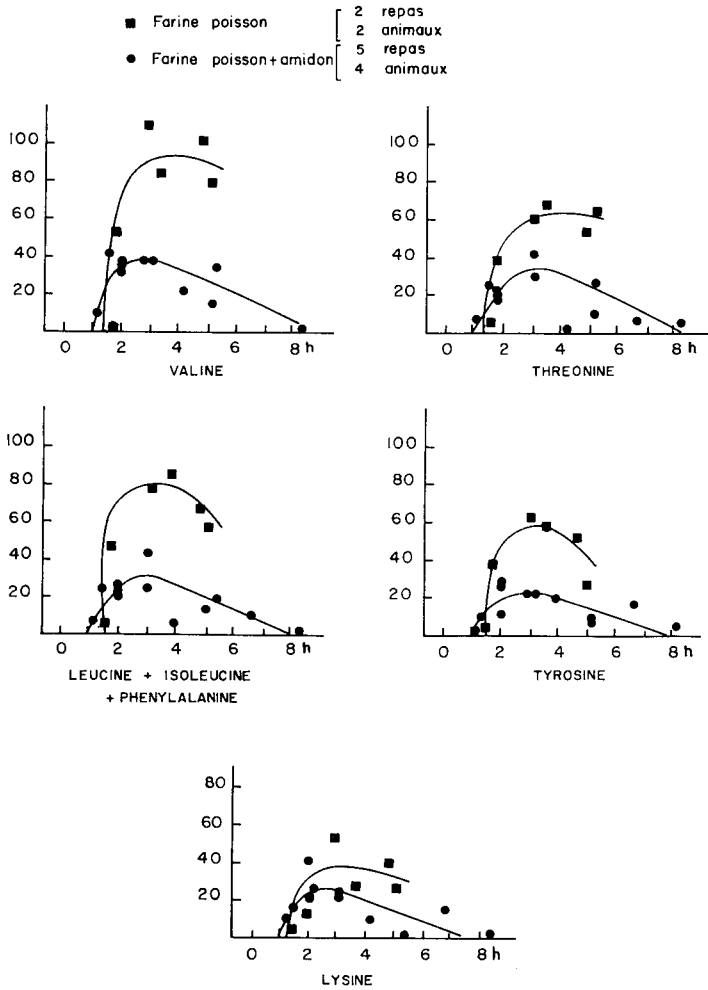
Graphique 4

Variation de la teneur en alanine libre du sang porte au cours de la digestion (exprimée en % de la teneur dans le sang à jeun).



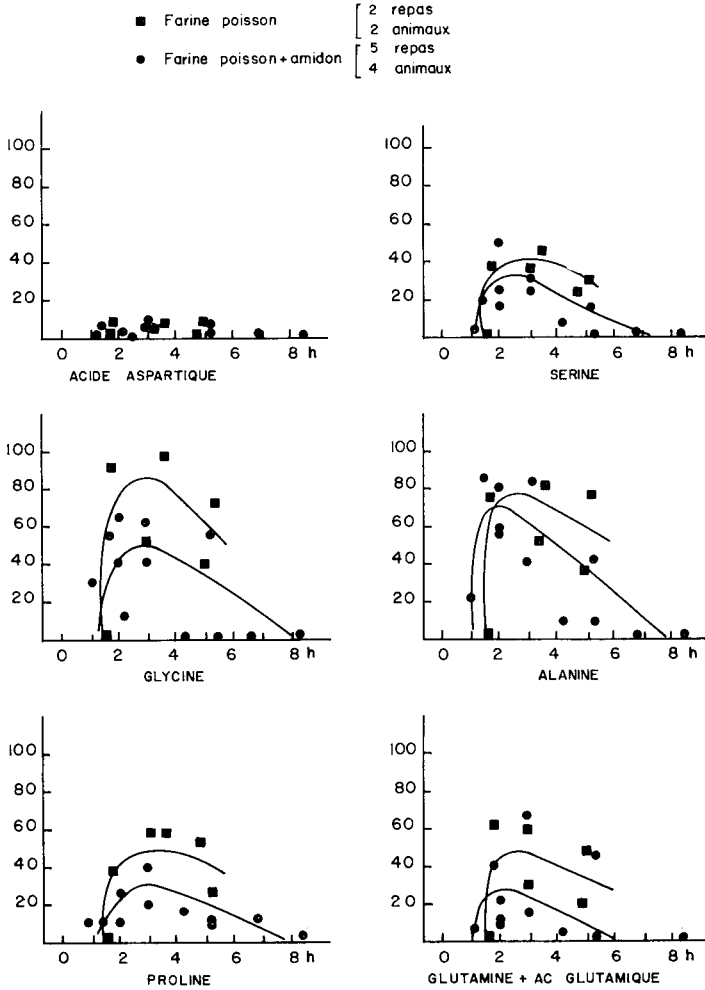
Graphique 5

Variation de la teneur en acide glutamique et glutamine libres du sang porte au cours de la digestion (exprimée en % de la teneur dans le sang à jeun).



Graphique 6

Augmentation de la teneur du sang porte en acides aminés indispensables et semi-indispensables rapportée à l'ingéré (exprimée en µg/g de matière sèche du résidu/g ingéré).



Graphique 7

Augmentation de la teneur du sang porte en acides aminés non indispensables rapportée à l'ingéré (exprimée en $\mu\text{g/g}$ de matière sèche du résidu/g ingéré).