

# Carence alimentaire en DL-méthionine chez le porc : la redistribution de l'énergie vers la synthèse lipidique s'accompagne d'une modification de l'activité anti-oxydante

Rosa CASTELLANO (1,2), Marie-Hélène PERRUCHOT (1,2), José-Alberto CONDE-AGUILERA (1,2), Jaap VAN MILGEN (1,2),  
Anne COLLIN (3), Sophie TESSERAUD (3), Yves MERCIER (4), Florence GONDRET (1,2)

(1) INRA, UMR1348 PEGASE, 35590 Saint-Gilles, France

(2) Agrocampus Ouest, UMR1348 PEGASE, 35000 Rennes, France

(3) INRA, UR83 Recherches Avicoles, 37380 Nouzilly, France

(4) Adisseo France SAS, 92160 Antony, France

*florence.gondret@rennes.inra.fr*

*Avec la collaboration de Sophie DARE-MICHELOT, Sandrine TACHER et Agnès STARCK.*

## **Carence alimentaire en DL-méthionine chez le porc : la redistribution de l'énergie vers la synthèse lipidique s'accompagne d'une modification de l'activité anti-oxydante**

La méthionine (Met) est le deuxième ou troisième acide aminé (AA) limitant la croissance chez le porc. Une carence alimentaire en Met réduit le dépôt protéique, mais ses répercussions sur d'autres caractéristiques animales et certains métabolismes sont moins connues. Cette étude vise à déterminer les effets d'une forte carence alimentaire en Met sur le métabolisme lipidique et le statut antioxydant. Des porcs ( $n = 6$  par groupe) ont été alimentés à partir de 42 jours d'âge (9,8 kg de poids vif) et pendant 10 jours avec un aliment équilibré en AA (CTRL ; 40% de Met:Lys) ou carencé en DL-Met (CARENCE ; 20% de Met:Lys). A l'issue de la période expérimentale, les teneurs en lipides sont plus élevées (+11% en moyenne ;  $P < 0,10$ ) dans le tissu adipeux sous-cutané (TASCD) et le muscle long dorsal (LD) des porcs du groupe CARENCE, en lien avec une augmentation des activités enzymatiques et de l'expression des gènes impliqués dans la synthèse *de novo* des lipides dans ces tissus. Les activités d'enzymes anti-oxydantes participant à la défense des cellules contre les radicaux libres, comme la superoxyde dismutase, la catalase et la glutathion réductase, sont également plus élevées dans le TASCD et le muscle LD des porcs du groupe CARENCE. Cependant, le glutathion, sous ses formes réduite et oxydée, est présent en plus faible concentration ( $P < 0,05$ ) dans le foie des porcs CARENCE relativement aux porcs CTRL. Au niveau plasmatique, les capacités anti-oxydantes totales évaluées par les tests FRAP et DPPH sont plus faibles chez les porcs CARENCE. La carence alimentaire en Met entraîne donc une redistribution de l'énergie vers le métabolisme des lipides et une modification de l'activité anti-oxydante tissulaire et plasmatique.

## **Dietary DL-methionine deficiency in pigs: the partition of energy towards lipid synthesis is associated with changes in antioxidant activities**

Methionine (Met) is the second or third limiting amino acid (AA) for growth in pigs. A dietary Met deficiency reduces protein deposition but its impact on other animal characteristics and metabolisms remains to be clarified. This study aimed to determine the effects of a dietary Met deficiency on lipid metabolism and antioxidant activities. From 42 days (9.8 kg body weight), pigs ( $n = 6$  per group) were either offered a diet with a balanced AA profile (CTRL; 40% of Met:Lys) or a diet deficient in DL-Met (CARENCE; 20% of Met: Lys) for 10 days. At the end of the trial, lipid contents were greater in subcutaneous adipose tissue (TASCD) and *longissimus dorsi* muscle (LD) of the CARENCE group when compared with CTRL piglets (+11% on average;  $P < 0.10$ ). This was associated with an increase in enzyme activities and expression levels of key genes involved in *de novo* lipogenesis in these tissues. The activities of antioxidant enzymes involved in the cell defense against free radicals (i.e., superoxide dismutase, catalase and glutathione reductase) were also higher in TASCD and LD muscle of the CARENCE pigs. However, hepatic concentrations of reduced and oxidized glutathione were lower ( $P < 0.05$ ) in the CARENCE pigs compared with CTRL pigs. In plasma, total antioxidant capacity as assessed by FRAP and DPPH tests, was also lower in the CARENCE pigs. Taken together, a dietary Met deficiency causes a redistribution of energy towards lipid synthesis, which is accompanied by changes in antioxidant activities in tissues and blood.

## INTRODUCTION

L'addition d'acides aminés (AA) de synthèse dans les régimes permet d'optimiser les performances de croissance des porcs tout en limitant l'excrétion azotée dans l'environnement. Les besoins actuels ont été définis comme les concentrations minimales en AA qui maximisent la croissance sur la base d'un modèle curvilinéaire-plateau. Cependant, le gain de poids n'est qu'une partie de la réponse aux AA. D'autres composantes découlant notamment de fonctions non-protéinogènes des AA (Le Floc'h *et al.*, 2012) doivent être considérées pour raisonner l'efficacité de la production.

La méthionine (Met) est le second ou le troisième AA limitant la croissance chez le porc (NRC, 1998). De ce fait, une carence en Met se traduit par une diminution de la croissance musculaire (Conde-Aguilera *et al.*, 2010). Elle s'accompagne d'une plus forte quantité de lipides déposés dans la carcasse des jeunes porcs carencés comparativement aux animaux recevant un régime équilibré en AA soufrés (Conde-Aguilera *et al.*, 2010). Ces modifications sont opposées à celles rapportées chez les rongeurs où les régimes déficients en Met diminuent l'adiposité corporelle, y compris dans les quelques études où la quantité d'aliment distribuée est égalisée entre groupes expérimentaux (Perrone *et al.*, 2013). Il n'est donc pas possible d'utiliser les études chez les rongeurs pour extrapoler les réponses au porc. Les acteurs métaboliques impliqués dans la variation du dépôt lipidique chez le porc restent notamment à préciser.

La Met est aussi le précurseur de la cystéine, un AA constitutif du glutathion, principal mécanisme non-enzymatique de défense cellulaire contre le stress oxydant. Le stress oxydant survient quand les mécanismes antioxydants sont dépassés par la génération de radicaux libres (ROS), sous-produits du métabolisme énergétique mitochondrial. S'ils ne sont pas correctement éliminés, les ROS peuvent causer des dommages importants aux composants cellulaires (lipides, protéines, ADN). Une carence alimentaire en Met peut théoriquement affecter les quantités de cystéine et de glutathion, et par suite le niveau de stress oxydant. A l'exemple des rongeurs (Richie *et al.*, 2004), les conséquences restent cependant difficiles à prédire en raisons de variations spécifiques à chaque organe dans les modulations des concentrations en glutathion, mais aussi d'équilibres complexes entre les mécanismes de défense non-enzymatiques et enzymatiques. Il existe enfin des interrelations entre le métabolisme lipidique et l'homéostasie redox (Lee *et al.*, 2012), nécessitant d'envisager de manière conjointe les réponses pour ces deux fonctions.

C'est pourquoi cette étude a pour objectif de déterminer les conséquences d'une carence alimentaire sévère en DL-Met sur le métabolisme lipidique et le statut antioxydant tissulaire chez le jeune porc en croissance.

## 1. MATERIEL ET METHODES

### 1.1. Dispositif expérimental

Deux régimes expérimentaux iso-protéiques et iso-énergétiques fournissant une quantité adéquate (CTRL) ou insuffisante (CARENCE) en Met ont été formulés (Tableau 1). Pour cela, la DL-Met de l'aliment CTRL est substituée par de l'amidon de maïs dans l'aliment CARENCE. Les rapports Met:Lys et AA soufrés totaux (TSAA):Lys sont, respectivement,

de 20% et 40% pour le régime CARENCE (sur une base de digestibilité iléale standardisée) ; elles sont donc inférieures de, respectivement, 31% et 28% aux besoins des porcs en croissance. Excepté pour les AA soufrés, la composition en AA de ce régime correspond aux recommandations pour les porcs en croissance. Le régime CTRL fournit quant à lui 40% de Met:Lys et 60% de TSAA:Lys.

**Tableau 1 – Caractéristiques nutritionnelles des régimes**

Régimes	CARENCE	CTRL
<b>Matière sèche, %</b>	87,3	87,3
<b>Composition chimique mesurée, %</b>		
Matières azotées totales	18,0	18,2
Matières grasses	2,4	2,4
<b>Valeurs nutritionnelles calculées</b>		
Energie nette, MJ/kg	9,95	9,96
Lysine digestible, %	1,17	1,15
Méthionine digestible, %	0,24	0,47
TSAA digestibles, % <sup>1</sup>	0,47	0,69

<sup>1</sup>Acides aminés soufrés totaux.

Pour cette expérience, 12 porcs sevrés (Piétrain x [Large White x Landrace]) ont été utilisés. A partir de 42 jours d'âge ( $9,8 \pm 1,3$  kg de poids vif), les jeunes porcs sont nourris en individuel pendant 10 jours avec l'un des deux régimes expérimentaux ( $n = 6$  par régime). Les quantités distribuées sont inférieures à la capacité d'ingestion moyenne (-25% environ) afin d'assurer une consommation alimentaire similaire pour les deux groupes. A la fin de l'essai, les porcs sont abattus 2 h après leur dernier repas (équivalent à un tiers de la ration journalière) à l'abattoir expérimental de l'INRA (Saint-Gilles, France). Un échantillon de sang de saignée est collecté sur EDTA, et le plasma est immédiatement préparé par centrifugation. Le foie, le tissu adipeux sous-cutané dorsal (TASCD) et le muscle long dorsal (LD ; dernière côte) sont immédiatement prélevés, congelés dans l'azote liquide, puis stockés à -80°C. Des parties du foie et du muscle LD sont également lyophilisées.

### 1.2. Analyses

Les métabolites sanguins sont mesurés en duplicats à l'aide de kits dédiés (BioMérieux, Craponne, France) et d'un analyseur automatique (Konelab 20i, Thermo Fisher, Courtaboeuf, France). Les lipides sont extraits à partir des échantillons tissulaires en utilisant le pouvoir solvant du CO<sub>2</sub> à l'état supercritique (Leco TFE2000 ; St-Joseph, MI, USA), puis ils sont quantifiés (en triplicats) relativement au poids de tissu sec puis frais. Les activités d'enzymes lipogéniques ou d'enzymes antioxydantes sont mesurées dans les tissus (en duplicats) par spectrophotométrie. L'expression de gènes cibles participant au métabolisme énergétique est mesurée dans le TASCD par PCR en temps réel, à l'aide d'amorces spécifiques déterminées à partir des séquences géniques porcines. Dans le plasma, l'activité anti-oxydante est estimée par trois tests colorimétriques différents en utilisant un lecteur de microplaques : le pouvoir antioxydant ferrique (FRAP), la capacité de piégeage des radicaux libres (DPPH), et la génération de radicaux cationiques (ABTS). Les données obtenues pour les groupes CTRL et CARENCE sont comparées par analyse de variance (SAS, SAS Institute Inc., version 9.4).

## 2. RESULTATS ET DISCUSSION

### 2.1. Performances de croissance

La consommation moyenne quotidienne d'aliment est similaire entre les deux groupes, mais le gain moyen quotidien est réduit de 22% pour les porcs carencés en Met comparativement aux porcs CTRL (295 g/j vs. 375 g/j ;  $P < 0,01$ ). Néanmoins, les différences de poids vif à l'issue des 10 jours d'alimentation expérimentale n'atteignent pas la signification statistique (12,3 kg pour le groupe CARENCE et 13,0 kg pour le groupe CTRL,  $P = 0,24$ ).

### 2.2. Nutriments plasmatiques

Les porcs ayant reçu l'aliment carencé en Met présentent des concentrations plasmatiques en glucose de 8% inférieures à celles mesurées chez les porcs CTRL (Tableau 2). A l'inverse, la concentration plasmatique en acides gras libres (AGL) est 2,4 fois plus élevée ( $P = 0,01$ ) chez les porcs du groupe CARENCE par rapport aux porcs du groupe CTRL. Les concentrations plasmatiques en triglycérides ne diffèrent pas entre groupes. Enfin, la concentration plasmatique en urée est 1,5 fois plus élevée ( $P = 0,01$ ) chez les porcs recevant le régime carencé en Met relativement aux porcs CTRL. Cette dernière observation suggère une élévation du catabolisme oxydatif chez les porcs du groupe CARENCE, liée à l'utilisation des AA à des fins énergétiques. Elle pourrait expliquer, au moins en partie, la plus faible teneur en protéines du gain de poids rapportée précédemment chez les porcs recevant un régime carencé en Met (Conde-Aguilera *et al.*, 2010).

**Tableau 2** – Concentrations en nutriments plasmatiques<sup>1</sup>

Régimes	CARENCE	CTRL	ETR	P
Glucose, g/L	1,24	1,35	0,08	0,05
Triglycérides, mg/L	337	359	67	0,61
Acides gras libres, $\mu\text{mol/L}$	104	43	32	0,01
Urée, mg/L	232	151	40	0,01

<sup>1</sup>Les données des deux groupes sont comparées par analyse de variance (P : effet régime). ETR : écart-type résiduel.

### 2.3. Métabolisme lipidique

Les teneurs en lipides du TASC et du muscle LD sont plus élevées (+11% en moyenne,  $P < 0,10$ ) pour les porcs recevant l'aliment carencé en Met que pour les porcs recevant un régime équilibré en AA soufrés (Tableau 3). La teneur en lipides hépatiques est similaire entre groupes.

Les activités d'enzymes clés de la lipogenèse sont supérieures (+54% pour la fatty acid synthase et +89% pour l'enzyme malique ;  $P < 0,10$ ) dans le TASC du groupe CARENCE comparativement au groupe CTRL (Tableau 3). De plus, les niveaux d'ARNm des gènes FASN et ME1 codant pour les enzymes lipogéniques sont plus élevés ( $P < 0,01$ ) dans le TASC des porcs du groupe CARENCE comparativement au groupe CTRL (Figure 1). L'ensemble de ces données est en accord avec l'idée selon laquelle les chaînes carbonées apportées par le régime CARENCE, mais non retenues sous forme de protéines, sont redirigées vers la néo-synthèse des lipides dans les tissus adipeux. Cette synthèse *de novo* des acides gras peut utiliser les AA céto-géniques dont la dégradation oxydative produit de l'acétyl-CoA, un des

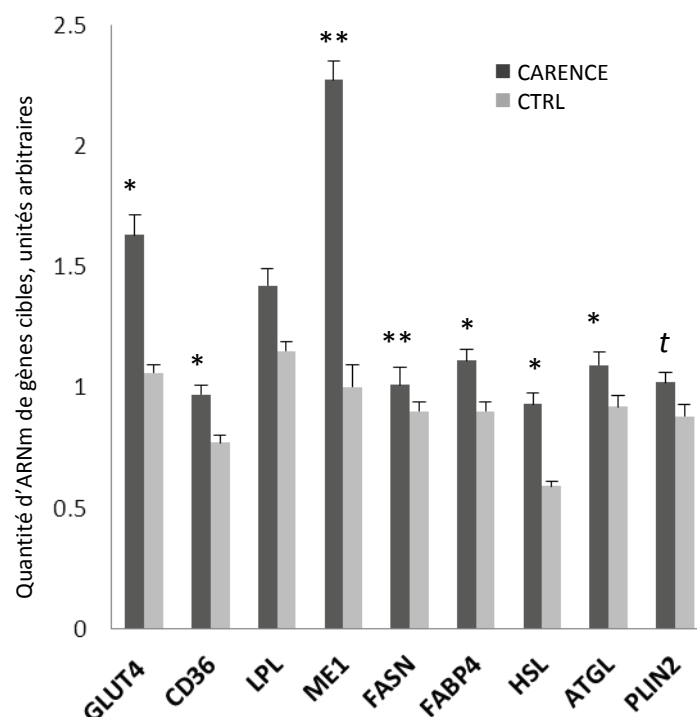
précurseurs de la lipogenèse. Elle peut également s'appuyer sur les AA glucoformateurs qui produisent du malate, un des substrats de l'enzyme malique fournissant le NADPH nécessaire à la synthèse des acides gras.

**Tableau 3** – Teneur en lipides et activité lipogénique tissulaire<sup>1</sup>

Régimes	CARENCE	CTRL	ETR	P
<b>Teneurs en lipides, %</b>				
TASC	66,2	59,5	4,6	0,04
Muscle LD	2,8	2,5	0,3	0,08
Foie	1,9	1,9	0,3	0,98
<b>Lipogenèse</b>				
TASC				
FASN	40,4	26,2	11	0,06
ME1	423	224	91	0,01
Muscle LD				
FASN	0,30	0,20	0,04	0,64
ME1	9,1	5,5	2,7	0,06

<sup>1</sup>Les données des deux groupes sont comparées par analyse de variance (P : effet régime). Les activités de la fatty acid synthase (FASN) et de l'enzyme malique (ME1) dans le tissu adipeux sous-cutané (TASC) et le muscle long dorsal (LD) sont exprimées en nmole/min et par mg de protéines. ETR : écart-type résiduel.

Dans notre étude, nous observons aussi une augmentation ( $P < 0,05$ ) de l'expression du gène GLUT4, le transporteur de glucose insulino-dépendant, dans le TASC des porcs recevant l'aliment carencé en Met (Figure 1) ; ceci pourrait favoriser un prélèvement plus rapide de glucose par les adipocytes des porcs du groupe CARENCE.



**Figure 1** – Expression de gènes cibles dans le tissu adipeux sous-cutané dorsal

\*\* $P < 0,01$  ; \* $P < 0,05$  ; t :  $0,05 < P < 0,10$

Paradoxalement, la distribution d'un aliment CARENCE aux jeunes porcs en croissance est également associée à une augmentation des niveaux d'expression de gènes clés de la lipolyse dans le TASCd comparativement aux animaux CTRL (Figure 1). Il s'agit du gène ATGL (adipose triglyceride lipase) et du gène HSL (hormone-sensitive lipase) qui codent pour deux enzymes responsables de la dégradation intracellulaire des triglycérides. Sont également concernés le gène PLIN2 codant pour la périlipine, une protéine structurale de la gouttelette lipidique adipocytaire régulant la mobilisation des triglycérides, et le gène FABP4 qui code pour la protéine de liaison des acides gras dans le cytosol adipocytaire. Ces observations au niveau transcriptionnel suggèrent une augmentation de la lipolyse dans les tissus adipeux des porcs recevant un aliment carencé en Met. Les AGL plasmatiques étant généralement produits par la lipolyse dans les tissus adipeux, cette hypothèse est cohérente avec l'observation d'une concentration plasmatique plus forte en AGL chez les porcs du groupe CARENCE comparativement aux porcs CTRL. La carence en Met induirait donc l'installation d'un turn-over plus rapide (augmentations de la lipogenèse ainsi que de la lipolyse) dans le TASCd des jeunes porcs en croissance. Chez les rongeurs, un cycle lipogenèse-lipolyse qualifié de futile a été également mis en évidence dans les tissus adipeux des animaux recevant un régime carencé en Met (Perrone *et al.*, 2012). Contrairement aux rongeurs, l'équilibre entre dépôt et catabolisme des lipides s'établit néanmoins en faveur de l'accrétion lipidique dans les tissus adipeux des porcs soumis à une carence alimentaire en Met. Dans le génome porcin, la protéine de découplage mitochondrial (dissipation de l'énergie issue de l'oxydation des substrats en chaleur) UCP1 est absente (Berg *et al.*, 2006). Or, une augmentation rapide et persistante de l'expression d'UCP1 a été démontrée dans les tissus adipeux brun et blanc de rats carencés en Met serait responsable d'une plus grande dépense énergétique chez les rats carencés en Met (Hasek *et al.*, 2010). L'absence d'UCP1 chez le porc pourrait donc expliquer, au moins en partie, les différences de réponses à la carence en Met entre porcs et rongeurs.

Dans le muscle LD, la plus forte teneur en lipides intramusculaires des porcs du groupe CARENCE est associée à l'augmentation de l'activité de l'enzyme malique (+65% ;  $P = 0,06$ ) comparativement aux porcs du groupe CTRL. Dans le muscle, l'enzyme malique est le principal régulateur de la lipogenèse (Mouro et Kouba, 1999). L'activation de la synthèse *de novo* des acides gras dans le muscle LD serait donc aussi un mécanisme susceptible de participer à l'accumulation de lipides intramusculaires chez les porcs nourris avec un aliment carencé en Met.

#### 2.4. Métabolisme antioxydant tissulaire

De nombreuses interrelations existent entre le métabolisme lipidique et le stress oxydant. En effet, les adipocytes produisent de nombreuses cytokines régulant l'homéostasie énergétique et leurs métabolismes génèrent des ROS. Ces derniers régulent à leur tour l'expression des gènes adipogéniques, permettant le développement adipocytaire. Les ROS peuvent cependant être rapidement éliminés par les systèmes de défenses enzymatiques anti-oxydantes. Enfin, le NADPH généré et utilisé par les enzymes lipogéniques pour la synthèse des lipides est aussi un cofacteur de l'enzyme pro-oxydante NADPH-oxydase (NOX4) produisant les ROS (Lee *et al.*, 2012).

Dans notre étude (Tableau 4), les activités enzymatiques de la superoxyde dismutase (SOD), de la catalase et de la glutathion-réductase (GSH-Rx) sont plus élevées dans le TASCd (+6% à +21% ;  $P < 0,05$ ) et le muscle (+13% à +42%,  $P < 0,10$ ) des porcs CARENCE. Cette activation des enzymes anti-oxydantes est donc parallèle à l'augmentation des lipides tissulaires pour les porcs recevant l'aliment carencé en Met. Dans le foie, l'activité de la SOD est également beaucoup plus élevée chez les porcs du groupe CARENCE (+116% ;  $P = 0,001$ ). A l'inverse du TASCd, l'activité hépatique de la GSH-Rx est réduite (-25% ;  $P = 0,03$ ) dans ce groupe comparativement aux porcs CTRL. Notre étude montre donc une modification importante des activités enzymatiques anti-oxydantes dans le TASCd, le muscle LD et le foie des jeunes porcs en croissance nourris avec un aliment carencé en Met. Cette observation est différente de la situation rapportée chez les rongeurs, où la diminution du stress oxydatif constatée lors d'une carence alimentaire en Met ne semble pas s'expliquer par des changements dans l'activité des enzymes anti-oxydantes au moins dans le foie ou les reins (Maddineni *et al.*, 2013). Dans notre cas, il n'est pas possible de déterminer si les modifications tissulaires observées sont directement liées au statut en Met circulante ou résultent plutôt de la variation d'accrétion lipidique dans les tissus adipeux et musculaires.

**Tableau 4 – Systèmes antioxydants enzymatiques<sup>1</sup>**

Régimes	CARENCE	CTRL	ETR	P
<b>TASCd</b>				
SOD	111,5	84,7	9,2	0,001
Catalase	183	162	12	0,02
GSH-Rx	23,4	19,3	2,1	0,01
<b>Muscle LD</b>				
SOD	111,21	73,8	28,9	0,06
Catalase	27,7	21,0	4,4	0,03
GSH-Rx	6,4	4,5	0,9	0,01
<b>Foie</b>				
SOD	429,7	199,7	46,1	0,001
Catalase	1283	1349	146	0,48
GSH-Rx	113	152	22	0,02

<sup>1</sup>Les données obtenues pour les deux groupes expérimentaux sont comparées par analyse de variance ( $P$  : effet régime). Les activités spécifiques de la catalase et de la glutathion réductase (GSH-Rx) dans le tissu adipeux sous-cutané (TASCd), le muscle long dorsal (LD) ou le foie sont exprimées en unités/min et par mg de protéines. L'activité de la superoxyde dismutase (SOD) est exprimée en unités/mL. ETR : écart-type résiduel.

En sus des systèmes enzymatiques, il existe également des systèmes non-enzymatiques de défense contre le stress oxydant. Le glutathion est l'antioxydant majeur non-enzymatique des cellules. Sous sa forme réduite (GSH), il est susceptible de capter les groupements chimiques oxydants ; il est alors oxydé (forme GSSG) par la réaction de prise en charge des peroxydes organiques. Le glutathion est une petite molécule faite de trois AA (cystéine, glycine et glutamate). Dans la mesure où la Met est le précurseur de la cystéine, une carence alimentaire en Met est donc susceptible, au moins en théorie, de moduler les quantités de glutathion et(ou) l'équilibre entre les formes réduite et oxydée du glutathion.

Dans notre étude (Tableau 5), nous constatons une légère augmentation de la quantité de glutathion oxydé (GSSG) dans le TASCd des porcs du groupe CARENCE (+20% ;  $P = 0,03$ ) mais sans variation du ratio entre formes oxydée et réduite comparativement aux porcs CTRL. La plus forte quantité de GSSG dans le TASCd pourrait être la conséquence d'un stress oxydatif plus important chez les porcs du groupe CARENCE. Ceci activerait en retour l'enzyme GSH-Rx pour régénérer le glutathion réduit.

**Tableau 5 – Teneurs en glutathion dans les tissus<sup>1</sup>**

Régimes	CARENCE	CTRL	ETR	P
<b>TASCd</b>				
Forme réduite	72,8	63,8	25,1	0,57
Forme oxydée	99,5	82,6	10,7	0,03
Ratio <sup>2</sup>	0,73	0,78	0,26	0,74
<b>Muscle LD</b>				
Forme réduite	1011	991	111	0,77
Forme oxydée	470	459	58	0,76
Ratio <sup>2</sup>	2,16	2,17	0,16	0,94
<b>Foie</b>				
Forme réduite	4556	8762	589	0,01
Forme oxydée	341	497	104	0,04
Ratio <sup>2</sup>	14,4	16,6	4,3	0,20

<sup>1</sup>Les données obtenues dans le tissu adipeux sous-cutané (TASCd), le muscle long dorsal (LD) ou le foie dans les deux groupes expérimentaux sont comparées par analyse de variance ( $P$  : effet régime). ETR : écart-type résiduel.

<sup>2</sup>Ratio entre les formes réduite (GSH) et oxydée (GSSG) du glutathion.

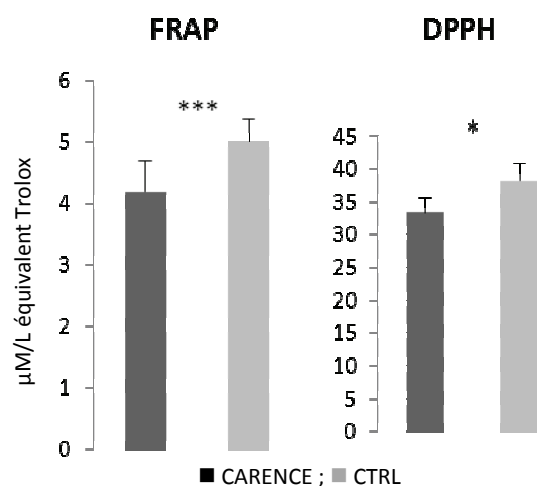
Dans le foie, les formes réduite et oxydée du glutathion sont présentes en quantités plus faibles ( $P < 0,05$ ) pour les porcs nourris avec un aliment carencé en Met relativement aux porcs nourris avec un aliment équilibré en AA soufrés. Ceci constitue une réponse globalement inverse à celle du TASCd. La réduction de la quantité hépatique de GSH suite à la distribution d'un aliment carencé en Met confirme les données disponibles chez le rat (Richie *et al.*, 2004 ; Maddineni *et al.*, 2013). Elle suggère notamment que la Met est limitante principalement pour la synthèse de GSH hépatique (Morand *et al.*, 1997).

Notre étude illustre ainsi la spécificité tissulaire de la réponse des systèmes antioxydants enzymatiques et non-enzymatiques à une carence alimentaire en Met. Il est donc important d'évaluer la réponse individuelle concertée des organes et des cellules sanguines, en mesurant aussi des indicateurs antioxydants dans le plasma.

## 2.5. Activité anti-oxydante plasmatique

L'activité anti-oxydante plasmatique a été estimée en utilisant trois tests complémentaires. Aucune variation entre groupes n'a été détectée par le test ABTS (données non présentées). En revanche, les résultats des tests FRAP (capacité de réduction du plasma des ions ferriques en ions ferreux) et DPPH (test anti-radicalaire) suggèrent un pouvoir antioxydant plasmatique plus faible chez les porcs du groupe CARENCE comparativement aux porcs du groupe CTRL (Figure 2).

Ces variations dans le plasma sont donc opposées aux variations d'activités anti-oxydantes tissulaires. La mesure directe des radicaux libres dans le plasma permettrait de clarifier la modulation de l'homéostasie redox suite à une carence alimentaire en Met.



**Figure 2 – Tests FRAP et DPPH**  
pour évaluer l'activité anti-oxydante du plasma entre les deux groupes expérimentaux

\*\*\* $P < 0,001$  ; \* $P < 0,05$

## CONCLUSION

Nos résultats montrent qu'une carence alimentaire en Met entraîne de nombreuses réponses physiologiques chez le jeune porc en croissance, se traduisant par des modifications tissulaires aux niveaux biochimiques et moléculaires. La carence en Met favorise le métabolisme des lipides (lipogenèse ainsi que lipolyse) et leur accumulation dans les tissus adipeux et musculaires. Des effets similaires seraient vraisemblablement observés avec des régimes carencés pour d'autres AA limitant la croissance. La carence en Met s'accompagne aussi d'une augmentation de l'activité anti-oxydante enzymatique dans le tissu adipeux et le muscle. Cet effet serait plus spécifique à la Met, du fait de son rôle essentiel dans les mécanismes de défense contre le stress oxydant ; il peut cependant être aussi lié à l'augmentation de la quantité de lipides dans les tissus adipeux. Les répercussions d'une carence alimentaire en Met sur l'homéostasie redox de l'individu restent à clarifier, puisque le pouvoir antioxydant plasmatique serait plus faible chez les porcs alimentés avec un régime carencé en Met. Les conséquences potentielles en termes d'immunité ou de santé des jeunes porcs seraient également intéressantes à déterminer.

## REMERCIEMENTS

Rosa Castellano a bénéficié de bourses d'études postdoctorales financées par la Région Bretagne (France) et l'Andalousie (Espagne). Cette étude a été partiellement financée par la société ADISSEO France.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Berg F., Gustafson U., Andersson L., 2006. The uncoupling protein 1 gene (UCP1) is disrupted in the pig lineage: a genetic explanation for poor thermoregulation in piglets. *PLoS Genet.*, 2:e129.
- Conde-Aguilera J.A., Barea R., Le Floc'h N., Lefaucheur L., van Milgen J., 2010. A sulfur amino acid deficiency changes the amino acid composition of body protein in piglets. *Animal*, 4, 1349-1358.
- Hasek B.E., Stewart L.K., Henagan T.M., Boudreau A., Lenard N.R., Black C., Shin J., Huypens P., Malloy V.L., Plaisance E.P., Krajcik R.A., Orentreich N., Gettys T.W., 2010. Dietary methionine restriction enhances metabolic flexibility and increases uncoupled respiration in both fed and fasted states. *Am. J. Physiol.*, 299, R728-739.
- Le Floc'h N., Gondret F., Matte J.J., Quesnel H., 2012. Towards amino acid recommendations for specific physiological and patho-physiological states in pigs. *Proc. Nutr. Soc.*, 71, 425-432.
- Lee O.H., Seo M.J., Choi H.S., Lee B.Y., 2012. Pycnogenol® inhibits lipid accumulation in 3T3-L1 adipocytes with the modulation of reactive oxygen species (ROS) production associated with antioxidant enzyme responses. *Phytother. Res.*, 26, 403-411.
- Maddineni S., Nichenametla S., Sinha R., Wilson R.P., Richie J.P. Jr., 2013. Methionine restriction affects oxidative stress and glutathione-related redox pathways in the rat. *Exp. Biol. Med. (Maywood)*, 238, 392-399.
- Morand C., Rios L., Moundras C., Besson C., Remesy C., Demigne C., 1997. Influence of methionine availability on glutathione synthesis and delivery by the liver. *J. Nutr. Biochem.*, 8, 246-255.
- Mourot J., Kouba M., 1999. Development of intra- and inter-muscular adipose tissue in growing Large White and Meishan pigs. *Reprod. Nutr. Dev.*, 39, 125-132.
- NRC, 1998. Nutrient requirements of swine, 10<sup>th</sup> revised edition. National Academy Press, Washington DC, USA. 210 p.
- Perrone C.E., Mattocks D.A., Plummer J.D., Chittur S.V., Mohney R., Vignola K., Orentreich D.S., Orentreich N., 2012. Genomic and metabolic responses to methionine-restricted and methionine-restricted, cysteine-supplemented diets in Fischer 344 rat inguinal adipose tissue, liver and quadriceps muscle. *J. Nutrigenet. Nutrigenomics*, 5, 132-157.
- Perrone C.E., Malloy V.L., Orentreich D.S., Orentreich N., 2013. Metabolic adaptations to methionine restriction that benefit health and lifespan in rodents. *Exp. Gerontol.*, 48, 654-660.
- Richie J.P. Jr, Komninou D., Leutzinger Y., Kleinman W., Orentreich N., Malloy V., Zimmerman J.A., 2004. Tissue glutathione and cysteine levels in methionine-restricted rats. *Nutrition*, 20, 800-805.