

## EFFETS DU TRAITEMENT PAR LA SOMATOTROPINE PORCINE (PST) SUR LE MÉTABOLISME OSSEUX CHEZ LE PORCELET

Isabelle DENIS(1), A. POINTILLART(1), E. ZERATH(2), M. BONNEAU(3)

(1) INRA - Laboratoire de Nutrition et Sécurité Alimentaire, 78352 Jouy-en-Josas Cédex.

(2) CERMA - 91228 Brétigny S/Orge.

(3) INRA - Station de Recherches Porcines, 35590 Saint Gilles.

Avec la collaboration de Colette COLIN, Claire LACROIX, J.C. BERNARDIN, D.BESNARD, F. GIOVANNI et J. PORTANGUEN

Chez le Porc, les données concernant le couplage entre la minéralisation et la croissance osseuses sont peu nombreuses et parfois contradictoires. C'est pourquoi divers critères (morphométriques, mécaniques, histologiques) en relation avec la formation et la croissance osseuses ont été étudiés chez des porcelets ayant reçu en continu de l'hormone de croissance (PST). Dix porcs LW pesant 12 kg de PV âgés de 7 semaines ont été alimentés, de façon appariée, avec un régime contenant 1,1% de Ca, 0,6% de P et 1000 UI de vit. D<sub>3</sub>/kg. La moitié d'entre eux a reçu pendant 7 semaines, 2 fois par jour, des injections S.C. de 40 µg de PST/kg de PV, l'autre moitié ayant reçu des injections placebo. A l'abattage, plusieurs os (tibias, péronés, métacarpes) ont été collectés pour déterminer divers critères, statiques (poids, cendres...), mécaniques et histologiques (en utilisant le double marquage à la tétracycline). Le traitement à la PST a induit une accélération de la croissance pondérale des porcs (P<0,10) s'accompagnant d'une augmentation du poids (P<0,01), de la longueur (P<0,01) et du diamètre (P<0,05) des tibias (et du poids des métacarpiens, P<0,01). La teneur en cendres, rapportée au volume ou à la matière sèche des tibias, suggérant un couplage adéquat entre minéralisation et croissance osseuses. L'étude histomorphométrique de la métaphyse distale des métacarpiens fait apparaître une augmentation des % du volume trabéculaire osseux (P<0,05) et des surfaces ostéoblastiques (P<0,10), et de la vitesse de minéralisation osseuse (P<0,10) chez les porcs traités. À l'abattage, calcémie et phosphatémie n'étaient pas modifiées, par contre, la concentration plasmatique de 1,25 dihydroxyvitamine D<sub>3</sub> (le métabolite actif de la vit. D sur l'os et l'intestin) était x1,5 chez les porcs traités. Ces résultats indiquent que le calcitriol (1,25(OH)<sub>2</sub> vit. D<sub>3</sub>) peut contribuer directement, au niveau osseux et/ou indirectement, via une stimulation de l'absorption intestinale de calcium, à l'adaptation de la minéralisation osseuse en réponse à l'accélération de la croissance osseuse consécutive au traitement par l'hormone de croissance.

### Effects of exogenous porcine somatotropin (PST) on bone metabolism in young pigs.

Bone is a target organ for growth hormone (or somatotropin) but informations on a possible coupling between bone mineralization and growth are scarce, specially in pigs. Ten growing LW pigs 7 week-old (12 kg BW) received, twice daily, S.C. injections of 40 µg porcine growth hormone (PST) or of its vehicle for 7 weeks. Animals were pair-fed with a diet containing 1.1% Ca, 0.6% P and 1000IU vit. D<sub>3</sub>/kg. At slaughter, tibia, fibula and metacarpal bones were collected to measure various bone characteristics including mechanic parameters, ash contents and histomorphometric data (using double tetracycline labeling). As expected PST treatment induced an acceleration of growth (P<0.10) with significantly greater tibial weight (P<0.01), length (P<0.01) and diameter (P<0.05) in PST-treated pigs than in controls at slaughter. Comparable values of apparent bone density and ash relative to bone volume or dry matter in both groups suggest adequate coupling between bone growth and mineralization in PST-treated pigs. Histomorphometric studies of distal metacarpal metaphysis indicated increased percentages of trabecular bone volume (P<0.05), osteoblastic surfaces (P<0.10) and accelerated mineralization rate (P<0.10) in PST-treated animals. At slaughter, calcemia and phosphatemia were not affected by PST-treatment, but circulating levels of 1,25(OH)<sub>2</sub> vit. D<sub>3</sub> were significantly (P<0.01) higher (x1.5) in treated pigs. These results suggest that calcitriol (1,25(OH)<sub>2</sub> vit. D<sub>3</sub>, the active vit. D metabolite on bone and intestine) may contribute directly at the bone level and/or indirectly via calcium intestinal absorption, to the adaptation of bone mineralization to accelerated bone growth during growth hormone treatment.

## INTRODUCTION

L'os est un organe cible pour l'hormone de croissance. Ainsi, chez le porc en croissance de type croisé (Duroc x York x Landrace, 36 kg de PV) le traitement continu pendant un mois par l'hormone de croissance porcine (PST) (100 µg/kg PV) accroît le poids des os (GOFF et al., 1990). De même, le traitement pendant 2 mois (50 µg/kg PV) de jeunes femelles de race Meishan (14 kg de PV au départ) augmente le poids et la résistance des os sans en changer la composition minérale (PRUNIER et al., 1990). Par contre, chez de jeunes truies Pietrain ou Croisé (Pietrain x Large-White x Meishan), le traitement, entre 30 et 100 kg de PV (6 mg/j), diminue la minéralisation osseuse et la résistance à la rupture des métatarsiens (BIDANEL et al., 1991) tandis que l'administration de GRF (Growth-Hormone-Releasing Factor, 75 µg/kg PV, 2 fois/jour) pendant 50 jours, tout en augmentant le niveau plasmatique de PST, n'a pas d'effet sur la minéralisation ni sur le moment de flexion des os de porcelets Large-White (13 kg de PV au départ) (POINTILLART et al., 1991). En fait, peu d'études s'intéressent aux effets propres de la PST sur le métabolisme osseux dans son ensemble chez le Porc. Aussi, nous avons réalisé un essai visant à mieux détailler les effets de l'hormone de croissance sur des paramètres osseux, à la fois statiques (poids, morphométrie macro- et microscopique, minéralisation, densité, résistance à la rupture) et dynamiques (vitesse de minéralisation) chez des jeunes porcelets Large-White.

## 1. MATÉRIEL ET MÉTHODES

### 1.1. Animaux et alimentation

Dix porcs Large-White âgés de 7 semaines et pesant 12 kg de poids moyen ont été répartis en 2 lots, l'un (PST) recevant 2 fois par jour, en injection sous-cutanée, 40 µg de PST/kg de PV et l'autre des injections placebo (TÉMOIN). L'essai a duré 7 semaines puis les animaux ont été abattus permettant divers prélèvements osseux et sanguins.

Les animaux ont reçu *semi-ad libitum*, de façon appariée pour les 2 lots, un aliment composé de 73% de maïs, de 24% de tourteau de soja et d'un CMV. Il contenait environ 3300 Kcal d'énergie digestible/kg, 17,3% de protéines (0,87% de lysine), 1,1% de Ca, 0,6% de P et 1000 UI de vitamine D<sub>3</sub>/kg.

### 1.2. Paramètres plasmatiques

A l'abattage, les prélèvements de sang ont permis de mesurer divers paramètres en relation avec le métabolisme phosphocalcique tels que la calcémie, la phosphatémie, l'activité phosphatasique alcaline et le 1,25 dihydroxy vit. D<sub>3</sub> (1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> ou calcitriol), métabolite de la vitamine D, actif sur les organes cibles, notamment l'intestin et l'os.

Au cours de l'essai, l'élévation de la teneur du plasma en PST a été vérifiée à plusieurs reprises, notamment par une étude cinétique avec des prélèvements séquentiels au cours des 7 heures suivant les injections chez 3 porcs témoins et 3 porcs traités, ainsi que tous les 10 jours environ sur l'ensemble des porcs, à l'aide de ponctions sanguines effectuées entre 35 et 65 mn après les injections. Sur ces derniers prélèvements, la réponse de la somatomédine C (ou Insulin-Like Growth Factor I, IGF-I) à l'injection de PST a également été déterminée.

La mesure de tous ces paramètres a déjà été décrite en détail

(POINTILLART et al., 1991).

### 1.3. Paramètres osseux

Les mesures classiques concernant les données morphométriques des os, poids, longueur, diamètre externe de la diaphyse, densité apparente (rapport poids d'os/volume osseux) ont été réalisées sur les tibias et, une partie de ces mesures (poids et densité) sur les métacarpiens III et IV.

La résistance à la rupture, estimée en termes de moment de flexion (test de flexion «3 points»), a été déterminée sur les tibias et le péroné gauches, les métacarpiens droits III et IV (interne et externe). La teneur en cendres et leur poids total ont été mesurés sur les tibias.

Les mesures histomorphométriques concernant l'histologie osseuse (coupes d'os non décalcifiées) ont été réalisées au niveau de l'os spongieux de la métaphyse distale du métacarpien externe gauche. Elles ont servi à déterminer les paramètres suivants : volume trabéculaire osseux (rapport espace occupé par du tissu osseux/surface totale examinée, % ; schématiquement rapport pleins/creux au niveau de l'os spongieux) ; épaisseur et surface du tissu ostéoïde (tissu sur lequel la minéralisation se réalise : «matrice osseuse»), épaisseur=épaisseur moyenne des liserés ostéoïdes, surface ostéoïde=étendue des surfaces, en % de la surface trabéculaire totale, présentant un liseré ostéoïde ; étendue des surfaces d'apposition ostéoblastique (% de la surface trabéculaire totale présentant des ostéoblastes morphologiquement actifs) ; la surface de résorption (fraction de la surface trabéculaire présentant une lacune de résorption dans sa phase active, c'est-à-dire contenant un ou plusieurs ostéoclastes).

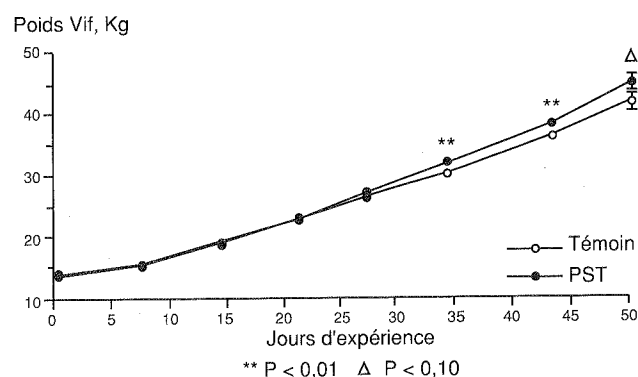
Le double marquage par la tétracycline permet l'étude dynamique de la minéralisation osseuse. La vitesse de calcification est calculée en divisant la distance moyenne entre les 2 marquages osseux fluorescents (dûs à la tétracycline, examen au microscope) par l'intervalle de temps séparant les deux administrations. Pour ce faire, tous les porcs ont reçu à 5 jours d'intervalle, la dernière injection la veille de l'abattage, 2 injections IM (500 mg/porc) de Terramycine.

Les définitions ci-dessus sont empruntées à MARIE (1989). Les méthodes de mesures ont déjà été décrites en détail (mesures classiques : POINTILLART et al., 1991 ; mesures histologiques : De VERNEJOU et al., 1990).

## 2. RÉSULTATS

### 2.1. performances (figure 1 et tableau 1)

figure 1 - Courbes de croissance



**Tableau 1 - Performances**

|                  | Témoin    | PST           |
|------------------|-----------|---------------|
| PV, abattage, kg | 41,7±0,6  | 44,0±1,2 (1)  |
| GMQ, kg/j        | 0,58±0,01 | 0,63±0,03 (1) |
| IC               | 2,42±0,05 | 2,29±0,06     |

(1)  $P < 0,10$  ; test t ; moyenne ± écart-type de la moyenne

Les courbes de croissance des porcs témoins et des traités se confondent jusqu'au 27<sup>e</sup> jour, ensuite la vitesse de croissance des porcs PST augmente : les différences de poids vif sont significatives au jour 34 et 43 ( $P < 0,01$ ), à l'abattage la différence est moins nette ( $P < 0,10$ ). Le gain moyen quotidien est plus élevé de 9% ( $P < 0,10$ ) chez les porcs traités, la différence des indices de consommation n'est pas significative

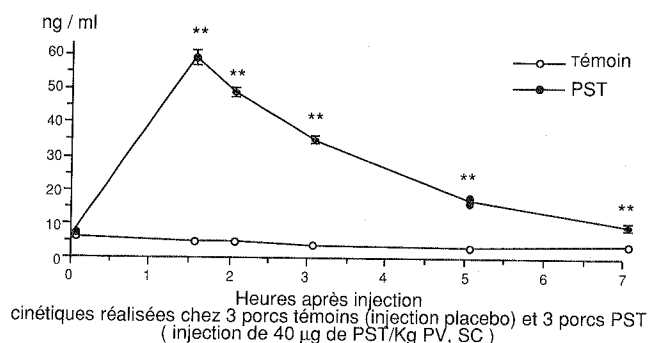
## 2.2. Paramètres plasmatiques

**Tableau 2 - Paramètres plasmatiques en relation avec le métabolisme minéral (valeurs à l'abattage)**

|                                                  | Témoin  | PST      |
|--------------------------------------------------|---------|----------|
| Calcémie, mg/100 ml                              | 9,9±0,2 | 10,2±0,2 |
| Phosphatémie, mg/100 ml                          | 7,9±1,0 | 7,7±0,7  |
| Phosphatase alcaline, UI/l (1)                   | 113±6   | 145±12*  |
| 1,25(OH) <sub>2</sub> vit.D <sub>3</sub> , pg/ml | 47±5    | 72±5**   |

(1) Moyenne des valeurs mesurées au cours des 4 prélèvements des 4 dernières semaines, test t apparié sur ces moyennes ( $P < 0,05$ ), l'écart entre les seules valeurs à l'abattage n'étant pas significatif  
\*\*  $P < 0,01$  test t

A l'abattage, les porcs traités par la PST ont présenté une calcémie et une phosphatémie comparables à celles des témoins ; par contre, la phosphatasémie (phosphatase alcaline) tend à être plus élevée et les valeurs circulantes de calcitriol (1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>) 1,5 fois supérieures à celles des témoins (tableau 2).

**Figure 2 - Evolution de la concentration plasmatique de PST**

Chez les traités, l'injection S.C. de 40 µg de PST/kg de PV permet en général (tableau 3) d'obtenir dans l'heure qui suit une multiplication par 5 du taux basal de cette hormone. L'étude cinétique montre que la concentration plasmatique de PST reste significativement élevée pendant 5-7 heures chez les porcs traités (figure 2). Le traitement par la PST entraîne une élévation moyenne d'environ 30% de la concentration plasmatique d'IGFI, réputé être le médiateur effectif de certains effets de l'hormone somatotrope (tableau 3).

**Tableau 3 - Concentrations plasmatiques de PST et d'IGFI 35-65 mn post-injection (Moyennes générales)**

|             | Témoin   | PST        |
|-------------|----------|------------|
| PST, ng/ml  | 10,3±1,2 | 54,3±2,4** |
| IGFI, ng/ml | 234±12   | 310±13**   |

Valeurs calculées d'après l'ensemble des prélèvements recueillis tous les 10 jours sur l'ensemble des porcs, abattage inclus.

\*\*  $P < 0,01$  test t apparié sur les moyennes

## 2.3. Paramètres osseux

### 2.3.1. Morphométrie et teneur en cendres (tableau 4)

**Tableau 4 - Morphométrie et teneurs en cendres du tibia et des métacarpiens**

|                                | Témoin   | PST      | Signification |
|--------------------------------|----------|----------|---------------|
| <b>Tibia</b>                   |          |          |               |
| Poids, g                       | 87±2     | 101±3    | 0,005         |
| Longueur, cm                   | 13,6±0,1 | 14,5±0,2 | 0,001         |
| Diamètre, mm                   | 15,3±0,4 | 16,8±0,2 | 0,005         |
| Densité, g/100 cm <sup>3</sup> | 111±2    | 114±2    | NS            |
| Cendres, os entier, g          | 18,5±0,4 | 21,2±0,8 | 0,02          |
| Cendres % MS <sup>(1)</sup>    | 44,8±1,2 | 44,7±1,1 | NS            |
| Cendres, g/100 cm <sup>3</sup> | 23,5±0,6 | 23,9±1,1 | NS            |
| <b>Métacarpiens</b>            |          |          |               |
| Poids, g                       |          |          |               |
| interne                        | 14,1±0,5 | 17,0±0,3 | 0,001         |
| externe                        | 13,1±0,5 | 15,5±0,2 | 0,005         |
| Densité, g/100 cm <sup>3</sup> |          |          |               |
| interne                        | 110±1,2  | 109±0,8  | NS            |
| externe                        | 108±0,6  | 109±1,2  | NS            |

(1) MS = matière sèche osseuse

Le poids, la longueur, le diamètre et le poids total des cendres des tibias sont augmentés ainsi que le poids des métacarpiens chez les porcs traités à la PST. La minéralisation des tibias, qu'elle soit exprimée en termes de cendres rapportées à la matière sèche ou au volume osseux ou en termes de densité apparente, est inchangée chez les porcs traités à la PST, il en est de même pour la densité apparente des métacarpiens.

### 2.3.2. Résistance à la rupture des os (tableau 5)

Quel que soit le type d'os, les moments de flexion sont comparables d'un lot à l'autre.

**Tableau 5** - Moments de flexion des os (Nxm)

|                     | Témoin   | PST      |
|---------------------|----------|----------|
| <b>Tibias</b>       | 24,3±1,4 | 26,6±2,1 |
| <b>Métacarpiens</b> |          |          |
| internes            | 4,1±0,3  | 3,9±0,2  |
| externes            | 3,5±0,2  | 3,4±0,2  |
| <b>Péronés</b>      | 2,3±0,1  | 2,5±0,1  |

Aucune différence significative

### 2.3.3. Résultats histologiques (tableau 6)

Les données se rapportant au remodelage de l'os spongieux indiquent un effet du traitement par la PST sur certains paramètres liés à la formation osseuse : la vitesse de minéralisation a tendance à augmenter et les surfaces d'apposition ostéoblastiques à être plus étendues. Il n'y a pas de différence entre les traités et les témoins pour ce qui concerne le tissu ostéoïde (épaisseur, surfaces) ou les surfaces de résorption. Le volume trabéculaire osseux est significativement augmenté chez les porcs traités à la PST.

**Tableau 6** - Mesures histomorphométriques sur les métaphyses distales des métacarpiens (os spongieux)

|                                     | Témoin   | PST      | Signification |
|-------------------------------------|----------|----------|---------------|
| Volume trabéculaire osseux, %       | 23,2±2,0 | 29,0±1,4 | 0,05          |
| Surface ostéoïde relative, %        | 43,6±3,2 | 49,2±5,6 | NS            |
| Épaisseur des liserés ostéoïdes, µm | 7,5±0,5  | 8,6±1,1  | NS            |
| Surfaces ostéoblastiques, %         | 44,4±4,6 | 57,4±4,9 | 0,10          |
| Surfaces de résorption, %           | 2,2±1,5  | 12,6±1,5 | NS            |
| Vitesse de minéralisation, µm/j     | 2,5±0,2  | 3,1±0,2  | 0,10          |

## 3. DISCUSSION

Chez les porcs traités à la PST, le poids moyen des tibias est accru de 16%, leur longueur de 7%, le diamètre de 10%, les cendres de 15%, le poids moyen des métacarpiens de 20%, soit un accroissement moyen de l'ensemble de ces critères, d'environ 15%, nettement supérieur à celui observé au niveau des poids vifs des porcs à l'abattage (+5,5%) ou du GMQ (+9%). Cela suggère un effet spécifique de l'hormone de croissance sur le tissu osseux lequel est confirmé également par les données histologiques, en accord avec une stimulation de la formation osseuse (augmentation des surfaces ostéoblastiques et de la vitesse de minéralisation) sans changement de la résorption. Il en résulte une augmentation du volume trabéculaire osseux (schématiquement, ceci signifie qu'il y a davantage de tissu osseux pour un même volume d'os) qui s'accorde assez bien avec l'augmentation du poids total de cendres des tibias. La tendance à l'augmentation de la phosphatasémie peut également être interprétée comme un signe biochimique d'une augmentation de la formation osseuse.

Le fait que les os des animaux traités présentent la même densité apparente et la même composition minérale, comme l'indiquent les % de cendres rapportés à la matière sèche ou au volume osseux, suggère que le couplage s'est produit entre la minéralisation et la croissance augmentée de ces os. Autrement dit, à des os plus gros et plus lourds correspondait une minéralisation accélérée (cf. l'étude histologique) entraînant une répartition des minéraux et une composition minérale du tissu osseux similaire à celles des témoins et qui se traduit par une densité identique, ce qui n'est pas toujours le cas chez des porcs traités à la PST (GOODBAND et al., 1989 ; BIDANEL et al., 1991).

Ce couplage entre minéralisation et croissance osseuses pourrait s'expliquer par une stimulation du métabolisme de la vitamine D par l'hormone de croissance qui se traduit par une augmentation importante du  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  circulant chez les porcs traités. Cette observation est en accord avec celle de GOFF et al. (1990) chez des porcs croisés traités par l'hormone de croissance avec des doses similaires. Ainsi, l'élévation du métabolite actif de la vit. D pourrait contribuer directement au niveau osseux (par exemple, en stimulant les ostéoblastes) ou indirectement, via une stimulation de l'absorption calcique, à l'adaptation de la minéralisation à l'accélération de la croissance osseuse sous l'impulsion de la PST.

En ce qui concerne les effets de la PST sur les paramètres liés à la croissance en longueur des os, les résultats sont moins clairs. Ainsi, on aurait pu s'attendre à une augmentation de la résistance à la rupture des os parallèle à l'augmentation du poids et des cendres totales d'os comme cela était le cas pour des jeunes truies Meishan (PRUNIER et al., 1990). Il est possible que des porcs Large-White ne réagissent pas de la même façon, l'importance du génotype étant particulièrement mise en évidence dans les travaux de BIDANEL et al. (1991). D'autre part, la vitesse de croissance en longueur des tibias n'augmentait que très légèrement chez les porcs traités ( $87\pm 3$  vs  $95\pm 5$  µm/jour, T vs PST,  $P>0,10$ ), ceci pourrait expliquer à la fois le relativement modeste effet en résultant sur la longueur des tibias (+7%), comparativement aux autres critères osseux, et l'absence d'effet sur le moment de flexion, test portant essentiellement sur la diaphyse où la longueur de l'os est susceptible d'intervenir. Sur ces questions d'ailleurs, les données ne concordent pas forcément : chez des porcs Yorkshire traités à la PST de 30 à 60 kg : le poids et la longueur

des fémurs sont inchangés malgré une épaisseur du cartilage de croissance légèrement augmentée (CHUNG et al., 1985), cette dernière n'avait pas significativement augmenté dans la présente expérience (métacarpiens :  $0,65 \pm 0,03$  vs  $0,71 \pm 0,02$  mm, T vs PST,  $P > 0,10$ ). Enfin, KORNEGAY et WOOD (1989) ont décrit des métacarpiens et des métatarsiens plus lourds et plus épais mais sans changement des paramètres mécaniques chez des porcs croisés traités de 40 à 95 kg.

## CONCLUSION

L'ensemble de nos résultats reflète clairement un effet positif

de l'administration de PST chez de jeunes porcs Large-White sur le métabolisme osseux, en particulier sur le remodelage spongieux et sur le couplage entre minéralisation et croissance osseuses.

Des travaux ultérieurs sont nécessaires pour préciser les interactions entre l'hormone de croissance et le métabolisme de la vit.D, notamment en regard de leurs conséquences éventuelles au niveau des recommandations d'apport en minéraux. En effet, dans cet essai nous avons pris soin de faire ingérer les mêmes quantités de Ca, P et vit.D aux porcs traités et aux témoins et l'on peut s'interroger sur ce qu'il adviendrait au niveau osseux s'il n'en était pas ainsi.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BIDANEL J.P., BONNEAU M., POINTILLART A., GRUAND J., MOUROT J., DEMADE I., 1991. J. Anim. Sci., 69, 3511-3522.
- CHUNG C.S., ETHERTON T.D., WIGGINS J.P., 1985. J. Anim. Sci., 60, 118-130.
- DE VERNEJOUL M.C., POINTILLART A., BOURDEAU A., MORIEUX C., MODROWSKI D., MIRAVET L., CAULIN F., 1990. Bone, 11, 29-33.
- GOFF J.P., CAPERNA T.J., STEELE N.C., 1990. Domestic Anim. Endocr., 7, 425-435.
- GOODBAND R.D., HINES R.H., NELSEN J.L., KROFF D.H., SCHRICKER B.R., HANCOCK J.D., THALER R.C., 1989. J. Anim. Sci., 67 (suppl. 1), 264.
- KORNEGAY E.T., WOOD C.M., 1989. J. Anim. Sci. 67 (suppl.2) 39.
- MARIE P.J., 1989 in "Le tissu osseux", TEOT L., VIDALL DOSSA J., Ed; VIGOT diff. (205 pp.) pp. 113-139.
- POINTILLART A., BONNEAU M. KANN G., 1991. J. Anim. Sci., 69, 1454-1460.
- PRUNIER A., POINTILLART A., BONNEAU M., 1990. Journées Rech. Porcine en France, 22, 77-82.