

Composition minérale, qualités mécaniques et histomorphométrie osseuses chez le porcelet carencé en calcium.

Esinam EKLOU-KALONJI (1), Colette COLIN (1), Herminie C. LACROIX (1), Isabelle DENIS (1), E. ZÉRATH (2), A. POINTILLART (1)

*(1) I.N.R.A. - L.N.S.A., Équipe nutrition minérale et métabolisme osseux - 78352 Jouy-en-Josas Cedex
(2) Institut de Médecine Aéronautique du Service de Santé des Armées, Centre d'Enseignement et de Recherche de Médecine Aéronautique, Département de Physiologie Analytique - BP 73, 91223 Brétigny-sur-Orge Cedex*

Composition minérale, qualités mécaniques et histomorphométrie osseuses chez le porcelet carencé en calcium.

Plusieurs paramètres (biochimiques, mécaniques et histologiques) relatifs au métabolisme osseux ont été étudiés chez des porcelets ayant reçu 3 régimes différant par leur seul apport de calcium: régimes témoin (0,9%), bas calcium (BCa; 0,4%) et sans calcium (OCa; 0,1%). L'essai a duré 32 jours. Seuls les porcs du lot OCa avaient une hypocalcémie déjà très marquée au 23^e jour. Les réactions hormonales des porcs étaient intenses et précoces (dès le 9^e jour pour la PTH). Au fur et à mesure de la carence, les concentrations plasmatiques de PTH et de 1.25 dihydroxyvitamine D₃ augmentaient, elles étaient d'autant plus élevées que le régime était plus carencé en calcium. Les teneurs en cendres totales, les qualités mécaniques (moment de flexion, rigidité, contrainte maximale et module d'élasticité), le volume trabéculaire osseux et la vitesse de minéralisation étaient inversement proportionnels à l'intensité de la carence. Les surfaces ostéoclastiques étaient augmentées chez tous les animaux carencés (BCa et OCa), les surfaces ostéoblastiques (et l'épaisseur ostéoïde) ne l'étaient que chez les plus carencés (OCa). L'ensemble des résultats indiquent à la fois une hyperrésorption et un défaut de minéralisation osseuses. Ces troubles expliquaient la chute très marquée du contenu minéral (jusqu'à -35%) et la réduction des qualités mécaniques et celle du volume trabéculaire osseux. Les qualités mécaniques et les teneurs en cendre des os constituaient d'excellents révélateurs des troubles induits par la carence calcique mais seules les mesures histologiques permettaient de savoir qu'ils résultaient et d'une stimulation de l'ostéolyse et d'un défaut de minéralisation. Ces résultats soulignent à la fois la très grande sensibilité du porc et ses capacités de réaction graduées face aux apports calciques insuffisants.

Bone mineral content, mechanical parameters and histomorphometry in pigs fed calcium-deficient diets.

We studied the ability of pigs to react to short-term dietary calcium deficiency using different bone and bone-related criteria (biochemistry, histomorphometry, ash contents, mechanical testing). A total of twenty-four growing pigs (9.5 kg BW) were divided into 3 groups and fed diets containing 0.9% (control), 0.4% (BCa) and 0.1% (OCa) calcium, respectively, for 32 days. Plasma calcium decreased with time in calcium-deficient pigs and on day 23, only pigs fed the 0.1%-calcium diet exhibited a pronounced hypocalcaemia. Plasma levels of PTH and 1.25 dihydroxyvitamin D₃ increased as plasma calcium declined in the calcium-deficient pigs. The stimulation increased with the severity of the calcium deficiency. The total ash contents, the bending moments (and all mechanic parameters), the trabecular bone volume and the mineral apposition rate decreased parallel to the severity of the deficiency. The osteoclastic surfaces were increased in the two Ca-deficient groups, while the osteoblastic surfaces increased in the OCa group only. These results suggest that a deficient bone mineralization was associated to an increased bone resorption. Since the plasmatic markers of bone formation and the osteoblastic surfaces largely increased in the OCa group, this deficient mineralization was rather due to the lack of calcium than the result of a decrease in osteoblastic activity. Such disturbances of bone metabolism led to a significant drop in the mineral content which accounts for the decrease in mechanical parameters and trabecular bone volume. Only histomorphometric parameters allowed us to know that these disturbances result from both increased resorption and lack of mineralization. These coherent results underline the graduated sensitivity of pigs to decreasing calcium supply.

INTRODUCTION

La vitesse de croissance rapide du porc et le niveau élevé des besoins en minéraux qu'elle entraîne en fait un modèle animal très intéressant pour l'étude des besoins calciques chez l'homme. En effet, alors que le besoin en calcium varie de 600 mg chez l'enfant à 900 mg par jour chez l'homme adulte (GUÉGUEN et POINTILLART, 1995), chez le porc, il varie de 7 g/jour pour un poids de 10 kg à 21 g/jour à 70 kg (GUÉGUEN et POINTILLART, 1986). Cette «avidité» pour le calcium fait du porc un modèle très sensible à la qualité et au niveau des apports calciques, ce qui nous a conduit à réaliser de nombreux essais à visée humaine sur la biodisponibilité du calcium (POINTILLART et GUÉGUEN, 1993 ; POINTILLART et al. 1995) et à explorer toute une série de mesures osseuses, en particulier celles de la résistance à la rupture. Ce paramètre a largement montré sa sensibilité aux apports minéraux chez le porc (LATIMIER et POINTILLART, 1993; LATIMIER et al. 1994). Dans le travail présenté ici, nous avons confronté plusieurs paramètres relatifs au métabolisme osseux, paramètres biochimiques (marqueurs du métabolisme osseux), mécaniques et histologiques, destinés à évaluer les répercussions au niveau de l'os d'une carence calcique. Cette carence a été de courte durée (32 jours) pour ne pas affecter l'état général des animaux et pouvoir ainsi relier directement les perturbations osseuses aux apports calciques (un retard de croissance aurait pu entraîner une diminution du poids des os par exemple). Les réactions hormonales à la carence en calcium, hyperparathyroïdisme et augmentation de la 1,25 dihydroxyvitamine D₃ plasmatique (métabolite actif de la vitamine D), et la déminéralisation osseuse qui en résulte sont bien connues (GUÉGUEN et POINTILLART, 1986), mais la séquence des événements et leur vitesse d'apparition chez le porc ne l'étant pas, nous avons, par des prises de sang régulières, étudié ces phénomènes. Le but de ce travail était à la fois de tester les facultés de réaction du jeune porc à des apports calciques insuffisants et de comparer la capacité des différents paramètres, liés directement ou indirectement au métabolisme osseux, à refléter l'intensité ou la précocité des effets de la carence calcique.

1. MATÉRIEL ET MÉTHODES

1.1. Animaux et alimentation

Vingt quatre porcs, femelles, croisés (LW-LR-P) âgés de

38 jours et pesant $9,5 \pm 0,4$ kg, ont été répartis en 3 lots de 8. Ils ont reçu l'un des 3 régimes suivants différant uniquement par leur contenu en calcium :

- régime «Témoin» (T), Ca : 0,9%
- régime «Bas calcium» (BCa), Ca : 0,4%
- régime «0 calcium» (OCa), Ca : 0,1%

Le régime basal (OCa) ne contenait que le calcium apporté par les matières premières de l'aliment (tableau 1). Les régimes T et BCa ont été obtenus en rajoutant du carbonate de calcium, respectivement 2,13% et 0,75%. Le seuil de 0,4% de calcium a été choisi en accord avec la littérature (POINTILLART, 1984).

Les animaux ont été nourris, de façon semi-ad libitum et apparée pendant 32 jours, puis abattus pour effectuer divers prélèvements osseux et sanguins.

1.2. Paramètres plasmatiques

Des ponctions sanguines effectuées aux jours 9, 16, 23 et à l'abattage (J32) ont permis de suivre les variations des divers paramètres plasmatiques liés au métabolisme osseux: la calcémie, la 1,25 dihydroxyvitamine D₃ (1,25 D₃ ou calcitriol), la parathormone (PTH), l'activité phosphatase alcaline (ALP) l'ostéocalcine (BGP), et le propeptide carboxy-terminal du procollagène de type I (PICP). Le PICP est libéré lors de la synthèse du collagène de type I, constituant principal de la matrice protéique osseuse ou ostéoïde. Ces 3 derniers paramètres (ALP, BGP, PICP) reflètent l'activité ostéoblastique (formation osseuse). L'hydroxyproline, qui résulte de la dégradation du collagène et donc reflète la résorption osseuse, a été également mesurée dans le plasma.

1.3. Paramètres osseux

1.3.1. Contenu minéral

Les métatarsiens droits internes ont été minéralisés (au four à 550°C) pour déterminer les paramètres suivants: cendres totales, cendres rapportées à la matière sèche (sur les deux types osseux: spongieux et cortical) ou au volume osseux.

1.3.2. Qualités mécaniques

Elles ont été estimées selon CRENSHAW et al. (1981) à par-

Tableau 1 - Principales matières premières entrant dans la composition des régimes (%) (1)

	Régime Témoin	Régime BCa	Régime OCa
Blé	66,23	68,04	69,05
Tourteau de soja 44	24,40	24,4	24,48
Huile de maïs	2,03	1,52	1,3
CMV 403*	5,3	5,3	5,3
CaCO ₃	2,13	0,75	-

(1) Ces aliments apportaient 3350Kcal/kg ; MAT : 18% ; P : 0,5%

* apportant 0,2% de L-Lysine

tir du «test de flexion-3 points» avec les paramètres suivants :

- la **résistance à la rupture**, force nécessaire à la rupture de l'os (F) à partir de laquelle est calculé le moment de flexion (MF), produit de la force par la distance (L) entre les 2 supports sur lesquels repose l'os, selon la formule: $MF = F \times L/4$.
- la **rigidité**, pente de la courbe force-déformation. C'est la rigidité **extrinsèque** de l'os.
- la **contrainte maximale** («stress») est un paramètre calculé à partir du MF et du moment d'inertie (MI) suivant la formule : $Stress = MF \times C/MI$

$$C = D - 4D/3 \pi$$

$MI = 0,0549 (BD^3 - bd^3)$ où B et b sont les diamètres, extérieur et intérieur, perpendiculaires à la direction de la force, D et d, les diamètres extérieur et intérieur, parallèles à celle-ci; la section des métatarses étant considérée comme un quadrant elliptique à l'endroit où la force s'applique (CRENSHAW et al., 1981). Ce paramètre exprime la résistance relativement à la section de l'os sur laquelle la force s'applique. Il inclut donc un paramètre de forme (moment d'inertie).

- la **capacité d'élongation** («strain») est une caractéristique physique de l'os calculée à partir de la formule : $12 \times df \times C / L^2$ où df est la déformation induite par F. Ce paramètre reflète la souplesse de l'os.
- le **module d'élasticité** ou de Young est la capacité de l'os à retourner à sa forme originale après avoir été déformé par une force. Il caractérise la rigidité **intrinsèque** d'un matériau et il reflète l'arrangement structural de l'os. Il est calculé à partir de la contrainte induite par une force de 50 N et de la déformation, selon la formule suivante: $E = \text{contrainte} \div \text{déformation}$.

1.3.3. Histomorphométrie

Les mesures statiques et dynamiques ont été réalisées sur un échantillon d'os spongieux (métaphyse distale de métacarpien gauche) afin de déterminer :

- le **volume trabéculaire osseux (VTO)**, pourcentage de tissu

osseux dans un volume donné. Schématiquement, il représente le rapport pleins/creux dans l'os.

- l'**épaisseur ostéoïde (EO)**, épaisseur moyenne des liserés ostéoïdes (matrice collagénique servant de support à la calcification, synthétisée par les ostéoblastes).
- les **surfaces ostéoblastiques (SOB)**, pourcentage des surfaces trabéculaires (ou travées d'os spongieux) présentant des ostéoblastes morphologiquement actifs.
- les surfaces **ostéoclastiques (SOC)**, pourcentage de surfaces trabéculaires présentant des lacunes de résorption occupées par un ou plusieurs ostéoclastes.
- la **vitesse de minéralisation (VM)**, calculée en divisant la distance moyenne entre les deux marquages fluorescents (résultant de l'accumulation de calcéine au niveau du front de minéralisation) par l'intervalle de temps séparant ces deux marquages. Ce double marquage a été réalisé en injectant (im) à 6 jours d'intervalle, 48 heures avant l'abattage, de la calcéine (3 ml d'une solution à 7,5%).

2. RÉSULTATS

2.1. Performances

Quel que soit le lot, les courbes de croissance étaient confondues pendant toute la durée de l'expérience. Le gain moyen quotidien (GMQ) et l'indice de consommation (IC) n'étaient pas différents d'un groupe à l'autre (tableau 2).

2.2. Paramètres plasmatiques

2.2.1. Cinétique des paramètres liés à la calcémie, PTH et $1,25 D_3$ (figure 1, p 272).

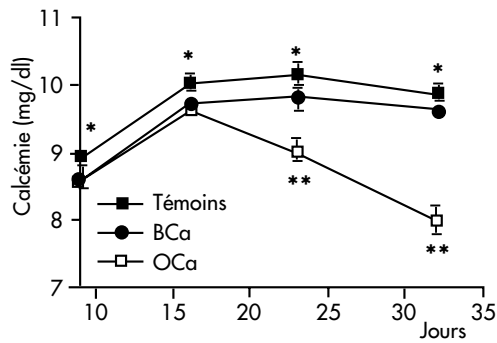
Dès le 9^e jour, la calcémie des porcs du lot témoin était significativement supérieure à celle des deux autres lots; à partir du 23^e jour, l'hypocalcémie du lot OCa était significativement marquée (-11% comparée au groupe Témoin); à l'abattage, la calcémie du lot OCa était environ 20% plus basse que celle du groupe témoin. Pour le groupe modérément carencé en calcium, BCa, bien que les calcémies aient été systématiquement inférieures, de J9 à l'abattage, à celles du lot témoin, la différence à l'abattage n'était pas significative.

Tableau 2 - Performances (1)

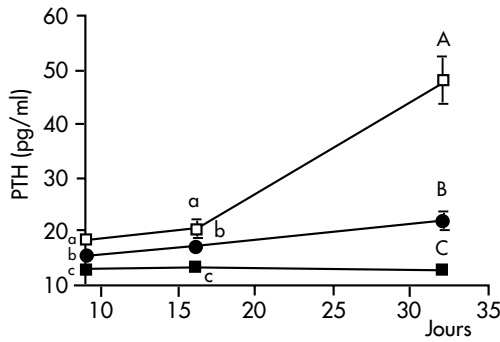
	Témoin	BCa	OCa
Poids vif abattage (kg)	22,6±0,6	22,9±0,4	22,4±0,4
GMQ (g/j)	418±10	427±7	412±8
IC	1,74±0,05	1,68±0,02	1,74±0,03

(1) Moyennes ± écart-type de la moyenne

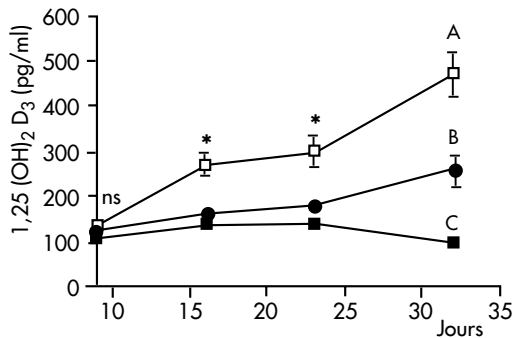
Figure 1 - Évolution de la calcémie et des concentrations plasmatiques de PTH et de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$



* $p < 0,05$: témoins > carencés (test t apparié)
** $p < 0,01$: OCa < BCa et T (Newman-Keuls)



$a \neq b \neq c$, $p < 0,05$; $A \neq B \neq C$, $p < 0,01$ (Newman-Keuls)



* $p < 0,01$: OCa > T et BCa, $A \neq B \neq C$ (Newman-Keuls)

La réaction parathyroïdienne était inversement proportionnelle à la teneur en calcium des régimes, et ce dès le 9ème jour. Ainsi, à J16, la concentration plasmatique de PTH était augmentée de 30% (BCa) à plus de 50% (OCa) et à l'abattage, elle était multipliée par 1,7 (BCa) et 3,7 (OCa) comparativement aux valeurs témoins correspondantes.

L'augmentation des concentrations circulantes de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ était significative dès J16 pour le lot OCa (273 ± 26 vs Témoins : 139 ± 11 pg/ml, $p < 0,001$) mais pas pour le lot modérément carencé (BCa: 159 ± 10 pg/ml; ns vs Témoins). A l'abattage, ces concentrations étaient extrêmement élevées chez les carencés, d'autant plus élevées que le régime était plus carencé : $\times 2,7$ pour BCa et $\times 5$ pour le lot le plus carencé, OCa.

Tableau 3 - Concentrations plasmatiques des marqueurs osseux à l'abattage

	Témoins	BCa	OCa
Formation			
ALP (UI/l)	80 ± 6^a	72 ± 7^a	121 ± 10^b
PICP (mg/l)*	$3,1 \pm 0,1^a$	$3,2 \pm 0,2^a$	$3,5 \pm 0,2^b$
BGP (ng/ml)	202 ± 11^A	314 ± 16^B	332 ± 6^B
Résorption			
OH-Proline (mg/dl)	$1,3 \pm 0,1^a$	$1,3 \pm 0,1^a$	$1,5 \pm 0,1^b$

$a \neq b$, $p < 0,05$; $A \neq B$, $p < 0,01$ (Newman-Keuls)

* : Valeurs moyennes pour les 3 derniers prélèvements (J16, J23, J32)

2.2.2. Concentrations plasmatiques des marqueurs du remodelage osseux, à l'abattage: ALP, PICP, BGP, OH-Proline (tableau 3).

À l'abattage, seule la phosphatasémie (ALP) du lot le plus carencé en calcium, OCa, était significativement augmentée (+50% environ), celle du lot BCa n'étant pas significativement différente de celle des Témoins. L'ostéocalcine augmentait, de façon similaire, dans les 2 lots carencés (+60%, $p < 0,01$). La concentration plasmatique de PICP du lot OCa était globalement plus élevée ($p < 0,05$) que celle des 2 autres lots. L'hydroxyproline plasmatique du lot OCa était significativement supérieure (+17%) à celle des 2 autres lots.

L'ensemble de ces variations suggère une stimulation à la fois des activités ostéoblastiques (ALP, PICP, BGP) et ostéoclastiques (PTH, hydroxyproline) chez les porcs les plus carencés en calcium.

2.3. Paramètres osseux

2.3.1. Contenu en cendres des os (tableau 4).

La carence en calcium, dans le court laps de temps qu'a duré l'essai, n'a pas modifié le poids frais des os. Par contre, elle a considérablement réduit leur contenu total en cendre, les teneurs en cendres, rapportée à la matière sèche (et quel que soit le type osseux dans le lot OCa: os entier, spongieux ou cortical) ou au volume osseux. La déminéralisation (en terme de contenu minéral) était d'autant plus importante que le régime était plus carencé en calcium, les écarts entre les 3 lots étant significatifs. Il est à noter que la carence moyenne (lot BCa) diminuait significativement la teneur en cendres de l'os spongieux (-12% vs lot témoin) mais pas celle de l'os cortical réputé plus résistant aux déséquilibres P-Ca.

2.3.2. Résistance à la rupture (tableau 5).

Quel que soit l'os (métatarsien droit interne ou externe), le

Tableau 4 - Métatarsiens droits internes : contenu en cendres (1)

	Poids frais* (g)	Cendres totales (g)	Cendres (g/100 cm ³)	Cendres % MS		
				Os spongieux	Os cortical	Os entier
Témoin	8,8±0,2	2,0±0,1 ^A	25±1 ^A	33±1 ^A	44±1 ^A	38±1 ^A
BCa	8,5±0,3	1,7±0,1 ^B	20±1 ^B	29±1 ^B	43±1 ^A	36±1 ^B
OCa	7,7±0,2	1,3±0,1 ^C	16±1 ^C	26±1 ^C	38±1 ^B	31±1 ^C

(1) A ≠ B ≠ C, p<0,01 (Newman-Keuls) * : poids total sans la moëlle

Tableau 5 - Qualités mécaniques des métatarsiens**5.a : Métatarsiens droits internes (MDI) et externes (MDE)**

	Moment de flexion (N.m)			Rigidité (N/mm)		
	MDI	MDE	Signification*	MDI	MDE	Signification*
Témoin ^A	2,4±0,2	2,1±0,2	effet traitement : p<0,001 effet os : ns	327±27	225±16	effet traitement : p<0,001 effet os : p<0,001
BCa ^B	1,6±0,1	1,4±0,1		201±14	139±10	
OCa ^C	1,1±0,1	1,0±0,1		110±9	84±7	

* Anova 2 facteurs (os, traitement), pas d'interaction significative os-traitement, A ≠ B ≠ C, p<0,01 (Newman-Keuls)

5.b : Métatarsiens droits externes

	Contrainte maximale (N/mm ²)	Module de Young (N/mm ²)	Capacité d'élongation
Témoin	47±4 ^A	282±25 ^a	29±2 ^A
BCa	31±4 ^B	193±26 ^b	40±4 ^B
OCa	26±3 ^B	169±27 ^b	59±5 ^C

a ≠ b, p<0,05 ; A ≠ B ≠ C, p<0,01 (Newman-Keuls)

moment de flexion était d'autant plus faible que l'apport de calcium l'était (en moyenne, -33% pour BCa et -55% pour OCa, comparativement aux témoins) (tableau 5a). Les variations de la rigidité allaient dans le même sens (-38% pour BCa et -65% pour OCa). Quel que soit le régime, la rigidité des métatarsiens internes était supérieure à celle des externes. La contrainte maximale et le module d'élasticité étaient significativement diminués chez les carencés en calcium (BCa vs OCa ns) (tableau 5b). La capacité d'élongation était d'autant plus élevée que le régime était appauvri en calcium.

En résumé, moins les os étaient minéralisés plus ils étaient souples (élongation augmentée) et moins ils étaient résistants (diminution du moment de flexion, de la rigidité, de la contrainte maximale et de l'élasticité).

2.4. Histomorphométrie (Tableau 6).

Le volume trabéculaire osseux était significativement (p<0,01) diminué de 21% pour le lot BCa et de 29% pour le lot OCa par rapport au témoin. L'épaisseur ostéoïde était

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

	Témoin	BCa	OCa
Volume trabéculaire osseux (VTO) %	28±2 ^A	22±1 ^B	20±1 ^B
Épaisseur ostéoïde (EO) μm	11±1 ^A	13±1 ^A	28±1 ^B
Surfaces ostéoclastiques (SOC) %	11±1 ^a	14±1 ^b	15±1 ^b
Surfaces ostéoblastiques (SOB) %	36±3 ^a	40±3 ^a	51±2 ^b
Vitesse de minéralisation (VM) μm/j	6,2±0,2 ^a	4,4±0,3 ^b	3,5±0,3 ^c

a ≠ b ≠ c, p<0,05 ; A ≠ B, p<0,01 (Newman-Keuls)

considérablement augmentée (x2,5) avec le régime le plus carencé (par défaut de minéralisation de l'ostéoïde). L'ostéoclasie était fortement stimulée chez tous les animaux carencés, comme en témoigne l'augmentation significative de leurs surfaces ostéoclastiques (+27% pour BCa et +38% pour OCa vs Témoins), alors que les surfaces ostéoblastiques n'étaient augmentées que chez les animaux fortement carencés (OCa). Ainsi, en dépit de l'absence d'hypocalcémie, la stimulation de la résorption osseuse (augmentation des SOC) était déjà présente chez les animaux modérément carencés en calcium (BCa); quant à la formation osseuse (augmentation des SOB), elle n'était stimulée que chez les animaux ayant présenté une hypocalcémie marquée. La vitesse de minéralisation osseuse était fortement diminuée chez les animaux carencés en calcium, d'autant plus que les animaux étaient plus carencés (-30% pour BCa et -43% pour OCa, comparativement aux témoins).

2.5. Corrélations

Les concentrations plasmatiques de PTH ($r = -0,91$; $p < 0,01$) et de $1,25 D_3$ ($r = -0,71$; $p < 0,01$) sont étroitement corrélées à la calcémie, suggérant que l'hypocalcémie a entraîné une hyperrésorption via la PTH et la $1,25 D_3$. Cette hyperrésorption est aussi confirmée par la corrélation entre l'hydroxyproline circulante et la PTH ($r = 0,64$; $p < 0,01$) et entre l'hydroxyproline et les surfaces ostéoclastiques ($r = 0,59$; $p < 0,01$). La PTH est également positivement corrélée aux surfaces ostéoclastiques ($r = 0,67$; $p < 0,01$) et négativement à la teneur en cendre rapportée à la matière sèche ($r = -0,76$; $p < 0,01$). L'ensemble de ces résultats indique que la baisse du contenu en minéraux des os est en partie le résultat d'une stimulation de la résorption chez les animaux carencés en calcium. Les marqueurs plasmatiques de la formation osseuse, l'ALP ($r = 0,56$; $p < 0,01$) d'une part, et le PICP ($r = 0,54$; $p < 0,01$) d'autre part, sont significativement corrélés aux surfaces ostéoblastiques. Il existe une corrélation positive entre le volume trabéculaire osseux et la teneur en cendre rapportée au volume ($r = 0,75$; $p < 0,01$) d'une part et le moment de flexion ($r = 0,78$; $p < 0,01$) d'autre part signifiant qu'à la raréfaction osseuse (baisse de VTO) s'ajoutait un défaut de minéralisation (baisse des cendres % MS). La corrélation étroite ($r = 0,85$; $p < 0,01$) entre la vitesse de minéralisation et la teneur en calcium des régimes souligne le rôle direct du manque de calcium dans le défaut de minéralisation. Tous les paramètres mécaniques (moment de flexion, rigidité, contrainte maximale, module d'élasticité et capacité d'élongation) corrélaient entre eux ainsi qu'avec les paramètres relatifs au contenu minéral des os. Par exemple, la corrélation entre la rigidité et la teneur en cendres de la matière sèche osseuse est de $0,79$ ($p < 0,01$).

3. DISCUSSION

La cohérence des résultats osseux, mesures directes ou indirectes, reflète la très grande sensibilité du porc aux insuffisances d'apport en calcium et ses capacités de réaction. Ainsi, malgré un apport en calcium 10 fois moindre, les porcs carencés n'ont pas présenté de troubles cliniques

(fractures, tétanie...), développant des réactions hormonales (PTH et $1,25 D_3$) précoces (dès le 9ème jour) et intenses leur permettant de puiser sur leur réservoir calcique osseux pour contrer l'hypocalcémie. Ces réactions hormonales étaient déjà suffisamment importantes chez les animaux modérément carencés, leur évitant l'hypocalcémie. La baisse de la «minéralisation» allait de -5% pour le paramètre le moins affecté (cendres % MS de l'os entier) à -33% pour le plus affecté (moment de flexion) pour le lot BCa et de -18% à -55% pour le lot OCa. La carence calcique affectait donc différemment les divers critères (VTO, moment de flexion, cendres totales, cendres % Volume, cendres % MS...) utilisés pour évaluer le contenu minéral. D'autre part, cette déminéralisation était d'autant plus marquée que la carence était plus importante. Cette expérience confirme la sensibilité supérieure du moment de flexion comme critère de mise en évidence des déséquilibres Ca/P d'origine alimentaire (POINTILLART et al., 1995; LATIMIER et POINTILLART, 1993; LATIMIER et al., 1994).

Au regard des critères tels que le contenu en cendres, le volume trabéculaire osseux (VTO) et le moment de flexion, la déminéralisation était patente mais seul l'examen des mesures histomorphométriques permettait de voir que cette déminéralisation résultait simultanément d'une stimulation de la résorption et d'une chute de la vitesse de minéralisation liées à l'insuffisance des apports calciques. L'ensemble des marqueurs de la formation osseuse (ALP, PICP et BGP) ainsi que l'étendue des surfaces ostéoblastiques (SOB) indiquaient une stimulation des activités ostéoblastiques, en particulier une synthèse accrue de collagène (augmentation du PICP et de l'épaisseur ostéoïde). Par conséquent, la baisse de la minéralisation, que reflète la chute du contenu en cendres de la matière sèche osseuse, n'était pas due à une inhibition de l'activité ostéoblastique. Les SOB étaient augmentées uniquement chez les animaux fortement carencés tandis que les surfaces ostéoclastiques (SOC) l'étaient aussi chez ceux modérément carencés; l'ostéoclasie donc était stimulée plus tôt que ne l'était l'activité ostéoformatrice. S'il est connu que la carence en calcium augmente le nombre d'ostéoclastes et stimule leur activité (via la PTH et la $1,25 D_3$), l'effet sur le recrutement des ostéoblastes est très controversé, soit augmentation, soit réduction (THOMPSON et al., 1975 - WRIGHT et Mac MILLAN, 1994). L'effet de la carence sur la vitesse de minéralisation osseuse (chute directement proportionnelle au degré de carence) d'une part et sur les 2 types de cellules osseuses d'autre part, suggère que doivent exister des mécanismes régulateurs complexes évitant au calcium libéré in situ par l'ostéolyse d'être immédiatement réutilisé pour une nouvelle calcification afin que le calcium soit libéré dans la circulation générale pour rétablir la calcémie.

Les variations de l'hydroxyproline induites par la carence calcique n'étaient pas très importantes, comparativement aux effets osseux directs même chez les animaux fortement carencés. Toutefois, la présence de corrélations étroites entre l'hydroxyproline et les SOC d'une part et les concentrations circulantes de PTH et l'hydroxyproline ($r = 0,86$; $p < 0,01$ pour les OCa) d'autre part, implique que l'augmentation de

cette dernière résultait de l'hyperrésorption osseuse observée. Les valeurs de la BGP, significativement supérieures chez les animaux carencés, n'étaient corrélées ni avec les autres paramètres reflétant l'activité ostéoblastique (ALP et PICP), ni avec les SOB. Son augmentation chez les animaux carencés résulterait davantage d'un remodelage osseux accru que d'une stimulation de l'activité ostéoblastique, ceci confirmant nos précédents résultats (POINTILLART et al., 1995). La synthèse collagénique (PICP) n'était pas significativement augmentée tant que l'hypocalcémie était modérée, suggérant que l'activité ostéoblastique n'est accrue que sous l'effet de réactions hormonales intenses. De même, l'hyperphosphatasémie n'était présente que chez les animaux fortement carencés, alors qu'un défaut de minéralisation (diminution des cendres, du moment de flexion et de la vitesse de minéralisation) était déjà apparent chez les animaux modérément carencés. Ainsi, seule la carence calcique sévère induisait une synthèse accrue de collagène et une hyperphosphatasémie (ALP), ces deux paramètres ne constituent donc pas des indicateurs fiables en cas de carence calcique modérée. Cependant, les corrélations élevées existant entre les SOB et le PICP d'une part et les SOB et l'ALP d'autre part, confirment que ces deux paramètres (ALP et PICP) sont

liés à la formation osseuse.

CONCLUSION

Cet essai démontre les très grandes capacités du porcelet à s'adapter et à réagir en un temps court à des apports calciques insuffisants. Mais la gravité des atteintes osseuses (notamment le moment de flexion des os plus de 2 fois plus faible) chez les porcs les plus carencés (aucune complémentation calcique: régime à 0,1% de Ca) laisse à penser qu'ils n'auraient sans doute pas résisté encore longtemps à un tel régime.

REMERCIEMENTS

Cette étude a bénéficié du soutien financier du Ministère chargé de la Recherche (programme «Aliment Demain»).

Nos remerciements vont à MM. J.C. BERNARDIN pour les soins experts prodigués aux animaux, et à H. ROY (APAE, INRA) pour la fabrication des aliments ainsi qu'à MM. C. ANDRÉ et S. RENAULT (IMASSA - CERMA) pour les techniques histologiques.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- CRENSHAW T.D., PEO E.R. Jr., LEWIS A.J., MOSER B.D., 1981. *Journal of Animal Science*, 53, 827 - 836
- GUÉGUEN L., POINTILLART A., 1986. In «Le porc et son élevage. Bases scientifiques et techniques». Maloine éd., Paris, pp 297 - 321.
- GUÉGUEN L., POINTILLART A., 1995. Les minéraux. Dossier scientifique de l'IFN ; IFN éd., Paris - N°7, 19 - 35.
- LATIMIER P., POINTILLART A., 1993. *Journées Rech. Porcine en France*, 25, 277 - 286.
- LATIMIER P., POINTILLART A., CORLOUËR A., LACROIX C., 1994. *Journées Rech. Porcine en France*, 26, 107 - 116.
- POINTILLART A. 1984. Pathologie du métabolisme minéral chez le porc. *Les Dossiers de l'Élevage*, 4, 29 - 48
- POINTILLART A., GUÉGUEN L., 1993. *Bone and Miner*, 21, 75 - 81.
- POINTILLART A., COLIN C., LACROIX H.C., GUEGUEN L., 1995. *Bone*, 17, 357 - 362.
- THOMPSON E. R., BAYLINK D. J., WERGEDAL J. E., 1975. *Endocrinology*, 97, 283 - 289.
- WRIGHT K.R., Mc MILLAN P.J., 1994. *Calcif. Tissue Int.*, 54, 62 - 68.