

**Hepatic oxidation of the stereoisomers of methionine hydroxyanalogue in chicks.** L Dupuis, P Brachet, A Puigserver (*Centre de biochimie et de biologie moléculaire du CNRS, BP 71, 13402 Marseille Cedex 9, France*)

Methionine (D,L-MET) and its hydroxyanalogue (D,L-HMB) are commonly added to poultry feed-stuffs in order to fulfil the L-methionine requirement of growing chicks. The use of D,L-HMB as a methionine substitute relies on its enzymatic conversion to 2-keto-4-methylthiobutanoic acid (KMB) which is further transformed into L-MET. The D- and L-stereoisomers of HMB are oxidized by selective enzymes present in several tissues with distinct subcellular locations. D-2-hydroxy acid dehydrogenase activity (D-2 HADH) responsible for the oxidation of D-HMB was found to be present in mitochondrial fractions from liver, kidney, skeletal muscle, intestinal mucosa, spleen and brain. By contrast, oxidation of the L-isomer resulted from L-2-hydroxy acid oxidase activity (L-2 HAOX) which is almost exclusively located in kidney and liver. All this suggested that the 2 HMB isomers might not be quite equivalent in terms of bioavailability depending on the tissue.

In growing chicks, liver and kidney were found to be the major organs where the conversion of D- and L-HMB into KMB took place. Consequently, we started to characterize both the dehydrogenase and the oxidase from chick liver. A D-2 HADH-enriched mitochondrial fraction was precipitated with ammonium sulfate (44% saturation) and yielded an enzyme preparation which was apparently unable to oxidize D-HMB but did oxidize D-lactate (13 nmol/min/mg protein). On the other hand, a 690-fold purified peroxysomal L-2 HAOXA was obtained by a 3-step procedure: ammonium sulfate fractionation (65% saturation) followed by chromatography on DEAE-cellulose and hydroxyapatite. The enzyme specific oxidizing activity on glycolate was 1 294 nmol/min/mg protein. Moreover, the kinetic parameters of the enzyme-catalyzed oxidation of L-HMB ( $K_m$ : 1.7 mM and  $V_{max}$ : 285 U/mg protein) as compared to glycolate (0.1 mM and 1 100 U/mg protein, respectively) showed that the former was a rather less efficient substrate. The higher rate of conversion of L-HMB into KMB as compared to D-HMB in the chick liver suggests that their bioavailability may be quite different.

**Formes moléculaires plasmatiques de la neurotensine chez le porc.** C Philippe<sup>1</sup>, JC Cuber<sup>2</sup>, C Simoes Nunes<sup>1</sup>, F Levenez<sup>1</sup>, T Gibard<sup>1</sup> (<sup>1</sup> *Station de physiologie de la nutrition, INRA, 78350 Jouy-en Josas*; <sup>2</sup> *Laboratoire de physiopathologie digestive, Unité INSERM 45, hôpital E Herriot, 69374 Lyon, France*)

La neurotensine (NT) agit sur les sécrétions digestives et la motricité gastrointestinale. La NT intacte NT1-13 et les fragments N-terminaux NT1-8 et NT1-11 ont été détectés dans le plasma chez l'homme, le rat et le chien. Chez le porc, l'hétérogénéité moléculaire de la NT circulante est inconnue.

Des plasmas portal, hépatique, carotidien sont recueillis chez 5 porcs à jeun ou 2 h après la prise d'un repas standard. Après purification sur Sep Pak, les plasmas sont traités par chromatographie liquide haute performance (HPLC) couplée à un dosage radioimmunologique de la NT. Ce dosage utilise 2 antisérums (As) de spécificité N-terminale (28H) ou C-terminale (29G). Les taux plasmatiques basaux carotidien, hépatique, portal de NT immunoréactive, dosés avec l'As 28H, sont respectivement de  $38,3 \pm 13,3$ ;  $50,0 \pm 9,9$  et  $70,8 \pm 16,7$  pM ( $n = 5$ ). Tous les plasmas présentent un profil d'éluion par HPLC de la NT immunoréactive, déterminé avec l'As 29G, similaire à celui de la NT synthétique. Par contre, obtenus avec l'As 28H, les profils d'éluion de la NT immunoréactive présentent 3 pics dont les temps de rétention sont ceux des fragments NT1-10, NT1-11 et de la NT intacte. Les proportions relatives de ces 3 formes dans les plasmas préprandiaux carotidien, hépatique et portal sont respectivement de  $19,7 \pm 6,8\%$ ,  $28,5 \pm 6,2\%$  et  $17,3 \pm 3,9\%$  pour NT1-10, de  $35,4 \pm 7,4\%$ ,  $24,1 \pm 5,6\%$  et  $22,7 \pm 4,8\%$  pour NT1-11 et de  $44,9 \pm 5,0\%$ ,  $47,3 \pm 6,8\%$  et  $60,3 \pm 2,8\%$  pour NT1-13 ( $n = 5$ ). Les proportions relatives de ces 3 formes restent inchangées dans les plasmas postprandiaux correspondants.

Chez le porc, la NT circule sous 3 formes : NT1-13, NT1-11 et NT1-10. Le fragment NT1-8 n'a pu être mis en évidence. Par contre, le fragment NT1-10 existe en proportion importante alors qu'il est inexistant chez l'homme, le rat et le chien.