

50376
1983
219

N° d'ordre : 569

UNIVERSITÉ DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE

50376
1983
219

THÈSE DE DOCTORAT ES-SCIENCES
OPTION : SCIENCES NATURELLES

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES BESOINS QUALITATIFS
ET QUANTITATIFS EN ACIDES GRAS ESSENTIELS
EN FONCTION DU MODE D'ALIMENTATION
ET DU STADE DE DÉVELOPPEMENT

Études réalisées chez le mini-porc et le rat



André NOUVELOT

Soutenu à Lille, le 22 Janvier 1983

Membres du Jury : MM. les Professeurs J. MONTREUIL, } Président
J. JAILLARD, }
J. BEZARD, } Rapporteurs
J.-P. ROUSSEAU, }
MM. les Docteurs J.-M. BOURRE, }
G. SEZILLE, } Examineurs

A Mon Epouse,

A Mes Enfants,

A Mes Parents,

A Mes Beaux - Parents,

L'aboutissement de ce travail nous
donne l'occasion de témoigner notre respectueuse
gratitude aux Membres du Jury de Thèse, et notre
profonde reconnaissance à tous ceux qui nous en
ont permis la réalisation.

A Monsieur le Professeur MONTREUIL,

Vous me faites l'honneur de bien
vouloir présider cette thèse.

Veillez trouver, ici, le
témoignage de ma profonde
gratitude pour les encouragements
et les conseils bienveillants
que vous m'avez prodigués tout
au long de ce travail.

A Monsieur le Professeur JAILLARD,

Vous m'avez fait le grand honneur
de m'accepter au sein de votre
Laboratoire de Physiopathologie
des Lipides.

J'ai été très sensible à l'intérêt
que vous avez bien voulu porter à
mon travail et je vous prie de bien
vouloir trouver, ici, l'expression
de ma respectueuse gratitude.

A Monsieur le Professeur BEZARD,

J'ai pu bénéficier de votre enseignement
à l'Université des Sciences de Dijon.

Vous m'avez toujours accueilli avec
bienveillance et je suis très sensible
à l'honneur que vous me faites en
acceptant de juger aujourd'hui ce
travail.

Je vous prie de trouver, ici, la marque
de ma profonde estime et de ma vive
reconnaissance.

A Monsieur le Professeur ROUSSEAU,

Les nombreuses années de collaboration au sein de l'Institut Universitaire de Technologie m'ont permis d'apprécier vos immenses qualités humaines, votre dynamisme et votre passion pour la recherche.

Vous avez bien voulu accepter de juger ce travail. Sensible à cet honneur, veuillez croire en mon profond respect.

A Monsieur le Docteur BOURRE,

Vous avez, en grande partie, inspiré et guidé ce travail et l'intérêt que vous lui avez toujours manifesté m'a été d'un grand réconfort.

Votre aide morale et scientifique, mais aussi votre amitié m'ont très souvent aidé.

Je vous dois beaucoup et vous exprime ma plus profonde admiration.

A Monsieur le Docteur SEZILLE,

Vous m'avez guidé et conseillé tout au long de ce travail et vous m'avez généreusement fait bénéficier de votre grande compétence scientifique.

Votre extrême rigueur dans le travail mais aussi votre conception de la recherche ont toujours été, pour moi, un exemple.

Je vous prie de trouver, ici, la marque de ma profonde estime.

Nous sommes heureux de témoigner notre
profonde amitié à tous nos collègues de l'Equipe
de Recherche du Laboratoire de Physiopathologie
des Lipides.

Nous remercions, en particulier,
Madame MONSTERLEET qui a dactylographié cette thèse
avec beaucoup de gentillesse.

Ce travail a été effectué dans le cadre de l'Université
du Droit et de la Santé de Lille II :

- Laboratoire de Physiopathologie des Lipides
(Professeur J. JAILLARD), Faculté de Pharmacie.
- Laboratoire de la Clinique Médicale Générale A
(Professeur J. JAILLARD), Faculté de Médecine.

Avec la collaboration :

- du Laboratoire de Neurochimie, I.N.S.E.R.M. U.134,
(Docteur N. BAUMANN), Hôpital de la Salpêtrière,
Paris,
- et du Service d'Exploration Fonctionnelle de la
Vision (Docteur HACHE), Centre Hospitalier
Régional de Lille.

C O N T R A T S

- Programme de Recherches Coordonnées, I.N.S.E.R.M.;

Contrat n° 12 301 (1981)

"Aliments et nutrition",

Directeur du Programme : J. M. BOURRE

- Aide à la Recherche, Groupe Lipides et Nutrition,

. 1980

. 1981

4 1982

Ce travail a fait l'objet des mémoires, publications et communications suivants :

MEMOIRE

- Etude expérimentale chez le mini-porc et le rat du métabolisme des émulsions lipidiques artificielles injectées par voie intraveineuse.

Thèse de Doctorat 3ème Cycle, Lille 1975.

PUBLICATIONS

- Etude métabolique des trois émulsions lipidiques utilisées dans l'alimentation parentérale. I. Exploration "in vivo" chez le mini-porc.

NOUVELOT A., DEWAILLY P., SEZILLE G., JAILLARD J., FRUCHART J.C.

Nutrition and Metabolism, 1975, 19 : 307-317.

- Etude métabolique des trois émulsions lipidiques utilisées dans l'alimentation parentérale. II. Etude par perfusion de foie de rat isolé.

DEWAILLY P., TRUPIN N., NOUVELOT A., SEZILLE G., JAILLARD J., FRUCHART J.C.

Nutrition and Metabolism, 1975, 19 : 318-326.

- Changes in rat heart phospholipid composition after rapeseed oil feeding.

DEWAILLY P., SEZILLE G., NOUVELOT A., FRUCHART J.C., JAILLARD J.

Lipids, 1977, 12 : 301-306.

- Chromatographie monodimensionnelle des lipides polaires sur couche mince de gel de silice, en gradient discontinu d'humidité.

NOUVELOT A., SEZILLE G., DEWAILLY P., FRUCHART J.C.

Revue Française des Corps Gras, 1977, 7 : 365-366.

- Changes in fatty acid composition of cardiac mitochondrial phospholipids in rats fed rapeseed oil.

DEWAILLY P., NOUVELOT A., SEZILLE G., FRUCHART J.C., JAILLARD J.

Lipids, 1978, 13 : 301-304.

- Influence of dietary essential fatty acid level on fatty acid composition in peripheral nerve and muscle.

PATURNEAU-JOUAS M., DURAND G., NOUVELOT A., MASSON M., BOURRE J.M.

Reproduction, Nutrition, Développement, 1982, 22 : 193-200.

- Changes in the fatty acid patterns of brain phospholipids during development of rats fed with peanut or rapeseed oil, taking into account differences between milk and maternal food.

NOUVELOT A., BOURRE J.M., SEZILLE G., DEWAILLY P., JAILLARD J.

Annals of Nutrition and Metabolism, accepté pour publication

le 7 janvier 1982.

- Influence de la teneur en acide linoléique du régime maternel sur la composition en acides gras polyinsaturés des fractions subcellulaires au cours du développement cérébral chez le rat.

NOUVELOT A., DEDONDER-DECOOPMAN E., SEZILLE G., PATURNEAU-JOUAS M.,
DUMONT O., BOURRE J.M.

Annals of Nutrition and Metabolism, accepté pour publication
le 4 février 1982.

COMMUNICATIONS

- Effet d'une intoxication alcoolique chronique sur la teneur en lipides et la composition en acides gras des phospholipides du foie et du myocarde de rat. Etude au niveau du tissu entier et de fractions subcellulaires.

NOUVELOT A., DEWAILLY P., FRUCHART J.C., SEZILLE G., JAILLARD J.

Communication présentée à l'Association Française de
Nutrition, Nancy, Janvier 1979.

- Influence du taux d'acide linoléique dans le régime maternel et le lait sur la répartition des acides polyinsaturés dans les phospholipides cérébraux chez le rat au cours du développement.

NOUVELOT A., BOURRE J.M., SEZILLE G., DEWAILLY P., JAILLARD J.

Communication présentée aux Journées "Métabolisme" de
l'Association Française de Nutrition, Paris les 22 et
23 Janvier 1981.

- Modifications de la répartition des acides gras polyinsaturés dans le cerveau entier et les fractions subcellulaires chez le rat en fonction du taux d'acide linoléique du régime maternel.

NOUVELOT A., SEZILLE G., PATURNEAU-JOUAS M., DEWAILLY P., BOURRE J.M.

Communication présentée à la IVème Réunion de l'A.F.N.

"Ingestion, Digestion, Absorption", Montpellier les
27 et 28 Octobre 1981.

- Influence d'un gradient discontinu d'apport en acide linoléique dans le régime sur la répartition des acides gras polyinsaturés au niveau du cerveau et du contenu stomacal chez le rat.

NOUVELOT A., SEZILLE G., DEWAILLY P., JAILLARD J., BOURRE J.M.

Communication présentée à la réunion du G.E.R.L.I.,
Strasbourg les 12 et 13 Novembre 1981.

- Chemically defined media for fetal mouse cell cultures must be supplemented with essential fatty acids.

BOURRE J.M., FAIVRE A., NOUVELOT A., LOUDES C., PUYMERAT J., TIXIER-VIDAL A.

Communication présentée au "3rd International Meeting,
International Society for Developmental Neurosciences",
University of Patra, Greece, July 4-8, 1982.

- Etude comparative de l'influence d'un gradient discontinu d'apport en 18:3 n-3 dans le régime sur la répartition des AGPI des différents tissus chez le rat.

NOUVELOT A., DEDONDER-DECOOPMAN E., SEZILLE G., BOURRE J.M.

Communication présentée à la réunion "Digestion - Métabolisme"
de l'Association Française de Nutrition et de l'Association
de Physiologistes, Dijon du 15 au 17 Décembre 1982.

- Relations entre la nature des acides gras insaturés du régime et la répartition des AGPI dans les différentes classes de lipoprotéines chez le rat.

DEDONDER-DECOOPMAN E., NOUVELOT A., SEZILLE G., BOURRE J.M.

Communication présentée à la réunion "Digestion - Métabolisme"
de l'Association Française de Nutrition et de l'Association
de Physiologistes, Dijon du 15 au 17 Décembre 1982.

TABLE DES MATIERES

	Pages
<u>INTRODUCTION</u>	1
<u>PREMIERE PARTIE</u> : LES ACIDES GRAS ESSENTIELS. REVUE GENERALE	9
A - METABOLISME	10
I - Voies de synthèse des acides gras polyinsaturés	10
II - Les systèmes enzymatiques mis en jeu	18
III - Vitesses de conversion	27
IV - Régulation des conversions métaboliques des AGPI	33
1) Influence du substrat, de la nature et de la concentration des acides gras polyinsaturés	34
2) Influence de l'apport alimentaire	36
3) Influence de l'espèce animale	39
4) Influence de l'âge	42
V - Comparaison du métabolisme des AGPI entre le foie et le cerveau	44
VI - La $\Delta 6$ désaturase : modèle proposé par Brenner	47
B - FONCTIONS DES ACIDES GRAS ESSENTIELS	53
I - Membranes biologiques et acides gras polyinsaturés	53

II - Synthèse des prostaglandines	58
1) Classification des prostaglandines	58
2) Biosynthèse des prostaglandines	59
3) Activités biologiques des prostaglandines	65
a) Prostaglandines et reproduction	66
b) Pression sanguine et homéostasie	66
c) Prostaglandines et neurotransmission	67
III - Modifications de la répartition des AGPI pendant la gestation et la lactation	67
1) Rôle du placenta dans le transport des AGPI	67
2) Influence du taux et de la nature des acides gras du régime maternel	70
IV - Modifications de la répartition des acides gras essentiels au cours de la nutrition parentérale	71
C - LES SYNDROMES DE CARENCE EN A.G.E.	76
I - La croissance	76
II - Manifestations cutanées	79
III - Fonction de reproduction	80
IV - Autres effets	81
1) Métabolisme de base	81
2) Effets neurophysiologiques	81
CONCLUSION	82
BIBLIOGRAPHIE	86

<u>DEUXIEME PARTIE</u> : TRAVAUX PERSONNELS	102
INTRODUCTION	103
A - Etude métabolique de trois émulsions lipidiques utilisées dans l'alimentation parentérale. I. Exploration in vivo chez le mini-porc	106
B - Etude métabolique de trois émulsions lipidiques utilisées dans l'alimentation parentérale. II. Etude par perfusion de foie de rat isolé	125
C - Changes in the fatty acid patterns of brain phospholipids (EPG-CPG) during development from rats fed with peanut or rapeseed oil. Taking into account differences between milk and maternal food	142
D - Influence de la teneur en acide linoléique du régime maternel sur la composition en acides gras polyinsaturés des fractions subcellulaires au cours du développement cérébral chez le rat	161
E - Influence of dietary essential fatty acid level on fatty acid composition in peripheral nerve and muscle	181
F - Etude comparative de l'influence d'un gradient discontinu d'apport en acide linoléique dans le régime sur la répartition des acides gras polyinsaturés au niveau de différents tissus chez le rat	195

G - Relations entre la nature des acides gras polyinsaturés du régime et la répartition des acides gras dans les différentes classes de lipoprotéines chez le rat en voie de développement	219
CONCLUSIONS GENERALES	233
PERSPECTIVES	236
- Etudes métaboliques	236
- Alimentation parentérale	237
<u>APPENDICE TECHNIQUE</u>	239

INTRODUCTION

La source première de toute énergie, chez les êtres vivants, provient de différentes radiations solaires. L'assimilation chlorophyllienne est à la base de toute énergie potentielle que le règne végétal offre au monde animal. C'est à partir de ses constituants organiques que les animaux édifient à leur tour des tissus en utilisant l'énergie accumulée lors de la synthèse chlorophyllienne.

"Toutes les découvertes de la physique et de la chimie biologique conduisent à la conclusion qu'il n'existe pas pour les organismes d'autres sources d'énergie et qu'il y a équivalence entre la somme des énergies de modes divers (chaleur, travail musculaire...) dépensées par l'être vivant pendant un temps donné, et la quantité d'énergie correspondant aux métamorphoses chimiques qui se sont accomplies dans les tissus de l'être pendant le même temps" (LAMBLING).

La notion de l'énergie chimique de la chaleur animale remonte à l'expérience classique de LAVOISIER et LAPLACE. "Un cobaye introduit dans un calorimètre à glace fait fondre, par la chaleur qu'il dégage, un certain poids de glace pendant un temps donné ; il exhale pendant le même temps une quantité de CO_2 correspondant à un poids de carbone dont la combustion dans le calorimètre ferait fondre un poids de glace égal à celui qui a été effectivement mesuré".

Si la doctrine de la combustion respiratoire s'est révélée erronée, le principe de l'origine chimique de l'énergie chez les êtres vivants, défini par LAVOISIER, demeure cependant intact.

Le principe de l'équivalence calorifique des transformations chimiques a conduit BERTHELOT à énoncer le théorème suivant : *"La chaleur développée par un être vivant qui ne reçoit le concours d'aucune énergie étrangère à celle de ses aliments et qui n'effectue aucun travail extérieur pendant la durée d'une période à la fin de laquelle l'être se retrouve identique à ce qu'il était au commencement, est égale à la différence entre la chaleur de combustion de ses aliments et celle de ses excréments"*.

Cette chaleur de combustion, mesurée à l'aide de la bombe calorimétrique, montre que les lipides sont les plus énergétiques puisqu'ils libèrent 9,5 kcal par gramme (39,7 kJ), alors que les glucides et les protides ne libèrent respectivement que 4,2 kcal (17,5 kJ) et 5,8 kcal (24,2 kJ) par gramme.

Il faut cependant remarquer que ces mesures calorimétriques ne tiennent pas compte de la quantité réelle de nutriments utilisables par l'organisme. Il convient donc, en première correction, de faire intervenir le coefficient d'utilisation digestive (C.U.D.) pour chacun des trois types de nutriments. Le C.U.D. des lipides étant de l'ordre de 95 %, leur valeur calorique réelle pourra donc être estimée à 9 kcal/g (38 kJ/g).

La ration alimentaire devra apporter à l'organisme, non seulement l'énergie nécessaire à ses diverses activités, mais aussi les matériaux nécessaires d'une part, à compenser les pertes de substances catabolisées et éliminées au cours du métabolisme intermédiaire et d'autre part,

à l'édification de cellules nouvelles. Les protides jouent à cet égard un rôle de premier plan ; cela explique qu'ils ont été pendant longtemps désignés sous le nom d'aliments plastiques, les glucides et les lipides constituant les aliments énergétiques. Cette distinction est d'ailleurs assez théorique, car les protides peuvent parfaitement couvrir une partie des besoins énergétiques et les glucides et les lipides être utilisés pour la réparation ou l'élaboration de tissus. Toutefois, l'expérience montre que, si les uns et les autres peuvent se remplacer dans une très large mesure, la suppression complète de l'un des nutriments n'est pas compatible avec le fonctionnement normal de l'organisme. Actuellement, il est classiquement admis que, dans un régime équilibré de type occidental, les protéines doivent constituer 12 à 15 % de l'apport énergétique total, les glucides 50 à 55 % et les lipides 30 à 35 %. Or, pour un grand nombre de Français, la part des lipides est de 42 % ou même davantage. Au cours des dix dernières années, la consommation de lipides a augmenté d'environ 1,1 % par an. Il convient également de noter que cette augmentation porte surtout sur les lipides riches en acides gras saturés et ce, au détriment des glucides et surtout des glucides d'adsorption lente alors qu'inversement, la quantité de glucides d'adsorption rapide s'accroît.

L'apport global de lipides est certes un facteur déterminant dans l'équilibre de la ration alimentaire mais ne doit pas être seul pris en compte. La nature des acides gras présents dans les triglycérides des corps gras de l'alimentation doit également retenir l'attention. En 1929, les travaux de BURR et BURR (1) ont pour la première fois démontré que

d'une part l'absence totale de lipides dans l'alimentation de rat entraînait chez ces animaux un arrêt de la croissance, l'apparition de lésions cutanées (desquamation, chute des poils, épaissement et nécrose de la queue) ainsi que des troubles des fonctions de reproduction et que d'autre part certains acides gras avaient un effet préventif et curatif sur ces lésions (2). Ces acides gras dits "essentiels" sont représentés par des acides gras polyinsaturés tels l'acide linoléique [Δ 9.12 (18:2)] et l'acide α -linoléique [Δ 9.12.15 (18:3)].

L'activité de ces deux acides gras essentiels, considérés pendant très longtemps comme des vitamines liposolubles (vitamines F), est très différente tout au moins en ce qui concerne leur pouvoir curatif d'une carence induite expérimentalement chez l'animal.

Suivant ce critère, le Δ 9.12.15. (18:3) apparaît dix fois moins efficace que le Δ 9.12 (18:2) ; de plus, ce dernier est le précurseur du Δ 5.8.11.14 (20:4) qui a la même activité que le Δ 9.12 (18:2) en tant qu'acide gras essentiel. Compte tenu de ces activités différentes, les nutritionnistes ont donc surtout focalisé leur attention sur le Δ 9.12 (18:2) lors de la détermination des standards nutritionnels nécessaires à la couverture des besoins. Il existe d'ailleurs un écart très important entre les quantités nécessaires pour éviter l'apparition de signes de carence et les quantités jugées pleinement satisfaisantes. L'apport en Δ 9.12 (18:2) doit être au minimum de 1 % de l'apport énergétique total, ce qui correspond chez l'adulte à environ 3 g par jour. Les quantités

jugées pleinement satisfaisantes sont, par contre, beaucoup plus élevées : 15 à 25 g par jour pour l'homme adulte, ce qui représente 5 à 8 % de l'apport énergétique global. Cet apport conseillé s'inscrit dans un objectif plus large qui vise à diminuer la place actuellement trop importante des lipides riches en acides gras saturés dans la ration alimentaire journalière en leur substituant des lipides à teneur élevée en acides gras polyinsaturés essentiels.

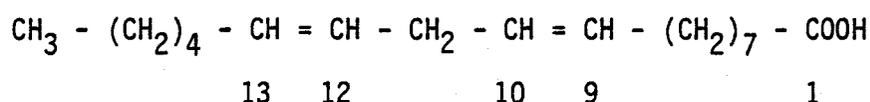
La plupart des recherches centrées sur les acides gras essentiels ont été axées sur l'étude des acides gras en n-6, les travaux concernant le rôle nutritionnel du Δ 9.12.15 (18:3) et ses homologues supérieurs sont encore très fragmentaires. Cet acide gras est certes essentiel puisqu'il ne peut pas être synthétisé par les mammifères ; mais est-il réellement indispensable au maintien de l'organisme en bonne santé ? La réponse est encore actuellement difficile à donner. Cette incertitude est liée à deux types d'observations : d'une part, au fait que le Δ 9.12.15 (18:3) peut restaurer une croissance normale chez le rat dont le régime est carencé en acides gras essentiels sans toutefois faire disparaître les autres symptômes de carence, tels les dermatites et l'infertilité et, d'autre part à l'effet inhibiteur exercé par cet acide gras sur les conversions de la famille des acides gras en n-6 (3). (Cette interdépendance métabolique sera développée ultérieurement). La plupart des travaux concernant le métabolisme des acides gras essentiels (A.G.E.) ont été réalisés au niveau hépatique. or, si à ce niveau "l'indispensabilité" de l'acide α -linoléique est très controversée, il apparaît actuellement que cet acide gras joue un rôle important

au cours du développement cérébral. Quel est l'apport minimal en période pré- et post-natale pour le jeune animal et pour la mère ? Existe-t-il un seuil supérieur qu'il est conseillé de ne pas franchir ? Quels sont les critères physiologiques permettant d'évaluer ce besoin optimal ? Quel est le rôle joué par le métabolisme intrahépatique intermédiaire dans l'apport d'acides gras polyinsaturés au cerveau ? Les étapes clés de la régulation du métabolisme des A.G.E. sont-elles les mêmes au niveau du tissu cérébral et du tissu hépatique ?

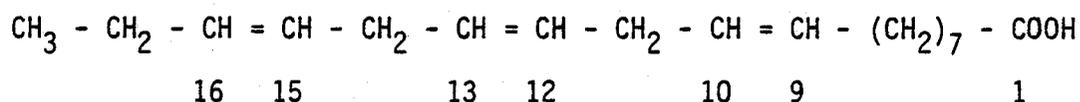
Nous n'avons pas la prétention, dans ce travail, d'apporter une réponse définitive à chacune de ces questions, mais simplement de formuler des hypothèses à la lumière des résultats présentés.

Remarque quant à la nomenclature

Δ 9.12 (18:2) : Acide gras à 18 atomes de carbone et 2 doubles liaisons.
La première étant localisée sur le neuvième carbone à partir du groupement carboxyle.



Δ 9.12.15 (18:3) : Acide gras à 18 atomes de carbone et 3 doubles liaisons.
La première étant localisée sur le neuvième carbone à partir du groupement carboxyle.



Cette nomenclature ne permet pas de définir la famille d'appartenance (n-x), toutefois celle-ci s'obtient aisément en retranchant du nombre de carbones le numéro de la dernière double liaison.

Exemples :

- Acide oléique, 18:1 n-9 ; Δ9 (18:1) → 18 - 9 = 9 → famille n-9
- Acide linoléique, 18:2 n-6 ; Δ9.12 (18:2) → 18 - 12 = 6 → famille n-6
- Acide α-linolénique, 18:3 n-3 ; Δ9.12.15(18:3) → 18 - 15 = 3 → famille n-3

La nomenclature (Δ n) sera adoptée pour la désignation de tous les acides gras.

PREMIERE PARTIE

LES ACIDES GRAS ESSENTIELS

REVUE GENERALE

A - METABOLISME

Les voies cataboliques des acides gras polyinsaturés sont identiques à celles des acides gras saturés. Comparant les vitesses d'oxydation de trois acides gras marqués au ^{14}C sur le groupement carboxyle : stéarique (18:0), oléique [Δ 9 (18:1)] et linoléique [Δ 9.12 (18:2)], Mead et coll. (4) montrent que chez la souris, au bout de six heures, 20 à 30 % des acides gras ingérés ont été oxydés. L'acide stéarique et l'acide linoléique étant d'ailleurs plus rapidement dégradés que l'acide oléique chez la souris soumise à un régime lipidoprive. Il n'y a pas de discrimination entre acides gras saturés et polyinsaturés au niveau des systèmes enzymatiques mitochondriaux d'oxydation des acides gras. Par contre, les acides gras polyinsaturés s'incorporent plus rapidement dans les phospholipides au sein de structures lipoprotéiques. De ce fait, ils seront plus difficilement mobilisables à des fins énergétiques.

I - VOIES DE SYNTHÈSE DES ACIDES GRAS POLYINSATURÉS

Lymen a mis en évidence dans les levures une particule d'environ 200 - 250 Å de diamètre, capable de synthétiser l'acide palmitique. Cette particule est un complexe enzymatique comprenant 7 enzymes. Un complexe de même type a été préparé à partir de foie de pigeon. Ce complexe doit être intact pour être actif. Ces particules possèdent un groupement thiol central

qui fixe le malonyl et un groupement thiol périphérique qui fixe l'acétyl. Les réactions de combinaison et de réduction prennent place sur la particule aboutissant à un acyl gras à 4 carbones. Ce radical butyryl est transféré sur le groupement thiol périphérique, une nouvelle molécule de malonyl se fixe alors sur le groupement thiol central et la réaction continue avec addition de 2 carbones. La chaîne se poursuit jusqu'à l'obtention de l'acide palmitique (16:0) qui est libéré de la particule.

Que ce soit dans le règne animal ou le règne végétal, le palmitate peut subir une élongation pour donner le stéarate (18:0) qui lui-même, sous l'action d'une $\Delta 9$ désaturase, conduit à l'oléate $\Delta 9$ (18:1). Il peut également être désaturé en $\Delta 9$ pour donner le palmitoléate $\Delta 9$ (16:1).

Les plantes ont la possibilité de désaturer les acides gras en 9-10, 12-13, 15-16, d'où la synthèse du linoléate $\Delta 9,12$ (18:2) et du linoléate $\Delta 9,12,15$ (18:3) à partir d'oléate (Figure 1). De très rares végétaux, comme les oenothères, ont la double potentialité de désaturer les acides gras de part et d'autre de la position $\Delta 9$.

La $\Delta 9$ est la seule désaturase commune aux deux règnes (Figure 1bis). Chez les animaux, les désaturations n'existent que du côté carboxyle d'où l'impossibilité de synthèse du linoléate et du linoléate qui sont des acides gras essentiels pour ce règne.

PLANTES

ANIMAUX

SERIE $\left[\begin{matrix} \omega \\ \text{ou} \\ n- \end{matrix} \right.$

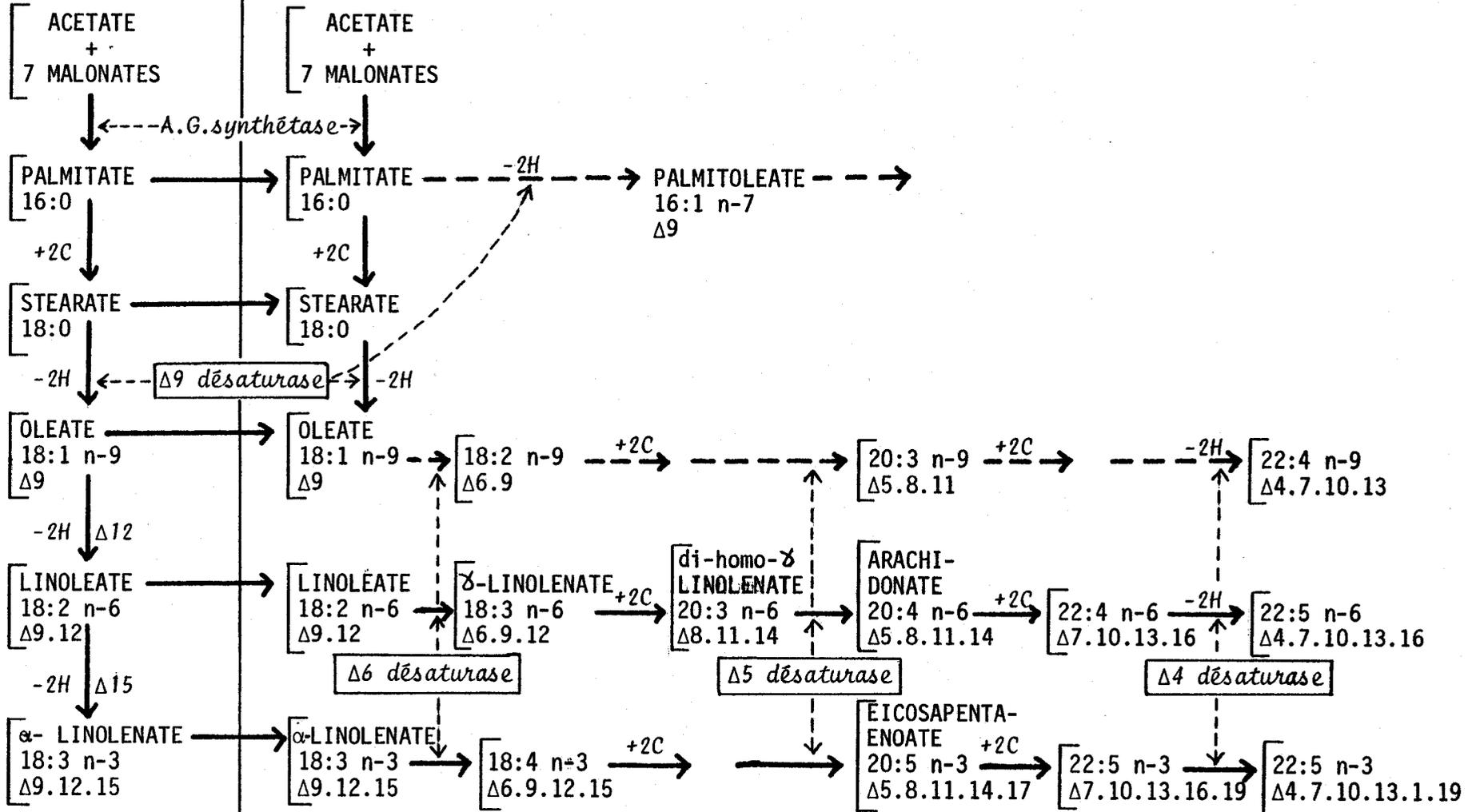


Figure 1

VOIES DE BIOSYNTHESE DES ACIDES GRAS



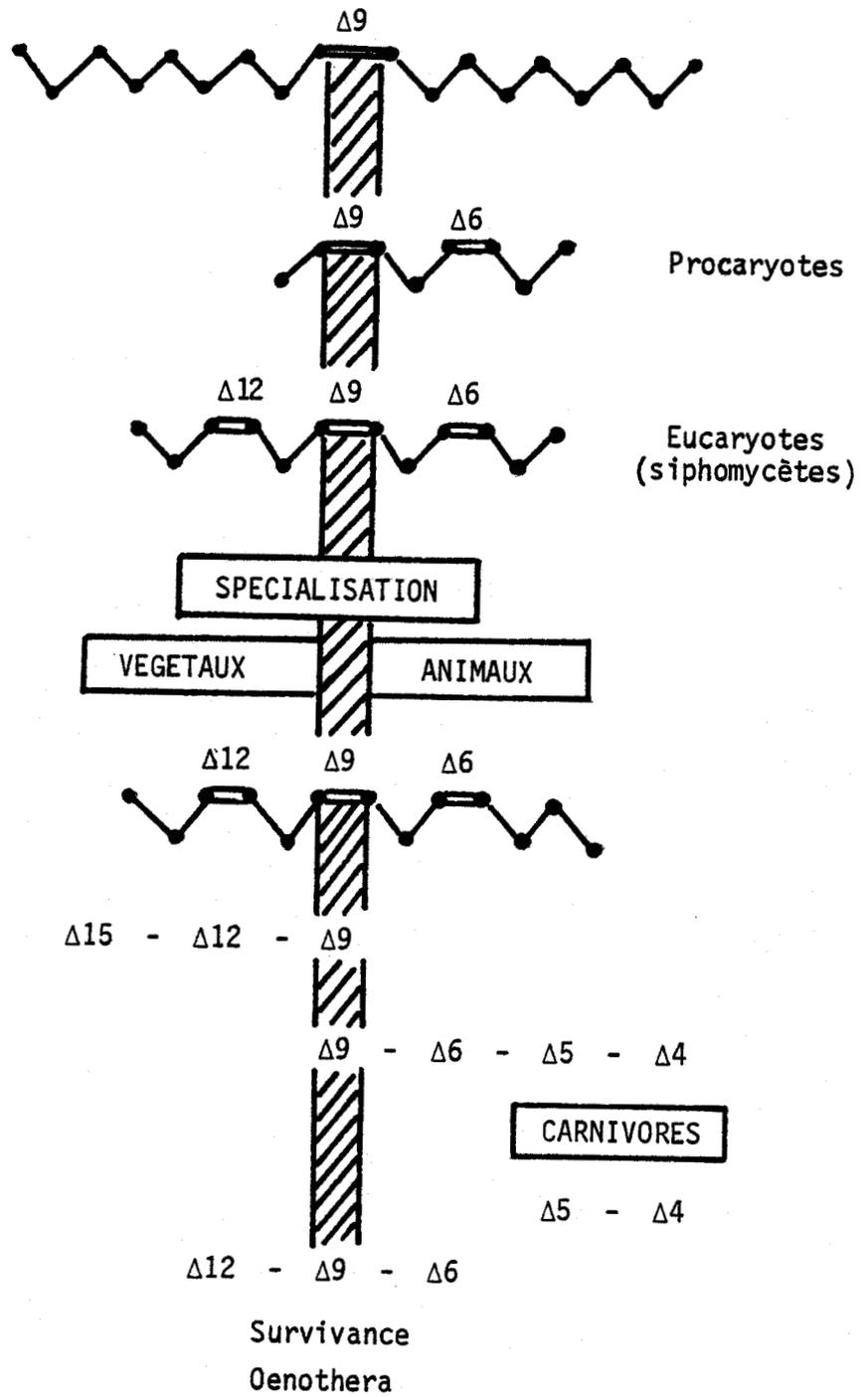


Figure 1(bis)

SCHEMA DE LA PLYLOGENESE



Chez l'animal, les voies de biosynthèse des acides gras longs et polyinsaturés à partir des acides gras essentiels ont été très bien étudiées au niveau du tissu hépatique. Cette synthèse se traduit par une alternance de désaturation (introduction d'une liaison éthylénique entre celle préexistante et le groupement carboxyle) et d'élongation (adjonction d'un fragment à 2 carbones). Chaque élongation et désaturation se font du côté carboxyle, la nouvelle molécule conserve donc toujours le même nombre de carbones entre le groupement méthyle et la première double liaison. Cette particularité permet de définir différentes familles d'acides gras insaturés (n-9 ou ω 9, n-6 ou ω 6 et n-3 ou ω 3). Les interconversions d'une famille à l'autre sont impossibles (5, 4). Deux voies possibles étaient avancées pour l'initiation de la synthèse des acides gras polyinsaturés de chaque série à partir de leur précurseur réciproque [Δ 9.12 (18:2) et Δ 9.12.15 (18:3)] (Figure 2).

Pour certains auteurs (5, 6), l'étape initiale serait l'élongation des acides gras essentiels conduisant respectivement à l'obtention du Δ 11.14 (20:2) et du Δ 11.14.17 (20:3). Inversement, pour Marcel et coll. (7) et Mead (8), la voie principale de biosynthèse commence par une désaturation en Δ 6 du précurseur.

Dans la première hypothèse, l'étape suivante c'est-à-dire la désaturation du Δ 11.14 (20:2) en Δ 8.11.14 (20:3) et du Δ 11.14.17 (20:3) en Δ 8.11.14.17 (20:4) nécessite l'activité d'une Δ 8 désaturase. Or des études ultérieures plus précises (9, 10) n'ont pas permis de mettre en

Série n-6

Série n-3

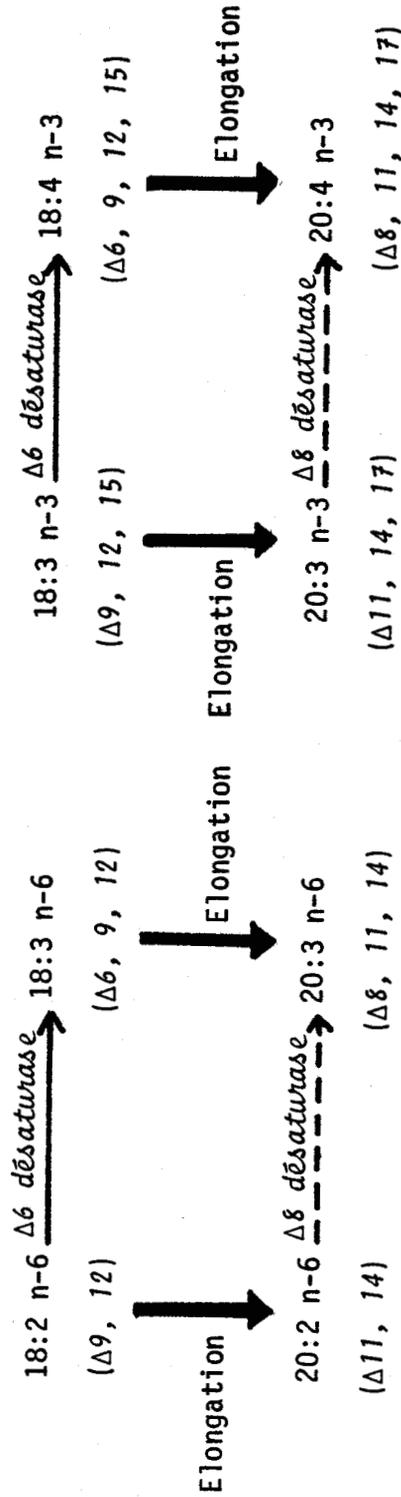


Figure 2

VOIES D'INITIATION DE LA SYNTHÈSE DES ACIDES GRAS POLYINSATURÉS



évidence une activité $\Delta 8$ désaturase dans le foie de rat, que ce soit chez l'animal carencé ou non en lipides et ce "in vivo" ou "in vitro". Cette observation n'est pas spécifique du foie puisque l'absence d'activité $\Delta 8$ désaturase a également été mentionnée par Dhopeswarker et coll. (11) dans le cerveau de rat en développement.

La $\Delta 6$ désaturation est incontestablement la voie privilégiée empruntée pour l'initiation de la biosynthèse des acides gras polyinsaturés, mais on ne peut exclure la formation d'acides gras plus longs par élongation à partir soit des précurseurs [$\Delta 9.12$ (18:2), $\Delta 9.12.15$ (18:3)], soit des intermédiaires métaboliques. Ces acides gras ainsi formés ne seraient pas tous des "impasses métaboliques" puisque certains subiraient une rétro-conversion (Figure 3). Cette voie de rétroconversion a été démontrée dans les microsomes de foie de rat à partir notamment des produits d'élongation tels :

- le $\Delta 11.14$ (20:2) qui conduit au $\Delta 9.12$ (18:2) (12)
- le $\Delta 11.14.17$ (20:3) " $\Delta 9.12.15$ (18:3) (10)
- le $\Delta 10.13.16$ (22:3) " $\Delta 8.11.14$ (20:3) (13)
- le $\Delta 7.10.13.16$ (22:4) " $\Delta 5,8.11.14$ (20:4) (14)

Mais également à partir des acides gras terminaux de chaque série provenant d'une $\Delta 4$ désaturation, c'est le cas :

- du $\Delta 4.7.10.13.16$ (22:5) qui conduit au $\Delta 7.10.13.16$. (22:4) (15,16)
- du $\Delta 4.7.10.13.16.19$ (22:6) " $\Delta 7.10.13.16.19$ (22:5) (17)

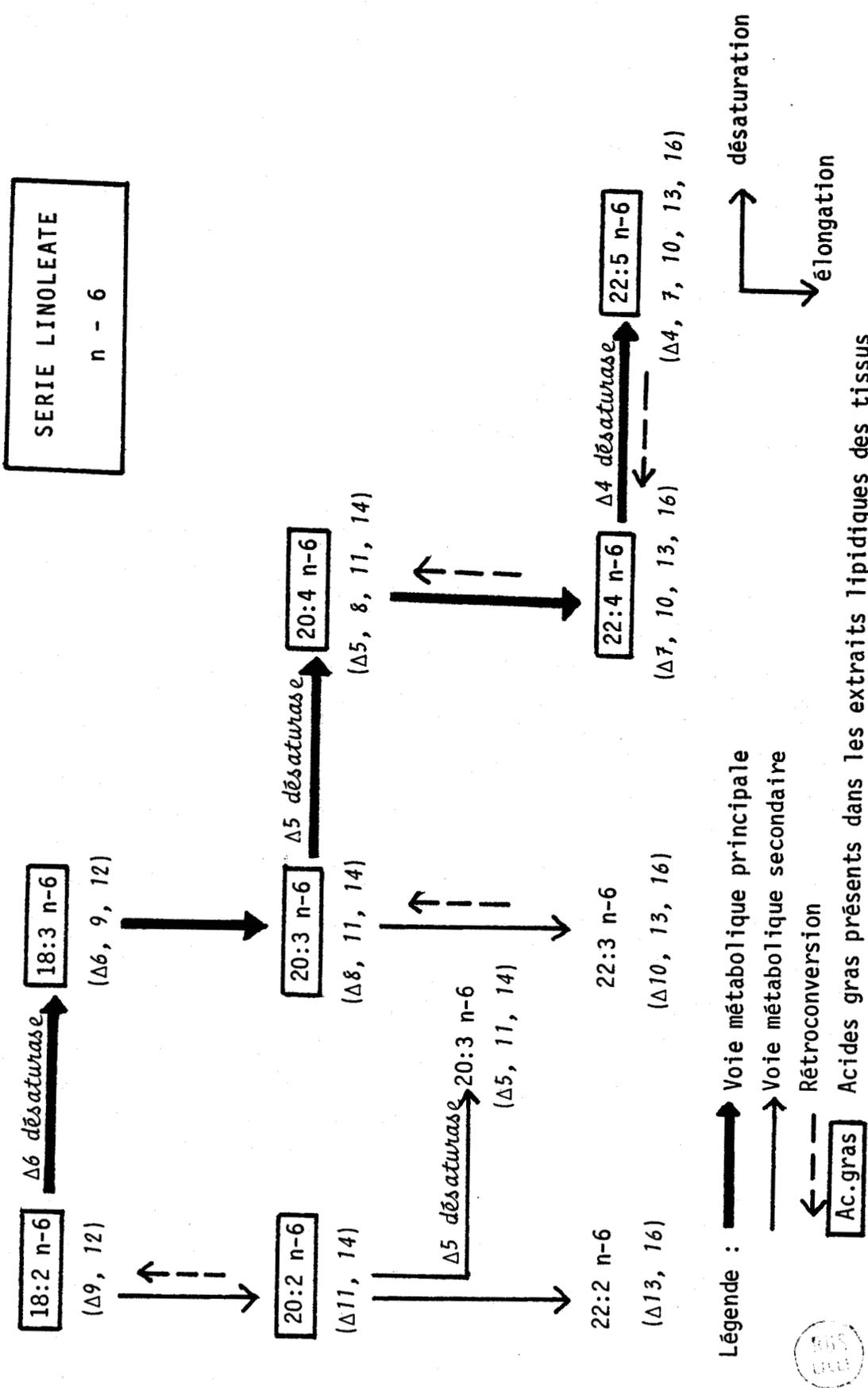


Figure 3

Les acides gras essentiels ne sont pas les seuls précurseurs des acides gras longs et polyinsaturés. Sprecher (13) a notamment étudié "in vitro" les voies d'élongation désaturation des acides gras saturés tels l'acide stéarique et l'acide palmitique mettant ainsi en évidence la présence de deux autres familles d'acides polyinsaturés : la famille des n-9 et la famille des n-7.

Les différentes voies métaboliques étudiées "in vitro" sont représentées pour chaque famille dans les figures 3, 4, 5 et 6.

L'étude plus détaillée des différents systèmes enzymatiques et de leur régulation sera effectuée ultérieurement. Toutefois, la lecture de ces schémas métaboliques nous permettra de présenter les voies principales et les voies secondaires ainsi que les différentes possibilités de rétro-conversion annoncées précédemment. Il faut également remarquer que les acides gras intermédiaires mentionnés dans ces figures sont retrouvés en proportions très différentes dans les tissus, certains sont même totalement absents des extraits lipidiques tissulaires. Il est donc permis de penser que certaines voies métaboliques observées "in vitro" n'existent pas "in vivo".

II - LES SYSTEMES ENZYMATIQUES MIS EN JEU

Dans le foie de rat, qui fut l'organe le plus étudié quant au métabolisme des acides gras polyinsaturés, élongation et désaturation sont associées à la fraction microsomale (18, 19).

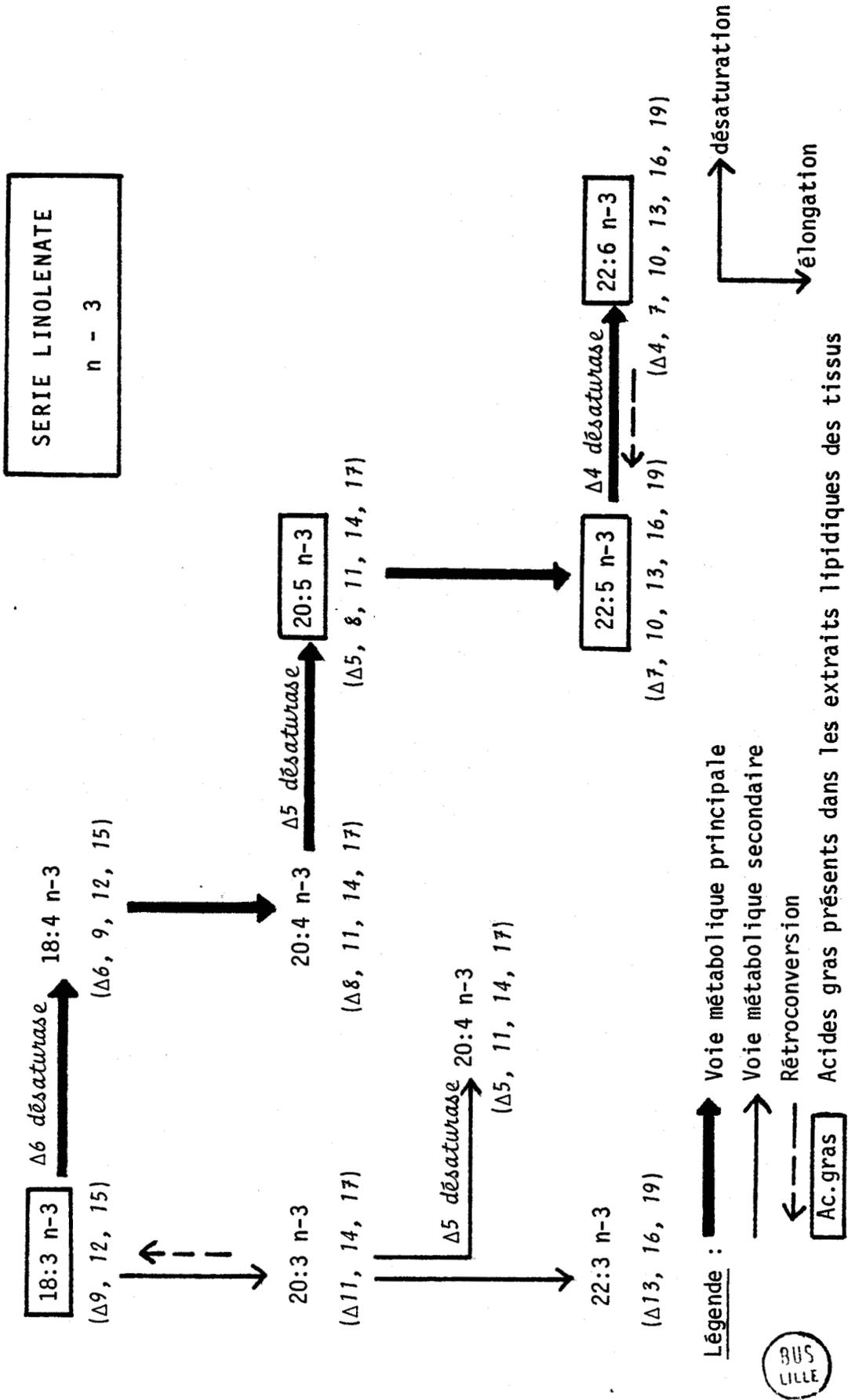


Figure 4

SERIE STEARATE
n - 9

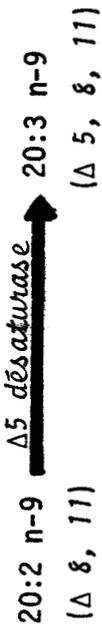
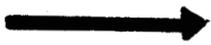
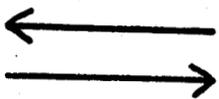
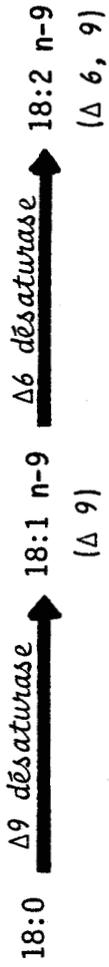


Figure 5

SERIE PALMITATE
n - 7

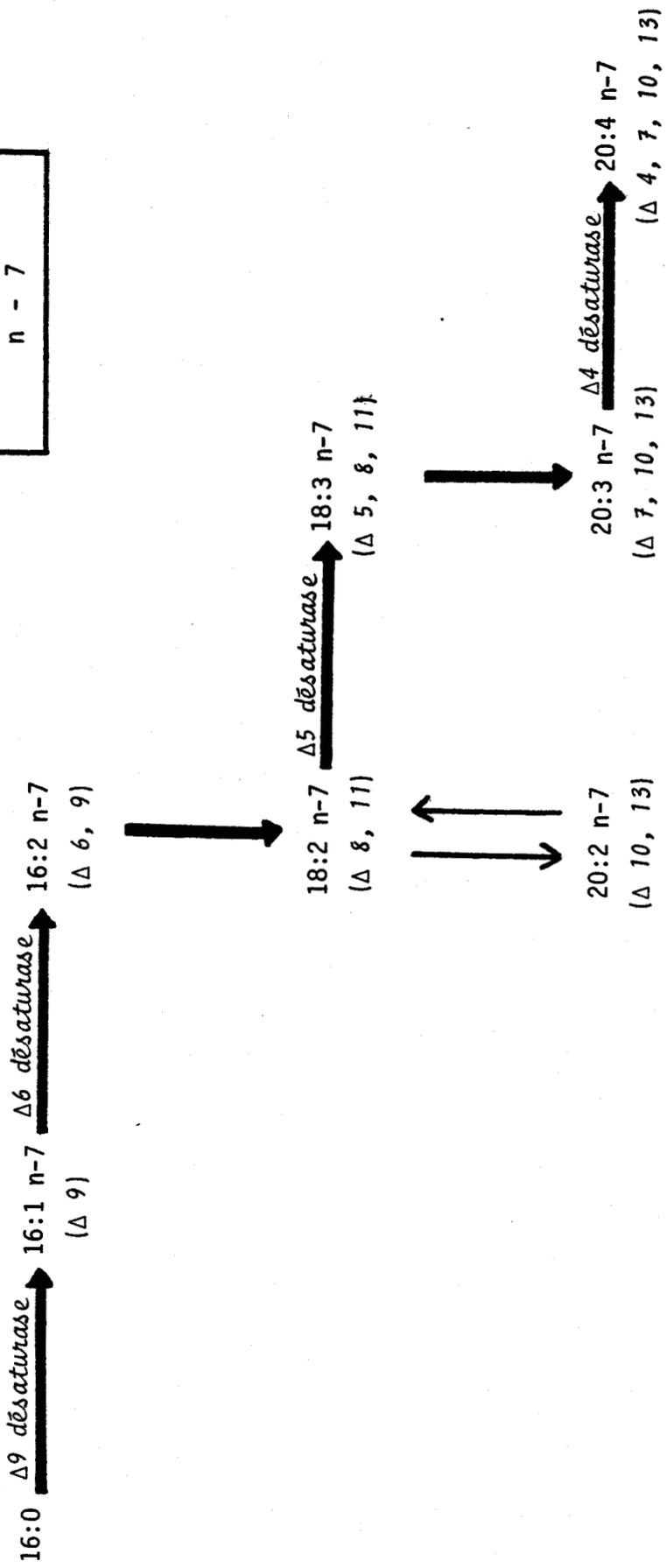


Figure 6



L'élongation microsomale à partir d'un acide gras activé (acyl-CoA) requiert la présence de nucléotides réduits (NADH et NADPH), d'adénosine triphosphate (ATP) et de malonyl-CoA (source d'unité à deux carbones).

Les études "in vitro" à partir de microsomes de foie de rat n'ont pas permis de mettre en évidence de système enzymatique spécifique à chaque acide gras. Pourtant, récemment, Maeda et coll. (20) émettent l'hypothèse, à partir de culture de cellules de mammifères, qu'il existerait plus d'un système enzymatique d'élongation des acides gras. L'élongation du Δ 9.12 (18:2) ne se ferait pas par toutes les lignées cellulaires qui sont aptes à réaliser l'élongation du Δ 6.9.12 (18:3) et du Δ 9.12.15 (18:3). Le mécanisme exact des réactions d'élongation des acides gras polyinsaturés est encore imparfaitement connu "in vivo".

La biosynthèse des acides gras saturés à longue chaîne à partir du palmitoyl-CoA ou du stéaryl-CoA est, par contre, beaucoup mieux connue. Des études comparatives au niveau des mitochondries de foie, de rein et de cerveau (21) ont permis de montrer qu'il n'y avait pas de différence entre l'allongement du palmitoyl-CoA et du stéaryl-CoA dans ces différents organes. Un même système enzymatique est donc impliqué dans l'allongement des acyl-CoA à plus de 16 atomes de carbone dans les mitochondries avec, toutefois, un pourcentage d'allongement plus faible dans les mitochondries de cerveau. La situation est par contre totalement différente dans les microsomes ; il a été en effet montré que dans ces organites cellulaires, deux systèmes enzymatiques existaient : l'un spécifique du palmitoyl-CoA et l'autre du

stéaryl-CoA. Deux systèmes semblent également exister dans le foie et le rein, chacun d'eux étant probablement soumis à une régulation spécifique. Le système d'allongement mitochondrial requiert de l'acétyl-CoA comme donneur de carbone, du NADH et du NADPH comme donneurs d'hydrogène. Au contraire dans les microsomes, les deux atomes de carbone sont fournis par le malonyl-CoA et seul, le NADPH est nécessaire.

Les systèmes enzymatiques de désaturation requièrent également de l'énergie et des nucléotides réduits (NADPH et/ou NADH). Par différence avec la précédente étape, les désaturations sont des réactions aérobies nécessitant donc de l'oxygène (22). Quatre systèmes enzymatiques ont été différenciés :

- $\Delta 9$ désaturase qui insert une double liaison entre les carbonnes 9 et 10 à partir du groupement carboxyle,
- $\Delta 6$ désaturase qui insert une double liaison entre les carbonnes 6 et 7 à partir du groupement carboxyle,
- $\Delta 5$ désaturase qui insert une double liaison entre les carbonnes 5 et 6 à partir du groupement carboxyle,
- $\Delta 4$ désaturase qui insert une double liaison entre les carbonnes 4 et 5 à partir du groupement carboxyle.

L'activité de ces systèmes a été mise en évidence à partir de préparation de microsomes de foie de rat (23, 24, 25) et de cultures de cellules (26, 27, 20).

De tous ces systèmes, c'est la $\Delta 6$ désaturase qui a été la mieux étudiée. Selon Brenner (25), Catala et coll. (28), ce système serait constitué de deux sous-unités : l'une fortement liée au réticulum endoplasmique et l'autre faiblement liée et apparentée à une lipoprotéine.

La désaturation des acides gras n'intervient que sur des acides gras préalablement activés en acyl-CoA. L'énergie d'activation est en général fournie par l'hydrolyse de l'ATP ; cependant Brenner (29) a montré que lors d'incubations de microsomes de foie de rat, il obtenait la conversion du $\Delta 9.12$ (18:2) libre en $\Delta 6.9.12$ (18:3) en présence, certes, de NADH, de CoA et de Mg^{++} mais également soit d'ATP, de GTP ou de CTP (Tableau I).

Ces résultats suggèrent que, directement ou indirectement, le GTP et le CTP sont capables de fournir l'énergie nécessaire à la conversion du $\Delta 9.12$ (18:2) en $\Delta 6.9.12$ (18:3). Le système de désaturation très fortement lié au réticulum endoplasmique nécessite, outre la présence d'énergie, d'oxygène, de NADPH ou NADH, la proximité d'une chaîne de transporteurs d'électrons incluant une flavoprotéine, un facteur cyano sensible attribué à une hémoprotéine et le cytochrome b_5 (29). Un schéma réactionnel d'un couplage du système transporteur d'électrons et de la désaturation du linoléyl-CoA a été proposé par Brenner (Figure 7).

L'activité de la chaîne de transporteurs d'électrons dépend de l'intégrité de la structure lipoprotéique de la membrane du réticulum endoplasmique. En effet, lorsque les microsomes ont subi une extraction

TABLEAU I

EFFET DES DIFFERENTS NUCLEOTIDES SUR LA CONVERSION
DU $\Delta 9.12$ (18:2) EN $\Delta 6.9.12$ (18:3)
D'APRES BRENNER (29)

Nucléotide	% Conversion
A T P	11,0
G T P	12,9
C T P	10,3
A M P	3,3



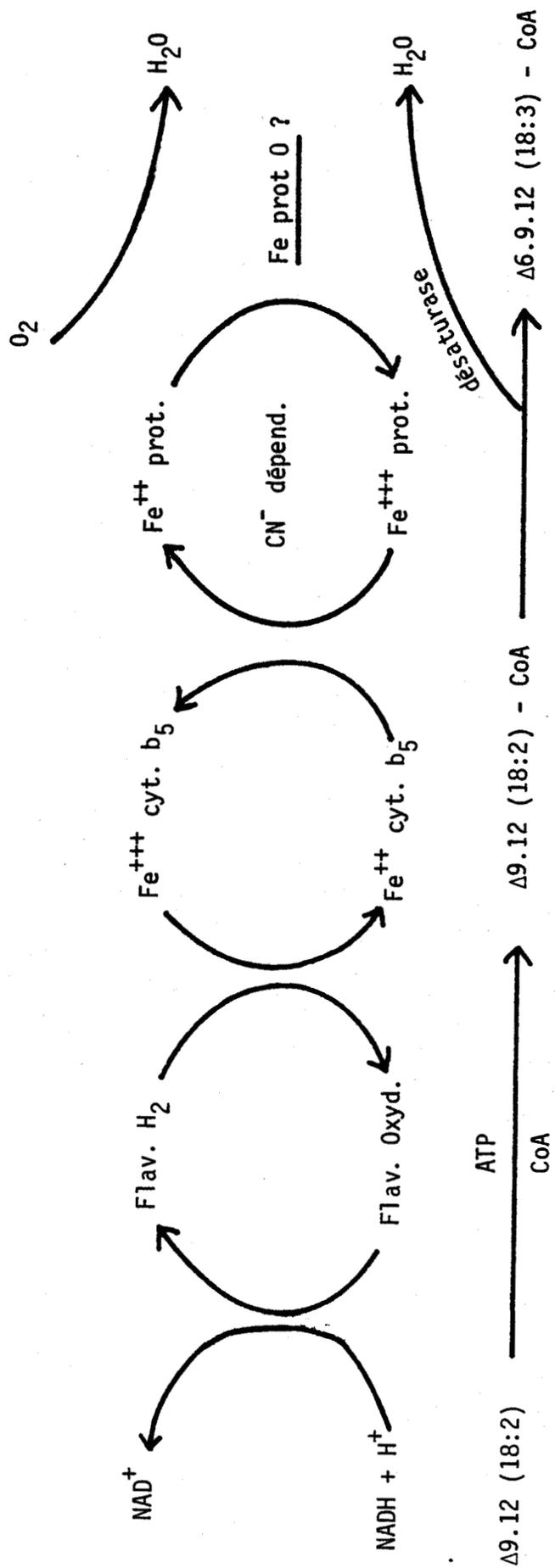


Figure 7

COUPLAGE DU SYSTEME TRANSPORTEUR D'ELECTRONS ET DE LA DESATURATION DU LINOLEYL-CoA, D'APRES BRENNER (29)



acétonique, il y a perte de l'activité désaturase de ces organites. L'activité peut être retrouvée après addition d'un mélange approprié de phospholipides, de triglycérides et d'acides gras libres.

III - VITESSES DE CONVERSION

Les études cinétiques ont montré que l'activation des acides gras en acyl-CoA dans les microsomes de foie de rat ne représentait pas un facteur limitant du métabolisme des acides gras polyinsaturés puisque le taux d'activation d'un acide gras est supérieur à la vitesse d'élongation ou de désaturation de l'acyl-CoA correspondant. Ce n'est pas non plus l'incorporation des produits métabolisés dans les différentes classes de lipides qui est l'étape limitante puisque Holman (31) a montré que la vitesse de transfert des acyl-CoA libérés est identique voire même supérieure à la vitesse d'activation.

Les différentes étapes métaboliques empruntées par les acides gras de la série n-6 ont fait l'objet d'une étude systématique à partir d'incubations de microsomes de foie de rat. Dans ce travail, Sprecher (13) a pu ainsi quantifier chaque étape afin de rendre compte de l'importance relative de chacune d'elles dans la régulation de la composition en acides gras polyinsaturés du foie. Les résultats obtenus par cet auteur (Figures 8, 9, 10) permettent de constater que chaque étape d'élongation s'effectue plus rapidement que l'étape de désaturation précédente quelle que soit la famille d'acides gras polyinsaturés considérée.

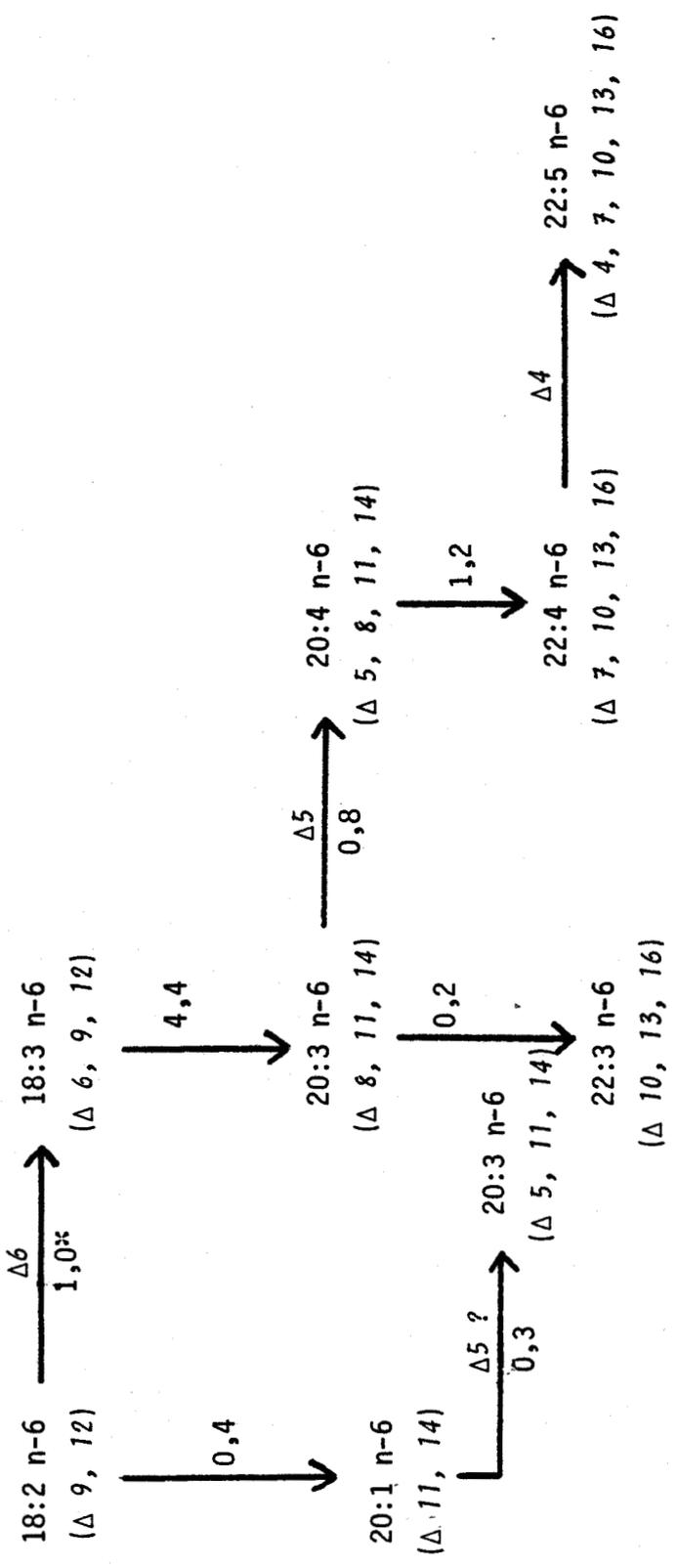


Figure 8

1,0*: Vitesses de conversion des acides gras de la série n-6 exprimées en nmole d'acides gras/mn/mg de protéines (d'après SPRECHER)



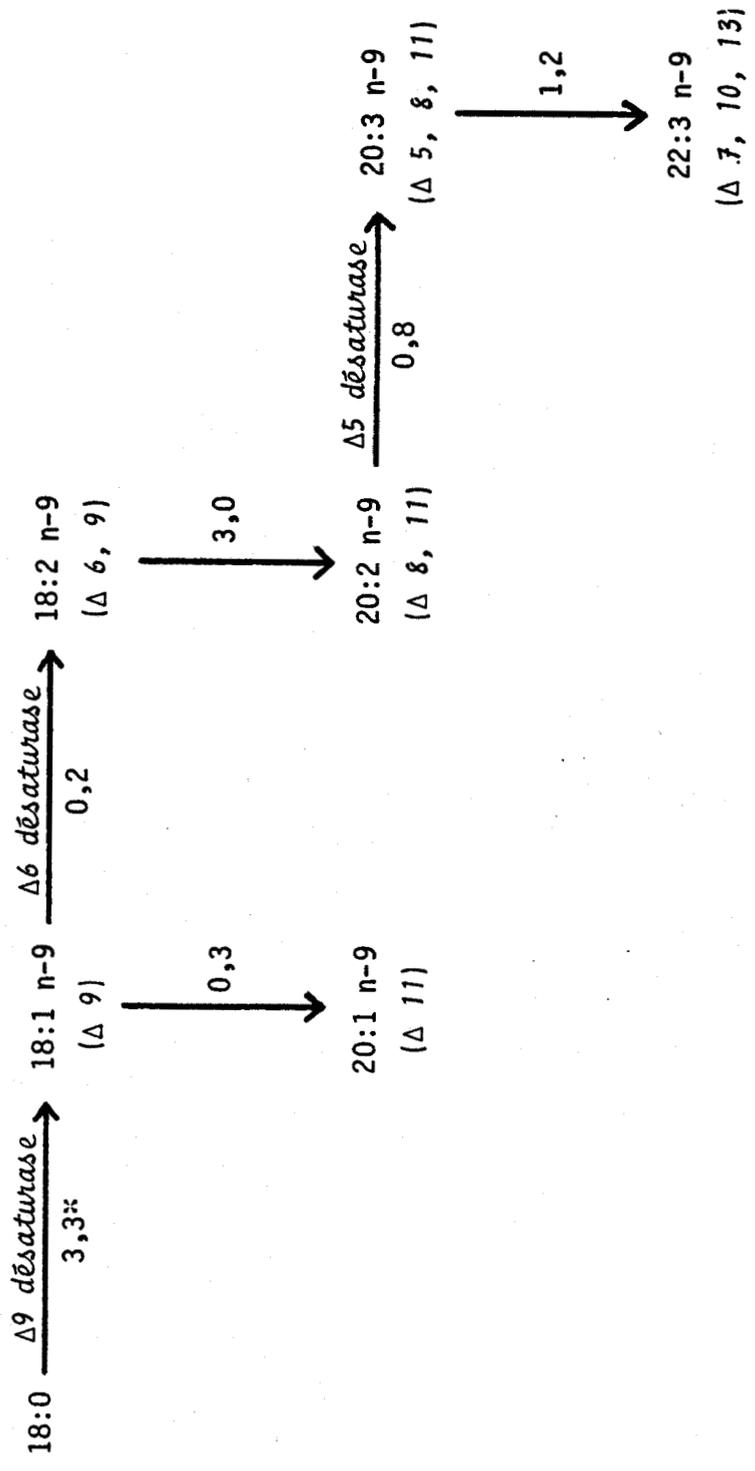


Figure 9

3,3*: Vitesse de conversion des acides gras de la série n-9 exprimées en nmole d'acides gras/mn/mg de protéines (d'après SPRECHER)



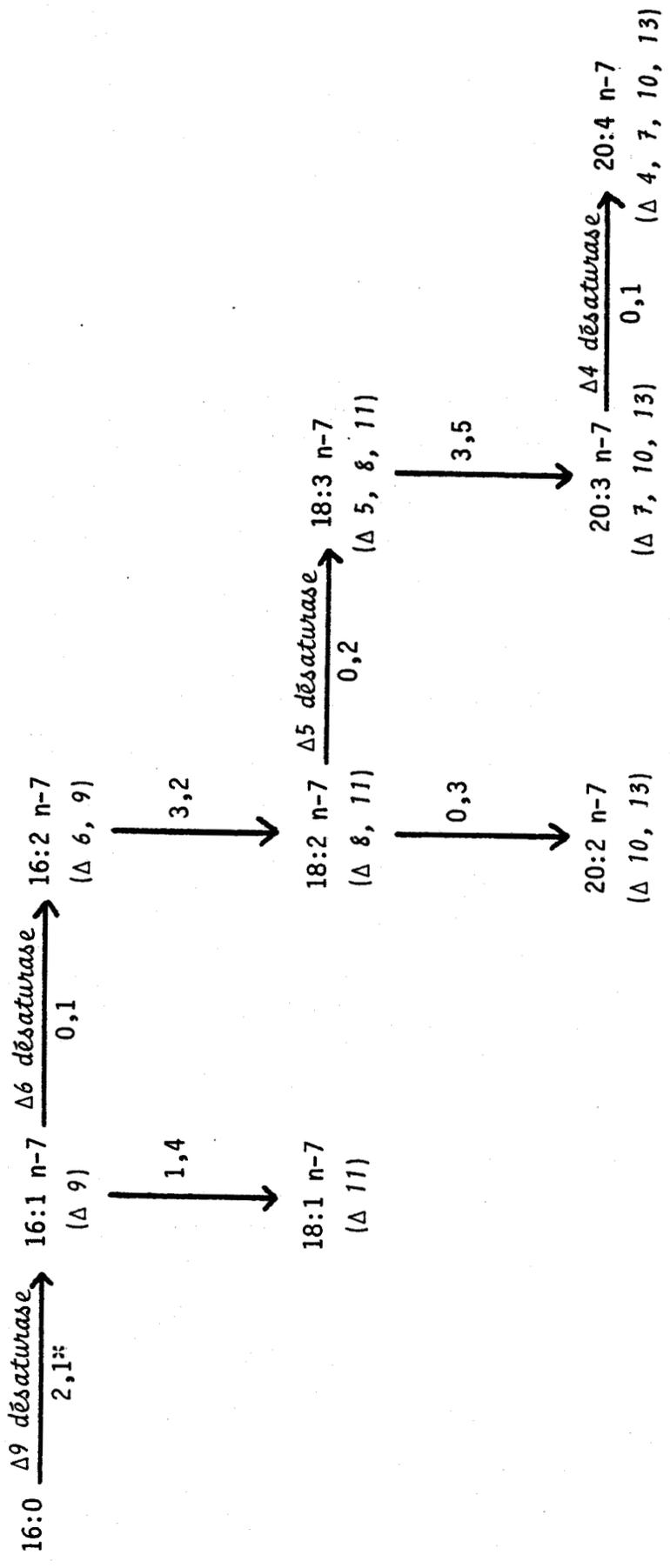


Figure 10

2,1: Vitesse de conversion des acides gras de la série n-7 exprimées en nmole d'acides gras/mm/mg de protéines (d'après SPRECHER)



L'absence de Δ 6.9.12 (18:3) dans les lipides hépatiques s'explique en grande partie par sa rapide transformation en Δ 8.11.14 (20:3). Ce dernier peut être soit transformé en Δ 10.13.16 (22:3) par élongation, soit incorporé dans les lipides ou désaturé en Δ 5.8.11.14 (20:4). "In vivo", il est impossible d'évaluer l'intensité de l'étape d'élongation dans le foie de rat, puisque lorsque le Δ 10.13.16 (22:3) est apporté dans l'alimentation de l'animal, il est transformé en Δ 8.11.14 (20:3) par rétroconversion.

L'incorporation du Δ 8.11.14 (20:3) dans les lipides est également très faible puisque sa teneur dans les phospholipides de foie de rat n'excède pas 0,5 % des acides gras totaux. La voie métabolique préférentielle empruntée par cet acide gras semble donc être la désaturation en Δ 5.8.11.14 (20:4) qui peut lui-même être transformé en Δ 7.10.13.16 (22:4) puis en Δ 4.7.10.13.16 (22:5). Or, bien que la vitesse d'élongation du 20:4 n-6 soit supérieure à celle de la désaturation précédente, le Δ 5.8.11.14 (20:4) représente une part très importante des acides gras polyinsaturés des phospholipides hépatiques alors que le Δ 7.10.13.16 (22:4) et le Δ 4.7.10.13.16 (22:5) ne sont présents qu'à faible teneur. Après synthèse, ces acides gras ne seraient pas incorporés dans les phospholipides tissulaires mais transformés en Δ 5.8.11.14 (20:4) par rétroconversion. Cet équilibre entre les vitesses d'élongation-désaturation et rétroconversion est régulé de façon différente suivant les tissus pour une même famille d'acides gras polyinsaturés. Par exemple, les lipides des testicules sont riches en Δ 4.7.10.13.16 (22:5), le cerveau renferme également des taux importants de Δ 7.10.13.16 (22:4) et de Δ 4.7.10.13.16 (22:5). (Une comparaison du métabolisme des acides gras polyinsaturés entre le foie et le cerveau fera d'ailleurs l'objet d'une étude plus détaillée ultérieurement).

"In vivo" lorsque les rats reçoivent un régime équilibré en acides gras essentiels, les lipides du foie sont dépourvus d'acides gras polyinsaturés de la famille de l'oléate; par contre, dans le cas d'un régime lipidoprive, on note l'apparition du Δ 5.8.11 (20:3). L'étape clé du métabolisme des acides gras de la famille des n-9 paraît essentiellement liée à l'activité et à la régulation de la Δ 6 désaturase. Les résultats obtenus par Sprecher (Figure 9) montrent que les activités enzymatiques en aval de la Δ 6 désaturase sont très voisines dans les deux séries. Le Δ 8.11 (20:2) est désaturé à la même vitesse que le Δ 8.11.14 (20:3) ; par contre, le Δ 6.9.12 (18:3) est converti en Δ 8.11.14 (20:3) 1,4 fois plus rapidement que ne l'est le Δ 6.9 (18:2) en Δ 8.11 (20:2). Ces études enzymatiques font également apparaître une dernière étape possible dans la série n-9 qui conduirait à la formation de Δ 7.10.13 (22:3) ; or, "in vivo", cet acide gras n'est pas présent dans les tissus. Si cet acide gras est réellement synthétisé dans le cas, notamment, de régimes carencés en acides gras essentiels, il doit être transformé rapidement en Δ 5.8,11 (20:3) par rétroconversion.

Les conversions métaboliques des acides gras de la série n-7 (Figure 10) se caractérisent surtout par une très faible activité de toutes les désaturases (Δ 6, Δ 5 et Δ 4) alors que les vitesses d'élongation sont comparables à celles des autres séries. Cette très faible activité des désaturases explique en grande partie l'absence d'acides gras polyinsaturés de la famille de l'acide palmitoléique dans les lipides tissulaires.

Ces résultats présentés par Sprecher confirment en partie les travaux de Mead en 1968 (8). Cet auteur avait observé une augmentation des

vitesse d'élongation quand la longueur de la chaîne carbonée diminuait et quand l'insaturation du substrat augmentait. Cet effet devenait très net lorsque les acides gras atteignaient 20 à 22 atomes de carbone. Des incubations de microsomes de foie de rat avec du Δ 9.12 (18:2), du Δ 9.12.15 (18:3) ou des esters d'acides gras à 20 atomes de carbone avaient permis également de montrer que l'activité Δ 6 désaturase augmentait lorsque l'insaturation augmentait et diminuait quand le nombre de carbones du substrat diminuait.

IV - REGULATION DES CONVERSIONS METABOLIQUES DES AGPI

Une des grandes difficultés de l'étude des différentes étapes mises en jeu dans la synthèse des AGPI provient du fait qu'aucun des systèmes enzymatiques n'a pu être isolé et que chaque acyl-CoA est un substrat potentiel pour un grand nombre de réactions possibles : incorporation dans les lipides, désaturation, élongation ou rétroconversion mais encore β -oxydation. De plus les acides gras à 20 atomes de carbone [Δ 8.11.14 (20:3), Δ 5.8.11.14 (20:4), Δ 5.8.11.14.17 (20:5)] fixés sur les phospholipides peuvent être, après libération par une phospholipase, utilisés comme précurseurs dans la synthèse des prostaglandines des différentes séries. Les conditions "in vivo" sont différentes des conditions "in vitro". La disponibilité du substrat, qui est progressivement fourni à la cellule et mis en contact avec une concentration enzymatique élevée, peut modifier complètement les effets observés lors d'expérimentations "in vitro" dans lesquelles des concentrations élevées de substrat sont mises en contact avec de faibles concentrations enzymatiques.

Pour toutes ces raisons, on ne peut déduire qu'une cinétique approximative de ces systèmes enzymatiques.

Depuis les travaux de Brenner et Peluffo en 1966 (32), l'existence de 5 désaturases ($\Delta 9$, $\Delta 7$, $\Delta 6$, $\Delta 5$, $\Delta 4$) communes pour toutes les familles d'acides gras est admise. Leur activité dépend par contre de nombreux facteurs tels le substrat, la nature et la concentration des autres acides gras polyinsaturés, l'environnement nutritionnel, le tissu considéré, l'espèce étudiée et enfin le stade de développement de l'animal. La plus étudiée fut incontestablement la $\Delta 6$ -désaturase à partir d'incubations de microsomes de foie de rat.

L'existence d'un seul système enzymatique capable de désaturer les acides gras en $\Delta 6$ a été cependant remis en cause par Maeda et coll. en 1978 (20). A partir des résultats obtenus sur des cultures de cellules, ces auteurs émettent l'hypothèse que les $\Delta 6$ et $\Delta 5$ désaturases impliquées dans la série linoléate sont différentes des $\Delta 6$ et $\Delta 5$ mises en jeu dans le métabolisme des acides gras de la série linoléate.

1) Influence du substrat, de la nature et de la concentration des acides gras polyinsaturés

L'affinité de l'enzyme pour le substrat au niveau de la $\Delta 6$ désaturation dépend essentiellement de l'insaturation du substrat. L'affinité pour le $\Delta 9.12.15$ (18:3) est supérieure à celle pour le $\Delta 9.12$ (18:2) qui

est elle-même plus grande que celle pour le $\Delta 9$ (18:1). D'après Brenner (25), cette différence d'affinité de la $\Delta 6$ désaturase en fonction de l'insaturation du substrat résulte de l'intensité des liaisons enzyme-substrat qui croît avec le nombre de doubles liaisons.

"In vitro", la $\Delta 6$ désaturation du linoléate par les microsomes de foie de rat est inhibée par le $\Delta 6.9.12$ (18:3), le $\Delta 8.11.14$ (20:3), le $\Delta 5.8.11.14$ (20:4), le $\Delta 4.7.10.13.16$ (22:5) et très fortement par le $\Delta 4.7.10.13.16.19$ (22:6) c'est-à-dire par les homologues supérieurs de la même série, mais également par les acides gras polyinsaturés terminaux de la série linoléate.

La rétroinhibition due au $\Delta 4.7.10.13.16.19$ (22:6) est plus importante que celle exercée par le $\Delta 4.7.10.13.16$ (22:5) que ce soit sur la série linoléate ou la série linoléate (33).

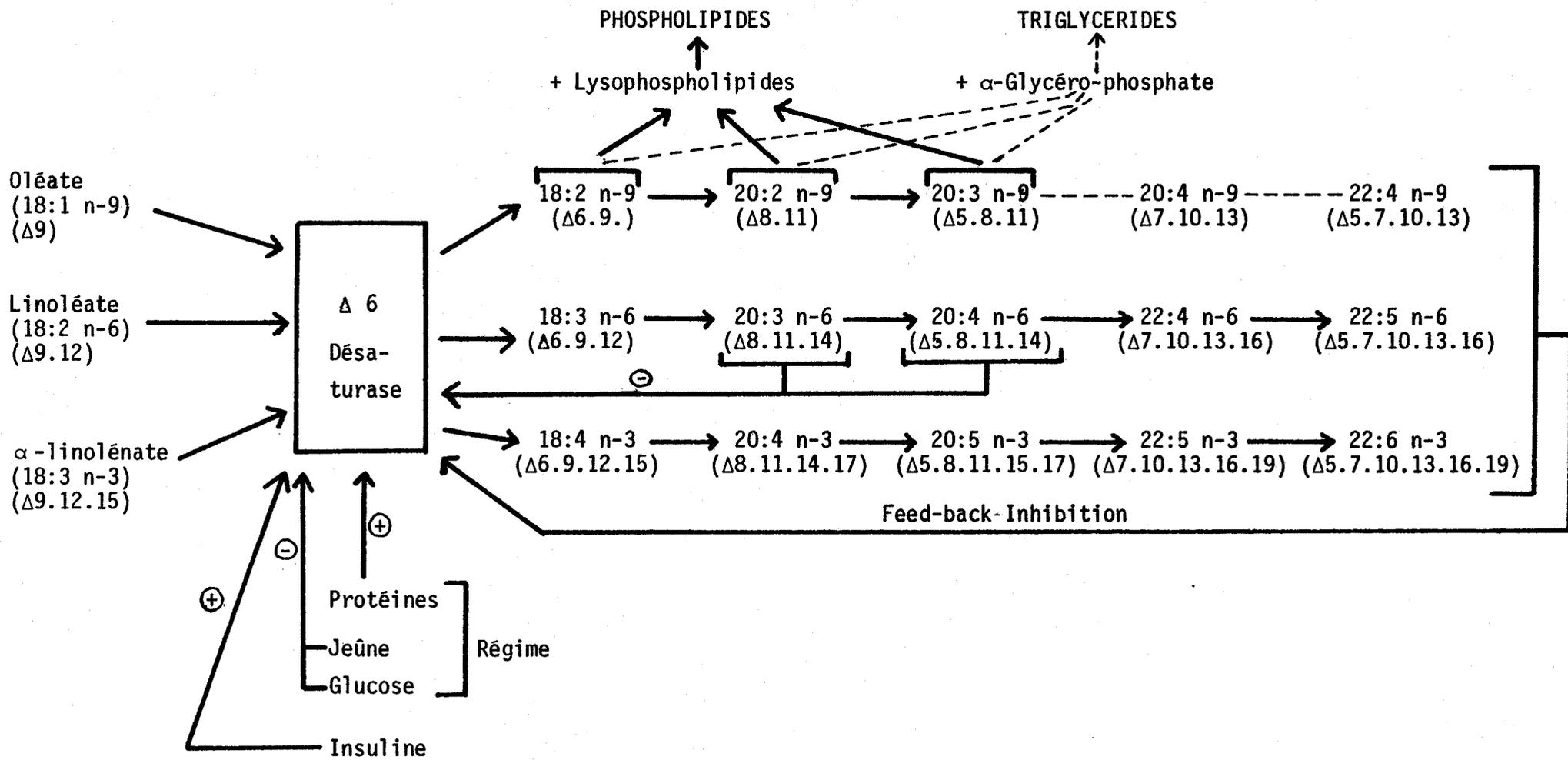
Inversement, pour de faibles concentrations, Marcel et coll. (7) observent une induction de la $\Delta 6$ désaturation du linoléate par le $\Delta 6.3.12$ (18:3), et les acides gras polyinsaturés à 20 ou 22 atomes de carbone. Toujours à faibles concentrations, cet auteur note une très faible augmentation de l'activité $\Delta 5$ désaturation du $\Delta 8.11.14$ (20:3) par le $\Delta 9.12$ (18:2), le $\Delta 6.9.12$ (18:3) et le $\Delta 11.14$ (20:2). L'effet activateur du $\Delta 9.12$ (18:2) et du $\Delta 6.9.12$ (18:3) à faible concentration sur la désaturation du $\Delta 8.11.14$ (20:3) est probablement une des raisons principales de la très faible teneur en $\Delta 8.11.14$ (20:3) des lipides tissulaires.

Les phases d'élongation ne représentent certes pas, comme nous l'avons vu, des étapes limitantes dans la synthèse des acides gras poly-insaturés, mais l'activité des élongases n'en est pas moins régulée par les différents produits formés au sein d'une même famille. Comme pour les désaturases, le rapport des concentrations des acides gras en présence est déterminant. Pour de faibles concentrations de l'acide gras compétitif, Marcel et coll. (7) rapportent une activation de la vitesse d'élongation du substrat alors qu'à haute concentration, ces auteurs observent une inhibition compétitive. La nature de l'acide gras intervient également, puisque les deux premiers métabolites de l'acide linoléique c'est-à-dire le Δ 6.9.12 (18:3) et le Δ 11.14 (20:2) ont des effets inverses à faible concentration sur les réactions d'élongation des acides gras de la série n-6.

2) Influence de l'apport alimentaire

Une étude très détaillée des effets de l'état nutritionnel et de l'état hormonal du rat sur le métabolisme des acides gras essentiels a été réalisée par Brenner et coll. (34) au niveau des microsomes de foie (Figure 11).

Ces auteurs ont notamment montré que l'apport de protéines ou d'acides-amino dans la ration alimentaire stimulait l'activité de la Δ 6 désaturase mais aussi, à un degré moindre, celle de la Δ 5 désaturase. Par contre, les protides semblent n'avoir aucun effet sur les étapes d'élongation.



INSULINE

Figure 11

SCHEMA DES DIFFERENTS FACTEURS MODIFIANT L'ACTIVITE $\Delta 6$ DESATURASE (D'APRES BRENNER)

Le glucose et les produits intermédiaires du métabolisme glucidique induisent par contre une inhibition de l'activité $\Delta 6$ désaturase et ce, indépendamment des médiateurs hormonaux (35, 36).

Un régime carencé en acides gras essentiels stimule l'activité $\Delta 6$ désaturase, alors que ce même régime est sans effet sur la $\Delta 5$ désaturase.

La supplémentation d'un régime avec des acides gras essentiels conduit à une augmentation des acides gras polyinsaturés résultant de la conversion des composés initiaux. L'addition du $\Delta 9.12$ (18:2) provoque une accumulation du $\Delta 5.8.11.14$ (20:4) et du $\Delta 4.7.10.13.16$ (22:5) alors que l'apport du $\Delta 9.12.15$ (18:3) élève les taux des $\Delta 5.8.11.14.17$ (20:5), $\Delta 7.10.13.16.19$ (22:5) et $\Delta 4.7.10.13.16.19$ (22:6). L'amplitude des variations dépend du tissu considéré.

Holman (3) a étudié les effets d'un accroissement du linoléate dans le régime sur le métabolisme du linoléate et vice-versa. Le linoléate est un inhibiteur beaucoup plus efficace que le linolénate. Pour quantifier ces diverses inhibitions, les auteurs ont calculé le taux d'acide gras nécessaire dans le régime pour réduire de 50 % les vitesses de conversion.

<u>Conversion réduite de 50 %</u>	<u>Inhibition</u>	<u>% calorique</u>
$\Delta 9(18:1) \longrightarrow \Delta 5.8.11(20:3)$	$\Delta 9.12.15(18:3)$	0,2
$\Delta 9(18:1) \longrightarrow \Delta 5.8.11(20:3)$	$\Delta 9.12(18:2)$	0,6
$\Delta 9(18:1) \longrightarrow \Delta 5.8.11(20:3)$	$\Delta 5.8.11.14(20:4)$	0,25
$\Delta 9.12(18:2) \longrightarrow \Delta 7.10.13.16.19(22:5)$	$\Delta 9(18:1)$	70
$\Delta 9.12.(18:2) \longrightarrow \Delta 7.10.13.16.19(22:5)$	$\Delta 9.12.15(18:3)$	0,1
$\Delta 5.8.11.14(20:4) \longrightarrow \Delta 7.10.13.16.19(22:5)$	$\Delta 9.12.15(18:3)$	0,6
$\Delta 9.12.15(18:3) \longrightarrow \Delta 4.7.10.13.16.19(22:6)$	$\Delta 9.12(18:2)$	3,2

Le jeûne diminue certes l'activité $\Delta 6$ désaturase ; toutefois elle est très faiblement restaurée après apport de glucose. Cette observation semble en contradiction avec l'effet inhibiteur du glucose mentionné précédemment. Selon Brenner (25), la stimulation de la $\Delta 6$ désaturase par la réalimentation glucidique après un jeûne serait directement liée à des variations du taux d'insuline plasmatique.

En effet, l'activation de la $\Delta 6$ désaturase par l'insuline a été confirmée par Brenner (34) en culture cellulaire et par Mercuri et coll. (37, 38) dans le diabète induit par l'alloxane. Inversement, le glucagon, l'adrénaline et la thyroxine inhibent cette désaturase (34, 39, 40). La régulation hormonale de la $\Delta 6$ désaturase semble s'effectuer par le biais de l'AMP cyclique. Par contre, aucune action hormonale ne paraît s'exercer sur la $\Delta 5$ désaturase. Enfin, la gestation stimule l'activité $\Delta 6$ désaturase des microsomes de foie de rat très probablement là aussi par régulation hormonale (41).

3) Influence de l'espèce animale

Chez les crustacés et les mollusques, le taux de $\Delta 5.8.11.14.17$ (20:5) est généralement plus élevé que le taux de $\Delta 4.7.10.13.16.19$ (22:6), c'est le cas notamment du crabe, de l'huître. Chez la crevette, au contraire, c'est le $\Delta 7.10.13.16.19$ (22:5) qui est prépondérant. Pour cette dernière, les acides gras polyinsaturés de la série n-3 sont plus efficaces pour

obtenir une croissance optimale que les acides gras de la série n-6. Toutefois, aucune des études ne permet de fixer le besoin en Δ 9.12.15 (18:3) chez les crustacés et les mollusques.

De façon globale, les lipides des poissons d'eau douce contiennent plus d'acides gras de la série n-6 que ceux des poissons de mer ; toutefois, la plupart des poissons renferment des taux élevés de Δ 5.8.11.14.17 (20:5) et surtout de Δ 4.7.10.13.16.19 (22:6).

Le besoin en acides gras essentiels a été étudié chez de nombreux poissons, mais c'est surtout la truite arc-en-ciel qui a fait l'objet du plus grand nombre de travaux. Pour ce poisson, les acides gras de la série linoléate sont indispensables pour obtenir une croissance optimale, les acides gras de la série linoléate n'ont que peu d'effet (42). De plus, les acides gras polyinsaturés à longue chaîne comme le Δ 4.7.10.13.16.19 (22:6) sont plus efficaces que le Δ 9.12.15 (18:3) lui-même.

Chez les animaux à sang chaud, le Δ 4.7.10.13.16.19 (22:6) est le plus représentatif des acides gras de la famille n-3 et il est généralement concentré dans la phosphatidyléthanolamine et la phosphatidylsérine des lipides tissulaires. Le taux de cet acide gras reste toutefois assez faible dans les lipides des animaux à sang chaud et ne dépasse généralement pas 5 % des acides gras totaux des phospholipides tissulaires, excepté pour les mammifères marins et les oiseaux dont l'alimentation est riche en poissons. Les acides gras polyinsaturés des mammifères sont donc essentiellement représentés par la famille n-6 et notamment par le Δ 5.8.11.14 (20:4).

Une étude comparative de l'aptitude des différentes espèces à former du Δ 5.8.11.14 (20:4) à partir du Δ 9.12 (18:2) administré "per os" a montré que la capacité du foie de rat était quatre fois plus grande que celle du foie de cobaye, de lapin ou de singe (43).

Les félins sont incapables de désaturer le Δ 9.12 (18:2) et le Δ 9.12.15 (18:3); il ne semble pas exister, chez eux, de Δ 6 désaturase. D'autre part, l'élongation du linoléate apparaît possible alors que pour le linoléate cette voie n'existerait pas (44). Certains auteurs mettent également en doute l'existence d'une Δ 5 désaturase chez le chat (45).

Les grands herbivores ont, dans le foie et les muscles, des taux importants de Δ 7.10.13.16.19 (22:5) par rapport au Δ 4.7.10.13.16.19 (22:6) suggérant une faible activité de la Δ 4 désaturase ; inversement, les petits herbivores accumulent des taux importants de Δ 4.7.10.13.16.19 (22:6) (46).

Il faut tout de même noter que certains organes ou organites renferment de fortes teneurs en Δ 4.7.10.13.16.19 (22:6). Les exemples les plus connus sont le cerveau, la rétine, les spermatozoïdes et les testicules. Chez le poulet, le Δ 4.7.10.13.16.19 (22:6) est l'acide gras majeur des phospholipides du cerveau. Dans la phosphatidyléthanolamine et la phosphatidylsérine des membranes synaptiques du rat, le Δ 4.7.10.13.16.19 (22:6) représente respectivement 30 et 37 % des acides gras totaux. Au niveau des mitochondries de cerveau de rat, la teneur en cet acide gras s'accroît avec l'âge et il devient l'acide gras polyinsaturé majeur à 90 jours. La phosphatidyléthanolamine (PE) du cortex cérébral humain s'enrichit en

Δ 4.7.10.13.16.19 (22:6) avec l'âge ; cet acide gras représente alors environ 34 % des acides gras totaux de la PE à l'âge de 80 ans (47).

La rétine est particulièrement riche en Δ 4.7.10.13.16.19 (22:6) et ce, chez de nombreuses espèces animales (chien, porc, mouton, boeuf, lapin et homme) : 22 à 23 % des acides gras totaux de la PE sont représentés par cet acide gras.

Un autre organe dans lequel le taux de n-3 est élevé est représenté par le testicule. Chez l'homme, le Δ 4.7.10.13.16.19 (22:6) est l'acide gras polyinsaturé majeur des phospholipides de ce tissu.

4) Influence de l'âge

Stroue et Pascaud (48) ont étudié l'activité Δ 6 désaturase de microsomes de foie et de cerveau de rat chez des animaux âgés de 4 à 30 jours. Pendant toute cette période, l'activité enzymatique dans le foie est constante, par contre dans le cerveau, ils observent une très forte activité à 4 jours qui décroît très rapidement jusqu'à l'âge de 11 jours. Une étude similaire a été réalisée par Cook en 1978 (49) sur des homogénats de cerveau et de foie de rat. Il a examiné l'activité de deux systèmes enzymatiques : la Δ 6 désaturation du Δ 9.12 (18:2) et du Δ 9.12.15 (18:3) et la Δ 5 désaturation du Δ 8.11.14 (20:3). Cette étude a été réalisée chez les animaux en période périnatale c'est-à-dire du 18ème jour de gestation au 30ème jour après la naissance. Une très forte activité spécifique de la

$\Delta 6$ désaturase a été observée pendant le stade foetal jusqu'au 4ème jour après la naissance. Ensuite cette activité diminue très rapidement pour se stabiliser à de très faibles valeurs chez l'adulte. L'activité spécifique de la $\Delta 5$ désaturase par contre, ne subit pas de variations importantes pendant la période considérée.

Si l'on rapporte cette activité spécifique de la $\Delta 6$ désaturase à l'homogénat total du cerveau, la capacité totale de l'homogénat pour la désaturation atteint un maximum entre le 4ème et le 20ème jours après la naissance. Cette période correspond à une rapide croissance cérébrale. Par opposition, la capacité totale de l'homogénat de foie pour la désaturation est voisine de celle du cerveau jusqu'à l'âge de 8 jours. Elle double au sevrage et augmente ensuite très rapidement pour atteindre 60 à 100 fois celle du cerveau. Les études réalisées sur des préparations microsomales de foie et de cerveau de rats âgés de 45 jours montrent que l'activité $\Delta 6$ désaturase du foie est sept fois plus grande que celle du cerveau alors qu'en période néonatale les résultats sont inversés.

Chez les mammifères, le vieillissement s'accompagne d'une réduction du taux d'acides gras polyinsaturés dans de nombreux tissus. Chez le cobaye, âgé de 3 ans, le taux d'acides gras polyinsaturés à 22 atomes de carbone représente les trois quarts de la valeur observée à 4 mois (50). La teneur en AGPI de la série n-6 au niveau de la myéline et des phospholipides de la substance blanche atteint un maximum entre 4 et 12 mois chez l'Homme alors qu'elle ne représente plus que les deux tiers de la teneur initiale à l'âge de 70 ans. Par contre les phospholipides de la substance grise s'enrichissent en acides gras de la série n-3 avec l'âge (47).

V - COMPARAISON DU METABOLISME DES AGPI ENTRE LE FOIE ET LE CERVEAU

Le tissu cérébral est très riche en acides gras polyinsaturés avec notamment un taux élevé de $\Delta 4.7.10.13.16.19$ (22:6) essentiellement localisé dans la phosphatidyléthanolamine. Chez le rat, plus de 50 % des AGPI ont été accumulés pendant les premiers stades de son développement (51). La composition en AGPI du cerveau de mammifères est remarquablement constante et difficilement modifiée par la nature du régime. De plus, elle est beaucoup plus résistante aux carences alimentaires en acides gras essentiels que les autres tissus (52, 53). A l'inverse, la composition en AGPI du foie est très sensible à la nature et au taux des acides gras essentiels du régime (46).

Les voies de biosynthèse des acides gras polyinsaturés dans le cerveau n'ont pas été étudiées de façon si précise et si systématique dans le foie. Il apparaît, toutefois, que le cerveau soit capable d'élaborer des acides gras polyinsaturés à longues chaînes à partir du $\Delta 9.12$ (18:2) et du $\Delta 9.12.15$ (18:3). Dhopeswarkar et coll. (54, 55), après administration par voie orale d'acides linoléique et linoléique $[1-^{14}\text{C}]$, constatent que ces acides gras ont été respectivement transformés en $\Delta 5.8.11.14$ (20:4) et $\Delta 4.7.10.13.16.19$ (22:6) dans le cerveau. Selon ces auteurs, le cerveau capterait directement les précurseurs [$\Delta 9.12$ (18:2) et $\Delta 9.12.15$ (18:3)] dans la circulation sanguine.

La non nécessité du métabolisme hépatique intermédiaire a été mise en évidence par ces mêmes auteurs après administration intracrânienne

de linoléate et linoléate radioactifs (56). Ils montrent en effet que le cerveau possède tout l'équipement enzymatique nécessaire à la synthèse d'acides gras polyinsaturés à partir des acides gras essentiels.

Chez le rat en voie de développement, Cohen et Bernsohn (57) ont montré que les différents types cellulaires (neurones, astrocytes, oligodendrocytes) possédaient tous les systèmes enzymatiques nécessaires à l'élongation et la désaturation du linoléate.

La myéline, par contre, ne peut pas synthétiser les AGPI dont elle a besoin, elle les incorpore tels quels. Comme nous l'avons mentionné pour le foie, Dhopeswarkar et Subramanian (58) ont également signalé l'absence d'activité $\Delta 8$ désaturase au niveau du cerveau.

Des possibilités de rétroconversion des AGPI semblent également exister au niveau du cerveau. Elles n'ont été mentionnées que pour les produits d'élongation des acides gras essentiels c'est-à-dire pour le $\Delta 11.14$ (20:2) et le $\Delta 11.14.17$ (20:3) (58).

Les travaux de Sprecher (13) sur les microsomes de foie avaient permis de mettre en évidence une très faible activité de la $\Delta 4$ désaturase par rapport aux autres systèmes enzymatiques de désaturation dans cet organe. Par contre, les taux élevés de $\Delta 4.7.10.13.16$ (22:5) et surtout de $\Delta 4.7.10.13.16.19$ (22:6) dans le cerveau laissent supposer une activité $\Delta 4$ désaturase importante dans cet organe. Les résultats que nous présentons dans ce mémoire renforcent cette hypothèse.

La nature des acides gras polyinsaturés captés par le cerveau ainsi que leur mode de transfert à travers la barrière hématoencéphalique restent encore très confus à l'heure actuelle.

Théoriquement, il existe trois sources possibles d'acides gras polyinsaturés pour le cerveau :

- Les AGPI synthétisés "in situ" à partir des précurseurs
[Δ 9.12 (18:2) - Δ 9.12.15 (18:3)].
- Les AGPI synthétisés dans d'autres tissus et transportés
au cerveau.
- Les AGPI présents dans l'alimentation.

Bien que le cerveau possède l'équipement enzymatique pour synthétiser tous les acides gras polyinsaturés nécessaires pour couvrir ses besoins, Sinclair et Crawford (51, 59) suggèrent que le cerveau capte essentiellement les acides gras polyinsaturés à longue chaîne (20 à 22 atomes de carbone).

Ceci expliquerait peut-être également le fait que les taux d'acides linoléique et linoléique soient très faibles dans les lipides cérébraux en comparaison des lipides hépatiques.

VI - LA $\Delta 6$ DESATURASE, MODELE PROPOSE PAR BRENNER

L'existence d'une double liaison entre les carbones 9 et 10, et l'introduction d'une autre double liaison en position 6 - 7 sont des caractéristiques communes aux acides oléique, linoléique et α -linoléique. De plus, le fait que le pourcentage de désaturation augmente avec le nombre de doubles liaisons (Tableau II) a conduit l'auteur à considérer que la position 9 - 10 de la double liaison, la longueur de chaîne hydrocarbonée et les autres doubles liaisons en position 12 - 13 et 15 - 16 sont des paramètres reconnus par la $\Delta 6$ désaturase. Dans le modèle proposé, Brenner suppose d'une part que la $\Delta 6$ désaturase est identique pour toutes les familles d'acides gras insaturés (oléique, linoléique, α -linoléique) et d'autre part que l'enzyme possède une structure capable de reconnaître et de fixer les doubles liaisons de la chaîne hydrocarbonée de telle façon que les carbones 6 et 7 se placent face au "site de désaturation" de l'enzyme. De plus, le site de désaturation doit être étroitement lié à la chaîne de transporteurs d'électrons du réticulum endoplasmique puisque nous avons vu précédemment que la proximité de cette dernière était indispensable à l'activité $\Delta 6$ désaturase. La présentation de ce modèle impose enfin que la présence des doubles liaisons 12 - 13 et 15 - 16 augmente l'affinité enzyme-substrat permettant ainsi d'expliquer les résultats obtenus "in vitro" quant aux vitesses de désaturation en fonction du nombre de doubles liaisons [$\Delta 9.12.15$ (18:3) > $\Delta 9.12$ (18:2) > $\Delta 9$ (18:1)].

Le premier modèle proposé par Brenner (Figure 12) a été examiné non seulement pour l'acide linoléique et l'acide α -linoléique, mais

TABLEAU II

DESATURATION OXYDATIVE DES ACIDES GRAS CIS ET TRANS
(selon BRENNER)

Acides gras	Position de la nouvelle double liaison	% Conversion
16:0	9 - 10	50,0
18:0	9 - 10	32,1
cis 18:1 n-9	6 - 7	6,0
trans 18:1 n-9	-	0
cis 18:2 n-6	6 - 7	13,7
all trans 18:2 n-6	-	0
cis 18:3 n-3	6 - 7	39,7

Les mesures sont effectuées à partir de microsomes de foie de rat incubés 20 mn avec 10 nmoles d'acide gras $1^{14}C$.



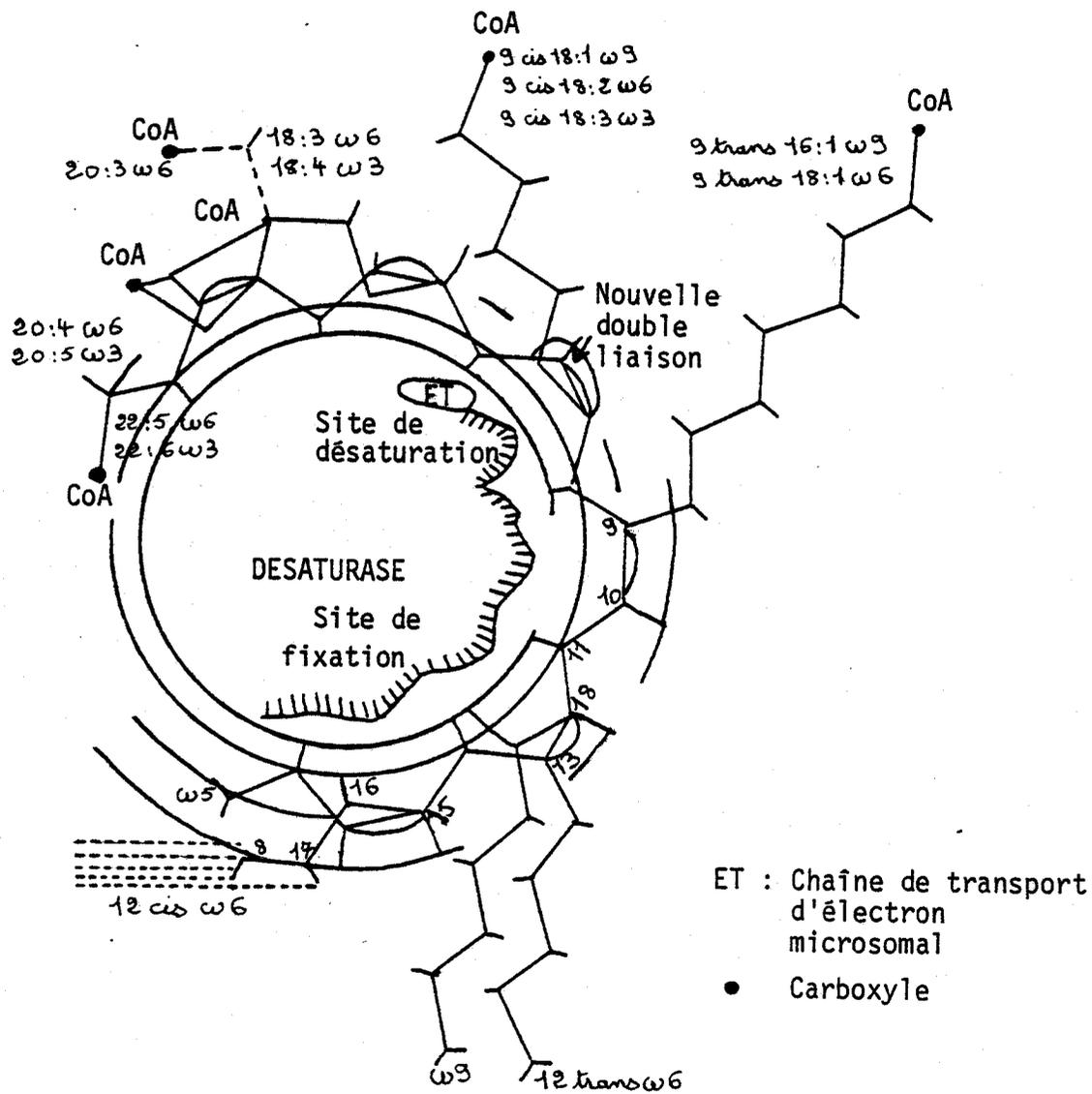


Figure 12

PROPOSITION D'UN SCHEMA CONCERNANT LES SITES DE FIXATION
ET DE DESATURATION DE LA Δ6 DESATURASE



également pour la plupart des homologues supérieurs de ces deux séries tels le Δ 8.11.14 (20:3), le Δ 4.7.10.13.16 (22:5) et le Δ 4.7.10.13.16.19 (22:6). Dans les travaux précédemment rapportés, nous avons vu que ces acides gras longs et polyinsaturés inhibaient la Δ 6 désaturase. Or le modèle proposé est en accord avec ces résultats puisqu'ils recouvrent tout ou partie du site de désaturation.

Dans le second modèle proposé par Brenner (Figure 13) c'est la double liaison la plus proche du groupement carboxyle qui est reconnue par le site de désaturation. Cette position correspondant d'ailleurs aux carbones 9 et 10 de l'acide oléique. La structure du second modèle implique obligatoirement que ce soit le même système enzymatique qui désature tous les acides gras polyinsaturés à 18, 20 et 22 atomes de carbone, or ceci n'a jamais été montré. De plus, le fait que l'acide linoléique diminue le taux de désaturation du Δ 8.11.14 (20:3) n'apporte pas d'éléments complémentaires dans le choix de l'un ou l'autre des modèles. De même, le fait que d'une part, le Δ 4.7.10.13.16 (22:5) inhibe la désaturation de l'acide linoléique et que d'autre part, le Δ 4.7.10.13.16.19 (22:6) soit un inhibiteur plus puissant que le Δ 4.7.10.13.16 (22:5) de la désaturation de l'acide α -linoléique ne permet pas plus d'argumenter en faveur de l'une ou l'autre des hypothèses.

Par contre, le premier modèle (Figure 12) présente un avantage certain pour interpréter le comportement métabolique des acides gras *trans*. D'après le schéma proposé, que la double liaison 9 - 10 de l'acide gras ait une configuration *cis* ou *trans* elle peut être liée au site de fixation.

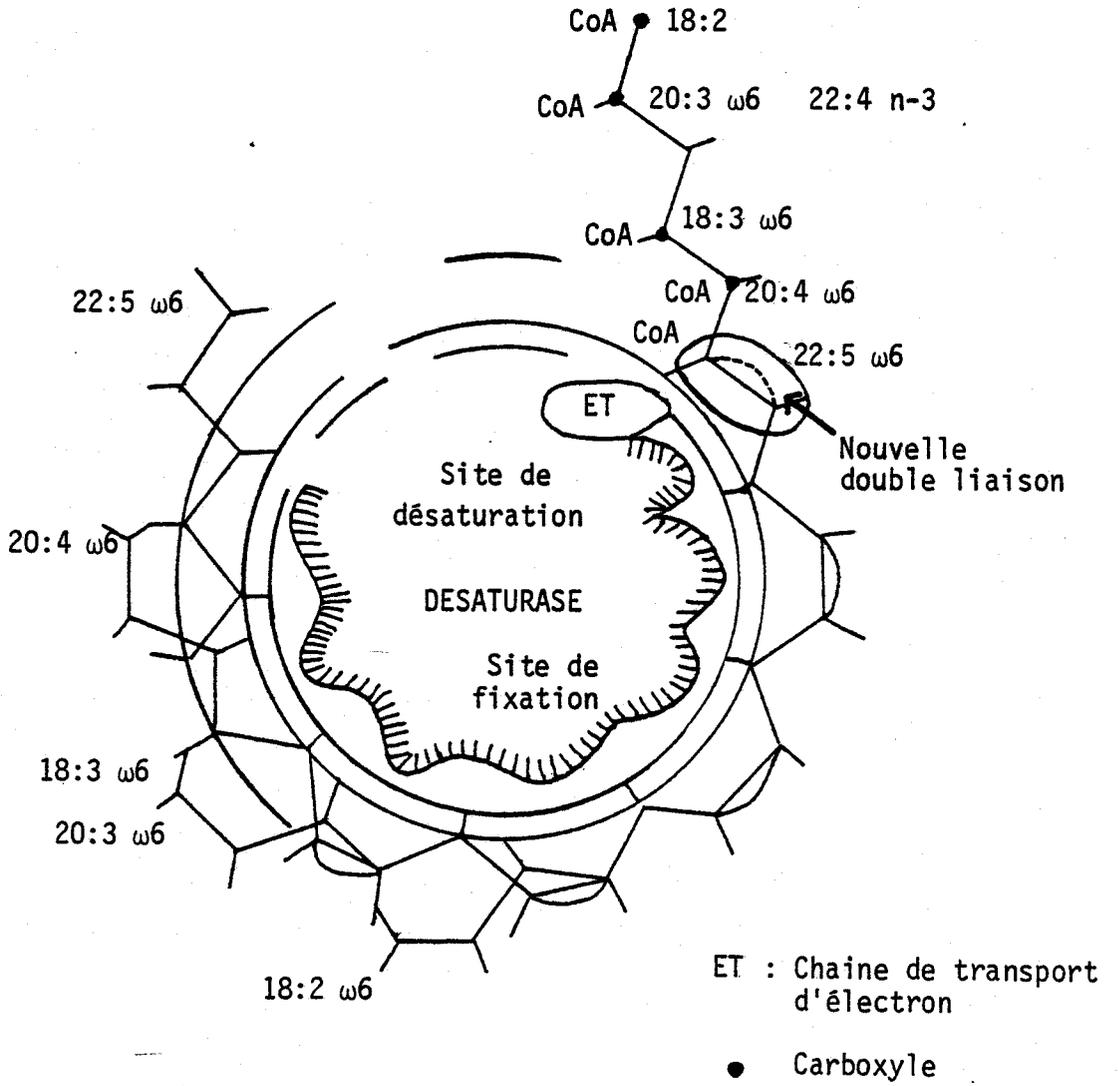


Figure 13

DIFFERENTES POSSIBILITES DE LIAISON DES ACIDES GRAS
POLYINSATURES DE LA SERIE LINOLEIQUE AVEC LA Δ6 DESATURASE



Dans le cas d'une configuration *cis*, la liaison 6 - 7 se trouve à proximité du site de désaturation et l'acide gras peut donc être désaturé en $\Delta 6$, par contre, dans le cas d'une configuration *trans* la liaison 6 - 7 est trop éloignée du site de désaturation. Il est ainsi possible d'expliquer :

- que l'acide élaïdique [$\Delta 9$ *trans* (18:1)] soit très difficilement désaturable ;
- que les acides $\Delta 9$ *trans* - 12 *trans* et 9 *trans* 12 *cis* (18:2) ne soient pas désaturés en $\Delta 6$ alors que le $\Delta 9$ *cis* 12 *trans* puisse l'être.

La structure attribuée à la $\Delta 6$ désaturase permet également de prévoir que les acides gras saturés n'auront probablement que peu ou pas d'effet sur cette activité enzymatique.

A l'heure actuelle, ce modèle qui n'a pas été infirmé reste encore valable, toutefois il n'apporte aucune précision sur l'identité de la structure lipoprotéinique probable de ce ou ces complexes enzymatiques.

B - FONCTIONS DES ACIDES GRAS ESSENTIELS

I - MEMBRANES BIOLOGIQUES ET ACIDES GRAS POLYINSATURES

Comme nous l'avons déjà vu, les lipides n'ont pas seulement un rôle énergétique, ce sont des éléments permanents de la structure cellulaire : constituants de l'enveloppe cellulaire (membrane cytoplasmique) ou de l'enveloppe d'organites subcellulaires (mitochondries, réticulum endoplasmique, etc...). A côté des lipides neutres, cholestérol et esters de cholestérol, on y trouve surtout des lipides complexes polaires : les glycérophospholipides et les sphingolipides.

L'utilisation de différentes phospholipases a permis de montrer que la position 2 des glycérophospholipides est préférentiellement occupée par des acides gras polyinsaturés à longue chaîne.

L'arrangement respectif de ces molécules lipidiques et des protéines dans les membranes a donné lieu à de nombreuses hypothèses basées essentiellement sur les propriétés physicochimiques des molécules constituantes. Ces membranes portent des activités enzymatiques différentes et ont aussi pour rôle essentiel de filtrer sélectivement les ions ou les métabolites entre le milieu intérieur et le milieu extérieur.

Les propriétés physicochimiques des phospholipides sont à la base d'un modèle membranaire élaboré il y a environ 30 ans. Dans ce modèle, l'essentiel de la structure membranaire se présente sous la forme d'un feuillet bimoléculaire dans lequel les chaînes d'acides gras constituent le milieu interne hydrophobe pouvant fixer le cholestérol et ses esters, et où les têtes polaires de chaque phospholipide sont dirigées vers le milieu aqueux à l'intérieur et à l'extérieur de la membrane. Ces têtes polaires peuvent s'associer par des liaisons ioniques aux protéines situées de part et d'autre de ce feuillet (modèle de Danielli et Davson). Mais un tel modèle ne rend pas compte des propriétés de perméabilité de la membrane à des molécules hydrophiles par exemple ; il ne tient pas compte non plus de l'existence de régions particulièrement hydrophobes, c'est-à-dire ayant une certaine affinité pour les chaînes d'acides gras. On a donc été amené à envisager une structure un peu différente, en *mosaïque* comportant, outre un feuillet bimoléculaire, un assez grand nombre de zones dans lesquelles les protéines sont beaucoup plus engagées à l'intérieur du feuillet, pouvant ainsi constituer des complexes lipoprotéiques fonctionnels responsables des phénomènes de transport (Figure 14 a et b).

De plus, un tel modèle met l'accent sur la fluidité de ces membranes qui, au lieu d'être figées, sont dans un état d'équilibre thermodynamique tel que toute perturbation physique ou chimique peut entraîner une redistribution des constituants. Des corrélations entre transport actif des solutés et structures des lipides ont pu être établies. Le passage des lipides de l'état désordonné à l'état ordonné se traduit par une agrégation

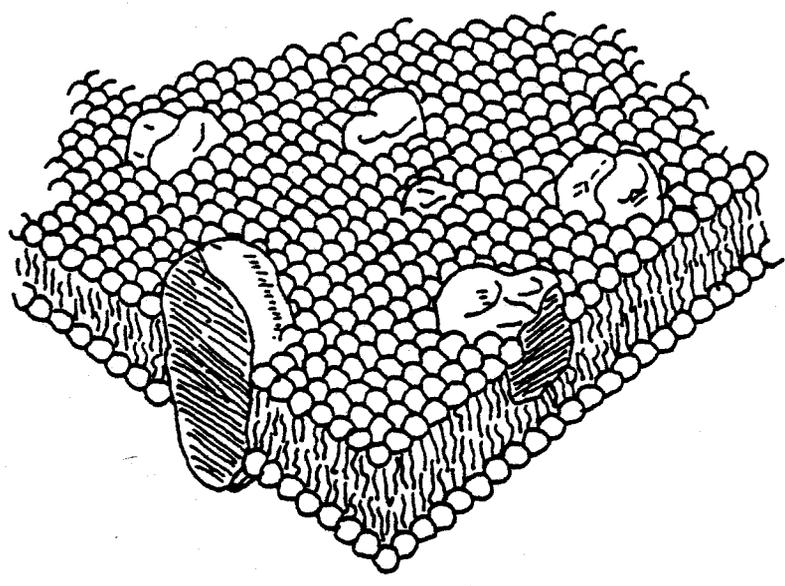


Figure 14 a

Le modèle en mosaïque : fluide de Singer. On y a figuré les protéines globulaires et les lipides avec leur tête polaire (cercle blanc) et leurs chaînes hydrophobes.

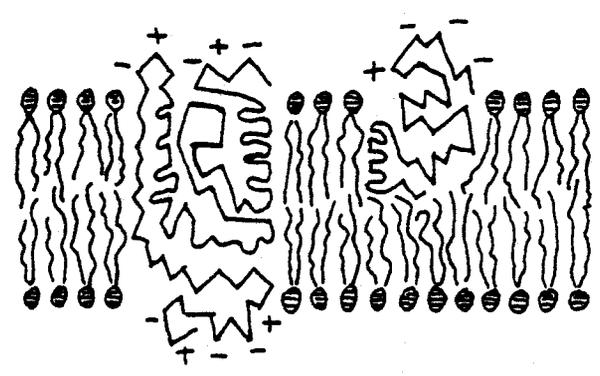


Figure 14 b

Coupe transversale schématique représentant le modèle en mosaïque lipoprotéique d'une structure membranaire. (S.J. Singer et Garth L. Nicolson, The fluid mosaïc model of the structure of cell membranes, Science, p. 722-723).



protéique plus ou moins prononcée suivant la nature des acides gras insaturés. Des transitions conformationnelles ordre-désordre, associées aux chaînes hydrocarbonées lipidiques et induites par la température sont mises en évidence dans les membranes par diffraction des rayons X et microcalorimétrie différentielle. Les caractéristiques et la complexité de ces transitions dépend de la nature des acides gras insaturés.

Le renouvellement des acides gras polyinsaturés des membranes cellulaires peut s'effectuer par trois mécanismes distincts :

- Synthèse "*de novo*" à partir des AGE : cette synthèse a lieu essentiellement dans le réticulum endoplasmique. Les phospholipides ainsi synthétisés sont exportés vers les autres structures subcellulaires, soit par l'intermédiaire de protéines de transport, soit par diffusion latérale à travers les systèmes membranaires.
- Remodelage des phospholipides qui intéresse soit la tête polaire, soit la chaîne hydrocarbonée. La première voie implique des mécanismes de trans-méthylation (interconversion PE → PC), de décarboxylation (PS → PE) ou d'échanges de base (éthanolamine, sérine). Le second mécanisme encore dénommé cycle déacylation-réacylation implique trois systèmes enzymatiques : phospholipase A1 ou A2, acyl-CoA synthétase, acyl-CoA, lysophospholipides acyl-transférases. Ce second mécanisme est localisé sur le versant interne des membranes du réticulum endoplasmique et des mitochondries.

- Echange avec les lipoprotéines plasmatiques : les phospholipides ainsi captés sont transportés sur le versant interne par un mécanisme de *flip-flop*.

Tous ces mécanismes sont impliqués dans la régulation des fonctions membranaires : libération des acides gras précurseurs des prostaglandines et des thromboxanes, modulation des fonctions membranaires par l'intermédiaire de variations de l'état physique : fluidité, ségrégation de phase et enfin maintien de l'asymétrie de la bicouche.

La nature et le taux d'insaturation des acides gras membranaires sont des facteurs déterminants pour assurer une fonction correcte de la cellule en maintenant une fluidité optimale de la membrane.

Haefner et Privett (60) ont rapporté que, d'une manière générale, le niveau de transfert des ions, mesuré par le gonflement des mitochondries de foie, est inférieur chez des animaux carencés en acides gras essentiels.

Après isolement de lécithines d'oeufs, de foies de poissons, de foies de rats carencés ou non en acides gras essentiels, Moore et coll. (61) réalisent des vésicules phospholipidiques dont ils étudient le comportement. Dans les conditions utilisées, les particules phospholipidiques s'ordonnent spontanément en sphères concentriques formées d'une bicouche de phospholipides semblable à celle des membranes biologiques. A 25° C, les "membranes" de lécithine des rats carencés sont plus perméables aux ions Na⁺ que celles

obtenues à partir d'animaux dont le régime est équilibré. Chez ces derniers, la répartition des acides gras des phospholipides est respectivement de 43,6 % pour les acides en n-6 et 2,3 % pour la famille n-3 contre 4,5 % et 1 % dans les lécithines obtenues à partir d'animaux carencés.

Pour Seiler et Masselbach (62), la baisse du taux des acides gras en n-6 et l'élévation des n-9 en relation avec une carence en acides gras essentiels induisent une diminution de la perméabilité membranaire aux ions calcium. Cette observation a été réalisée sur des vésicules sarcoplasmiques extraites à partir de muscles de rats recevant une alimentation carencée ou non en acides gras essentiels de la série n-6.

II - SYNTHÈSE DES PROSTAGLANDINES

Le rôle fondamental des acides gras essentiels [Δ 9.12 (18:2) et Δ 9.12.15 (18:3)] dans la synthèse des prostaglandines a été parfaitement démontré par les travaux de Van Dorp et coll. (63) et de Bergstrom et coll. (64).

1) Classification des prostaglandines (PG)

Toutes les prostaglandines dérivent d'un acide gras théorique à 20 atomes de carbone possédant un cycle pentagonal et deux chaînes aliphatiques latérales.

Les PG se différencient entre elles d'une part par le cycle pentagonal permettant ainsi de définir six classes de PG : A, B, C, D, E, F et d'autre part par la nature des chaînes latérales qui permet d'individualiser trois familles de prostaglandines (séries 1, 2 et 3).

Le Δ 8.11.14 (20:3) est le précurseur des composés de la série 1, le Δ 5.8.11.14 (20:4) de la série 2 et le Δ 5.8.11.14.17 (20:5) de la série 3. La famille des acides gras en n-6 renferme donc les précurseurs des prostaglandines de série 1 et 2 alors que la famille des n-3 induit la synthèse des composés de la série 3.

Récemment, de nouvelles prostaglandines : les prostacyclines (PGI) et des composés dérivant des prostaglandines ont été mis en évidence : les thromboxanes (TX).

2) Biosynthèse des prostaglandines (Figure 15)

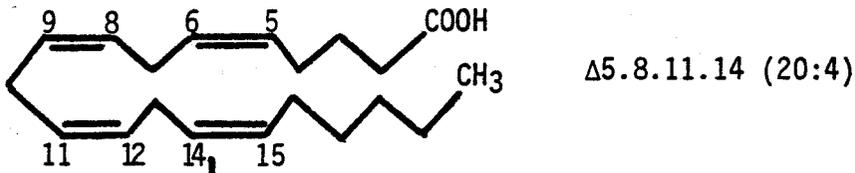
Les PG sont synthétisées dans de très nombreux organes et tissus et donc généralement utilisées sur place par la cellule où elles sont synthétisées, ou par les cellules voisines.

Les acides gras précurseurs à 20 atomes de carbone ne sont pas sous forme libre, mais incorporés en position 2 dans les phospholipides membranaires d'où ils doivent être libérés. Deux mécanismes peuvent être envisagés :

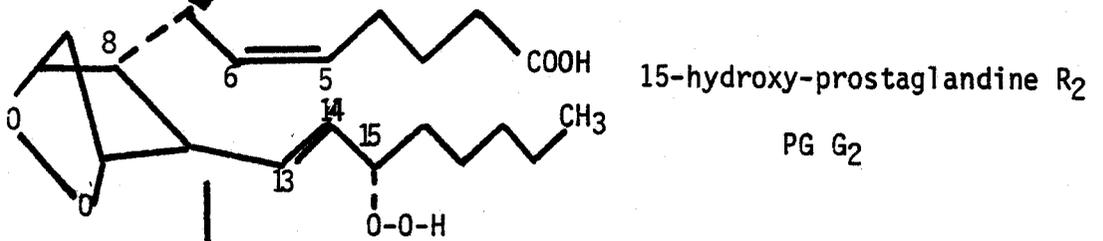
PL membranaires

Phospholipase A₂

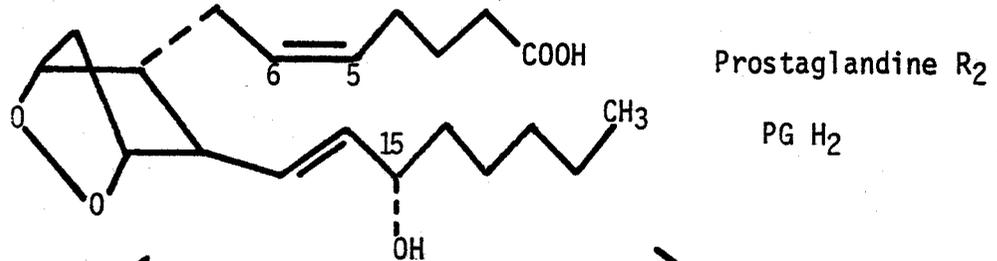
2 Lysophospholipides + Acides gras précurseurs
[Ex : $\Delta 5.8.11.14$ (20:4)]



PG Synthétase
Activité cyclo-oxygénase



PG Synthétase
Activité peroxydase



isomérase

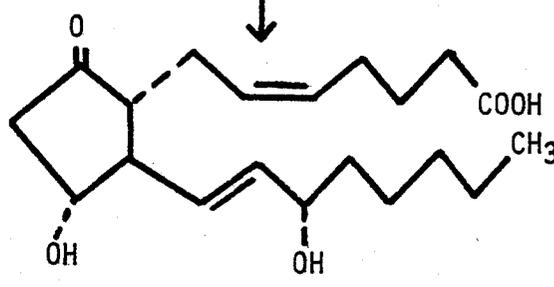
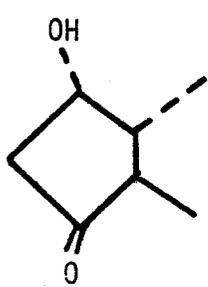
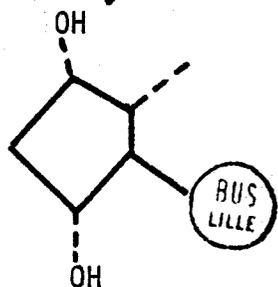


Figure 15

Isomérase



Réductase



BIOSYNTHESE DES PROSTAGLANDINES

BUS LILLE

- a) Hydrolyse de la liaison ester en position 2 par une phospholipase A₂ conduisant à la libération de l'acide gras et d'un lysophospholipide.
- b) Par action d'une phospholipase C, il y aurait, dans un premier temps, formation d'un diglycérade qui, par action ultérieure d'une lipase, libérerait l'acide gras fixé en position 2 et un monoglycérade.

Sous l'action d'un complexe enzymatique lié à la membrane, appelé PG-synthétase, le Δ 5.8.11.14 (20:4) par exemple, va fixer deux molécules d'oxygène (activité cyclo-oxygénase) pour former un endoperoxyde en 9, 11 et un hydroperoxyde en 15. La cyclisation entre les carbones 8 et 12 aboutit à la perte de deux doubles liaisons (Δ 8, 9 et Δ 11, 12). On obtient alors la 15-hydroperoxy-prostaglandine R₂ ou PGG₂.

Après réduction de la fonction 15-hydroperoxyde sous l'action de la PG synthétase (activité peroxydase) et du glutathion, "in vitro" tout au moins, on obtient la prostaglandine R₂ ou PGH₂.

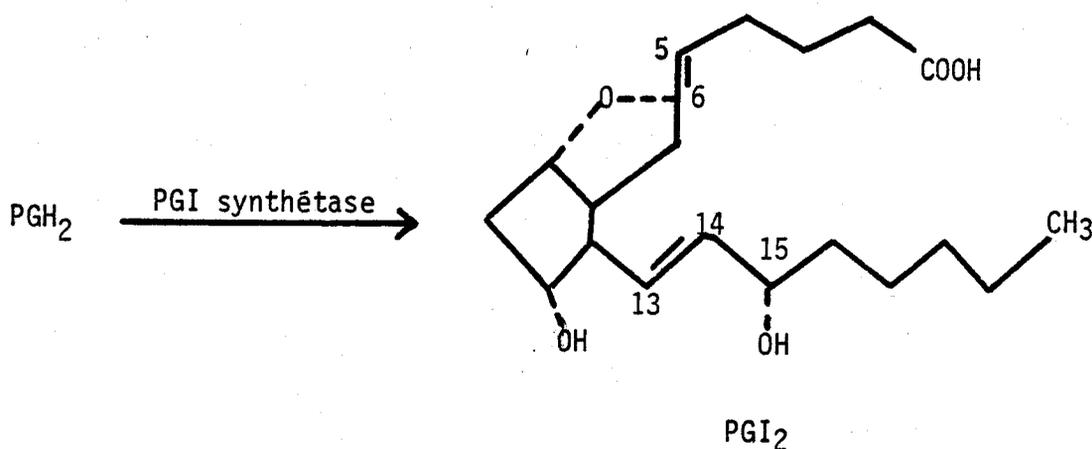
Les destinées de la PGH₂ sont multiples (Figure 15) :

- une réductase tissulaire peut transformer PGH₂ en PGF₂ α ,
- une isomérase tissulaire donne PGE₂,
- une isomérase sérique peut conduire à la formation de PGD₂.

Nous venons de voir la synthèse de la PGE₂ et autres, à partir du Δ 5.8.11.14 (20:4), les mécanismes sont semblables dans le cas de la PGE₁ et autres, à partir du Δ 8.11.14 (20:3) et de la PGE₃ et autres, à partir du Δ 5.8.11.14.17 (20:5).

Dans certains tissus (rein, par exemple), la PGE₂ peut se transformer en PGA₂ par perte d'une molécule d'eau. La PGA₂ s'isomérisse en un composé instable PGC₂ s'isomérisant lui-même très rapidement en PGB₂ (Figure 16). Ces deux derniers composés n'ont d'ailleurs aucun rôle physiologique.

La synthèse de PGI₂ à partir de PGH₂ se fait par l'intermédiaire de la prostacycline-synthétase très active notamment dans l'endothélium des veines et des artères.



La synthèse du thromboxane s'effectue également à partir d'une thromboxane-synthétase très active dans les plaquettes sanguines, le poumon, les polynucléaires et la rate.

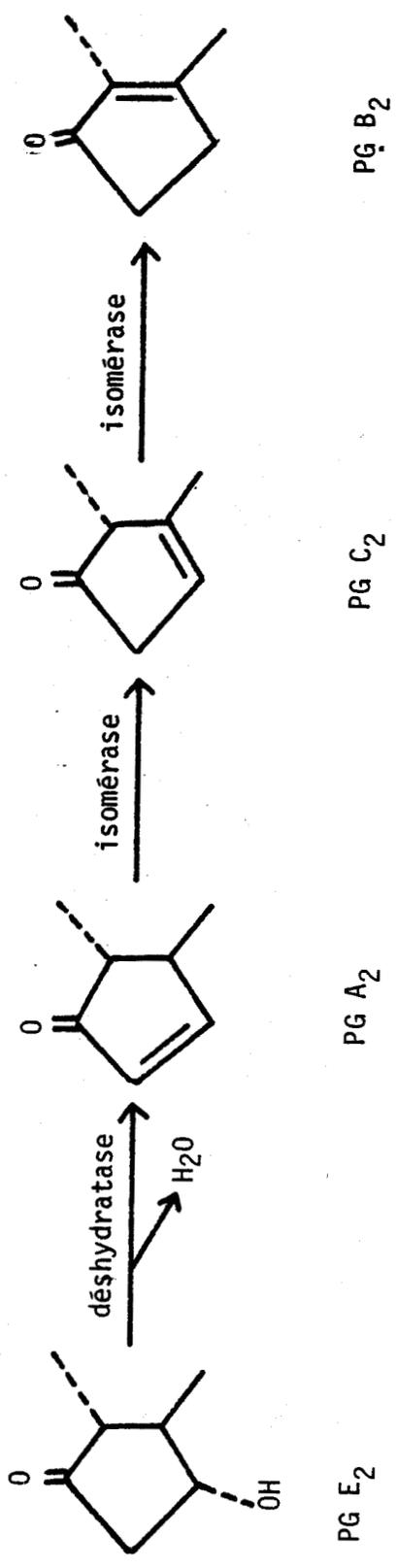
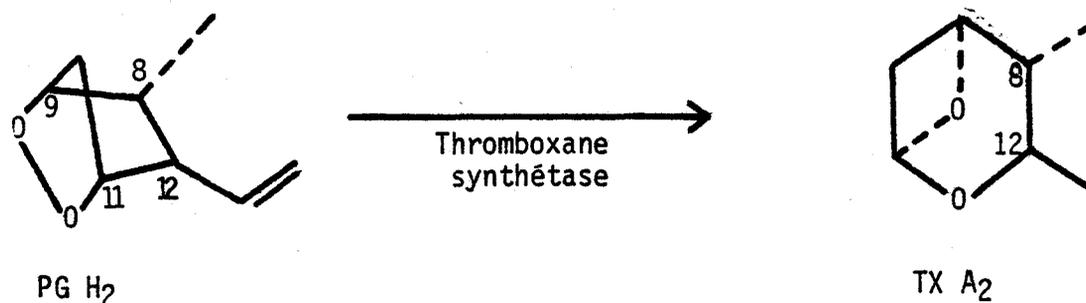


Figure 16

SYNTHÈSE DES COMPOSES A - C - B A PARTIR DE PG E₂





Il ne semble pas exister de spécificité du complexe enzymatique (PG synthétase) pour les différents précurseurs. La prédominance des PG de la série 2 est liée au fait que le Δ 5.8.11.14 (20:4) est quantitativement le plus important. Si l'on considère que d'une part, le taux de Δ 5.8.11.14.17 (20:5) est faible dans les phospholipides membranaires et que d'autre part, cet acide semble un substrat peu recherché par la PG-synthétase, on peut expliquer le fait que la série 3 soit mineure. Une exception a cependant été signalée, il s'agit des Esquimaux du Groenland chez qui cette série 3 devient prépondérante du moins en ce qui concerne le thromboxane A₃ et la prostacycline PGI₃. Ce phénomène peut s'expliquer par une alimentation très riche en poisson dont les lipides renferment des teneurs élevées en Δ 5.8.11.14.17 (20:5).

Par ses études sur la teneur en prostaglandines de la médullo-surrénale du lapin normal ou carencé en AGE, Van Dorp (65) montre que la carence en AGE est associée à une diminution du taux de prostaglandines. Cette diminution semble très probablement liée à une chute du taux de précurseurs disponibles.

3) Activités biologiques des prostaglandines

Compte tenu d'une part, de la très grande diversité des travaux effectués dans ce domaine et d'autre part, des variations d'activité selon les espèces, ou les tissus pour une même espèce, il est encore très difficile à l'heure actuelle de classer avec précision les différentes propriétés biologiques des prostaglandines.

Il semble toutefois que l'on puisse admettre que les PG agissent généralement par le biais de l'AMP cyclique en modulant le niveau d'activité de l'adényl-cyclase et de l'ATPase. L'effet pouvant être activateur (66) ou inhibiteur (67). De ce fait, on peut ainsi les considérer comme des modulateurs de l'action de diverses hormones dont le médiateur est ce même AMP_c.

Les PG interviennent dans de très nombreuses fonctions physiologiques :

- . l'homéostasie,
- . la reproduction,
- . la digestion,
- . la lipolyse dans le tissu adipeux,
- . la respiration,
- . l'inflammation aiguë ou chronique,
- . l'hypertension,
- . la neurotransmission adrénérgique.

Cette liste n'étant pas exhaustive, nous nous limiterons à l'étude de quelques fonctions.

a) Prostaglandines et reproduction

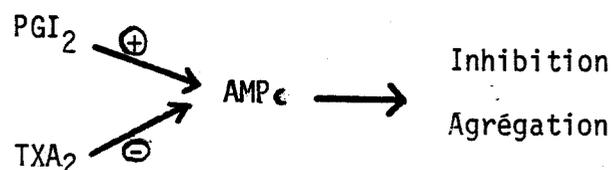
Durant le cycle menstruel, la sécrétion des prostaglandines stimulerait les contractions myométriales favorisant la dégénérescence et la desquamation de l'endomètre. Pendant l'accouchement, les prostaglandines jouent un rôle important dans le déclenchement du travail en favorisant les contractions utérines.

b) Pression sanguine et homéostasie

Après perfusion de PGE_1 chez l'Homme pendant 10 minutes, Bergstrom et coll. (68) observent une chute des pressions systolique et diastolique et une accélération du rythme cardiaque.

On peut admettre globalement que les composés du groupe E sont vasodilatateurs alors que les composés de la série F seraient, pour la plupart, vasoconstricteurs (ceci n'est toutefois pas confirmé pour toutes les espèces).

Le thromboxane A_2 , puissant vasoconstricteur, est un puissant inducteur de l'agrégation plaquettaire, tandis que la prostacycline I_2 a une action vasodilatatrice et inhibe l'agrégation plaquettaire.



c) Prostaglandines et neurotransmission

Les PGE ont des effets importants sur la neurotransmission adrénergique. Au niveau présynaptique, les PGE semblent presque toujours inhibitrices, avec réduction de la libération de noradrénaline. Au niveau postsynaptique, l'effet peut être soit stimulant, soit inhibiteur selon le tissu considéré.

III - MODIFICATIONS DE LA REPARTITION DES AGPI PENDANT LA GESTATION ET LA LACTATION

1) Rôle du placenta dans le transport des AGPI

Le foetus comme l'adulte est incapable de synthétiser des acides gras longs et polyinsaturés sans apport exogène d'acides gras essentiels. L'intensité du métabolisme lipidique placentaire d'une part, et la nature des échanges entre le sang maternel et le sang du cordon d'autre part, sont déterminants dans l'apport nutritionnel d'acides gras au foetus.

Globalement, la gestation s'accompagne d'une élévation du taux de lipides plasmatiques chez la mère, cette lipidémie maternelle étant toujours supérieure à celle de l'enfant. Par contre, la répartition des acides gras polyinsaturés est différente de part et d'autre de la barrière placentaire. Le plasma foetal de nombreuses espèces se caractérise par des taux

plus élevés d'acides gras polyinsaturés, tel le Δ 5.8.11.14 (20:4), que le plasma maternel. Inversement la teneur en Δ 9.12 (18:2) est deux fois plus grande dans le sang maternel (Figure 17) (69).

L'augmentation de la concentration en acides gras polyéniques dérivant du Δ 9.12 (18:2) et du Δ 9.12.15 (18:3) dans le sang foetal peut être soit la manifestation d'une captation sélective des acides gras polyinsaturés à partir de la circulation maternelle et de leur transport dans la circulation foetale soit le résultat d'une stimulation des processus d'élongation-désaturation dans le placenta ou le foetus.

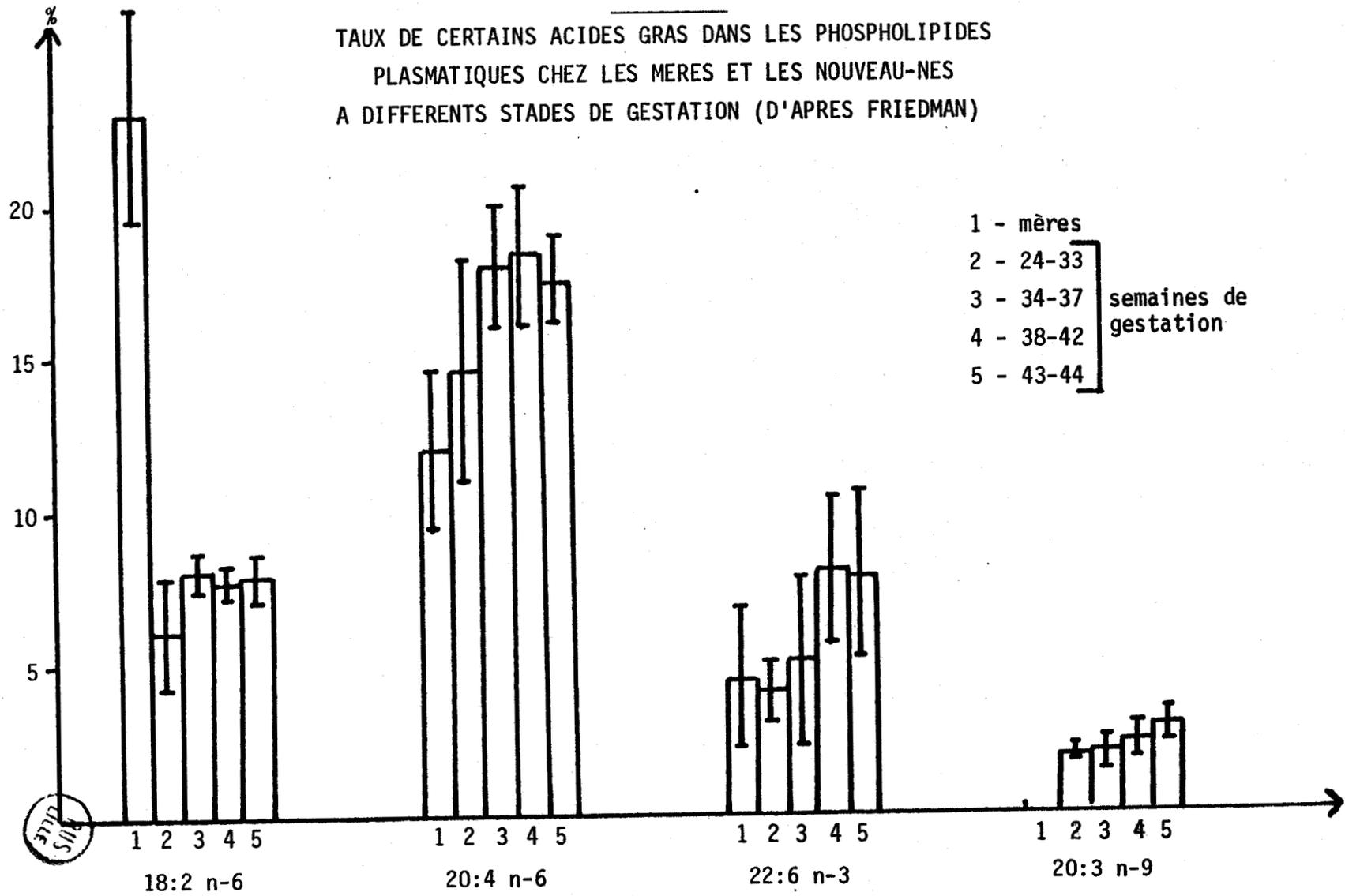
Une plus grande vitesse de transfert placentaire du Δ 5.8.11.14 (20:4) par rapport au Δ 9.12 (18:2) a été mise en évidence chez le rat (70).

Au cours de l'étude des complexes enzymatiques de désaturation des acides gras essentiels, nous avons mentionné les travaux de Cook (49) mettant en évidence une très forte activité Δ 6 désaturase en période prénatale chez le rat. L'activité spécifique de la Δ 5 désaturase, par contre, ne semblait subir aucune variation importante pendant cette même période.

Selon Zimmerman et coll. (71), le placenta humain semble être très dépendant du taux de Δ 5.8.11.14 (20:4) maternel.

Figure 17

TAUX DE CERTAINS ACIDES GRAS DANS LES PHOSPHOLIPIDES
PLASMATIQUES CHEZ LES MERES ET LES NOUVEAU-NES
A DIFFERENTS STADES DE GESTATION (D'APRES FRIEDMAN)



2) Influence du taux et de la nature des acides gras du régime alimentaire maternel

La nature et le taux des acides gras essentiels apportés à la mère pendant les périodes de gestation et de lactation n'ont que peu ou pas d'incidence sur le poids des organes, la teneur en triglycérides ou en phospholipides des différents tissus du raton. Les modifications les plus importantes sont observées au niveau de la répartition des acides gras dans les phospholipides. Globalement on peut considérer qu'un régime carencé en AGE induit, au niveau des phospholipides tissulaires, une augmentation d'acide oléique [Δ 9 (18:1)], une chute des acides gras polyinsaturés en n-6 et n-3 et une accumulation de Δ 5.8.11 (20:3). Chez les rats recevant une alimentation carencée en AGE, le Δ 5.8.11 (20:3) peut représenter jusqu'à 20 % des acides gras totaux des phospholipides hépatiques. La corrélation entre l'apparition de Δ 5.8.11 (20:3) et les états de carence en acides gras essentiels, a conduit Holman (72) à proposer le rapport triène [Δ 5.8.11 (20:3)]/tétraène [Δ 5.8.11.14 (20:4)] des lipides tissulaires comme index de déficience en acides gras essentiels. Ce rapport doit être inférieur ou égal à 0,4. Sun et coll. (73) ont montré que ces modifications de répartition des acides gras après un régime carencé en AGE étaient réversibles lorsqu'une alimentation équilibrée était de nouveau apportée aux animaux. Toutefois, le retour à la normale dépend de l'âge mais également de la fraction phospholipidique considérée. Dans l'expérimentation de Sun et coll., la demi-vie des acides gras en n-9 est respectivement de 3 et 10 jours dans les microsomes et les synaptosomes de cerveau de souris en cours de

développement. Par contre, chez l'adulte, il faudra respectivement 10 et 22 jours pour que la moitié du Δ 5.8.11 (20:3) présent disparaisse dans les mêmes fractions subcellulaires du cerveau. La vitesse de disparition de cet acide gras dépend également de la classe de phospholipides : le Δ 5.8.11 (20:3) présent dans le phosphatidyl-inositol après un régime carencé en AGE disparaît plus rapidement que dans les autres phospholipides après réalimentation.

IV - MODIFICATIONS DE LA REPARTITION DES ACIDES GRAS ESSENTIELS AU COURS DE L'ALIMENTATION PARENTERALE

Chez des enfants soumis à une alimentation parentérale lipido-prive, se développent très rapidement les signes cliniques et biochimiques d'une carence en acides gras essentiels (74, 75). Compte tenu des faibles réserves du tissu adipeux de l'enfant en acides gras essentiels, l'apparition d'une rapide carence en AGE lors d'une alimentation dépourvue de lipides est inévitable. On pourrait par contre penser que l'apport d'émulsions lipidiques riches en Δ 9.12 (18:2) corrige ces troubles. Or, nous avons montré au cours de travaux antérieurs que l'administration parentérale d'émulsions lipidiques riches en Δ 9.12 (18:2) induisait une chute des acides gras polyinsaturés [Δ 5.8.11.14 (20:4) et Δ 4.7.10.13.16.19 (22:6)] au niveau tissulaire chez le mini-porc (76, 77, 78). Cette chute des AGPI n'était en aucune façon liée à un déficit d'apport global en Δ 9.12 (18:2) puisque le taux de cet acide gras augmentait dans les lipides tissulaires. Les résultats obtenus seront exposés et commentés dans la seconde partie de ce mémoire.

Ces observations ne sont pas spécifiques à l'espèce animale utilisée dans ces expérimentations puisque Friedman et Frolich (79) ont confirmé ces résultats chez l'enfant recevant de l'Intralipid par voie intraveineuse (Figure 18). Cette diminution du taux de Δ 5.8.11.14 (20:4) est corrélée avec une chute de l'excrétion urinaire des catabolites des prostaglandines des séries 1 et 2. Le taux d'excrétion de ces catabolites, après administration d'Intralipid, est identique aux taux trouvés chez les enfants recevant une alimentation lipidoprive.

Les applications cutanées d'esters de Δ 9.12 (18:2) et de Δ 5.8.11.14 (20:4) ou d'huile de tournesol réduisent les pertes d'eau épidermique chez le rat carencé et corrigent les perturbations lipidiques de la peau chez l'Homme (80). Friedman et coll. (81) ont montré que l'application cutanée d'huile de tournesol chez des nouveaux-nés carencés en AGE restaurait la répartition des AGPI dans les phospholipides et augmentait la biosynthèse de prostaglandine E (Tableau III, Figure 19).

Cette thérapeutique basée sur l'application cutanée d'huile riche en AGE reste toutefois très controversée et de plus, il est quasi impossible de définir le taux exact d'absorption dermique de Δ 9.12 (18:2).

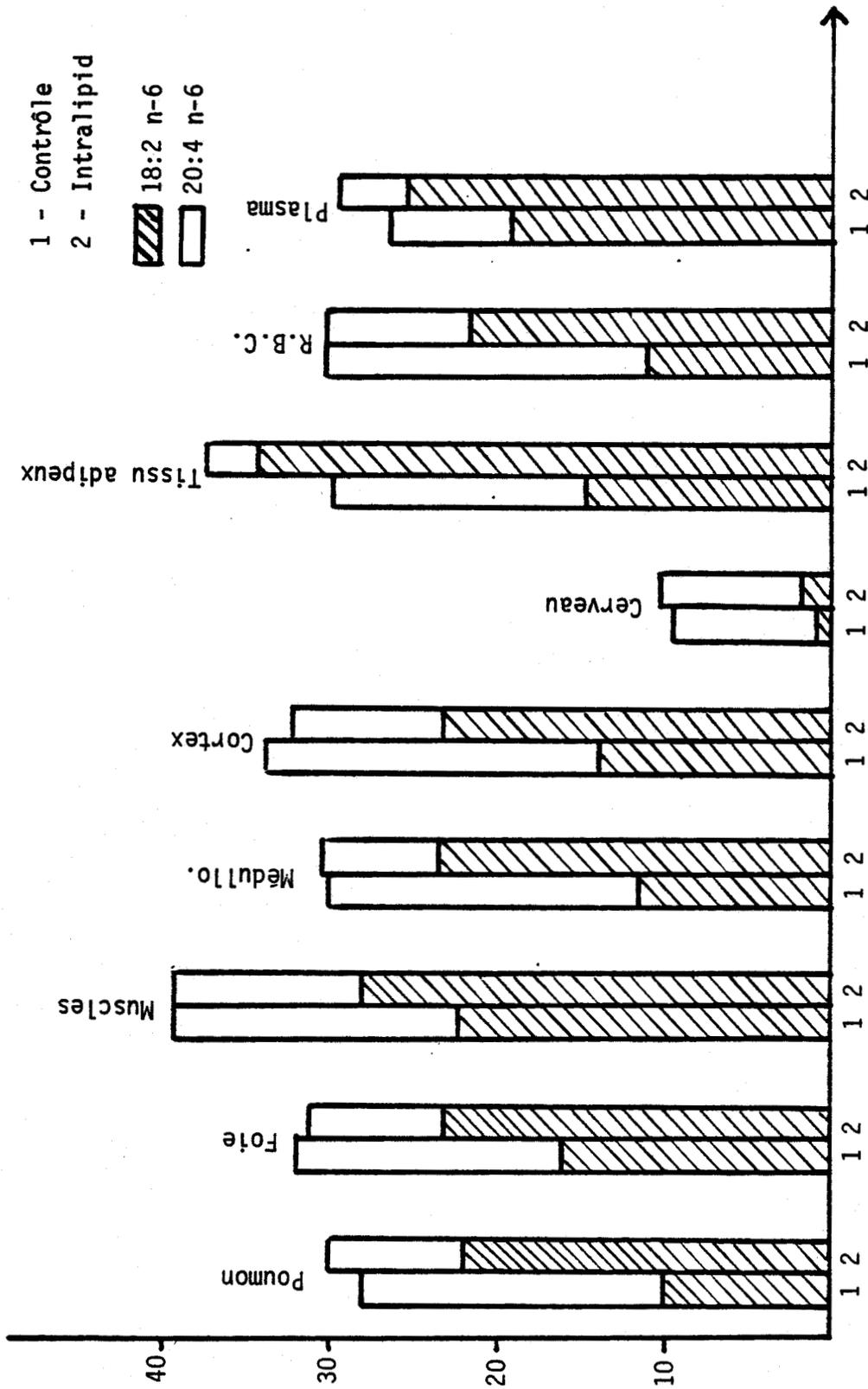


Figure 18

COMPOSITION EN ACIDES GRAS DES PHOSPHOLIPIDES CHEZ LES ENFANTS RECEVANT DE L'INTRALIPID ET CHEZ LES ENFANTS TEMOINS (D'APRES FRIEDMAN ET FROLICH)



TABLEAU III

REPARTITION DES ACIDES GRAS DANS LES PHOSPHOLIPIDES PLASMATIQUES
CHEZ LES PATIENTS DEFICIENTS EN A.G.E. APRES SUPPLEMENTATION
PAR RAPPORT AUX SUJETS TEMOINS

ACIDES GRAS	P A T I E N T S		
	A.G.E. déficients	Après supplémentation	Témoins
16:0	33,0 ± 0,4	30,9 ± 3,2	33,6 ± 5,4
16:1	7,1 ± 0,2	6,2 ± 0,4	0,8 ± 0,4
18:0	9,3 ± 1,8	11,9 ± 2,3	11,8 ± 3,2
18:1 n-9	27,9 ± 0,4	12,8 ± 1,0	15,4 ± 4,9
18:2 n-6	2,8 ± 1,9	12,5 ± 3,5	12,6 ± 3,8
20:3 n-9	11,4 ± 0,9	0,1 ± 0,1	N D
20:3 n-6	N D ³	2,2 ± 1,7	2,8 ± 0,7
20:4 n-6	4,2 ± 2,2	16,0 ± 1,1	14,6 ± 4,2
H.F.A. ⁴	4,0 ± 0,4	2,7 ± 0,4	6,4 ± 2,5

3 - Taux non détectable

4 - Acides gras longs avec un nombre de carbone > 20



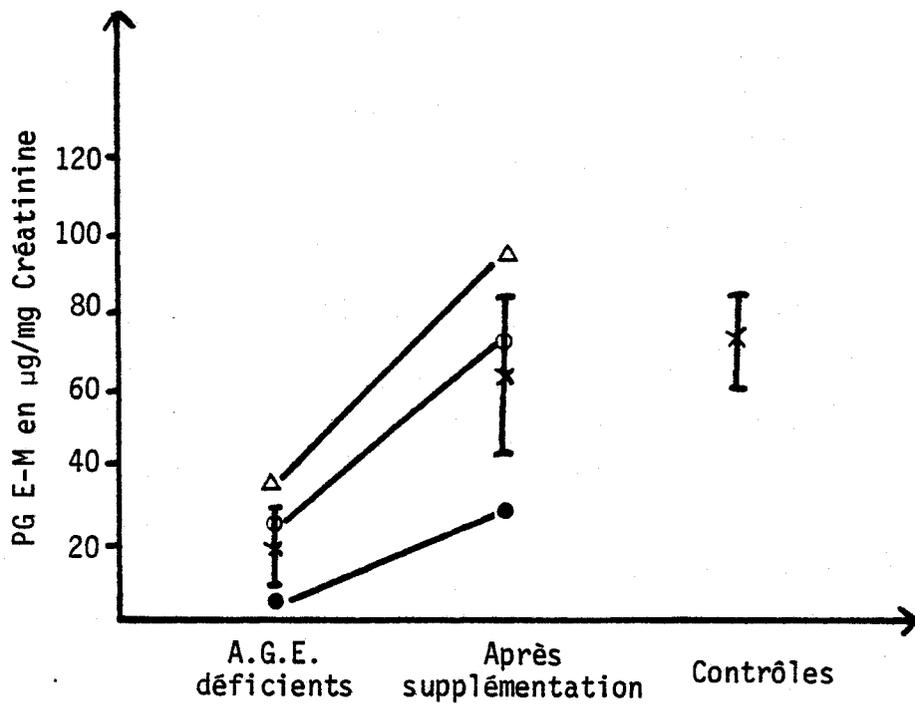


Figure 19

COMPARAISON DE L'EXCRETION URINAIRE DE PG E-M
ENTRE LES ENFANTS DEFICIENTS EN A.G.E.
APRES SUPPLEMENTATION ET LES ENFANTS TEMOINS



C - LES SYNDROMES DE CARENCE EN A.G.E.

L'absence d'AGE dans l'alimentation est associée à l'apparition de troubles spécifiques d'une carence en acides gras essentiels. Elle se manifeste notamment par une diminution de la croissance, des dermatites, une diminution de la pigmentation de la peau et une baisse du tonus musculaire. Elle se traduit également par des altérations physiologiques comme les perturbations de la fonction de reproduction, une augmentation du métabolisme de base, une augmentation de la perméabilité cutanée, un déséquilibre de la balance hydrique et enfin des modifications de l'électrocardiogramme.

I - LA CROISSANCE

L'absence des lipides dans la ration alimentaire est incompatible avec une croissance normale chez le rat. C'est Burr and Burr (1) en 1929 qui décrivent pour la première fois des retards de croissance de 20 à 30 % chez les femelles et 30 à 50 % chez les mâles pour des rats soumis à un régime lipidoprive dès le sevrage (Figure 20).

Tous les acides gras n'ont pas la même efficacité pour assurer une croissance normale. Mohrhauer et Holman (52) montrent que l'arachidonate assure une croissance supérieure à celle obtenue avec le linoléate qui est

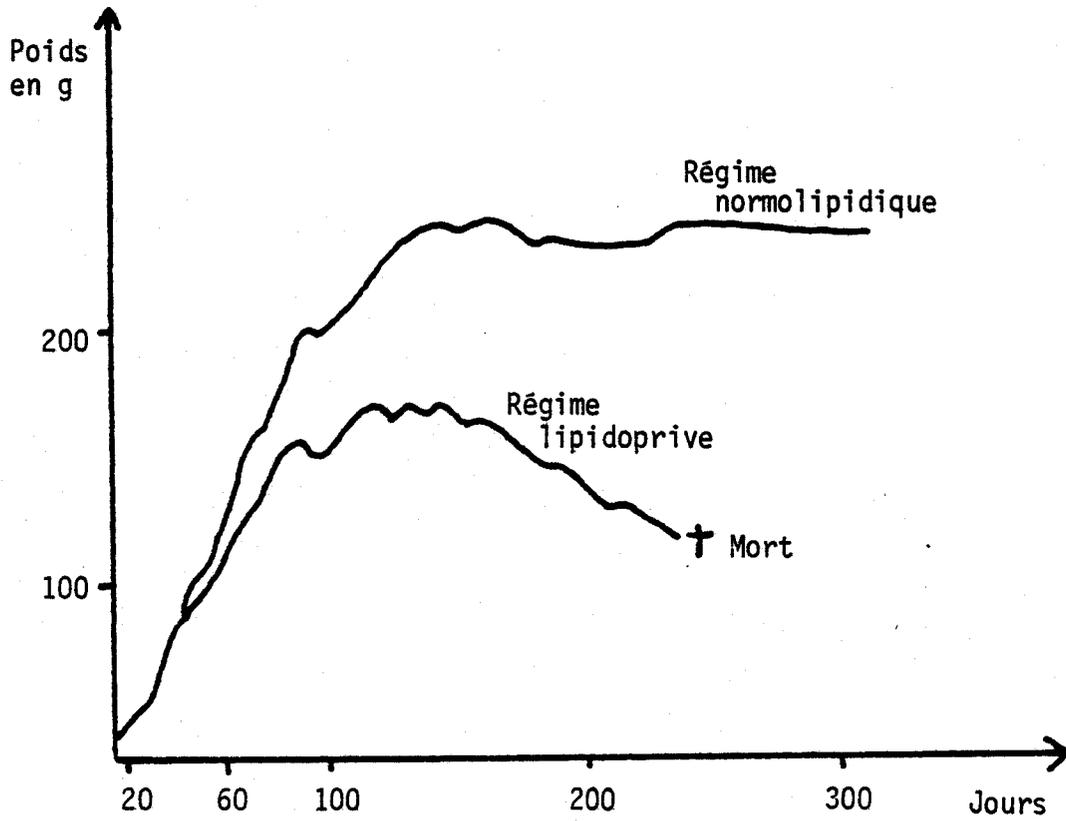


Figure 20

OBSERVATIONS DE BURR ET BURR (1) SUR LA CROISSANCE
DES RATS EN FONCTION DU REGIME



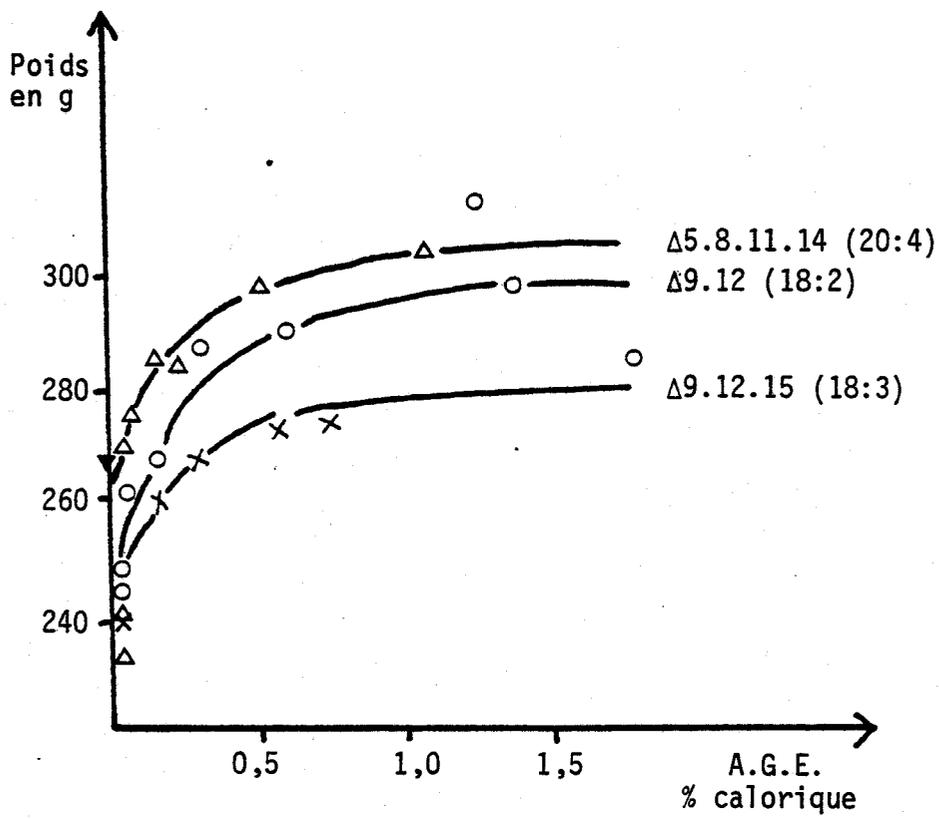


Figure 21

EFFETS DE REGIMES CONTENANT DES TAUX VARIABLES D'A.G.E.
SUR LE GAIN DE POIDS CHEZ LE RAT PENDANT UNE PERIODE
DE 100 JOURS (D'APRES MOHRHAUER ET HOLMAN) (52)



elle-même supérieure à celle induite par le linoléate (Figure 21). Dans cette expérimentation, l'apport optimal en AGE est estimé à 1,5 % des calories totales.

L'estimation des besoins basés sur le seul critère de la croissance est très critiquable. Or, même à ce niveau, les valeurs proposées ne sont pas les mêmes. Selon Pudalkevicz et coll. (82), pour obtenir une croissance optimale chez le rat, l'apport doit être de 1,3 % des calories totales pour le linoléate chez les mâles et 0,5 % chez les femelles. Quant au linoléate, le besoin serait de 0,5 % de l'énergie totale pour les deux sexes.

Le rat ne fut pas la seule espèce animale utilisée dans la définition des besoins en AGE. Le poulet fit également l'objet de nombreux travaux. Il a été montré (83) que les graisses renfermant des AGPI étaient indispensables à la croissance des volailles ; un niveau d'apport de 3 % en poids d'huile de maïs est jugé satisfaisant.

II - MANIFESTATIONS CUTANÉES

Les altérations cutanées décrites par Burr and Burr (1, 2), chez le rat carencé en AGE, se caractérisent par une chute des poils et une nécrose de la queue. La longueur de la portion de queue atteinte par la nécrose était d'ailleurs utilisée par ces auteurs comme indice de la

déficience en AGE. Toutefois, l'intensité de ces manifestations dermiques chez l'animal dépend du degré hygrométrique dans l'enceinte où sont placés les animaux. Jorgensen (84) constate une diminution de la pigmentation de la peau chez les rats carencés ; un apport de linoléate restaure la pigmentation.

Hansen et coll. (85) ont observé qu'un apport calorique de 1 % ou plus en Δ 9.12 (18:2) suffisait chez l'enfant à faire disparaître les atteintes cutanées qui se caractérisaient par une peau sèche et fine qui desquamait très facilement.

III - FONCTION DE REPRODUCTION

Dès 1930, Burr et Burr (2) avaient déjà mentionné de profondes perturbations de la fonction de reproduction des rats carencés en lipides. On observe notamment un temps de gestation plus long, des hémorragies lors de la parturition et un nombre élevé de ratons morts-nés (86, 87). De plus, les survivants atteignent difficilement l'âge du sevrage.

Les perturbations observées au cours de la parturition chez les femelles carencées en AGE pourraient en partie s'expliquer par une diminution du taux de prostaglandines liée à la chute du taux des AGPI précurseurs.

IV - AUTRES EFFETS

1) Métabolisme de base

Une carence en AGE se traduit par une augmentation du métabolisme de base d'environ 30 à 50 % par rapport à la normale (88).

2) Effets neurophysiologiques

Des relations entre la teneur en acides gras essentiels de l'alimentation et les activités neurophysiologiques du système nerveux central ont été décrites. Une carence en AGE pourrait perturber certaines capacités d'apprentissage chez l'animal.

Galli et coll. (89) soumettent des souris pendant la dernière semaine de gestation à des régimes différant par le taux d'acides gras essentiels. Lorsque les auteurs comparent les facultés d'apprentissage chez les jeunes souris, ils constatent que les performances des souris nées de mères soumises à un régime carencé en AGE sont nettement plus faibles que celles observées chez les animaux dont les mères avaient reçu de l'huile de maïs.

C O N C L U S I O N

Les voies de synthèse des acides gras longs et polyinsaturés à partir des acides gras essentiels ont été surtout mises en évidence au niveau des microsomes hépatiques. Les activités des différents systèmes enzymatiques mis en jeu ont fait l'objet de très nombreuses études "in vitro", par contre, les analyses lipidiques tissulaires nous permettent de penser que certaines voies métaboliques observées à partir des préparations de microsomes n'existent pas "in vivo". La difficulté majeure dans ce domaine provient du fait qu'aucun des systèmes enzymatiques n'a pu être isolé et que chaque acyl-CoA est un substrat potentiel pour un grand nombre de réactions possibles. Il semble toutefois bien établi que les différentes désaturases mises en jeu soient communes pour toutes les familles d'acides gras et que leurs activités dépendent de nombreux facteurs tels le substrat, la nature et la concentration des autres acides gras polyinsaturés, l'environnement nutritionnel, le tissu considéré, l'espèce étudiée et enfin le stade de développement de l'animal.

De très nombreux points restent encore obscurs tant au point de vue qualitatif qu'au niveau quantitatif. Le cerveau a été incontestablement l'organe le moins bien étudié et bien qu'il semble posséder tout l'équipement enzymatique nécessaire à la synthèse des acides gras polyinsaturés, les avis sont très partagés quant à la nature des substrats captés par le cerveau ainsi que le mode de transfert à travers la barrière

hématoencéphalique. Les premiers travaux, réalisés au niveau de cet organe, ont toutefois permis de reconsidérer le rôle et l'importance des acides gras de la série n-3. En effet, pour beaucoup de nutritionnistes, seul le linoléate était réellement indispensable. Les estimations du besoin en $\Delta 9.12$ (18:2) chez l'Homme ont été fixées approximativement à 1 % des calories totales (environ 2,5 à 3 g). Cette valeur est basée sur les observations cliniques, les ingestas caloriques et les taux sériques de diènes, triènes et tétraènes (90). Il semble pourtant que 1 % soit le minimum requis et que 4 % des calories totales [9 à 11 g de $\Delta 9.12$ (18:2)] représentent la limite supérieure.

L'*American Academy of Pediatrics* (91) a recommandé que les laits maternisés devaient contenir un minimum de 3,3 g de lipides pour 100 kcal et 300 mg de $\Delta 9.12$ (18:2) pour 100 kcal (approximativement 2,7 % des calories totales) pour que le rapport lipides/glucides soit adéquat. Cet organisme considère qu'un apport supérieur en $\Delta 9.12$ (18:2) ne fait qu'induire la formation de produits de peroxydation et augmenter le besoin en vitamine E. Toutefois la limite supérieure n'est pas fixée. Le comité rappelle seulement que, dans le lait maternel, le taux de $\Delta 9.12$ (18:2) est compris entre 8 et 10 % des acides gras totaux. Quant au $\Delta 9.12.15$ (18:3), aucune indication n'a été fournie pour estimer son besoin. Dans le lait maternel, cet acide gras représente entre 0,5 et 0,8 % des acides gras totaux. Bien que son apport minimal ne soit pas fixé, il semble à l'heure actuelle de plus en plus évident que les acides gras de la série n-3 jouent un rôle métabolique non négligeable chez les animaux à sang chaud. Il est connu que le

linoléate peut restaurer une croissance normale chez le rat dont le régime est carencé en AGE sans toutefois faire disparaître les autres symptômes de carence telles les atteintes cutanées et les troubles de reproduction.

Des électrorétinogrammes ont été enregistrés chez des rats recevant pendant 40 jours soit un régime lipidoprive, soit ce même régime supplémenté avec 2 % d'éthyle oléate, d'éthyle linoléate ou d'éthyle linoléate. Chez les rats recevant le linoléate, on obtient une réponse de plus grande amplitude que chez les "animaux oléate ou lipidoprive" mais c'est chez ceux recevant le linoléate que l'on obtient les plus grandes amplitudes comparés à tous les autres (92).

La démonstration la plus évidente du rôle important des n-3 chez les mammifères est certainement celle qui a été donnée par Lamptey et Walker (93). Ces auteurs nourrissent des rats pendant deux générations avec des régimes semi-synthétiques contenant soit 10 % d'huile de tournesol (pauvre en Δ 9.12.15 (18:3), environ 300 mg/kg de régime), soit 10 % d'huile de soja (haute teneur en Δ 9.12.15 (18:3), environ 8 400 mg/kg de régime). Les différents régimes n'ont pas d'effet sur la consommation de nourriture, la croissance, la taille du cerveau et la distribution des phospholipides dans le cerveau. Cependant chez les mâles de la seconde génération, ces auteurs observent des modifications de l'activité physique en liaison avec le régime.

L'observation la plus intéressante est certainement le fait que les animaux nourris avec un régime riche en Δ 9.12.15 (18:3) font de meilleures performances dans les tests de discrimination en Y que les rats

recevant un régime pauvre en cet acide gras. Pour les trois premiers jours consécutifs de tests, les deux groupes de rats font des performances équivalentes mais pendant les quatre jours suivants, les rats à haut taux de Δ 9.12.15 (18:3) augmentent le pourcentage de réponses correctes alors que les animaux à faible taux de Δ 9.12.15 (18:3) ne progressent pas. Dans les phospholipides du cerveau des rats à faible taux de Δ 9.12.15 (18:3), le taux de Δ 4.7.10.13.16.19 (22:6) n'est plus que de 10 à 20 % du taux des animaux "contrôles". Les auteurs notent que les modifications des phénomènes de mémorisation ne sont peut-être pas uniquement liés à des modifications de la composition en acides gras du cerveau mais peut-être aussi au fait que la fonction "visuelle" peut également être modifiée par changement de la composition lipidique de la rétine qui n'a pas été étudiée dans cette expérience.

Si l'apport minimal en AGE est une notion importante pour le nutritionniste, il ne faut pas sous-estimer la notion d'apport maximal. En effet, la vitesse de peroxydation des acides gras semble très dépendante du taux d'insaturation des acides gras donc, par conséquent, de l'apport alimentaire (94). La peroxydation des acides gras polyinsaturés membranaires pourrait entre autre être à l'origine des corps denses, pigmentés, observés sur des coupes de cellules nerveuses depuis près d'un siècle. La formation de ces pigments dénommés *Lipofuscines* serait liée à l'âge et plus particulièrement à l'âge *physiologique* des animaux qui dépend, lui, directement des conditions de vie (équilibre alimentaire, activité physique, stress divers, etc...).

B I B L I O G R A P H I E

- 1 - BURR G.O. and BURR M.M., A new deficiency disease produced by the rigid exclusion of fat from the diet. J. Biol. Chem. 1929, 82 : 345-367.
- 2 - BURR G.O. and BURR M.M., On the nature and role of the fatty acids essential in nutrition. J. Biol. Chem. 1930, 86 : 587-621.
- 3 - HOLMAN R.T., Nutrition and metabolic interrelationships between fatty acids. Fed. Proc. 1964, 23 : 1962-1968.
- 4 - MEAD J.F., SLATON W.H.J. and DECKER A.B., Metabolism of stearate, oleate and linoleate by fat deficient and normal mice. J. Biol. Chem. 1956, 218 : 401-406.
- 5 - STEINBERG G., SLATON W.H., HOWTON D.R. and MEAD J.F., Metabolism of essential fatty acids. Incorporation of linoleate into arachidonic acid. J. Biol. Chem. 1956, 220 : 257-264.
- 6 - MAZLIAK P., Biosynthèse des acides gras insaturés. Cah. Nutr. Diet. 1975, 10 : 69-79.
- 7 - MARCEL Y.L., CHRISTIANSEN K. and HOLMAN R.T., The preferred metabolic pathway from linoleic acid to arachidonic acid in vitro. Biochim. Biophys. Acta 1968, 164 : 25-34.
- 8 - MEAD J.F., The metabolism of the polyunsaturated fatty acids. In Prog. Chem. fats and other lipids 1968, 9 : 159-192.

- 9 - LILLMAN D. and SPRECHER H., An in vitro and in vivo study of the conversion of eicosa 11, 14 dienoic and to eicosa 5, 11, 14 trienoic acid and of the conversion of eicosa 5 enoic acid to eicosa 5, 11 dienoic acid in the rat. Biochim. Biophys. Acta 1971, 248 : 186-197.
- 10 - SPRECHER H. and LEE C.J., The absence of $\Delta 8$ desaturase in rat liver : a re-evaluation of optimal pathways for the metabolism of linoleic and linolenic acids. Biochim. Biophys. Acta 1975, 388 : 113-125.
- 11 - DHOPEHWARKAR G.A. and SUBRAMANIAM C., Intracranial conversion of linoleic acid to arachidonic acid : Evidence for lack of $\Delta 8$ desaturase in the brain. J. Neurochem. 1976, 26 : 1175-1179.
- 12 - STEARNS E.M., RYSAVY J.A. and PRIVETT O.S., Metabolism of cis 11, cis 14 and trans 11, trans 14 eicosadienoic acids in the rat. J. Nutr. 1967, 93 : 485-490.
- 13 - SPRECHER H., Biosynthetic pathways of polyunsaturated fatty acids. Adv. Exp. Med. Biol. 1975, 83 : 35-50.
- 14 - SPRECHER H., The total synthesis and metabolism of 7, 10, 13, 16 docosatetraenoate in the rat. Biochim. Biophys. Acta 1967, 144 : 296-304.

- 15 - VERDINO B., BLANK M.L., PRIVETT O.S. and LUNDBERG W.O., Metabolism of 4, 7, 10, 13, 16 docosapentaenoic acid in the essential fatty acid deficient rat. J. Nutr. 1964, 83 : 234-238.
- 16 - SCHLENK M., GELLERMAN J.L. and SAND D.M., Retroconversion of polyunsaturated acids in vivo by partial degradation and hydrogenation. Biochim. Biophys. Acta 1967, 137 : 420-426.
- 17 - SCHLENK H., SAND D.M. and GELLERMAN J.L., Retroconversion of docosahexaenoic acid in the rat. Biochim. Biophys. Acta 1969, 187 : 201-207.
- 18 - STOFFEL W., Biosynthesis of polyenoic fatty acids. Biochem. Biophys. Res. Commun. 1961, 6 : 270-273.
- 19 - NUGTEREN D.H., The enzymatic chain elongation of fatty acids by rat liver microsomes. Biochim. Biophys. Acta 1965, 106 : 280-290.
- 20 - MAEDA M., DOI O. and AKAMATSU Y., Metabolic conversion of polyunsaturated fatty acids in mammalian cultured cells. Biochim. Biophys. Acta 1978, 530 : 153-164.
- 21 - PATURNEAU-JOUAS M., Biosynthèse des acides gras dans les mitochondries de cerveau de souris. Comparaison avec le système microsomal au cours du développement cérébral. Thèse de Doctorat es-Sciences (Avril 1978) Université Paris VII, U.E.R. de Biochimie.

- 22 - NUTGEREN D.H., Conversion in vitro into γ -linolenic acid by rat liver enzymes. *Biochim. Biophys. Acta* 1962, 60 : 656-657.
- 23 - CASTUMA J.C., CATALA A. and BRENNER R.R., Oxidative desaturation of eicosa 8, 11 dienoic acid to eicosa 5, 8, 11 trienoic acid. Comparaison of different diets on oxidative desaturation at the 5-6 and 6-7 positions. *J. Lipid Res.* 1972, 13 : 783-789.
- 24 - NINNO R.E., TORRENGO M.A.P., CASTUMA J.C. and BRENNER R.R., Specificity of 5 and 6 fatty acid desaturases in rat and fish. *Biochim. Biophys. Acta* 1974, 360 : 124-133.
- 25 - BRENNER R.R., The oxidative desaturation of unsaturated fatty acids in animals. *Mol. Cell. Biol.* 1974, 3 : 41-52.
- 26 - DUNBAR L.M. and BAILEY J.M., Enzyme deletions and essential fatty acids metabolism in cultured cells. *J. Biol. Chem.* 1975, 250 : 1152-1153.
- 27 - ROBERT J., REBEL G. and MANDEL P., Essential fatty acid metabolism in cultured astroblasts. *Biochimie* 1977, 59 : 417-423.
- 28 - CATALA A., NERVI A.M., and BRENNER R.R., Separation of a protein factor necessary for oxidative desaturation of fatty acids in the rat. *J. Biol. Chem.* 1975, 250 : 7481-7484.
- 29 - BRENNER R.R., The desaturation steps in the animal biosynthesis of polyunsaturated fatty acids. *Lipids* 1971, 6 : 567-575.

- 30 - LEE T.C., BAKER R.C., STEPHENS N. and SNYDER F., Evidence for participation of cytochrome b5 in microsomal $\Delta 6$ desaturation of fatty acids. *Biochim. Biophys. Acta* 1977, 489 : 25-31.

- 31 - HOLMAN R.T., Biological activities of and requirements for polyunsaturated fatty acids. In *Prog. Chem. Fats and other Lipids*, Pergamon Press Oxford 1970, 9 : 607-682.

- 32 - BRENNER R.R. and PELUFFO R.O., Effect of saturated and unsaturated fatty acids on the desaturation invitro of palmitic, stearic, linoleic and linolenic acids. *J. Biol. Chem.* 1966, 241 : 5213-5219.

- 33 - ACTIS DATO S.M. and BRENNER R.R., Comparative effects of docosa 4, 7, 10, 13, 16 pentaenoic and docosa 4, 7, 10, 13, 16, 19 hexaenoic acid on the desaturation of linoleic acid and α -linolenic acid. *Lipids* 1970, 5 : 1013-1015.

- 34 - BRENNER R.R., Regulatory function of $\Delta 6$ desaturase-key enzyme of polyunsaturated fatty acid synthesis. *Adv. Exp. Med. Biol.* 1977, 83 : 85-101.

- 35 - PELUFFO R.O., GOMEZ DUMM I.N.T., DE ALANIZ M.J.T. and BRENNER R.R., Effect of protein and insulin on linoleic acid desaturation of normal and diabetic rats. *J. Nutr.* 1971, 101 : 1075-1084.

- 36 - GOMEZ-DUMM I.N.Y., DE ALANIZ M.J.T. and BRENNER R.R., Effect of diet on linoleic acid desaturation and on some enzymes of carbohydrate metabolism. *J. Lipid Res.* 1970, 11 : 96-101.
- 37 - MERCURI O., PELUFFO R.O. and BRENNER R.R., Depression of microsomal desaturation of linoleic to γ -linolenic acid in the alloxan diabetic rat. *Biochim. Biophys. Acta* 1966, 116 : 409-411.
- 38 - MERCURI O., PELUFFO R.O. and BRENNER R.R., Effect of insulin on the oxidative desaturation of α -linolenic, oleic and palmitic acids. *Lipids* 1967, 2 : 284-285.
- 39 - GOMEZ-DUMM I.N.T., DE ALANIZ M.J.T. and BRENNER R.R., Comparative effect of glucagon, dibutyryl cyclic AMP and epinephrine on the desaturation and elongation of linoleic acid by rat liver microsomes. *Lipids* 1976, 11 : 833-836.
- 40 - GOMEZ-DUMM I.N.T., DE ALANIZ M.J.T. and BRENNER R.R., Effect of catecholamines and β -blockers on linoleic acid desaturation activity. *Lipids* 1978, 13 : 649-652.
- 41 - SATOMI S. and MATSUDA I., Microsomal desaturation of linoleic acid into γ -linolenic acid in livers of fetal, suckling and pregnant rat. *Biol. Neonate* 1973, 22 : 1-8.
- 42 - YU T.C. and SINNHUBER R.O., Effect of dietary linolenic and linoleic acid upon growth and lipid metabolism of rainbow trout. *Lipids* 1975, 10 : 63.

- 43 - CRAWFORD M.A., RIVERS J.P.W. and HASSAM A.G., Comparative studies on the metabolic equivalence of linoleic and linolenic acids. *Nutr. Metab.* 1977, 21 : 189-190.
- 44 - RIVERS J.P.W., HASSAM A.G. and CRAWFORD M.A., Inability of the cat to desaturase essential fatty acids. *Nature* 1975, 258 : 171-173.
- 45 - FRANKEL T.L., and RIVERS J.P.W., The nutritional and metabolic impact of γ -linolenic acid (18:3 ω 6) on cats deprived of animal lipid. *Br. J. Nutr.* 1978, 39 : 227-231.
- 46 - CRAWFORD M.A., CASPERD N.M. and SINCLAIR A.J., The long chain metabolites of linoleic and linolenic acids in liver and brain in herbivores and carnivores. *Comp. Biochem. Physiol.* 1976a, 54 B : 395-401.
- 47 - SVENNERHOLM L., Distribution and fatty acid composition of phosphoglycerides in normal human brain. *J. Lipid Res.* 1968, 9 : 570-579.
- 48 - STROUVE-VALLET C. et PASCAUD M., Désaturation de l'acide linoléique par les microsomes du foie et du cerveau de rat en développement. *Biochimie* 1971, 53 : 699-703.

- 49 - COOK H.W., "In vitro" formation of polyunsaturated fatty acids by desaturation in rat brain ; some properties of the enzymes in developing brain and comparaisn with liver. J. Neurochem. 1978, 30 : 1327-1334.
- 50 - CRAWFORD M.A., Alterations in balance of long chain metabolic derivatives of linolenic acid in the fat deficient guinea pig. Febs Lett. 1970, 11 : 117-120.
- 51 - SINCLAIR A.J. and CRAWFORD M.A., The accumulation of arachidonate and docosahexaenoate in the developing rat brain. J. Neurochem. 1972, 19 : 1753-1758.
- 52 - MOHRHAUER H. and HOLMAN R.T., Alteration of the fatty acid composition of brain lipids by varying levels of dietary fatty acids. J. Neurochem. 1963, 10 : 523-530.
- 53 - WALKER B.L., Recovery of rat tissue lipids from essential fatty acid deficiency : brain, heart and testes. J. Nutr. 1968, 94 : 469-474.
- 54 - DHOPEHWARKAR G., SUBRAMANIAN C. and MEAD J.F., Fatty acid uptake by the brain. Incorporation of [1-¹⁴C] linoleic acid into the adult rat brain. Biochem. Biophys. Acta 1971, 231 : 8-14.

- 55 - DHOPEHWARKAR G., SUBRAMANIAN C. and MEAD J.F., Fatty acid uptake by the brain. Incorporation of [1-¹⁴C] linolenic acid into the adult rat brain. *Biochem. Biophys. Acta* 1971, 239 : 162-167.

- 56 - DHOPEHWARKAR G. and SUBRAMANIAN C., Biosynthesis of polyunsaturated fatty acids in the developing brain. Metabolic transformation of intra cranially administered [1-¹⁴C] linolenic acid. *Lipids* 1976, 11 : 67-71.

- 57 - COHEN P. and BERNSOHN J., The in vivo incorporation of linolenic acid into neuronal and glial cells and myelin. *J. Neurochem.* 1978, 30 : 661-663.

- 58 - DHOPEHWARKAR A. and SUBRAMANIAN C., Biosynthesis of polyunsaturated fatty acids in the developing brain. Metabolic transformations of intra cranially administered [3-¹⁴C] eicosatrienoic acid, evidence for lack of $\Delta 8$ desaturase. *Lipids* 1976, 11 : 689-692.

- 59 - SINCLAIR A.J., The incorporation of radioactive polyunsaturated fatty acids into the liver and brain of the developing rat. *Lipids* 1975, 10 : 175-184.

- 60 - HAEFNER G. and PRIVETT O., Influence of dietary fatty acids on membrane properties and enzyme activities of liver mitochondria of normal and hypophysectomized rat. *Lipids* 1975, 10 : 75-81.

- 61 - MOORE J.L., RICHARDSON T. and DELUCA M.F., Essential fatty acids and ionic permeability of lecithin membranes. *Chem. Phys. Lipids* 1969, 3 : 39-58.
- 62 - SEILER D. and MASELBACH W., Essential fatty acid and the activity of the sarcoplasmic calcium pump. *Eur. J. Biochem.* 1971, 21 : 385-387.
- 63 - VAN DORP D.A., BEERTHUIS R.K., NUGTEREN D.H. and VONKEMEAN H., The biosynthesis of prostaglandins. *Biochim. Biophys. Acta* 1964, 90 : 204-207.
- 64 - BEGSTROM R.M., DANIELSSON H. and SAMUELSSON B., The enzymatic formation of prostaglandin E₂ from arachidonic acid. *Biochim. Biophys. Acta* 1964, 90 : 207-210.
- 65 - VAN DORP D.A., Recent developments in the biosynthesis and the analyses of prostaglandins. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1971, 180 : 181-199.
- 66 - KUEUL F.A., Prostaglandins. Cyclic nucleotides and cell function. *Prostaglandins* 1974, 5 : 325-340.
- 67 - RAMWELL P. and SHAW J.E., Prostaglandins release from tissues by drug, nerve and hormone stimulation. *Proc. 2nd Noebel Symp.* Eds. G. Bergström and B. Samuelsson. Publ. Interscience, London, 1966, p. 283.

- 68 - BERGSTROM R.M., DUNER M., EULER U.S., PERNOW B. and SJOVALL J.,
Observations on the effects of insusion of prostaglandins E
in man. Acta Physiol. Scand. 1959, 45 : 145-147.
- 69 - FRIEDMAN Z., Essential fatty acid revisited. Am. J. Dis. Child. 1980,
134 : 397-408.
- 70 - PASCAUD M., ROUGIER A. and DELHAYE N., Assimilation of ¹⁴C-linoleic
acid by the rat fetus. Nutr. Metab. 1977, 21 : 310-316.
- 71 - ZIMMERMAN T., WINKLER Z., MOLLER U., SCHUBERT H. and GOETZE E.,
Synthesis of arachidonic acid in the human placenta in vitro.
Biol. Neonate 1979, 35 : 209-212.
- 72 - HOLMAN R.T., The ratio of trienoic, tetraenoic acids in tissue lipids
as a measure of essential fatty acid requirement. J. Nutr.
1960, 70 : 405-410.
- 73 - SUN G.Y., WINNIEZEK H. and SHENG S.L., Essential fatty acid deficiency :
Metabolism of 20:3 n-9 and 22:3 n-9 of major phosphoglycerides
in subcellular fractions of developing and mature mouse brain.
Lipids 1975, 10 : 365-373.
- 74 - PENSL E.L., WHITTEN C. and PAULSRUD J., Serum fatty acid changes
during fat free intravenous therapy. J. Pediat. 1971,
78 : 1067-1069.

- 75 - CALDWELL M.D., JONSSON H.T. and OTHERSEN H.B., Essential fatty acid deficiency in an infant receiving prolonged parenteral alimentation. *J. Pediat.* 1972, 81 : 894-898.
- 76 - NOUVELOT A., Etude expérimentale chez le mini-porc et le rat du métabolisme des émulsions lipidiques artificielles injectées par voie intraveineuse. Thèse de Doctorat 3ème cycle, Septembre 1975, Lille I, U.E.R. de Biologie.
- 77 - NOUVELOT A., DEWAILLY P., SEZILLE G., JAILLARD J. et FRUCHART J.C., Etude métabolique de trois émulsions lipidiques utilisées dans l'alimentation parentérale. I. Exploration "in vivo" chez le mini-porc. *Nutr. Metab.* 1975, 19 : 307-317.
- 78 - DEWAILLY P., TURPIN N., NOUVELOT A., SEZILLE G., JAILLARD J. et FRUCHART J.C., Etude métabolique de trois émulsions lipidiques utilisées dans l'alimentation parentérale. II. Etude par perfusion de foie de rat isolé. *Nutr. Metab.* 1975, 19 : 318-326.
- 79 - FRIEDMAN Z. and FROLICH J.C., Essential fatty acids and the major urinary metabolites of the E prostaglandins in thriving neonates and in infants receiving parenteral fat emulsions. *Pediat. Res.* 1979, 13 : 932-936.
- 80 - PRESS M., HARTOP P.J. and PROTTEY C., Correction of essential fatty acid deficiency in man by the cutaneous application of sunflower seed oil. *Lancet* 1974, I : 597-599.

- 81 - FRIEDMAN Z., SEYBERT H., LAMBERTH E.L. and OATES J., Decreased prostaglandin E turnover in infants with essential fatty acid deficiency. *Pediat. Res.* 1978, 12 : 711-714.
- 82 - PUDELKIEWICZ C., SEUFERT J. and HOLMAN R.T., Requirements of the female rat for linoleic and linolenic acids. *J. Nutr.* 1968, 94 : 138-141.
- 83 - EDWARDS H.M. and MARION J.E., Influence of dietary menhaden oils on growth rate and tissue fatty acids of the chick. *J. Nutr.* 1963, 81 : 123-128.
- 84 - JOKGENSEN A.E. and HOLMER G., Essential fatty acid deficient rats : growth and testes development. *Lipids* 1969, 4 : 501-506.
- 85 - HANSEN A.E., WIESE H.F. and BOELSCHE A.N., Role of linoleic acid in infant nutrition : clinical and chemical study of 428 infants fed on milk mixtures varying in kind and amount of fat. *Pediatrics* 1963, 31 : 171-192.
- 86 - LACKENBUSH F.W., KUMMEROW F.A. and STEENBOC K., The effectiveness of linoleic, arachidonic and linolenic acids in reproduction and lactation. *J. Nutr.* 1942, 24 : 213-217.
- 87 - DEUEL H.J., MARTIN C.R. and ALFIN-SLATER R.B., The effect of fat level of the diet on general nutrition. The requirement of essential fatty acids for pregnancy and lactation. *J. Nutr.* 1954, 54 : 193-208.



- 88 - PANOS T.C., FINERTY J.C. and WALL C.R., Increased metabolism in fat deficiency relation to dietary fat. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1956, 93 : 581-587.
- 89 - SALLI C., MESSERI P., OLIVERIO A. and PAOLETTI R., Deficiency of essential fatty acids during pregnancy and avoidance learning in the progeny. Pharm. Res. Comm. 1975, 7 : 71-80.
- 90 - ADAM D.J.D., HANSEN A.E. and WIESE H.F., Essential fatty acids in infant nutrition. J. Nutr. 1958, 66 : 555-564.
- 91 - Committee on Nutrition, American Academy of Pediatrics : Commentary on breast-feeding and infant formulas including proposed standards for formulas. Pediatrics 1978, 57 : 278-285.
- 92 - WHEELER T.G., BENOLKEN R.M. and ANDERSON R.E., Visual membranes : Specificity of fatty acid precursors for the electrical response to illumination. Science 1975, 188 : 1313-1314.
- 93 - LAMPTEY M.S. and WALKER B.L., A possible essential role for dietary linolenic acid in the development of the young rat. J. Nutr. 1976, 106 : 86-93.
- 94 - HAMMER C.T. and WILLS E.D., The role of lipid components of the diet in the regulation of the fatty acid composition of the rat liver endoplasmic reticulum and lipid peroxydation. Biochem. J. 1978, 174 : 585-593.

NOMENCLATURE DES PRINCIPAUX ACIDES GRAS

Nom commun	Nomenclature systématique	Abréviation
Ac. laurique	Ac. dodécanoïque	12:0
Ac. myristique	Ac. tétradécanoïque	14:0
Ac. palmitique	Ac. hexadécanoïque	16:0
Ac. palmitoléique	Ac. Δ^9 hexadécénoïque	16:1 n-7
Ac. stéarique	Ac. octadécanoïque	18:0
Ac. oléique	Ac. Δ^9 octadécénoïque	18:1 n-9
Ac. linoléique	Ac. Δ^9 -12 octadécadiénoïque	18:2 n-6
Ac. α -linoléénique	Ac. Δ^9 -12-15 octadécatriénoïque	18:3 n-3
Ac. γ -linoléénique	Ac. Δ^6 -9-12 octadécatriénoïque	18:3 n-6
Ac. arachidique	Ac. eicosanoïque	20:0
Ac. eicosénoïque	Ac. Δ^{11} eicosénoïque	20:1 n-9
Ac. eicosatriénoïque	Ac. Δ^5 -8-11 eicosatriénoïque	20:3 n-9
Ac. di-homolinoléénique	Ac. Δ^8 -11-14 eicosatriénoïque	20:3 n-6
Ac. arachidonique	Ac. Δ^5 -8-11-14 eicosatétrénoïque	20:4 n-6
Ac. eicosapentaénoïque	Ac. Δ^5 -8-11-14-17 eicosapentaénoïque	20:5 n-3
Ac. béhénique	Ac. docosanoïque	22:0
Ac. érucique	Ac. Δ^{13} docosénoïque	22:1 n-9
Ac. docosatétrénoïque	Ac. Δ^7 -10-13-16 docosatétrénoïque	22:4 n-6
Ac. docosapentaénoïque	Ac. Δ^4 -7-10-13-16 docosapentaénoïque	22:5 n-6
	Ac. Δ^7 -10-13-16-19 docosapentaénoïque	22:5 n-3
Ac. docosahexaénoïque	Ac. Δ^4 -7-10-13-16-19 docosahexaénoïque	22:6 n-3
Ac. lignocérique	Ac. tétracosanoïque	24:0
Ac. nervonique	Ac. Δ^{15} tétracosénoïque	24:1 n-9

DEUXIEME PARTIE

TRAVAUX PERSONNELS

I N T R O D U C T I O N

L'alimentation parentérale exclusive n'est certes pas la voie idéale d'apport pour couvrir les dépenses énergétiques de l'organisme, mais il existe des cas pathologiques où elle reste la seule voie possible. Dans le cas de réalimentation à long terme, les lipides sont indispensables pour assurer des apports énergétiques importants sous un faible volume ; de plus, de par la richesse de ces émulsions en $\Delta 9.12$ (18:2), elles devraient couvrir les besoins en acides gras essentiels. Nous avons, dans ce but, testé différentes émulsions lipidiques artificielles chez le mini-porc. Les carences en acides gras essentiels obtenues chez ces animaux ne sont pas liées à l'espèce puisque des résultats analogues ont été obtenus chez les nourrissons soumis à ce type d'alimentation. Or, chez ces très jeunes enfants, le développement cérébral n'est pas terminé. Quelle est l'incidence d'une carence en acides gras essentiels sur le développement cérébral ? Nos connaissances dans ce domaine sont très restreintes. Les études concernant les besoins en acides gras essentiels de ce tissu en voie de développement sont très fragmentaires.

Il nous a semblé que ces problèmes nutritionnels étaient primordiaux et qu'ils devraient être éclaircis afin de "repenser" la composition lipidique idéale d'une émulsion artificielle.

La plupart des recherches centrées sur les acides gras essentiels ont donc été axées sur l'étude des acides gras en n-6, les travaux concernant le rôle nutritionnel du Δ 9.12.15 (18:3) sont souvent contradictoires. Cet acide gras est certes essentiel puisqu'il n'est pas synthétisé chez les mammifères, mais est-il réellement indispensable au maintien de l'organisme en bonne santé ? Cette incertitude est liée à deux types d'observations : d'une part, au fait que le Δ 9.12.15 (18:3) peut restaurer une croissance normale chez le rat dont le régime est carencé en acides gras essentiels sans toutefois faire disparaître les autres symptômes de carence et d'autre part, à l'effet inhibiteur exercé par le 18:3 n-3 sur les conversions de la famille des n-6. La plupart des travaux concernant le métabolisme des acides gras essentiels ont été réalisés au niveau hépatique or, si à ce niveau "l'indispensabilité" de l'acide linoléique est très controversée, il apparaît actuellement que cet acide gras joue un rôle important au cours du développement cérébral.

Quel est l'apport minimal requis en périodes pré- et post-natales pour le jeune animal et pour la mère ? Existe-t-il un seuil supérieur qu'il est conseillé de ne pas franchir ? Quels sont les critères physiologiques permettant d'évaluer ce besoin optimal ? Quel est le rôle joué par le métabolisme intrahépatique intermédiaire dans l'apport d'acides gras polyinsaturés au cerveau ? Les étapes clés de la régulation du métabolisme des acides gras essentiels sont-elles les mêmes au niveau du tissu cérébral et du tissu hépatique ?

Ce sont tous ces problèmes nutritionnels qui nous préoccupent tout particulièrement. Sans avoir la prétention d'apporter une réponse à toutes ces questions, nous pouvons toutefois, à la lumière des résultats obtenus, confirmer l'importance du Δ 9.12.15 (18:3) alimentaire sur la composition en acides gras polyinsaturés (AGPI) du tissu nerveux et définir un taux maximal d'apport à partir duquel la répartition des AGPI est constante. Les études au niveau sérique nous permettent également d'apprécier l'importance du métabolisme intrahépatique intermédiaire dans l'apport en AGPI au cerveau. Couplées à des tests physiologiques, ces études analytiques nous permettront une meilleure approche dans la définition des besoins qualitatifs et quantitatifs en acides gras essentiels du cerveau en voie de développement.

ETUDE METABOLIQUE DE TROIS EMULSIONS LIPIDIQUES UTILISEES
DANS L'ALIMENTATION PARENTERALE.

I. EXPLORATION IN VIVO CHEZ LE MINIPORC

A. NOUVELOT, P. DEWAILLY, J.C. FRUCHART, J. JAILLARD et

G. SEZILLE

Nutrition and Metabolism, 19 : 307-317 (1975)

Les émulsions lipidiques sont largement utilisées dans l'alimentation parentérale de par leur caractère hautement énergétique et ont fait l'objet de nombreux travaux menés chez l'homme et chez l'animal afin d'en étudier la tolérance et l'efficacité (1 - 6). Ainsi, des accidents de surcharge graisseuse et des troubles hématologiques divers ont été décrits au cours de leur utilisation, jetant un doute sur leur parfaite innocuité (1).

Du fait de l'induction fréquente d'une stéatose, notamment hépatique, il nous est apparu important d'examiner le devenir métabolique de telles émulsions dans l'organisme. Pour ce faire, nous avons tout d'abord déterminé les modifications de la composition lipidique de différents tissus, chez le miniporc, lors de l'administration pendant 14 jours de trois types différents d'émulsion.

MATERIEL ET METHODES

PROTOCOLE EXPERIMENTAL

L'expérimentation a été effectuée sur 10 animaux de même souche (Institut de Zootechnie et de Génétique animale de Göttingen, RFA), pesant une vingtaine de kilogrammes. Les émulsions ont été administrées en perfusions quotidiennes échelonnées sur 8 h., grâce à un cathéter placé à demeure dans la veine jugulaire externe. Nous avons utilisé, l'Intralipid à 20 % (Vitrum) chez 3 animaux, le Lipiphysan à 10 % (Egic) chez 2 animaux et le Trive 1000 (Egic) chez 3 animaux.

Ces émulsions se caractérisent essentiellement par la nature de l'huile et de la lécithine qui les composent (Tableau I) et par la présence d'acides aminés (Trive 1000) ; les compositions en acides gras des huiles de coton et de soja sont cependant similaires et se définissent respectivement par les acides gras suivants : palmitique (22 et 10 %), oléique (31 et 29 %), linoléique (45 et 51 %), linoléinique (0 et 7 %), divers (2 et 3 %) ; on remarque, en particulier, les fortes teneurs en acide linoléique.

Dans le but de standardiser les trois expérimentations sur la base d'un apport parentéral complet de 2000 kcal/24 h. comportant 3-4 g de triglycérides (TG)/kg/24 h., nous avons utilisé différentes combinaisons (Tableau II). Les apports de trophysan glucosé sont destinés à équilibrer les concentrations en acides aminés et en sorbitol des trois types de perfusats qui ont, d'autre part, été supplémentés en minéraux de façon à réaliser des apports quotidiens de 68 mEq de sodium et 26 mEq de potassium ; 2 ml d'hydrosol polyvitaminé Roche ont enfin été ajoutés aux 3 perfusats soit : Vit A (5000 UI), D₂ (1000 UI), E (70 mg), B₁ (2 mg), B₂ (1,5 mg), B₅ (4 mg), B₆ (2 mg), PP (10 mg), C (50 mg). Tous les animaux ont été perfusés pendant 14 jours à l'exception d'un recevant du Lipiphysan, mort après une semaine de traitement. Deux animaux ont servi de témoins recevant pendant la même période 1 500 ml de sérum glucosé à 5 % (300 kcal), le complément de 1 700 kcal étant fourni par voie orale sous forme de granulés standard.

Au cours des expérimentations et juste avant la mise en place des perfusions, des prélèvements sanguins ont été effectués pour l'analyse de divers constituants.

METHODES D'ANALYSE

16 h. après l'arrêt de la dernière perfusion, les animaux ont été sacrifiés afin de prélever le foie, le coeur, le poumon, la rate et le rein. Des fragments frais de poids connu de ces différents tissus ont été immédiatement homogénéisés dans le solvant d'extraction de Folch et al. (7) ; après purification par partage de phase, les extraits lipidiques chloroformiques ont été conservés à - 20° C en présence d'un antioxydant jusqu'à leur utilisation.

Sur une fraction aliquote d'extrait, on a procédé au dosage des glycérides totaux par une méthode semi-automatique adaptée à l'autoanalyseur Technicon AA2 (8) et au dosage des phospholipides totaux par une méthode colorimétrique (9). Les coefficients de variation de ces deux techniques se situent respectivement à 1,8 et 1 %.

Les TG d'une autre fraction d'extrait ont, d'autre part, été isolés par chromatographie sur couche mince de gel de silice G (Merck) avec, pour solvant de développement un mélange éther de pétrole:éther éthylique:acide acétique (90:10:1, v/v/v). La séparation des classes majeures de phospholipides (phosphatidyl-éthanolamine [PE] et phosphatidyl-choline [PC]) a été effectuée de la même façon, en atmosphère contrôlée en humidité, à l'aide d'un mélange chloroforme-méthanol-NH₄OH 7 N (115:45:7,5, v/v/v). Après migration, les différentes fractions lipidiques ont été révélées sous rayonnement ultraviolet après pulvérisation d'une solution méthanolique à 0,1 g/l de rhodamine 6 G et identifiées par rapport à des étalons de référence. Après grattage des taches, les lipides adsorbés sur le gel ont été soumis à une

transestérification en présence de méthanol et d'acide sulfurique pendant 2 h. à 70° C (10). Les esters méthyliques d'acides gras ainsi obtenus et extraits par l'heptane ont été purifiés par chromatographie sur couche mince de gel de silice G (11). Après élution, les extraits contenant ces esters ont été concentrés et analysés par chromatographie en phase gazeuse à 180° C sur colonne de DEGS à 10 % sur chromosorb W/AW (colonne d'acier inoxydable de 3 m de longueur et 2 mm de diamètre interne). Pour cette étude comparative, seuls les acides gras constitutifs majeurs des différentes fractions ont été retenus pour le calcul des pourcentages ; ils ont été identifiés par rapport à des étalons de référence. Il s'agit des acides myristique (14:0), palmitique (16:0), palmitoléique (16:1), stéarique (18:0), oléique (18:1), linoléique (18:2), linoléénique (18:3), arachidonique (20:4) et des acides gras polyinsaturés (22:5 et 22:6).

RESULTATS

Globalement, l'expérimentation a porté sur 10 animaux répartis en différents groupes de 2 ou 3 unités. Les calculs statistiques rapportés dans les différents tableaux n'ont donc qu'une valeur indicative et nous n'avons fait figurer que les valeurs de p "significatives" malgré le très petit nombre de porcs mis en jeu.

Sur un plan pondéral et pour un poids moyen de départ de 21 kg, on a constaté, en fin d'expérimentation, une augmentation voisine de 1,5 % chez les témoins ; par contre, des diminutions de l'ordre de 6 % ont été obtenues avec le Trive 1000 ou l'Intralipid et de 12 % avec le Lipiphysan.

En ce qui concerne les dosages effectués dans le sang, aucune modification de la triglycéridémie, de la cholestérolémie, de la glycémie, de l'équilibre ionique et du taux d'urée n'a été observé dans les différents échantillons de sang prélevés tout au long de l'expérimentation et dans les différents lots d'animaux. Lors de l'administration de Lipiphysan et de Trive 1000 nous avons enregistré une augmentation de transaminases glutamique-oxaloacétiques (TGO : 34-54 mUI/ml) et de la bilirubine totale (taux \leq 50 mg/l) ; l'Intralipid et le Trive 1000 ont déterminé par ailleurs une anémie voisine de - 25 % pour le premier et de - 38 % pour le second. La tolérance a été bonne dans l'ensemble à l'exception d'un animal mort après 7 jours de perfusion de Lipiphysan dans un tableau d'ictère hépatolytique avec perturbation importante des transaminases (TGO : 510 mUI/ml) et de la bilirubinémie (bilirubine glycuco-conjuguée : 65 mg/l ; bilirubine libre : 15 mg/l).

Notre propos étant d'étudier au niveau tissulaire le devenir des lipides introduits dans la circulation, nous n'avons pas effectué d'étude approfondie des diverses autres modifications pouvant intervenir au niveau sanguin.

LIPIDES TISSULAIRES

Les moyennes des concentrations en glycérides et en phospholipides totaux ont été établies pour les deux animaux témoins et pour les trois animaux ayant reçu pendant une période identique de 14 jours, soit l'Intralipid, soit le Trive 1000. Le tableau III montre que la teneur en glycérides des organes analysés est légèrement plus forte chez les animaux recevant ces deux types d'émulsion que chez les témoins. Cette augmentation

se retrouve chez les animaux ayant reçu du Lipiphysan pendant 7 ou 14 jours ; elle est massive dans le foie, la rate et le poumon.

A l'inverse des glycérides, le taux global des phospholipides ne varie pas quel que soit le type d'émulsion et le tissu examiné.

COMPOSITION EN ACIDES GRAS DES LIPIDES TISSULAIRES

Compte tenu de la similitude des compositions en acides gras malgré la surcharge glycéridique, des moyennes ont été également établies pour les 2 animaux ayant reçu du Lipiphysan pendant 7 et 14 jours. Dans le lot d'animaux ayant reçu du Lipiphysan, on note d'ailleurs une augmentation très importante (Tableau IV), par rapport aux témoins, des pourcentages en acide linoléique (18:2) dans les TG tissulaires. Le 18:2 étant l'acide gras prédominant dans les trois types d'émulsion, cette élévation intervient également avec l'Intralipid et le Trive 1000 ; elle est cependant plus variable et nettement moins prononcée.

Malgré l'absence de variation des taux de phospholipides par rapport aux témoins (Tableau III), on observe également (Tableaux V, VI) une incorporation accrue du 18:2 dans les PC et les PE tissulaires sous l'effet des perfusions. Celle-ci est particulièrement nette au niveau du foie, du rein, du poumon, de la rate et ce, pour les trois types d'émulsion. Contrairement à ce qui se passe pour les TG, les incorporations du 18:2 ne sont pas plus importantes avec le Lipiphysan qu'avec les deux autres émulsions. Dans les PE, normalement riches en acides gras polyinsaturés en C20 et C22, on observe, dans tous les cas, une diminution parallèle importante

des pourcentages en ces acides gras dans le rein, le foie et la rate. Au niveau hépatique par exemple, et lorsque, dans le tableau VI, on exclut le 18:2 du calcul des pourcentages, on trouve (%) pour l'ensemble de ces acides gras polyinsaturés : témoins : $39,2 \pm 4,4$; Intralipid : $22,3 \pm 2,4$, $p < 0,05$; Trive 1000 : $29,1 \pm 1,9$, $p < 0,05$; Lipiphysan : $24,9 \pm 1,3$, $p < 0,05$.

DISCUSSION

La bonne tolérance aux émulsions utilisées dans cette expérimentation menée chez le miniporc est admise classiquement. Cependant, chez le chien, Wretling (5) a constaté des accidents nombreux avec le Lipiphysan et, si l'on en juge par les résultats de cet auteur et notre expérience personnelle, il semble, en effet, que cette émulsion soit la moins bien tolérée de celles que nous avons expérimentées.

Le devenir métabolique de ces émulsions reste encore mal élucidé. La stéatose, à prédominance hépatique, est confirmée par nos résultats qui mettent l'accent en particulier sur l'accumulation glycéridique considérable observée chez les animaux traités avec le Lipiphysan dans le foie, le poumon et la rate, organes prédisposés à l'épuration des particules étrangères de par leur richesse en cellules du système réticulo-endothélial (SRE).

Ceci met en exergue le comportement très différent des émulsions choisies. En effet, si les particules de l'Intralipid ont été assimilées par bon nombre d'auteurs (12 - 15) à des chylomicrons subissant l'hydrolyse

par la lipoprotéine-lipase du tissu adipeux notamment et, éventuellement, par la TG-lipase hépatique, le Lipiphysan peut être considéré comme une émulsion dont les particules sont essentiellement captées, à l'état natif, par le SRE (16). De telles différences de mécanismes d'épuration plasmatique rendent compte de nos résultats obtenus avec le Lipiphysan, susceptible d'induire une stéatose précoce et très nettement supérieure à celle constatée lors de l'utilisation de l'Intralipid ou du Trive 1000. Les modifications majeures de la composition en acides gras des TG chez les animaux recevant du Lipiphysan et caractérisées par un enrichissement important en 18:2 confirment l'incorporation essentiellement directe dans les cellules du SRE des particules de Lipiphysan contenant de l'huile de coton riche en 18:2. On note également et à un degré moindre, un enrichissement en cet acide gras au niveau des TG chez les animaux recevant de l'Intralipid ou du Trive 1000, ces deux émulsions contenant de l'huile de soja également riche en 18:2.

En définitive, les mécanismes intervenant dans cet enrichissement des TG en 18:2 sont probablement doubles mettant en jeu et à des degrés divers, soit un transfert direct intratissulaire des TG intacts de l'émulsion par l'intermédiaire du SRE, soit une incorporation de 18:2 sous forme libre provenant de l'hydrolyse des TG de l'émulsion et rejoignant le "pool" commun des acides gras libres intracellulaires à partir desquels sont synthétisés les lipides cellulaires.

Sur un plan quantitatif, on n'observe pas d'incidence de l'accumulation des TG sur le taux global de phospholipides qui sont des lipides structuraux, synthétisés en fonction des besoins. On observe cependant

également un enrichissement relatif en 18:2, au niveau des deux principaux glycérophospholipides (PC et PE) ; celui-ci est probablement en rapport avec l'enrichissement en ce même 18:2 des acides gras intracellulaires. La diminution parallèle et relativement importante des acides gras polyinsaturés en C20 et C22 au niveau des PE du rein, de la rate et du foie avec les trois émulsions ne paraît pas pouvoir s'expliquer par un simple remaniement des pourcentages dû à l'augmentation de celui du 18:2. Les variations, sont en effet, trop prononcées mais les mécanismes restent hypothétiques ; il pourrait s'agir éventuellement d'une compétition entre le 18:2 et les autres acides gras polyinsaturés pour la position 2 de la PE (17), compte tenu de l'excès de 18:2 ; d'autres mécanismes pourraient être invoqués mettant en jeu une inhibition des phénomènes d'élongation-désaturation du 18:2 ou une peroxydation, de cause indéterminée, des acides gras polyinsaturés à l'instar de l'intoxication à l'éthanol (18). Ces modifications structurales de la PE, phospholipide membranaire majeur, pourraient être génératrices, à plus ou moins long terme, d'altérations cellulaires importantes.

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé avec la collaboration technique de Mme J. Bernard (CNRS) et de Melle M. Chabanne, dans le cadre d'un contrat INSERM n° 74 4 078 04 CA 409.

BIBLIOGRAPHIE

1. Edgren, B. ; Hallberg, O. ; Hakansson, I. ; Meng, M.C., and Wretlind, A. :
Long-term tolerance study of two fat emulsions for intravenous
nutrition in dogs. Am. J. Clin. Nutr. 14 : 28-36 (1964).
2. Meng, H.C. ; Kuyama, T. ; Thompson, S.W., and Ferell, J.F. : Toxicity
testing of fat emulsions. Tolerance study of long term intra-
venous administration of Intralipid in rats. Am. J. Clin. Nutr.
16 : 29-36 (1965).
3. Vela, A.R. ; Hartwig, Q.L. ; Atik, M. ; Marrero, R.R., and Cohn, I. :
Long-term intravenous administration of fat emulsions in dogs
and single infusions in man. Am. J. Clin. Nutr. 16 : 80-87
(1965).
4. Hakansson, I. : Effects in dogs of two fat emulsions for intravenously
nutrition. Nutritio Dieta 7 : 90-102 (1965).
5. Wretlind, A. : Modern principles of the use of fat emulsions in parenteral
nutrition. Nutr. Metabol. 14 : 1-57 (1972).
6. Thompson, S.W. : The pathology of parenteral nutrition with lipids
(Thomas, Springfield 1974).
7. Folch, J. ; Lees, M., and Stanley, G.H.S. : A simple method for the
isolation and purification of total lipids from animal tissues.
J. Biol. Chem. 226 : 497-509 (1957).

8. Kessler, G. and Lederer, H. : Fluorimetric measurement of triglycerides ;
in Automation in analytical chemistry, Technicon Symp., 1965 ;
pp. 341 (Skeggs, New York 1966).
9. Raheja, R. ; Kaur, C. ; Singh, A., and Bhatia, I.S. : New colorimetric
method for the quantitative estimation of phospholipids
without acid digestion. J. Lipid Res. 14 : 695-697 (1973).
10. Hagenfeldt, L. : A gas-chromatographic method for the determination of
individual free fatty acids in plasma. Clin. Chim. Acta 13 :
266-268 (1966).
11. Snyder, F. ; Blank, M.L., and Wykle, R.L. : The enzymic synthesis of
ethanolamine plasmalogens. J. Biol. Chem. 246 : 3639-3645
(1971).
12. Hallberg, D. : Studies on the elimination of exogenous lipids from the
blood stream. The kinetics for the elimination of chylomicrons
studied by single intravenous injections in man. Acta Physiol.
Scand. 65 : 279-284 (1965).
13. Lewis, B. ; Boberg, J. ; Mancini, M., and Carlson, L.A. : Determination
of the intravenous fat tolerance test with intralipid by
nephelometry. Atherosclerosis 15 : 83-86 (1972).
14. Zöllner, N. and Hansen, W. : A photometric modification of the intravenous
fat tolerance test. Atherosclerosis 15 : 345-348 (1972).

15. Jaillard, J. ; Dewailly, P. ; Sézille, G. ; Fruchart, J.C. et Rault, C. :
Intérêt et signification du test d'hyperlipémie par voie veineuse
dans l'exploration des hyperlipémies. Etude de ses variations
sous l'effet de l'alcool. *Atherosclerosis* 19 : 493-500 (1974).
16. Lemperle, G. ; Reichelt, M., and Denk, S. : The evaluation of phagocytic
activity in men by means of a lipid-clearing test. Abstract.
6th Int. Meet. Reticuloendoth. Soc., p. 83 (1970).
17. Van den Bosch, H. : Phosphoglyceride metabolism. *Ann. Rev. Biochem.*
43 : 243-277 (1974).
18. Reitz, R.C. : A possible mechanism for the peroxidation of lipids due to
chronic ethanol ingestion. *Biochim. Biophys. Acta* 380 :
145-154 (1975).

TABLEAU I

Composition (en g/l) et apport calorifique des trois émulsions

	Intralipid 20 % (2000 kcal/l)	Lipiphysan 10 % (1240 kcal/l)	Trive 1000 (1000 kcal/l)
Huile (coton)	-	100	-
Huile (soja)	200	-	38
Lécithine (soja)	-	15	7
Lécithine (oeuf)	12	-	-
Sorbitol	-	50	100
Glycérol	25	-	-
Aminoacides	-	-	60
Tocophérol	-	0,5	0,4

TABLEAU II

Composition des perfusats

Expérimentation	Intralipid		Lipiphysan		Trive 1000	
	ml	kcal	ml	kcal	ml	kcal
Intralipid 20 %	325	650	-	-	-	-
Lipiphysan 10 %	-	-	650	800	-	-
Trive 1000	-	-	-	-	1700	1700
Trophysan glucosé ¹	1450	1050	1240	900	-	-
Sérum glucosé à 30 %	250	300	250	300	250	300
Total	2025	2000	2140	2000	1950	2000

¹ Sorbitol (100 g/l), aminoacides (80 g/l) ; le miniporc possède une sorbitol-déshydrogénase permettant l'utilisation du sorbitol.



TABLEAU III

Concentrations lipidiques tissulaires après 14 jours d'expérimentation (moyenne \pm déviation standard)

Lipides tissulaires	Nombre d'animaux	Foie	Coeur	Rein	Poumon	Rate
<u>GLYCERIDES</u>						
Témoins	2	5,2 \pm 1,7	1,0 \pm 0,3	1,4 \pm 0,3	1,2 \pm 0,1	0,8 \pm 0,2
Intralipid	3	7,6 \pm 0,2	3,7 \pm 1,8	3,7 \pm 2,1	3,5 \pm 1,9	3,8 \pm 2,0
Trive 1000	3	6,5 \pm 1,8	2,0 \pm 1,0	6,6 \pm 1,1	2,2 \pm 0,2	5,1 \pm 4,3
Lipiphysan	1	27	4	10	146	97
Lipiphysan	1 ^a	93	14	20	221	209
<u>PHOSPHOLIPIDES</u>						
Témoins	2	1,4 \pm 0,3	0,7 \pm 0,2	1,0 \pm 0,2	0,8 \pm 0,1	0,7 \pm 0,1
Intralipid	3	1,2 \pm 0,1	0,7 \pm 0,1	1,1 \pm 0,1	0,9 \pm 0,1	0,8 \pm 0,1
Trive 1000	3	1,1 \pm 0,3	0,6 \pm 0,2	0,7 \pm 0,2	0,7 \pm 0,1	0,7 \pm 0,1
Lipiphysan	1	1,0	0,5	0,8	0,6	0,4
Lipiphysan	1 ^a	1,9	1,0	1,5	0,8	0,9

Glycérides en milligrammes de trioléine par gramme de tissu frais ; phospholipides en milligrammes de phosphore lipidique par gramme de tissu frais.

^a Animal mort après 7 jours d'expérimentation



TABLEAU IV

Composition en acides gras des TG tissulaires
(% \pm SD et différences par rapport aux témoins)

	14:0	16:0	16:1	18:0	18:1	18:2	18:3	20:4
<u>Foie</u>								
T	2,3	27,0	3,9	10,9	38,1	13,6	0,7	3,5
SD	0,1	4,2	1,4	0,5	2,0	4,3	0,1	0,7
I	-1,0	-5,4	+0,2	-1,5	-4,7	+12,3	+1,0	-1,9
Tr	-1,4	-2,2	-0,2	+3,1	-6,9	+9,3	+0,6	-2,4
L	-2,1	-13,1	-3,3	-5,4	-10,5	+35,2*	+2,3	-2,1
<u>Coeur</u>								
T	2,1	27,3	3,3	14,7	36,0	13,1	0,9	2,6
SD	0,7	4,9	1,0	3,5	0,1	3,6	0,1	0,6
I	0	+0,4	+0,5	-1,7	-3,3	+5,3	+0,8	-2,0
Tr	-0,1	-1,2	-0,4	+2,5	-1,3	+2,6	+0,4	-1,5
L	-1,6	-12,4	-2,2	-5,6	-6,2	+27,3***	+2,8	-2,1
<u>Rein</u>								
T	2,5	35,0	3,3	13,2	24,8	17,0	1,1	3,1
SD	0,8	0,3	0,4	1,1	5,5	2,9	0,1	0,1
I	0	-2,4	+4,1	-3,3	+2,6	+1,1	+0,1	-2,2
Tr	-1,2	-2,3	-0,2	-1,6	+5,1	+1,3	+0,3	-1,4
L	-2,2	-19,0	-2,1	-7,0	+3,2	+27,1*	+2,7	-2,7
<u>Poumon</u>								
T	1,7	29,4	2,8	15,4	39,1	9,7	0,6	1,3
SD	0,4	2,5	0,5	1,6	3,4	0,6	0,1	0,1
I	+0,6	-4,1	-0,3	-1,4	-3,0	+7,0	+1,5	-0,4
Tr	-0,3	-3,4	+0,4	+0,4	-3,6	+7,0	0	-0,5
L	-1,6	-17,9	-1,6	-11,2	-12,3	+40,6***	+5,0	-1,0
<u>Rate</u>								
T	1,9	25,7	2,7	13,9	31,9	16,8	1,2	5,9
SD	0,6	1,1	0,1	0,7	1,8	2,0	0,1	0,2
I	+1,9	+2,8	+1,1	-1,6	-0,9	+0,7	+0,4	-3,4
Tr	-1,2	-6,1	-0,9	+1,8	-0,6	+8,8	+0,1	-1,9
L	-1,8	-14,6	-1,9	-9,5	-6,5	+35,6***	+4,4	-5,7

T = Témoins (2 animaux) ; I = Intralipid (3 animaux) ;
Tr = Trive 1000 (3 animaux) ; L = Lipiphysan (2 animaux)
* p < 0,02 ; *** p < 0,01

TABLEAU V

Composition en acides gras des PC tissulaires
(% \pm SD et différences par rapport aux témoins)

	16:0	16:1	18:0	18:1	18:2	18:3	20:4	22:5	22:6
Foie									
T	21,8	1,0	26,8	19,7	18,4	0,4	6,7	2,3	2,9
SD	2,4	0,2	2,2	0,6	2,2	0,1	2,3	0,3	0,2
I	-3,7	-0,1	+1,1	-5,9	+8,8**	+0,2	-1,3	-0,5	+1,4
Tr	-7,9	-0,4	+0,6	-7,1	+15,6***	+0,2	-0,8	-0,2	0
L	-2,1	-0,1	-5,2	-8,5	+19,8***	+0,5	-2,5	-1,1	-0,8
Coeur									
T	23,6	1,0	9,6	19,8	36,5	1,2	6,7	0,9	0,7
SD	3,5	0,1	1,0	2,0	4,0	0,1	0,4	0,1	0,1
I	-5,6	+0,2	+2,9	-0,5	+2,0	+0,2	+0,7	0	+0,1
Tr	-3,0	+0,1	+3,2	+0,2	-1,9	0	+1,4	0	0
L	-3,2	+0,4	+2,0	-3,2	+3,4	+0,1	+1,1	+0,3	+0,1
Rein									
T	31,7	1,0	14,8	16,2	23,6	0,6	10,5	0,7	0,9
SD	8,5	0,3	1,8	2,4	2	0,1	2,1	0,1	0,1
I	-5,3	+0,5	-1,6	+4,8	+6,8**	+0,5	-5,9	0	+0,2
Tr	-4,2	+0,5	-0,8	+0,7	+8,8***	-0,1	-4,6	0	-0,3
L	-2,5	+0,5	-3,0	+2,4	+8,6***	+0,2	-6,0	0	-0,2
Poumon									
T	49,5	4,3	11,3	19,1	12,3	0,5	2,2	0,5	0,3
SD	0,1	0,1	0,4	0,4	1,3	0,1	0,8	0,3	0,1
I	-5,8	-0,8	-2,5	-2,4	+8,5**	+0,1	+1,6	+0,6	+0,7
Tr	-7,0	-0,9	-0,3	-2,0	+7,3***	+0,1	+2,3	+0,1	+0,2
L	-6,3	-0,2	-0,1	-4,1	+9,8***	+0,5	+0,5	-0,1	0
Rate									
T	40,4	2,1	13,5	14,0	14,0	0,5	12,7	1,9	0,9
SD	0,1	0,1	0,8	0,1	0,3	0,1	1,3	0,4	0,1
I	-4,0	+1,1	-1,6	+1,2	+10,2**	0	-6,3	-0,7	+0,1
Tr	-7,6	-0,1	-0,4	+0,4	+9,1**	0	-1,2	-0,2	0
L	-0,9	+0,5	-1,9	-0,4	+11,5***	+0,4	-7,8	-0,9	-0,5

T = Témoins (2 animaux) ; I = Intralipid (3 animaux) ;
Tr = Trive 1000 (3 animaux) ; L = Lipiphysan (2 animaux)

** p < 0,05 ; *** p < 0,01



TABLEAU VI

Composition en acides gras des PE tissulaires
(% \pm SD et différences par rapport aux témoins)

	16:0	16:1	18:0	18:1	18:2	18:3	20:4	22:5	22:6
<u>Foie</u>									
T	11,9	1,1	27,8	13,4	10,5	0,3	21,8	3,6	9,6
SD	2,5	0,2	3,5	1,6	0,3	0,1	2,9	0,3	0,6
I	+0,9	0	+10,7	+0,2	+3,9	+0,2	-9,9*	-1,7*	-4,3***
Tr	-3,3	-0,5	+6,3	-0,5	+9,4***	+0,3	-6,0*	-1,2*	-4,5***
L	-0,8	-0,5	+4,2	-2,2	+15,0***	+0,8	-10,5*	-1,1*	-4,9***
<u>Coeur</u>									
T	5,7	0,5	28,8	4,8	20,2	0,5	33,9	3,1	2,6
SD	0,4	0,1	0,7	0,6	0,4	0,1	0,2	0,1	0,1
I	+0,1	0	-2,4	+3,2	+4,5*	+0,3	-7,6	+0,1	+1,3
Tr	+1,1	-0,1	-3,9	+1,2	+0,9	+0,2	-0,1	-0,3	-0,9
L	-1,2	-0,1	-6,4	+2,6	+4,9*	+0,2	-2,0	+0,7	+1,2
<u>Rein</u>									
T	9,0	0,7	17,9	15,7	11,6	0,4	36,2	2,3	6,2
SD	0,3	0,1	0,3	1,0	0,5	0,1	0,6	0,6	1,0
I	-1,7	0	-1,3	+4,1	+9,6*	+0,3	-9,9*	-0,9	-0,2
Tr	-0,1	0	-2,5	+3,0	+8,3*	+0,3	-7,6*	-0,7	-0,7
L	-0,5	0	-0,1	+4,4	+8,3*	+0,5	-11,3*	0	-1,3
<u>Poumon</u>									
T	16,6	1,4	22,5	22,7	11,5	0,4	19,9	3,0	2,0
SD	1,1	0,3	0,2	3,5	1,6	0,1	0,2	0,2	0,5
I	-5,6	-0,2	-5,0	-1,0	+5,0*	+0,4	+3,5	+2,0	+0,9
Tr	-5,9	-0,4	-4,9	-2,9	+5,8*	+0,2	+5,3	+1,8	+1,0
L	-4,7	0	-3,1	-2,6	+7,5*	+0,2	+0,1	+1,8	+0,8
<u>Rate</u>									
T	6,8	0,6	20,2	9,9	6,2	0,4	43,5	7,1	5,3
SD	0,5	0,1	0,4	0,6	0,5	0,1	0,4	0,6	0,6
I	+2,6	+0,3	-2,4	+4,7	+9,7*	+0,4	-16,0*	-0,6	+1,3
Tr	+2,9	+0,4	-0,1	+3,2	+10,0*	+0,3	-16,0	+0,2	-0,9
L	+4,0	+0,4	+0,1	+5,0	+12,9***	+0,4	-19,3*	-1,6	-1,9

T = Témoins (2 animaux) ; I = Intralipid (3 animaux) ;
Tr = Trive 1000 (3 animaux) ; L = Lipiphysan (2 animaux).

* $p < 0,05$; *** $p < 0,01$



ETUDE METABOLIQUE DE TROIS EMULSIONS LIPIDIQUES UTILISEES
DANS L'ALIMENTATION PARENTERALE.

II. ETUDE PAR PERFUSION DE FOIE DE RAT ISOLE.

P. DEWAILLY, N. TRUPIN, A. NOUVELOT, J.C. FRUCHART, J. JAILLARD
et G. SEZILLE

Nutrition and Metabolism, 19 : 318-326 (1975)

Lors d'une communication séparée concernant nos travaux actuels sur le métabolisme des émulsions lipidiques injectables (1), nous avons rapporté les résultats relatifs à une expérimentation menée in vivo chez le miniporc avec trois types d'émulsions.

Des différences de comportement ont ainsi pu être mises en évidence ; en effet, le Lipiphysan (Laboratoires Egic) induit chez cet animal une stéatose tissulaire notablement supérieure à celle observée avec l'Intralipid (Laboratoires Vitrum) ou le Trive 1000 (Laboratoires Egic) et prédominant au niveau du foie.

De cette expérimentation chez le miniporc, nous pouvions évoquer deux processus différents d'épuration plasmatique des émulsions choisies : l'un semblait "inadapté", à l'origine d'une surcharge tissulaire en triglycérides (TG), mis en jeu en présence du Lipiphysan et faisant vraisemblablement intervenir le système réticuloendothélial (SRE) susceptible de capter très rapidement les particules lipidiques de l'émulsion sans dégradation préalable ; l'autre paraissait "adapté", ne produisant qu'une stéatose discrète, mis en jeu dans le cas de l'Intralipid ou du Trive 1000 et lié probablement à l'intervention d'un processus d'hydrolyse enzymatique des lipides émulsionnés.

Dans la présente étude, complémentaire de l'expérimentation effectuée chez le miniporc, nous avons cherché à vérifier, à l'aide d'un modèle de perfusion de foie de rat isolé, les mécanismes d'épuration mis en jeu en présence des trois émulsions précédemment choisies.

MATERIEL ET METHODES

MODE DE PERFUSION

Un système de perfusion de foie de rat isolé dérivé de la technique de Brauer et al. (2) et mis au point par Vanlerenberghe et al. (3) a servi à cette étude.

Nous avons utilisé : l'Intralipid à 10 % à base d'huile de soja et contenant 25 g/l de glycérol ; le Trive 1000 à base d'huile de soja et contenant 100 g/l de sorbitol ; le Lipiphysan à 10 % à base d'huile de coton et contenant 50 g/l de sorbitol.

Le sang destiné aux perfusions a été recueilli chez des rats préalablement soumis à des antivitamines K (Tromexane) ; les échantillons ont été rassemblés et soigneusement défibrinés. Le milieu de base utilisé pour chaque perfusion comporte 45 ml de sang défibriné et 45 ml d'une solution aqueuse préparée à partir d'albumine (1,5 g), de glucose (0,15 g), de NaCl (382 mg), de KCl (17,4 mg), de CaCl₂ (5 mg), de NaHCO₃ (26,2 mg), de Na₂HPO₄ (96,7 mg) et de KH₂PO₄ (9,5 mg). Ce milieu, convenablement oxygéné, est perfusé pendant 1h. dans le but d'apprécier, par l'excrétion biliaire, le bon fonctionnement hépatique. 5 ml de perfusat (temps 0) sont alors prélevés et on ajoute au reste l'équivalent de 150 mg de triglycérides de l'émulsion choisie ; 6 autres prélèvements de 5 ml sont ensuite effectués aux temps 5, 10, 15, 30, 45 et 60 min.

PROTOCOLE EXPERIMENTAL

Dans l'expérimentation standard, 6 perfusions ont été réalisées avec chacune des 3 émulsions dans le but d'étudier la cinétique d'épuration par le foie des TG et des acides gras libres (AGL).

Un second type d'expérimentation a été mis en oeuvre dans le cas de l'Intralipid à propos de 6 perfusions de foie précédées, en l'occurrence, par des perfusions d'une durée de 1 h. avec le milieu de base additionné de 5000 UI d'héparine Roche (4). Le schéma expérimental est donc : 1 h. de perfusion avec le milieu de base hépariné et contrôle de l'excrétion biliaire ; remplacement de ce milieu hépariné par le perfusat habituel et étude de la cinétique d'épuration.

Un troisième protocole expérimental a été utilisé avec le Lipiphysan à propos de 6 perfusions mises en oeuvre après blocage du SRE. Dans ce but, 0,1 ml d'une dispersion aqueuse de carbone à 10 % (p/v) sont additionnés à 1 ml d'une solution d'agar-agar à 1 g/l ; le mélange est soumis aux ultrasons pendant 2 min avant d'être injecté (0,5 ml) par une veine caudale au rat donneur, 3 h. avant le prélèvement du foie (5).

PROTOCOLE D'ANALYSE

Tous les prélèvements effectués dans le perfusat ont été soumis à une centrifugation à faible vitesse (600 g) juste suffisante pour provoquer la sédimentation des hématies et permettre la récupération d'un surnageant turbide et homogène, sur lequel ont été effectués les dosages.

Les mesures de turbidité exprimées en DO x 100 ont été faites à 700 nm après dilution au 1/10 avec du sérum physiologique et contre un blanc préparé de la même façon à partir du prélèvement effectué au temps zéro ; il n'a pas été tenu compte de la dilution dans l'expression des résultats.

Les autres analyses ont été effectuées sur le surnageant non dilué. Après extraction isopropanolique des lipides et adsorption sur résine des phospholipides, les TG sont saponifiés par la potasse alcoolique ; le glycérol total comprenant le glycérol libre et le glycérol issu des TG de l'émulsion et des lipoprotéines sériques est oxydé en formaldéhyde qui est ensuite condensé avec l'acétylacétone et des ions NH_4^+ pour donner une lutidine fluorescente appréciée à 485 nm après excitation à 405 nm ; cette méthode fluorimétrique semi-automatique de dosage du glycérol a fait l'objet d'une précédente communication (6). Dans certains cas, le dosage a été effectué avant et après élimination par centrifugation à 10 000 g des particules lipidiques d'émulsion présentes dans les échantillons de perfusat ; par différence, nous avons donc obtenu le glycérol des TG issus de l'émulsion. Les AGL préalablement extraits du perfusat et mis en solution heptanique ont été dosés, à l'abri du CO_2 atmosphérique, par une méthode colorimétrique au rouge de phénol, semi-automatique, décrite antérieurement (7).

RESULTATS

ETUDE COMPAREE DES CINETIQUES D'EPURATION HEPATIQUE OBTENUES AVEC LES TROIS EMULSIONS

Le tableau I montre qu'au temps de référence (5 min) et bien que les quantités de triglycérides introduites dans le perfusat initial

(temps 0) soient équivalentes, les turbidités induites par les 3 émulsions sont très différentes, le Lipiphysan donnant la plus forte DO ; le temps de 5 min étant juste suffisant pour assurer l'homogénéité du perfusé dans lequel sont faits les prélèvements de 5 ml destinés aux mesures, les différences initiales de DO (temps 5 min) paraissent être en rapport avec les propriétés physiques des émulsions. On constate en outre et surtout que les variations de turbidité dans le temps ne sont pas significatives avec le Trive 1000 et l'Intralipid alors qu'on observe une diminution progressive, importante et très significative avec le Lipiphysan.

Cette diminution correspond donc à une épuration par le foie des particules lipidiques de l'émulsion ; par dosage du glycérol total avant et après élimination des particules par centrifugation à 10 000 g nous avons, d'autre part, calculé par différence et à propos d'une expérimentation effectuée avec le Lipiphysan, les taux de TG résiduels provenant de l'émulsion. A partir des DO et des taux de TG ainsi déterminés aux différents temps de prélèvement nous avons pu calculer un coefficient de corrélation qui se situe à + 0,993 ; les DO apprécient donc fidèlement les TG apportés par l'émulsion alors que le dosage du glycérol total incluerait le glycérol libre et les glycérides des lipoprotéines sériques. Les quantités de TG extraits par le foie pourraient donc se déduire de la formule :

$$TG = A \frac{V_t}{V_o} \cdot \left(1 - \frac{D_t}{D_o}\right)$$

Cette formule tient compte des variations progressives de volume du perfusé au cours de l'expérimentation et se définit par : A = milligrammes de TG,

issus de l'émulsion, présents dans le perfusé au temps de référence 5 min ; V_0 , V_t = volumes du perfusé au temps de référence et au temps t ; D_0 , D_t : DO du perfusé au temps de référence et au temps T .

En complément de l'étude principale (Tableau I) nous avons donc utilisé cette formule pour apprécier en moyenne et dans le cas du Lipiphysan l'extraction hépatique des TG issus de l'émulsion : la figure 1 établie à partir des données moyennes du tableau I (Lipiphysan) montre que cette extraction se fait selon un mode linéaire ($r = 0,998$; $p \ll 0,001$) à raison de 27 mg/h en moyenne et pour une concentration initiale en TG voisine de 1,75 g/l de perfusé.

Dans l'expérimentation standard (Tableau II), les concentrations du perfusé en AGL au temps de référence 5 min diffèrent selon l'émulsion et sont en rapport avec le fait que ces émulsions contiennent des quantités faibles mais variables d'AGL ; pour faciliter les interprétations, nous avons donc (Tableau II) calculé les pourcentages d'extraction hépatique par rapport aux quantités présentes dans le perfusé au temps de référence 5 min. On constate alors que l'extraction est importante et significative dès la 15^e minute avec le Trive 1000 et le Lipiphysan ; elle n'apparaît pas avec l'Intralipid mais devient manifeste lorsqu'on procède à une perfusion préalable d'un milieu hépariné ne contenant pas l'émulsion.

INFLUENCE DU BLOCAGE DU SRE

Lorsqu'on compare (Tableau III) les extractions hépatiques de TG du Lipiphysan établies en pourcentages des quantités présentes au temps

de référence 5 min, on constate que le blocage du SRE ralentit de façon très significative la cinétique d'épuration par le foie.

DISCUSSION

Cette étude par perfusion de foie de rat isolé nous a permis de mettre en évidence des différences importantes de cinétique d'épuration hépatique entre les trois émulsions choisies.

On observe en particulier, que les TG du Lipiphysan disparaissent rapidement du perfusat et sont captés par le foie selon un mode linéaire, à raison de 0,5 mg/min, dans nos conditions expérimentales. En revanche, aucune variation significative n'intervient avec l'Intralipid et avec le Trive 1000 lorsqu'on apprécie les TG exogènes par la turbidité ; nous avons montré que ces deux paramètres étaient en corrélation étroite et que l'on pouvait ainsi éviter les interférences des TG endogènes inclus dans les lipoprotéines sériques et du glycérol apporté par l'Intralipid. Il n'est cependant pas exclu qu'une faible captation inaccessible aux mesures turbidimétriques intervienne également dans le cas de l'Intralipid et du Trive 1000.

On observe, en outre, que la concentration des perfusats en AGL diminue progressivement et très significativement avec le Lipiphysan et le Trive 1000 ; ces variations correspondent à la captation hépatique normale d'AGL présents dans le milieu de base et dans les émulsions. Cette captation importante s'oppose à la stabilité des taux enregistrés avec l'Intralipid ; il se pourrait donc qu'avec ce type d'émulsion, la captation

normale soit compensée par une hydrolyse enzymatique légère des TG de l'émulsion. On sait, en effet, que le foie possède une TG-lipase libérable dans la circulation par l'héparine et impliquée, avec la lipoprotéine-lipase des tissus extrahépatiques, dans l'épuration des TG circulants (4-8-10). On peut donc concevoir qu'une telle hydrolyse s'accompagne comme pour la lipoprotéine-lipase (11) d'une libération d'AGL dans la circulation, expliquant ainsi l'absence de diminution du taux des AGL dans le perfusé contenant de l'Intralipid ; les résultats que nous avons obtenus en effectuant un épuisement préalable de la TG-lipase par l'héparine sont en faveur de cette hypothèse.

Le ralentissement important de l'épuration hépatique du Lipiphysan après blocage du SRE dans le foie semble indiquer que les particules de cette émulsion sont essentiellement captées par les cellules du SRE, un tel processus non enzymatique rendrait parfaitement compte de la diminution rapide et importante des DO enregistrée avec cette émulsion.

En définitive, on peut considérer que les particules du Lipiphysan sont captées directement par les cellules du SRE (12), cette extraction réalisant un mode rapide d'épuration. A l'inverse, l'Intralipid subirait une hydrolyse enzymatique légère vraisemblablement par la TG-lipase ; cette hydrolyse constitue un mode lent d'épuration. Dans le cas du Trive 1000, aucun argument ne nous permet d'exclure une hydrolyse enzymatique faible, mais l'épuration hépatique de cette émulsion est, de toute évidence, lente s'apparentant à celle de l'Intralipid.

L'ensemble de cette étude portant sur l'épuration de trois émulsions différentes permet, en conclusion, de dissocier plusieurs mécanismes. Le Lipiphysan est responsable d'une stéatose tissulaire liée à la captation directe des particules de l'émulsion par le SRE particulièrement riche dans le foie, la rate et le poumon. A l'opposé, l'Intralipid comme le Trive 1000 n'induisent que des modifications mineures de la teneur glycéridique de ces tissus (1). Ces deux dernières émulsions sont en effet dégradées avant leur incorporation tissulaire grâce à l'intervention d'une hydrolyse enzymatique mettant en jeu probablement la TG-lipase hépatique pour l'Intralipid et la lipoprotéine-lipase du tissu adipeux en particulier pour l'Intralipid et le Trive 1000 (13).

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé dans le cadre d'un contrat de Recherche de l'UER III des Sciences Médicales de Lille avec la collaboration de Mme M.C. Guillaume et de M. J. Mortier.

BIBLIOGRAPHIE

1. Nouvelot, A. ; Dewailly, P. ; Fruchart, J.C. ; Jaillard, J. et Sézille, G. : Etude métabolique de trois émulsions lipidiques utilisées dans l'alimentation parentérale. I. Exploration in vivo chez le miniporc. *Nutr. Metabol.* 19 : 307-317 (1975).
2. Brauer, R.W. ; Pessotti, R.L., and Pizzolato, P. : Isolated rat liver preparation. Bile production and other basic properties. *Proc. Soc. Exp. Biol.* 78 : 174-181 (1951).
3. Vanlerenberghe, J. ; Guerrin, F, et Milbled, G. : Sécrétion des acides biliaires par le foie de rat perfusé. *C.R. Séanc. Soc. Biol.* 15 : 901-907 (1958).
4. La Rosa, J.C. ; Levy, R.I. ; Windmueller, H.G., and Fredrickson, D.S. : Comparison of the triglyceride lipase of liver, adipose tissue and post-heparin plasma. *J. Lipid Res.* 13 : 356-363 (1972).
5. Souhami, R.L. and Bradfield, J.W.B. : The recovery of hepatic phagocytosis after blockade of Kupffer cells. *J. Reticuloendoth. Soc.* 16 : 75-86 (1974).
6. Jaillard, J. ; Sézille, G. ; Fruchart, J.C. et Scherpereel, P. : Dosage semi-automatique de l'activité lipolytique du plasma post-héparine. Bilan des premières applications cliniques. *Clin. Chim. Acta* 38 : 277-284 (1972).

7. Fruchart, J.C. ; Dewailly, P. ; Jaillard, J. et Sézille, G. : Dosage colorimétrique, semi-automatique des acides gras. Applications : dosage des acides gras libres du plasma, de la lipase sérique et des triglycérade-lipases du plasma post-héparine. *Annls Biol. Clin.* 32 : 237-244 (1974).
8. Jansen, H. ; Van Zuylen-Van Wiggen, Z., and Hülsmann, W.C. : Lipoprotein-lipase from heart and liver : an immunological study. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 55 : 30-37 (1973).
9. Jansen, H. and Hülsmann, W.C. : Liver and extrahepatic contributions to post-heparin serum lipase activity of the rat. *Biochim. Biophys. Acta* 369 : 387-396 (1974).
10. Greten, H. ; Sniderman, Z.D. ; Chandler, J.G. ; Steinberg, D., and Brown, W.V. : Evidence for the hepatic origin of a canine post-heparin plasma triglyceride lipase. *Febs Lett.* 42 : 157-160 (1974).
11. Scow, R.O. ; Hamosh, M. ; Blanchette Mackie, E.J., and Evans, A.J. : Uptake of blood triglyceride by various tissues. *Lipids* 7 : 497-505 (1972).
12. Lemperle, G. ; Reichelt, M., and Denk, S. : The evaluation of phatocytic activity in men by means of a lipid-clearing test. Abstract. 6th Int. Meet. Reticuloendoth. Soc., P; 83 (1970).

13. Jaillard, J. ; Dewailly, P. ; Sézille, G. ; Fruchart, J.C. ; Rault, C. et Scherpereel, P. : Intérêt et signification du test d'hyperlipémie par voie veineuse dans l'exploration des hyperlipémies. Etude de ses variations sous l'effet de l'alcool. *Atherosclerosis* 19 : 493-500 (1974).

TABLEAU I

Etude comparée des cinétiques d'épuration des trois types d'émulsions

Temps (min)	Trive 1000		Intralipid		Lipiphysan	
	M ± SD	p	M ± SD	p	M ± SD	p
5	27,2 ± 1,8		38,7 ± 3,2		63,9 ± 10,6	
10	27,2 ± 1,6	NS	38,5 ± 4,0	NS	62,5 ± 10,8	0,03
15	26,8 ± 1,2	NS	38,7 ± 2,9	NS	61,1 ± 10,1	0,005
30	27,8 ± 1,4	NS	38,2 ± 3,7	NS	57,8 ± 8,7	0,001
45	28,4 ± 1,6	NS	38,0 ± 4,0	NS	53,2 ± 8,5	0,002
60	27,8 ± 1,8	NS	37,5 ± 3,2	NS	46,8 ± 8,2	0,003

6 expérimentations par émulsion (moyenne ± déviation standard). DO x 100 mesurées sur les dilutions au 1/10 du perfusat débarrassé des hématies. p = Signification des différences par rapport au temps 5 min ; test t de Student-Fisher pour séries appariées.



TABLEAU II

Extraction hépatique des AGL présents dans le perfusat au temps de référence 5 min

Temps	Extraction hépatique par rapport aux quantités présentes ($\mu\text{mol}/85 \text{ ml}$ de perfusat) dans le perfusat au temps 5 min, %							
	Lipiphysan standard (AGL à 5 min: 29 ± 16)	p	Trive 1000 standard (AGL à 5 min: 62 ± 24)	p	Intralipid standard (AGL à 5 min: 37 ± 18)	p	héparine (AGL à 5 min: 63 ± 20)	p
10	+ 7,6	NS	+ 3,1	NS	- 3,5	NS	+ 0,8	NS
15	+ 27,1	<0,05	+ 10,4	<0,01	- 4,5	NS	+ 4,0	NS
30	+ 44,4	<0,01	+ 23,7	<0,001	- 7,2	NS	+ 10,0	NS
45	+ 51,4	<0,01	+ 30,0	<0,001	- 4,5	NS	+ 17,8	<0,05
60	+ 49,4	<0,05	+ 31,3	<0,001	+ 1,5	NS	+ 23,8	<0,05

p = Signification des différences par rapport au temps 5 min (test t pour séries appariées)

+ = Extraction correspondant à une diminution des concentrations dans le perfusat, par opposition à (-) qui correspond à une augmentation donc à une libération d'AGL dans le perfusat.



TABLEAU III

Etude comparée des cinétiques d'épuration par le foie
des TG du Lipiphysan avec et sans blocage préalable du SRE
(moyennes de 6 expérimentations \pm erreur standard de la moyenne)

Temps (min)	Extraction hépatique par rapport aux quantités de TG de Lipiphysan présentes dans le perfusat au temps de référence de 5 min, %		p
	sans blocage	avec blocage	
10	2,1 \pm 0,8	0,1 \pm 0,04	3.10 ⁻²
15	3,9 \pm 1,0	0,2 \pm 0,08	5.10 ⁻³
30	7,9 \pm 1,3	2,4 \pm 0,3	2.10 ⁻³
45	12,8 \pm 1,7	3,4 \pm 0,47	4.10 ⁻⁴
60	18,9 \pm 2,1	7,0 \pm 0,7	4.10 ⁻⁴

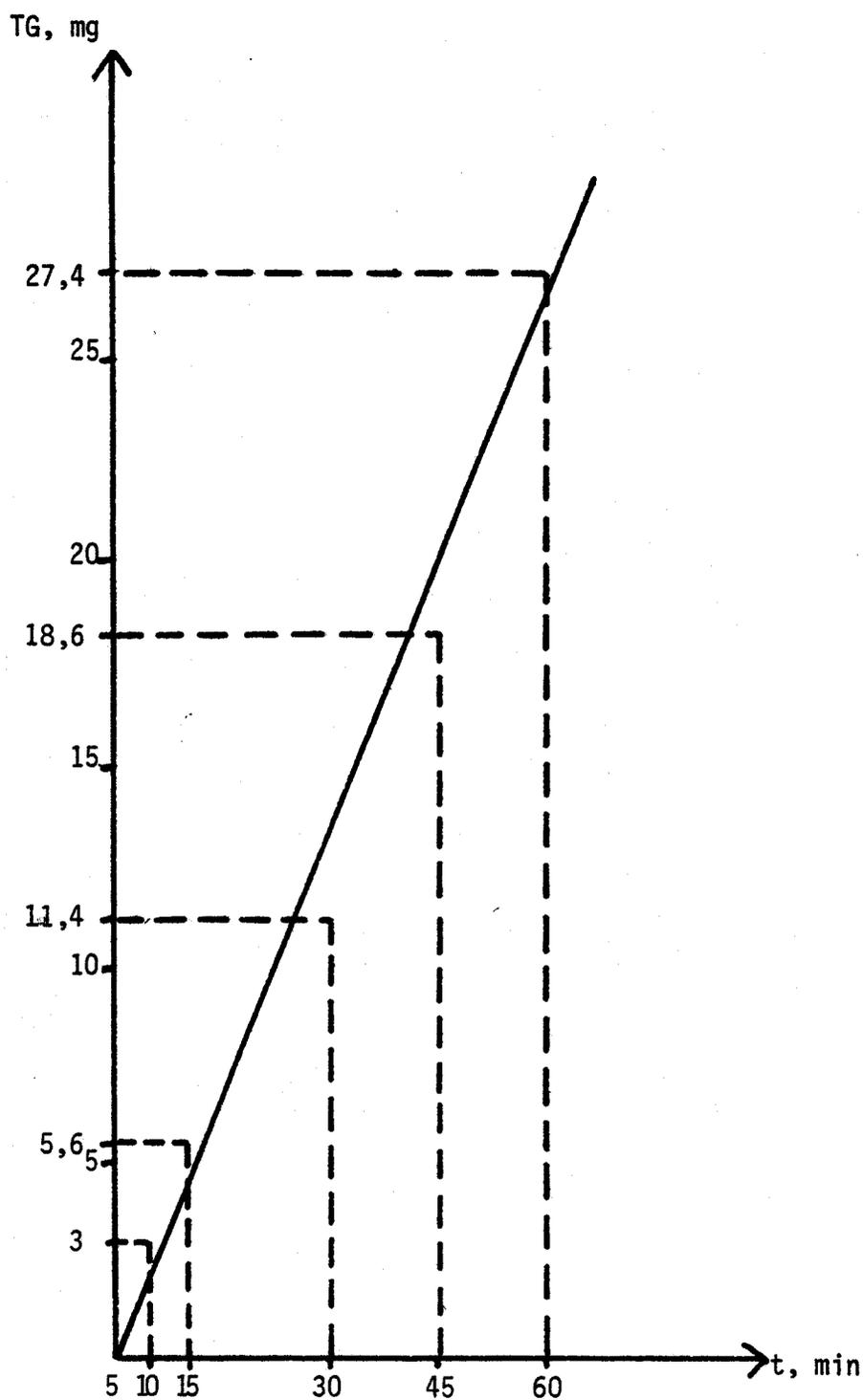


Figure 1

Cinétique d'épuration hépatique des TG du Lipiphysan :
relation entre les extractions moyennes déterminées aux différents
temps par rapport au temps de référence 5 min.



CHANGES IN THE FATTY ACID PATTERNS OF BRAIN
PHOSPHOLIPIDS (EPG - CPG) DURING DEVELOPMENT FROM
RATS FED WITH PEANUT OR RAPESEED OIL, TAKING
INTO ACCOUNT DIFFERENCES BETWEEN MILK AND MATERNAL
FOOD.

A. NOUVELOT, J.M. BOURRE, G. SEZILLE, P. DEWAILLY and
J. JAILLARD

Annals of Nutrition and Metabolism, Accepté pour publication
le 7 Janvier 1982.

INTRODUCTION

Fatty acids play important roles in membranes, especially in the brain, where two distinct kinds of membranes are found : myelin principally composed of lipids containing saturated and monounsaturated fatty acids, and synapse which is characterized by high contents of lipids containing polyunsaturated fatty acids. Biosynthesis of saturated and monounsaturated fatty acids takes place on one hand in microsomes where a de novo system and two elongation systems (C_{16} -elongase and C_{18} -elongase) occur and on the other hand in mitochondria where a de novo system and only one elongation system can be found (1, 2, 3). Although endogenous synthesis plays a leading part, it is not the only source of brain fatty acids. Such fatty acids may as well be taken up from the blood (4, 5). Thus, the nature and amount of dietary essential fatty acids play a significant role in the repartition of brain polyunsaturated fatty acids (6). In rats maintained on a fat free diet from 2 weeks before birth, eicosatrienoic acid $\Delta 5-8-11$ (20:3 n-9) is found in major phosphoglycerides of brain homogenates as well as myelin and microsomes and, at the same time, the level of arachidonic acid (20:4 n-6) and (22:4 n-6) are decreased (7). A similar pattern is observed in liver lipids of adult rats maintained for only short periods of time on a fat free diet. Changes are found in (20:3 n-9) and (22:3 n-9) in the lipids of rat brains switched from an essential fatty acid deficient diet to a corn oil supplemented diet (8). Moreover, according to Lamptey and Walker (9), brain phospholipids of pregnant rats fed either cartham oil or soybean oil show a decrease in the amount of n-6 fatty acids and an increase in n-3 fatty acids when 18:3 n-3 level increases in the diet.

Similar observations are made when long chain polyunsaturated fatty acids (20:5 n-3, 22:6 n-3), instead of their precursors are introduced in the diet (10). On the other hand, even though variation of the different essential fatty acids is made in the diet, the sum of polyunsaturated fatty acids in brain phospholipids remains constant. From these experiments, it is difficult to assess the respective roles of dietary linoleic (18:2 n-6) and linolenic (18:3 n-3) acids in the metabolism of brain fatty acids. In order to examine more precisely the importance of 18:3 n-3 in the diet with respect to fatty acid metabolism in the brain, we used two diets in which the percentage of 18:2 n-6 was similar but the percentage of 18:3 n-3 was different.

We choose peanut oil with a low 18:3 n-3 content (0.2 %) and rapeseed oil with a high 18:3 n-3 (8.5 %) and a low erucic acid content (22:1). The fatty acid composition of ethanolamine phosphoglycerides (EPG) and choline phosphoglycerides (CPG) was studied when the rats were 1, 4, 10, 15, 21 and 90 days old. At the same time, the fatty acid composition of gastric milk of the suckling rat was also examined. The study of different fatty acids (saturated, monounsaturated, n-3 and n-6) permitted us to examine the influence of time and diet, especially 18:3 n-3, by determining the level of 22:6 fatty acids, which is derived from the latter.

MATERIAL AND METHODS

ANIMALS AND DIET

Two groups of female rats (weighing 200-250 g) were fed a semi-synthetic diet containing casein (18 %), starch (30 %), sucrose (36 %),

salt mixture (4 %), agar-agar (2 %), fats (10 %) and vitamins. Group (A) received peanut oil and group (B) rapeseed oil (Table 1). The animals were fed the experimental diet ad libitum during pregnancy and throughout lactation, and the treatment was continued with the young rats after weaning. After delivery, eight young rats were left with each mother.

LIPID ANALYSIS

Animals from peanut oil and rapeseed oil groups were killed at 1, 4, 10, 15, 21 and 90 days of life. Each sample of brain and stomach contents was analyzed individually. Lipids were extracted by the procedure of Folch et al. (11). The phospholipids in 500 μ g of total lipid extract were separated by dimensional thin-layer chromatography at a set relative humidity as described previously (12). Methyl esters were prepared from lipids by the procedure described by Hagenfeldt (13). After extraction with heptane, the methyl esters of each extract were separated and identified by gas-liquid chromatography using two capillary columns, one packed with Carbowax 20 M (10 %) and the other with DEGS (10 %). The two different stationary phases were used to distinguish and identify n-9, n-6, n-3 polyunsaturated fatty acids. For each methyl ester mixture, two analyses were performed on the two columns. The peak areas were calculated by an integrator. The results were expressed as means (mole percent) of four determinations for each extract.

By this procedure, we have estimated the precision of the method in a preliminary study made up rat brain total lipid extracts. The relative error of the method was estimated by statistical variance analysis from 15 different brain total lipid extracts and 4 chromatographic analyses for each rat (Table II).

STATISTICAL ANALYSIS

Statistical procedure used to compare the two groups of results was based on determination of the Student's-t-test.

RESULTS AND DISCUSSION

Analyses of the fatty acid composition of gastric milk showed that the level of linoleic acid was similar in the two groups whatever the age of rats, and that only the proportions of linolenic acid changed (Figure 1). It is also interesting to note that 18:2 n-6 and 18:3 n-3 levels were much lower in gastric content than in the diet. In group (B) the 18:3 n-3 level in gastric content was about four times lower (2.4 %) than in the maternal diet (8.5 %) at the beginning of the suckling and significantly increased till weaning (Table III). In group (A), 18:3 n-3 was also higher in diet (0.2 %) than in gastric content (0.1 %) and did not change significantly with times. The overall decrease of essential fatty acids in the gastric content, when compared to the dietary fatty acids, could partly be explained by a dilution effect by the fatty acids synthesized endogenously in the mammary glands, especially palmitic acid. On the other hand, the gastric contents of very young animals is mostly milk, but around 15 days the pups will start chewing the food pellets and by 21 days the gastric content may be made up of only a small amount of milk. The curdled milk is probably a mixture of food and milk.

Analyses of the fatty acid composition of major phospholipids first showed that the need for essential fatty acids was met, as no eicosatrienoic acid (20:3 n-9) was found. In CPG about 90 % of the fatty acids

included in this phospholipids were chiefly saturated and monounsaturated (Table IV). The 20:4 n-6 level of CPG appeared to be lower in group B at all times, but these differences are not statistically significant. On the other hand, a 3-fold difference in 22:6 n-3 level was indicated in the data related to the 15 days and 21 days samples, while the 22:5 n-6 level could not be determined in group B but was found in trace quantity in group A.

In Table V, a gradual decrease of 20:4 n-6 level can be noted with increased age in both groups, but the diet does not significantly effect the level of 20:4 n-6 in EPG except in the day sample.

Under the experimental conditions used (from 2.4 to 5 % of 18:3 n-3 in milk) the elongation and desaturation systems of linoleic acid into arachidonic acid, in contrast to previous observations made in the liver by authors using a high 18:3 n-3 level in the diet (14). In brain EPG, the most important changes were seen in the percentages of docosapentaenoic acid (22:5) and docosahexaenoic acid (22:6) (Table V) ; 22:5 n-3 and 22:6 n-3 were increased in group B as compared to group A, whereas the 22:5 n-6 level was decreased in group B.

In good agreement with an other experiment (10), the diet had no influence on the sum of n-3 + n-6 fatty acids and on the amount of saturated and monounsaturated fatty acids (Figure 2).

In cerebral cortex of human brain or in mitochondria of rat brain, the amount of 22:6 n-3 of EPG increases with age. In our study, the amount of n-3 fatty acids in total brain fatty acids remained identical during the entire period of brain development, and the level of n-6 fatty

acids decreases after weaning in both experimental groups (Figure 2). The decrease of n-6 fatty acids was associated with an increase of monounsaturated fatty acids, especially oleic acid, which corresponded to myelin formation. In fact, oleic acid accounted for 10 % of fatty acids of brain EPG in 15 days old rats and for 20 % in 90 days old rats.

In conclusion, the incorporation of linolenic acid in the diet induced significant variations in the composition of fatty acids in phospholipids especially a marked increase in constituent docosapentaenoic and docosohexaenoic acids. These fatty acids could be formed by "in situ" synthesis after uptake of 18:3 n-3 by the brain (15, 16), but also probably originate from 22:5 n-3 and 22:6 n-3 provided in small quantity by maternal milk (or liver metabolism). Under our experimental conditions, symptoms of E.F.A. deficiency were not noted, and 18:3 n-3 did not seem to alter significantly (in vivo) of 18:2 n-6 into 20:4 n-6. However, we did not assert that 18:3 n-3 has no affect upon 18:2 n-6 $\Delta 6$ -desaturase since 18:3 n-3, when present in the diet of rats at a physiological level, could partly inhibit the "in vivo" desaturation of linoleic acid without affecting the amount of 20:4 n-6 in the liver, kidneys or whole animal (17). In brain, linolenic acid would be utilized rather than linoleic acid to provide long chain polyunsaturated fatty acids and the amount of n-3 polyunsaturated fatty acids would regulate the desaturation activity of 22:4 n-6 into 22:5 n-6 (Figure 3). Such an adjustment could explain that sum of (n-6 + n-3) fatty acid remains constant in brain phospholipids.

ACKNOWLEDGEMENTS

We wish to thank Miss O. Labiau and Mr L. Boussekey for their excellent technical assistance.

REFERENCES

1. Bourre, J.M. ; Pollet, S. ; Paturneau-Jouas, M., and Baumann, N. :
Enzymes of lipid metabolism (S. Gatt, L. Freysz, P. Mandel.
Plenum Publishing Corporation 1978).
2. Bourre, J. : Daudu, O., and Baumann, N. : Nervonic acid biosynthesis by
erucyl-CoA elongation in normal and quaking mouse brain micro-
somes. Elongation of other unsaturated fatty acyl-CoAs (mono
and polyunsaturated). *Biochim. Biophys. Acta* 424 : 1-7 (1976).
3. Paturneau-Jouas, M. ; Baumann, N., and Bourre, J. : Elongation of
palmitoyl-CoA in mouse brain mitochondria. Comparison with
stearoyl-CoA. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 71 : 1326-1334
(1976).
4. Bourre, J. ; Gozlan-Devillierre, N. : Morand, O., and Baumann, N. :
Importance of exogenous saturated fatty acids during brain
development and myelination in mice. *Ann. Biol. Anim. Bioch.
Biophys.* 19 : 173-180 (1979).
5. Dhopeswarkar, G. : Uptake and transport of fatty acids into the brain
and the role of the blood-brain barrier system. *Adv. Lipid
Res.* 11 : 109-142 (1973).
6. Mohrhauer, H., and Holman, R.T. : The effect of dose level of essential
fatty acids upon fatty acid composition of the rat liver.
J. Lipid Res. 4 : 151-159 (1963).

7. Sun, G. : Effects of a fatty acid deficiency on lipids of whole brain, microsomes, and myelin in the rat. *J. Lipid Res.* 13 : 56-62 (1972).
8. Sun, G. ; Winniezek, H. ; Go, J., and Sheng, S. : Essential fatty acid deficiency : Metabolism of 20:3 (n-9) and 22:3 (n-9) of major phosphoglycerides in subcellular fractions of developing and mature mouse brain. *Lipids* 10 : 365-373 (1975).
9. Lamptey, M., and Walker, B. : A possible essential role for dietary linolenic acid in the development of the young rat. *J. Nutr.* 106 : 86-93 (1976).
10. Galli, C. ; Trzeciak, H., and Paoletti, R. : Effects of dietary fatty acid composition of brain ethanolamine-phosphoglyceride: reciprocal replacement of n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids. *Biochim. Biophys. Acta* 248 : 449-454 (1971).
11. Folch, J. ; Lees, M., and Sloane Stanley, G.H. : A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226 : 497-509 (1957).
12. Dewailly, P. ; Sézille, G. ; Nouvelot, A. ; Fruchart, J.C., and Jaillard, J. : Changes in rat heart phospholipid composition after rapeseed oil feeding. *Lipids* 12 : 301-306 (1977).
13. Hagenfeldt, L. : A gas chromatographic method for the determination of individual free fatty acids in plasma. *Clin. Chim. Acta* 13 : 266-268 (1966).

14. Homan, R.T. : Nutritional and metabolic interrelationships between fatty acids. Fed. Proc. 23 : 1062-1071 (1964).
15. Dhopeswarkar, G. ; Submanian, C., and Mead, J.F. : Fatty acid uptake by the brain. Incorporation of [1-¹⁴C]-linolenic acid into adult rat brain. Biochim. Biophys. Acta 239 : 162-167 (1971).
16. Sinclair, A. : Incorporation of radioactive polyunsaturated fatty acids into liver and brain of developing rat. Lipids 10 : 175-184 (1974).
17. Blond, I. ; Poisson, J., and Lemarchal, P. : Influence de l'acide α -linoléique alimentaire sur la conversion des acides linoléique et γ -linoléique (1-¹⁴C) en arachidonate chez le rat (in vivo). Arch. Int. Phys. Biochim. 86 : 741-754 (1978).

TABLE I

Relative composition of total fatty acids (moles %) of dietary oils

Fatty acids	Peanut oil	Primor rapeseed oil
16:0	9.2 ± 0.6 ^(a)	7.7 ± 0.2
16:1	0.1 ± 0.05	0.2 ± 0.07
18:0	3.4 ± 0.4	2.8 ± 0.2
18:1	49.4 ± 1.3	50.4 ± 0.1
18:2 n-6	30.2 ± 0.8	25.9 ± 0.7
18:3 n-3	0.2 ± 0.02	8.5 ± 0.1
20:0	1.7 ± 0.3	0.5 ± 0.2
20:1	1.3 ± 0.2	1.7 ± 0.2
22:0	3.1 ± 0.3	0.4 ± 0.01
22:1	-	1.9 ± 0.1
24:0	1.4 ± 0.3	-
$\frac{18:2 \text{ n-6}}{18:3 \text{ n-3}}$	151 ± 4.2	3.04 ± 0.2

(a) Means ± Standard deviation



TABLE II

Relative error of chromatographic method estimated by statistical variance analysis at different fatty acid percentages in lipid extract

Fatty acids	Total lipid extract (a)	Relative method error (%)
C16:0	33.9	0.7
C18:1	15.6	2.0
C20:3 n-6	0.3	4.4
C20:4 n-6	11.7	1.1
C22:4 n-6	2.6	1.8
C22:6 n-3	5.3	1.3

(a) Results are expressed by the mean of 15 animals
(4 chromatographic analysis for each animal)



TABLE III

Relative composition of total fatty acids (moles %) of gastric contents

Fatty acids	1 day		4 days		10 days		15 days		21 days	
	A*	B**	A*	B**	A*	B**	A*	B**	A*	B**
C14:0	1.8(a)	1.8	6.5	7.0	10.3	12.4	12.2	9.7	7.7	7.0
C16:0	22.3	20.4	20.3	21.0	25.2	23.7	23.2	18.7	21.4	16.7
C16:1	2.9	3.2	1.9	2.9	1.7	2.2	1.6	1.5	2.5	1.9
C18:0	3.9	3.3	3.6	3.3	3.8	3.3	3.5	3.2	3.7	3.3
C18:1	43	45.3	42.8	42.8	38.6	34.6	38.1	41.6	43.3	46.1
C18:2 n-6	16.3	15.4	17.5	14.6	15.5	15.9	17.1	16.9	17.8	17.0
C18:3 n-6	1.1	0.7	1.0	0.6	0.5	0.5	0.8	0.2	0.2	-
C18:3 n-3	0.1	2.4	0.2	2.6	0.2	3.9	0.3	4.6	0.3	5.0
C20:0	0.2	0.1	0.3	0.1	0.3	0.1	0.5	0.1	0.5	0.2
C20:1	1.2	1.5	1.2	1.4	0.9	1.2	0.8	1.1	0.8	1.2
C20:2 n-6	0.3	0.4	0.3	0.2	0.2	0.3	0.2	0.2	0.2	0.3
C20:3 n-6	0.7	0.5	0.6	0.3	0.5	0.2	0.2	0.1	0.1	-
C20:4 n-6	3.8	2.3	2.4	1.4	1.3	0.8	0.9	0.8	0.8	0.6
C20:5 n-3	-	0.6	-	0.5	-	0.2	-	0.2	-	-
C22:0	0.2	-	0.3	-	0.3	-	0.3	-	0.4	-
C22:1	-	0.4	-	0.3	-	0.4	-	0.6	-	0.5
C22:4 n-6	1.1	0.6	0.4	0.3	0.1	0.1	0.1	0.2	0.1	0.1
C22:5 n-6	0.3	-	0.2	-	-	-	-	-	-	-
C22:5 n-3	0.3	0.5	0.4	0.3	0.4	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
C22:6 n-3	0.5	0.6	0.1	0.4	0.2	0.1	0.1	0.2	0.1	0.1

* Group (A), fed peanut oil

** Group (B), fed rapeseed oil

(a) Results are expressed by the mean of 3 animals (4 chromatographic analyses for each animal)

TABLE IV

Relative composition of total fatty acids (moles %) of choline phosphoglyceride
in brain lipid extracts

Fatty acids	1 day		4 days		10 days		15 days		21 days	
	A*	B***	A*	B***	A*	B***	A*	B***	A*	B***
C14:0	2.7(a)	5.2	3.2	3.1	3.6	4.8	1.7	3.6	1.6	2.4
C16:0	53.6	54.9	55.2	57.7	55.7	58.5	57.3	53.1	50.3	49.9
C16:1	14.4	8.6	9.7	9.6	8.3	7.9	3.5	5.2	5.0	4.3
C18:0	4.6	5.6	4.3	4.9	5.4	4.4	7.3	6.5	10.0	9.8
C18:1	19.5	20.4	19.0	18.4	16.7	15.5	21.6	19.1	21.8	20.9
C18:2 n-6	0.5	0.9	1.0	0.9	1.1	2.1	0.7	1.5	1.2	1.2
C18:3 n-3	-	-	-	-	-	0.5	-	0.4	-	1.2
C20:0	-	-	-	-	0.2	0.1	0.1	0.3	0.2	0.3
C20:1	-	-	0.4	0.3	0.1	0.2	0.3	0.3	0.5	0.3
C20:2 n-6	0.2	0.1	0.2	0.1	0.4	0.2	0.3	0.3	0.3	0.4
C20:3 n-6	0.3	0.9	0.2	0.3	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
C20:4 n-6	3.0	2.3	5.2	3.5	6.1	4.4	5.1	6.3	6.4	5.9
C22:4 n-6	0.2	0.2	0.3	0.3	0.5	0.2	0.5	0.5	0.7	0.7
C22:5 n-6	0.4	0.2	0.4	0.1	0.7	-	0.5	-	0.5	-
C22:6 n-3	0.6	0.7	0.9	0.8	1.0	1.0	0.9	2.7	1.3	2.5

* Group (A), fed peanut oil

*** Group (B), fed rapeseed oil

(a) Results are expressed by the mean of 3 animals (4 chromatographic analyses for each animal)



TABLE V

Relative composition of total fatty acid (mole %) of ethanolamine phosphoglyceride

Fatty acid	1 day		4 days		10 days		15 days		21 days		90 days	
	A*	B**	A*	B**	A*	B**	A*	B**	A*	B**	A*	B**
C14:0	2.9(a)	4.2	1.4	1.4	1.3	1.8	1.4	1.3	1.7	1.4	1.9	1.5
C16:0	19.6	15.5	14.7	14.2	12.0	13.3	12.1	11.2	9.6	9.6	7.4	7.1
C16:1	3.6	3.3	2.9	3.1	2.7	2.9	1.7	2.6	1.6	2.2	0.6	0.8
C18:0	20.5	26.1	23.8	24.2	24.1	24.1	25.5	24.1	25.7	25.5	27.9	28.2
C18:1	13.2	12.8	9.5	10.8	10.1	8.6	10.2	10.5	13.1	13.5	20.6	22.4
C18:2 n-6	1.5	0.9	0.9	0.9	1.3	1.4	1.0	1.4	1.2	1.7	1.0	0.7
C18:3 n-6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.3	1.4
C18:3 n-3	-	-	1.1	0.3	0.7	0.9	0.8	0.6	0.7	0.7	0.7	0.7
C20:0	-	-	0.1	-	0.4	0.1	0.1	0.4	0.4	0.4	0.2	0.1
C20:1	-	-	0.5	0.4	0.2	0.7	0.2	0.1	0.5	0.4	2.5	2.8
C20:2 n-6	0.3	0.4	0.3	0.3	0.5	0.3	0.4	0.6	0.6	0.6	0.8	0.8
C20:3 n-6	1.1	0.6	0.3	0.4	0.3	0.3	0.1	0.5	0.5	0.7	0.6	0.5
C20:4 n-6	18.1	14.6	20.1	20.1	23.2	22.1	22.1	20.7	19.2	17.7	13.2	11.8
C20:3 n-3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.7	0.9
C22:4 n-6	3.2	3.7	4.7	4.1	5.5	4.6	5.9	5.7	6.7	5.6	5.7	4.3
C22:5 n-6	8.1	2.6	6.9	2.3	6.9	1.5	7.0	1.3	6.5	0.7	4.1	0.2
C22:5 n-3	-	-	-	0.3	-	0.5	-	0.5	-	0.3	0.9	1.3
C22:6 n-3	7.9	15.3	12.8	17.3	11.1	16.6	11.5	18.5	12.0	19.0	8.9	14.5

* Group (A), fed peanut oil

** Group (B), fed rapeseed oil

(a) Results are expressed by the mean of 3 animals (4 chromatographic analyses for each animal)



LEGENDS

Figure 1 : Linolenic and linoleic acid levels in gastric contents during development in rats fed either peanut oil (Group A) or rapeseed oil (Group B).

Δ Levels of significancy between both groups at each experimental time (a = NS, b = $p < 0.05$, c = $p < 0.01$, d = $p < 0.001$).

Each experimental group was composed of 3 animals.

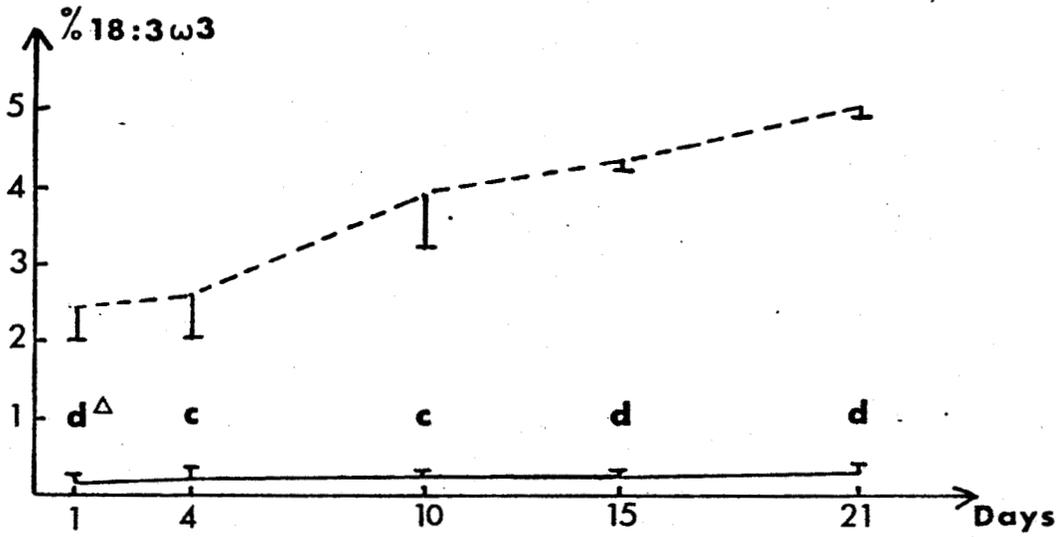
Figure 2 : Repartition of fatty acids in brain phosphatidyl ethanolamines according to degree of maturation in rats fed either peanut oil (Group A) or rapeseed oil (Group B).

Δ Levels of significancy between both groups at each experimental time (a = NS, b = $p < 0.005$, c = $p < 0.01$, d = $p < 0.001$).

Each experimental group was composed of 3 animals.

Figure 3 : Product-precursor relationships of acids of the n-6 family in brain ethanolamine phosphoglyceride at various ages in rats fed either peanut oil (Group A) or rapeseed oil (Group B).

Each experimental group was composed of 3 animals.



— Group (A)

- - - Group (B)

⊥ S.D.

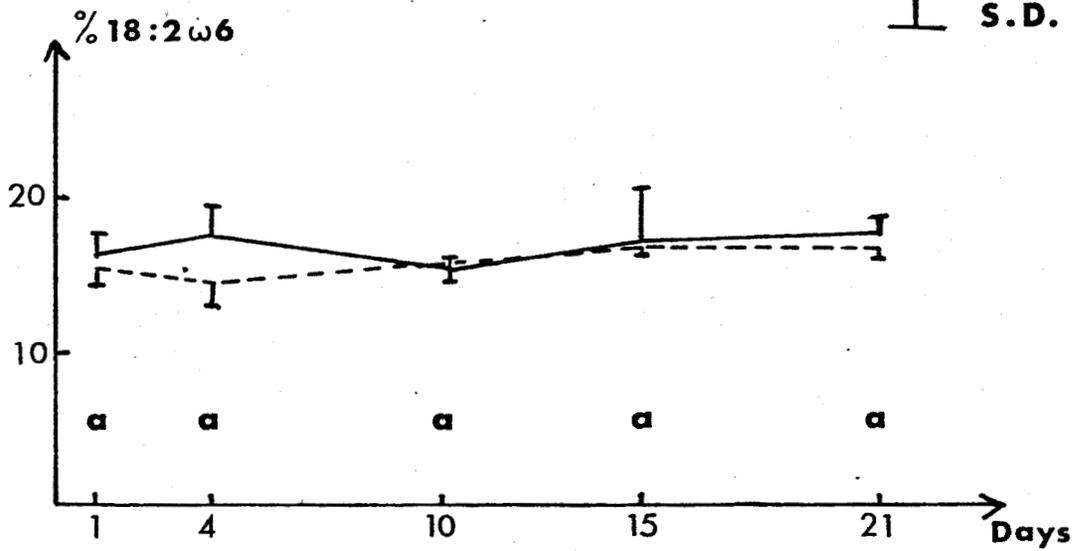
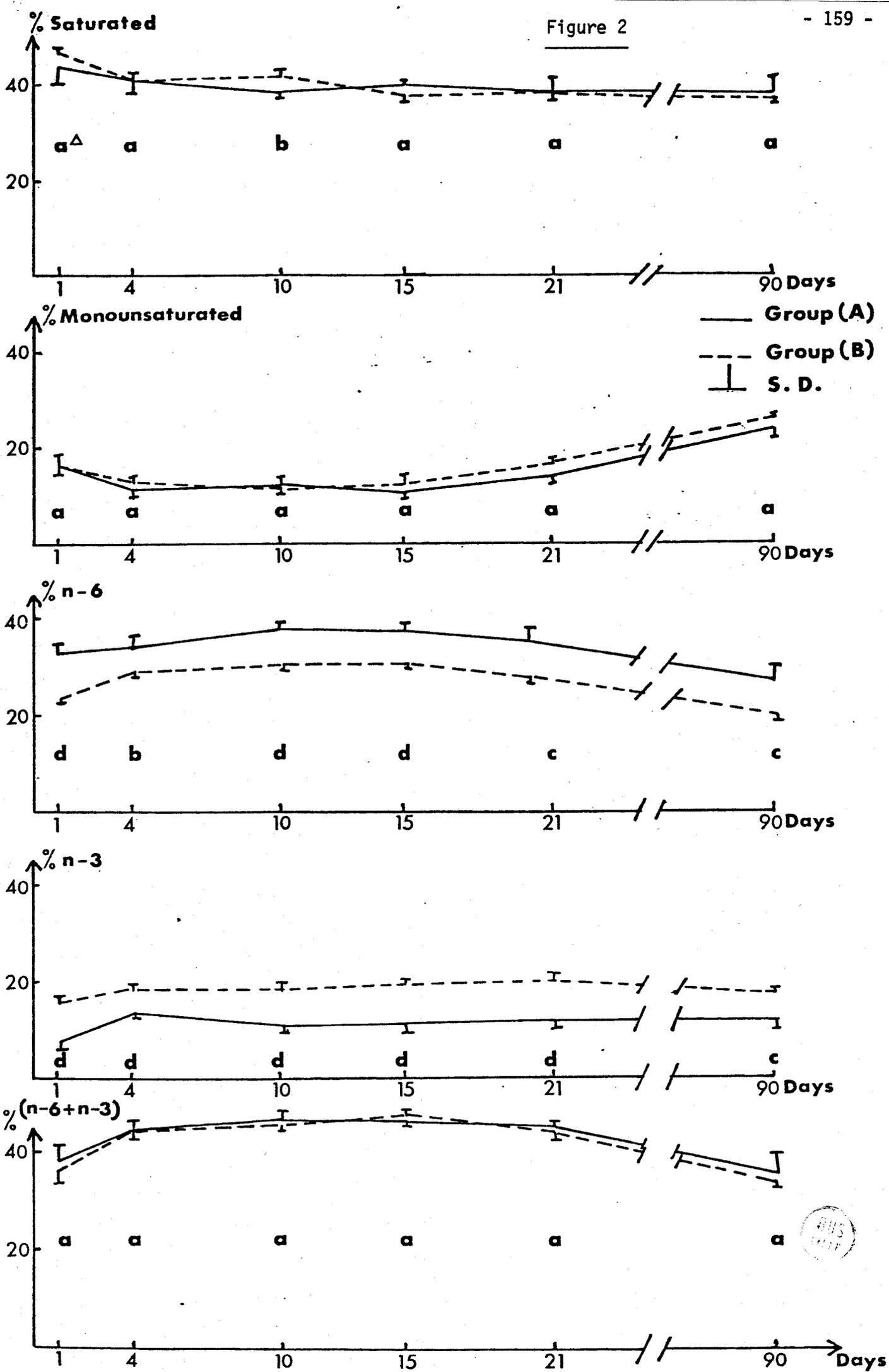


Figure 1



Figure 2



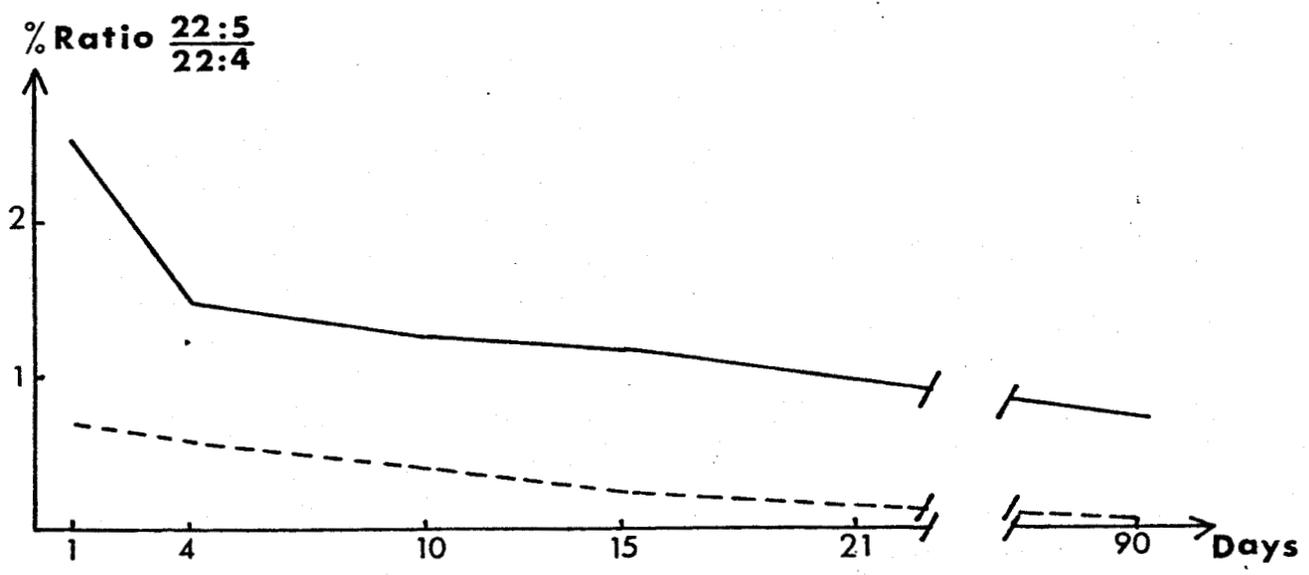
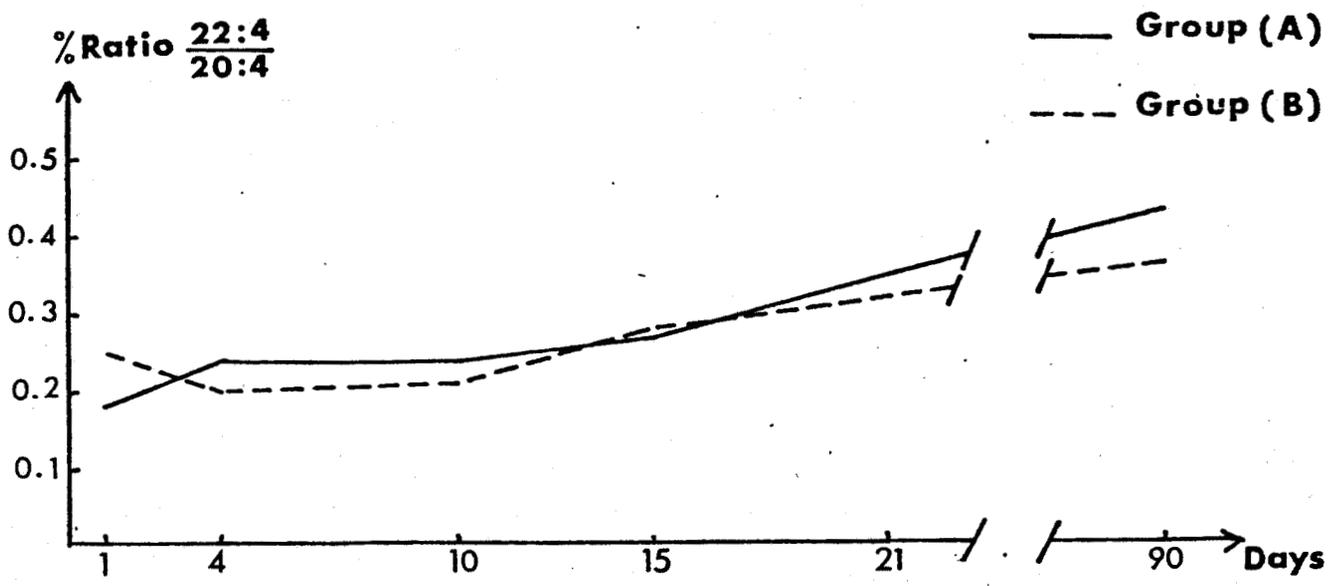


Figure 3



INFLUENCE DE LA TENEUR EN ACIDE LINOLENIQUE DU REGIME
MATERNEL SUR LA COMPOSITION EN ACIDES GRAS POLY-
INSATURES DES FRACTIONS SUBCELLULAIRES AU COURS DU
DEVELOPPEMENT CEREBRAL CHEZ LE RAT.

A. NOUVELOT, E. DEDONDER-DECOOPMAN, G. SEZILLE,
M. PATURNEAU-JOUAS, O. DUMONT, M. MASSON and J.M. BOURRE

Annals of Nutrition and Metabolism, Accepté pour publication
le 4 Février 1982.

INTRODUCTION

Le système nerveux présente une grande richesse en lipides, qui le distingue nettement de tous les autres tissus de mammifères : les lipides constituent plus de la moitié du poids sec du cerveau et il s'agit essentiellement de lipides structuraux non énergétiques. Les acides gras constitutifs de ces lipides jouent un rôle particulier dans les propriétés biologiques et physiologiques des membranes.

Le cerveau contient deux types d'acides gras :

- Acides gras saturés et monoinsaturés : à côté des longueurs de chaînes communes à tout organe (16 et 18 atomes de carbone, acide palmitique C18:0, stéarique C18:0, oléique C18:1), il y a de très longues chaînes, à 20, 22, 24 voire 26 et 28 atomes de carbone. Ces dernières sont essentiellement trouvées dans les sphingolipides myéliniques. Les acides gras α -hydroxylés sont directement dérivés des acides à très longues chaînes ; ils ont les mêmes localisations subcellulaires.
- Acides gras polyinsaturés, principalement à 20 et 22 atomes de carbone avec respectivement, 4 et 6 doubles liaisons. Ces acides essentiellement localisés dans les terminaisons nerveuses (synaptosomes) sont dérivés d'acides gras essentiels provenant de l'alimentation : les acides linoléique (C18:2 n-6) et linoléinique (C18:3 n-3).

La répartition des acides gras polyinsaturés (n-6 et n-3) au sein du tissu cérébral est très profondément modifiée par la teneur en acides gras essentiels du régime (1) (2). Dans un précédent travail, nous avons montré que lorsque l'apport en 18:3 n-3 dans le lait maternel passe de 0,2 % à 2,4 % des acides gras totaux, on observe une augmentation de 36 % des acides gras polyinsaturés en n-3 dans la phosphatidyléthanolamine du cerveau des jeunes rats et ce, au détriment du 22:5 n-6 (3). Toutefois dans nos conditions expérimentales, les processus d'élongation-désaturation du 18:2 n-6 ne semblent pas perturbés puisque les taux de 20:4 n-6 et 22:4 n-6 restent constants. Cette étude réalisée sur le cerveau entier ne nous a pas permis d'apprécier les modifications induites au sein des différentes structures subcellulaires bien différenciées quant à leurs fonctions et leurs compositions en acides gras. Nous nous sommes donc intéressés d'une part à la myéline caractérisée par sa richesse en acides gras saturés et monoinsaturés, aux membranes synaptiques riches en acides gras polyinsaturés, et d'autre part aux mitochondries et aux microsomes très différents dans le cerveau quant à leur pouvoir de synthèse des acides gras (4, 5, 6, 7).

A côté du complexe multienzymatique soluble qui élabore principalement de l'acide palmitique, il existe des complexes enzymatiques intramicrosomaux et intramitochondriaux capables de synthétiser les acides gras saturés et insaturés. Si ces organites cellulaires peuvent élaborer les mêmes acides gras, les voies de synthèse sont par contre totalement distinctes. Les mitochondries ne peuvent remplacer les microsomes, elles semblent autonomes (8). Le maximum d'activité de la synthèse au niveau des microsomes,

contemporaine de la fonction et de la maturation de la myéline (4), pourrait expliquer les similitudes de composition en acides gras saturés et mono-insaturés de la myéline et des microsomes.

Nous avons choisi l'huile d'arachide qui est pauvre en 18:3 n-3 (0,2 %) et l'huile de Primor caractérisée par un taux élevé de 18:3 n-3 (8,5 %) et une très faible teneur en acide érucique. Les analyses ont été effectuées au niveau des lipides totaux et de la phosphatidyléthanolamine des différentes fractions membranaires du cerveau des animaux âgés respectivement de 15 jours et de 60 jours, c'est-à-dire au cours de la phase de myélinisation et chez l'adulte. Cette étude nous a permis de distinguer d'une part l'influence du régime et plus particulièrement du 18:3 n-3 et d'autre part du stade de développement cérébral sur la répartition des différents groupes d'acides gras (saturés, monoinsaturés, n-6 et n-3).

MATERIEL ET METHODES

ANIMAUX ET REGIMES

Après accouplement, les rates gestantes sont réparties en deux groupes recevant chacun un régime semi-synthétique à 10 % en poids de lipides (Tableau I). Le groupe (A) reçoit de l'huile d'arachide et le groupe (B) reçoit de l'huile de Primor (huile de soja à faible teneur en acide érucique). Dans les deux lots, l'apport 18:2 n-6 est comparable, seul le taux de 18:3 n-3 est variable. Les femelles sont soumises à ces régimes pendant les périodes de gestation et de lactation. Au sevrage, les jeunes

rats continuent à recevoir les régimes correspondant jusqu'à l'âge adulte. Après parturition, chaque portée est alignée à 8 rats. Les animaux sont sacrifiés par décapitation à l'âge de 15 jours et de 60 jours.

ISOLEMENT DES FRACTIONS SUBCELLULAIRES

La myéline a été préparée selon la technique de Norton et Poduslo (9) utilisée couramment au laboratoire. La préparation des synaptosomes est réalisée selon la technique décrite par Majoj (10) légèrement modifiée (11). Les mitochondries sont préparées selon la méthode de Eichberg (12) modifiée au laboratoire (13). Quant aux microsomes, ils sont obtenus selon la méthode décrite par Bourre (14).

ANALYSE DES LIPIDES

Les lipides des différentes fractions subcellulaires sont extraits selon la technique décrite par Folch (15). Les phospholipides sont fractionnés par chromatographie couche mince en gradient discontinu d'humidité (16) et les esters méthyliques préparés selon la technique décrite par Hagenfeldt (17). Après extraction par l'heptane, les esters méthyliques de chaque extrait sont séparés et identifiés par chromatographie gaz-liquide sur colonnes capillaires en verre. Nous utilisons deux types de colonnes : l'une remplie avec du Carbowax 20 M (10 %) et l'autre avec du diéthylène glycol succinate (10 %). L'utilisation de ces deux types de phases stationnaires nous permet d'identifier avec une très bonne précision les principaux acides gras longs et polyinsaturés des séries n-6 et n-3. Pour chaque échantillon, une double analyse est effectuée sur chaque type de colonne.

RESULTATS

Afin de faciliter l'interprétation des résultats, nous étudierons la répartition des acides gras saturés et monoinsaturés au sein des lipides totaux de chaque fraction membranaire alors que la composition de la phosphatidyléthanolamine nous permettra d'observer l'évolution des différentes familles d'acides gras polyinsaturés en fonction du régime et du développement cérébral. Cette classe de phospholipides a été choisie par sa richesse en ces acides gras.

ACIDES GRAS SATURES ET MONOINSATURES DES LIPIDES TOTAUX

1) Acides gras saturés

La figure (1) nous montre que la nature du régime n'a aucun effet sur la teneur en acides gras saturés des membranes. Comparativement aux jeunes de 15 jours, chez les animaux adultes, la teneur globale en acides gras saturés est très significativement plus faible au niveau de la myéline ($p < 0,001$), légèrement mais significativement plus faible au sein des microsomes ($p < 0,05$) mais, par contre, sans variation significative au sein des mitochondries et des membranes synaptiques.

2) Acides gras monoinsaturés

Comme pour les acides gras saturés, nous remarquons (Figure 2) que la teneur en acides gras monoinsaturés est identique dans les deux lots (A) et (B) avec toutefois une exception pour les animaux âgés de 60 jours où la proportion de monoinsaturés est significativement plus élevée dans le

lot Primor au sein de la myéline et des microsomes ($p < 0,05$). De 15 à 60 jours, le développement cérébral se caractérise par une augmentation très significative ($p < 0,01$) des monoinsaturés au niveau de la myéline mais également des microsomes. Par contre dans les synaptosomes et les mitochondries, il n'y a pas de variation significative excepté dans le lot Primor.

ACIDES GRAS POLYINSATURES DE LA PHOSPHATIDYLETHANOLAMINE

1) Acides gras de la famille n-6

Bien que le taux de ces acides gras soit systématiquement plus faible dans le lot (B) par rapport au lot (A) à l'âge de 15 jours, la différence n'est réellement significative que dans les membranes synaptiques (Figure 3). Par contre chez l'adulte, le taux d'acides gras en n-6 est significativement plus faible dans le lot Primor et ce, dans toutes les structures membranaires étudiées. Nous pouvons également constater que quelle que soit la nature du régime, le développement cérébral s'accompagne d'une diminution du taux des acides gras n-6. Toutefois, cette diminution, qui est certes systématiquement plus importante lorsque l'apport en 18:3 n-3 est plus élevée (Lot B), n'est peut être que relative au niveau de la myéline compte tenu de l'accumulation importante des monoènes.

2) Acides gras de la famille n-3

En accord avec les résultats obtenus sur le cerveau entier (3), nous retrouvons un enrichissement en acides gras n-3 dans le lot (B) par rapport au lot (A) (Figure 4), mais il est intéressant de constater que chez

Le jeune rat (15 jours) l'augmentation du taux des n-3 n'est significative que dans la myéline et les synaptosomes. Par contre chez l'animal adulte, on remarque une élévation significative des n-3 dans le lot Primor au sein de toutes les fractions membranaires. Il est aussi intéressant de remarquer que myéline et microsomes se comportent de façon identique en fonction du temps, alors que mitochondries et synaptosomes évoluent de manière inverse. En effet, entre 15 jours et 60 jours, nous constatons une diminution du taux des n-3 au niveau de la myéline et des microsomes et une augmentation dans les synaptosomes et les mitochondries. Ces variations sont indépendantes de la nature du régime.

DISCUSSION

Nous pouvons constater que les régimes utilisés n'ont aucune incidence sur le développement cérébral puisque le rapport saturés/mono-insaturés, considéré comme index de maturation du cerveau est rigoureusement identique dans les lots (A) et (B) (Tableau II). Il a été en effet montré que cet index de maturation était perturbé lors de malnutrition foetale (18). L'influence du taux des acides gras essentiels du régime maternel est par contre évidente sur la teneur en acides gras polyinsaturés des fractions membranaires. Compte tenu du taux d'acide linoléique dans les ingestas du raton (3), nous constatons que chez le jeune rat du lot (B) l'augmentation des n-3 et inversement la diminution des n-6 observée dans le tissu entier est essentiellement due aux membranes synaptiques, par contre chez l'adulte, la composition en acides gras polyinsaturés de toutes les fractions membranaires étudiées est modifiée.

La diminution globale du taux des n-6 dans le cerveau entier en fonction de l'âge est caractéristique de toutes les fractions membranaires avec toutefois un effet plus significatif dans le lot Primor (Figure 3). Quant à la fixité du taux des n-3 dans chaque lot au niveau du tissu entier en fonction de l'âge, nous remarquons que ce phénomène est la résultante de deux variations inverses. En effet, nous observons une diminution du taux des n-3 dans la myéline et les microsomes alors que mitochondries et synaptosomes s'enrichissent en ces acides gras en fonction du temps (Figure 4).

La fixité bien connue de la somme (n-6 + n-3) (1, 2) est retrouvée au sein des différentes fractions quel que soit le taux d'acides gras essentiels du régime (Figure 5). Comme nous l'avons observé dans le tissu entier, cette constante biologique pourrait en partie s'expliquer par une compétition entre le 22:4 n-6 et le 22:5 n-3 au niveau de la $\Delta 4$ désaturase. Le 22:5 n-3 serait un substrat préférentiel dans le cerveau pour ce système enzymatique d'où une accumulation de 22:6 n-3 et une diminution du taux de 22:5 n-6 dans le lot Primor (Tableaux III et IV) (Figure 6). Enfin, dans nos conditions expérimentales, le 18:3 n-3 ne semble pas altérer la conversion du 18:2 n-6 en ses homologues supérieurs (20:4 n-6 et 22:4 n-6) puisque les taux de ces acides gras polyinsaturés sont identiques dans chaque lot au même stade de développement (Tableaux III et IV).

REMERCIEMENTS

Nous remercions Mademoiselle O. LABIAU et Monsieur L. BOUSSEKEY pour leur aide technique.

BIBLIOGRAPHIE

1. Galli, C. ; Treciak, H., and Paoletti, R. : Effects of dietary fatty acid composition of brain ethanolamine-phosphoglyceride : recipal replacement of n-6 et n-3 polyunsaturated fatty acids. *Biochim. Biophys. Acta* 248 : 449-454 (1971).

2. Alling, C. ; Bruce, A. ; Karlsson, I. ; Sapia, O., and Svennerholm, L. : Effect of maternal essential fatty acid supply on fatty acid composition of brain, liver muscle and serum in 21 day-old rats. *J. Nutr.* 102 : 773-782 (1972).

3. Nouvelot, A. ; Bourre, J.M. ; Sézille, G. ; Dewailly, P., and Jaillard, J. : Changes in the fatty acid patterns of brain phospholipids during development of rats fed peanut oil or rapeseed oil, taking into account differences between milk and maternal food. Accepté pour publication in *Nutr. Metab.*, le 7 janvier 1982.

4. Bourre, J. ; Pollet, S. ; Paturneau-Jouas, M., and Baumann, N. : Enzymes of lipid metabolism (S. Gatt, L. Freysz, P. Mandel. Plenum Publishing Corporation 1978).

5. Murad, S., and Kishimoto, Y. : Chain elongation of fatty acid in brain : a comparison of mitochondrial and microsomal enzyme activities. *Arch. Biochem. Biophys.* 30 : 300-306 (1976).

6. Boone, S., and Wakil, S. : In vivo synthesis of lignoceric acid nervonic acid in mammalian liver and brain. *Biochemistry* 9 : 1470-1479 (1970).
7. Paturneau-Jouas, M. ; Baumann, N., and Bourre, J. : Elongation of palmityl-CoA in mouse brain mitochondria : comparison with stearyl-CoA. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 71 : 1326-1334 (1976).
8. Bourre, J. : Origine des acides gras cérébraux non essentiels : synthèse in situ et apport exogène (influence de facteurs nutritionnels). *C. R. Séances Soc. Biol.* 174 : 446-456 (1980).
9. Norton, W., and Poduslo, S. : Myelination in rat brain : method of myelin isolation. *J. Neurochem.* 21 : 749-757 (1973).
10. Hajoj, A. : An improved method for the preparation of synaptosomal fraction in high purity. *Brain Res.* 95 : 485-489 (1975).
11. Bourre, J.M. ; Gozlan Devillierre, N. ; Pollet, S. ; Meurin, P. ; Baumann, N. : In vivo incorporation of exogenous stearic acid in synaptosomes high saurence of non esterified fatty acids. *Neuroscience Letters* 4 : 309-313 (1977).
12. Eichberg, J. ; Whittaker, O., and Dawson, R. : Distribution of lipids in subcellular particles of Guinea pig brain. *Biochem. J.* 92 : 91-100 (1964).

13. Paturneau-Jouas, M. ; Baumann, N. ; Bourre, J.M. : Biosynthèse des acides gras dans les mitochondries de cerveau de souris en présence de malonyl-CoA ou d'acétyl-CoA. *Biochimie* 58 : 341-349 (1976).
14. Bourre, J. ; Pollet, S. ; Daudu, O., and Baumann, N. : Evolution in mouse brain microsomes of lipids and their constituents during myelination. *Brain Res.* 51 : 225-239 (1973).
15. Folch, J. ; Lees, M., and Sloane-Stanley, G. : A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226 : 497-509 (1957).
16. Nouvelot, A. ; Sézille, G. ; Dewailly, P., and Fruchart, J.C. : Chromatographie monodimensionnelle des lipides polaires sur couche mince de gel de silice en gradient discontinu d'humidité. *Rev. Fr. Corps Gras* 7 : 365-366 (1977).
17. Hagenfeldt, L. : A gas chromatographic method for the determination of individual free fatty acids in plasma. *Clin. Chim. Acta* 13 : 266-268 (1966).
18. Morand, O. ; Chanez, E. ; Masson, M. ; Dumont, O. ; Flexor, M. ; Baumann, N., and Bourre, J. : Alteration in fatty acid composition of neurons, astracytes, oligodendrocytes, myelin and synaptosomes in intrentesine malnutrition. *Ann. Nutr. Metab.* (soumis pour publication).

TABLEAU I

REPARTITION DES DIFFERENTS CONSTITUANTS ENERGETIQUES
DANS LES REGIMES (% des calories totales)

	ARACHIDE	PRIMOR
Protides	16,9	16,9
Glucides	62	62
Lipides	21,1	21,1
Acide linoléique	5,75	4,90
Acide linoléique	0,04	1,60



TABLEAU II

INDICE SATURES/MONOINSATURES DES DIFFERENTES FRACTIONS MEMBRANAIRES
ISOLES A PARTIR DES CERVEAUX DE RATS AGES DE 15 JOURS ET 60 JOURS

		15 JOURS	60 JOURS
Myéline	Lot A*	2,34 ± 0,11	1,08 ± 0,02
	Lot B***	2,3 ± 0,08	1,03 ± 0,01
Synaptosomes	Lot A	2,60 ± 0,31	2,50 ± 0,08
	Lot B	2,77 ± 0,10	2,35 ± 0,03
Mitochondries	Lot A	2,00 ± 0,22	1,85 ± 0,08
	Lot B	2,04 ± 0,02	1,81 ± 0,09
Microsomes	Lot A	3,55 ± 0,06	2,52 ± 0,05
	Lot B	3,51 ± 0,05	2,32 ± 0,13

* Arachide

*** Primor



TABLEAU III

REPARTITION DES ACIDES GRAS (moles %) DANS LA PHOSPHATIDYL ETHANOLAMINE
DES EXTRAITS LIPIDIQUES MEMBRANAIRES DU CERVEAU CHEZ LES ANIMAUX AGES DE 15 JOURS

	MYELINE		SYNAPTOSES		MITOCHONDRIES		MICROSOMES	
	A [∞]	B ^{∞∞}	A	B	A	B	A	B
16:0	12,20 ± 4,14	12,20 ± 0,86	11,40 ± 0,37	11,71 ± 0,64	8,15 ± 0,50	8,08 ± 0,03	9,96 ± 1,94	11,48 ± 0,28
16:1	1,90 ± 1,40	1,40 ± 0,43	2,30 ± 0,27	2,60 ± 0,62	3,88 ± 0,12	4,61 ± 0,18	0,87 ± 0,03	1,05 ± 0,07
18:0	27,30 ± 2,19	28,40 ± 2,28	29,20 ± 0,35	27,70 ± 1,90	26,47 ± 0,40	26,45 ± 0,18	29,23 ± 0,35	28,22 ± 0,02
18:1	20,30 ± 0,52	18,2 ± 0,34	11,40 ± 0,30	12,70 ± 1,58	16,12 ± 0,16	16,24 ± 0,30	6,86 ± 0,12	7,15 ± 0,17
18:2 n-6	0,83 ± 0,25	0,91 ± 0,19	1,67 ± 0,44	2,02 ± 0,27	0,66 ± 0,11	0,73 ± 0,13	1,84 ± 0,17	2,04 ± 0,55
20:0	0,53 ± 0,15	0,53 ± 0,20	-	-	-	-	-	-
20:1	1,10 ± 0,36	5,90 ± 1,11	-	-	0,12 ± 0,07	0,13 ± 0,01	0,60 ± 0,07	0,82 ± 0,03
20:2 n-6	-	-	-	-	0,23 ± 0,42	0,11 ± 0,01	-	-
20:3 n-6	1,10 ± 0,07	1,10 ± 0,10	-	0,76 ± 0,08	0,87 ± 0,01	0,88 ± 0,01	-	-
20:4 n-6	15,60 ± 0,55	16,80 ± 1,82	23,60 ± 0,60	22,60 ± 0,80	27,0 ± 0,56	26,76 ± 0,04	21,27 ± 0,24	21,0 ± 0,65
22:4 n-6	6,0 ± 0,63	5,10 ± 0,07	4,40 ± 0,05	3,30 ± 0,17	3,42 ± 0,05	2,96 ± 0,06	6,42 ± 0,54	5,96 ± 0,35
22:5 n-6	3,90 ± 0,87	1,10 ± 0,14	4,10 ± 0,44	0,89 ± 0,10	1,40 ± 0,02	0,73 ± 0,03	3,20 ± 0,11	1,82 ± 0,06
22:5 n-3	-	-	0,25 ± 0,06	0,55 ± 0,09	0,22 ± 0,01	0,37 ± 0,01	0,42 ± 0,07	0,99 ± 0,53
22:6 n-3	9,30 ± 2,09	14,80 ± 0,58	11,80 ± 0,42	15,0 ± 0,45	11,46 ± 0,38	11,95 ± 0,94	19,32 ± 0,80	19,49 ± 1,76

∞ Arachide

∞∞ Primor



TABLEAU IV

REPARTITION DES ACIDES GRAS (moles %) DANS LA PHOSPHATIDYL ETHANOLAMINE
DES EXTRAITS LIPIDIQUES MEMBRANAIRES DU CERVEAU CHEZ LES ANIMAUX AGES DE 60 JOURS

	MYELINE		SYNAPTOSOMES		MITOCHONDRIES		MICROSOMES	
	A**	B***	A	B	A	B	A	B
16:0	6,80 ± 0,38	7,60 ± 0,61	8,60 ± 0,34	8,80 ± 0,99	5,51 ± 0,79	6,14 ± 0,04	14,4 ± 1,51	13,00 ± 0,93
16:1	1,50 ± 1,46	1,20 ± 0,52	1,16 ± 0,19	0,55 ± 0,11	2,0 ± 0,40	1,30 ± 0,82	1,60 ± 0,44	1,10 ± 0,20
18:0	21,40 ± 1,15	22,80 ± 0,76	29,70 ± 0,53	32,50 ± 1,21	28,11 ± 2,05	29,40 ± 0,85	31,0 ± 3,50	32,10 ± 0,64
18:1	39,60 ± 1,02	41,30 ± 0,82	16,0 ± 0,95	13,88 ± 1,51	20,10 ± 0,50	18,94 ± 0,31	11,60 ± 2,3	16,20 ± 0,59
18:2 n-6	0,55 ± 0,02	0,55 ± 0,14	1,48 ± 0,12	0,91 ± 0,41	3,10 ± 0,33	2,30 ± 1,26	0,53 ± 0,16	0,93 ± 0,20
20:0	-	0,53 ± 0,06	-	-	-	-	-	-
20:1	-	5,70 ± 0,38	-	-	-	-	-	-
20:2 n-6	-	-	-	-	-	-	-	-
20:3 n-6	1,20 ± 0,22	1,30 ± 0,20	0,39 ± 0,29	0,45 ± 0,26	0,60 ± 0,23	0,75 ± 0,01	-	-
20:4 n-6	11,70 ± 0,50	10,0 ± 0,21	16,80 ± 1,50	16,60 ± 0,23	20,10 ± 0,57	19,20 ± 0,08	17,10 ± 2,40	15,70 ± 1,15
22:4 n-6	7,30 ± 1,09	5,0 ± 0,27	4,60 ± 0,36	4,30 ± 0,06	2,50 ± 0,04	2,10 ± 0,04	5,20 ± 0,26	4,80 ± 0,13
22:5 n-6	1,90 ± 0,18	-	7,90 ± 0,64	0,41 ± 0,03	5,50 ± 0,32	0,28 ± 0,05	8,10 ± 0,74	0,59 ± 0,11
22:5 n-3	-	0,4 ± 0,10	0,72 ± 0,45	0,29 ± 0,07	0,01 ± 0,02	0,15 ± 0,01	-	-
22:6 n-3	1,6 ± 0,28	3,6 ± 0,43	12,8 ± 0,59	21,40 ± 0,26	12,60 ± 0,75	19,50 ± 1,18	10,60 ± 0,44	16,70 ± 0,08

** Arachide

*** Primor



LEGENDES DES FIGURES

- Figure 1 : Répartition des acides gras saturés dans les lipides totaux des différentes fractions subcellulaires du cerveau chez les animaux âgés de 15 jours et de 60 jours.
- Figure 2 : Répartition des acides gras monoinsaturés dans les lipides totaux des différentes fractions subcellulaires du cerveau chez les animaux âgés de 15 jours et de 60 jours.
- Figure 3 : Répartition des acides gras de la famille n-6 dans la phosphatidyl-éthanolamine des différentes fractions subcellulaires du cerveau chez les animaux âgés de 15 jours et de 60 jours.
- Figure 4 : Répartition des acides gras de la famille n-3 dans la phosphatidyl-éthanolamine des différentes fractions subcellulaires du cerveau chez les animaux âgés de 15 jours et de 60 jours.
- Figure 5 : Evaluation de la somme des acides gras des familles n-6 et n-3 dans la phosphatidyléthanolamine des différentes fractions subcellulaires du cerveau chez les animaux âgés de 15 jours et de 60 jours.
- Figure 6 : Variations du rapport 22:5 n-6 / 22:4 n-6 dans la phosphatidyl-éthanolamine des différentes fractions subcellulaires du cerveau chez les animaux âgés de 15 jours et de 60 jours.

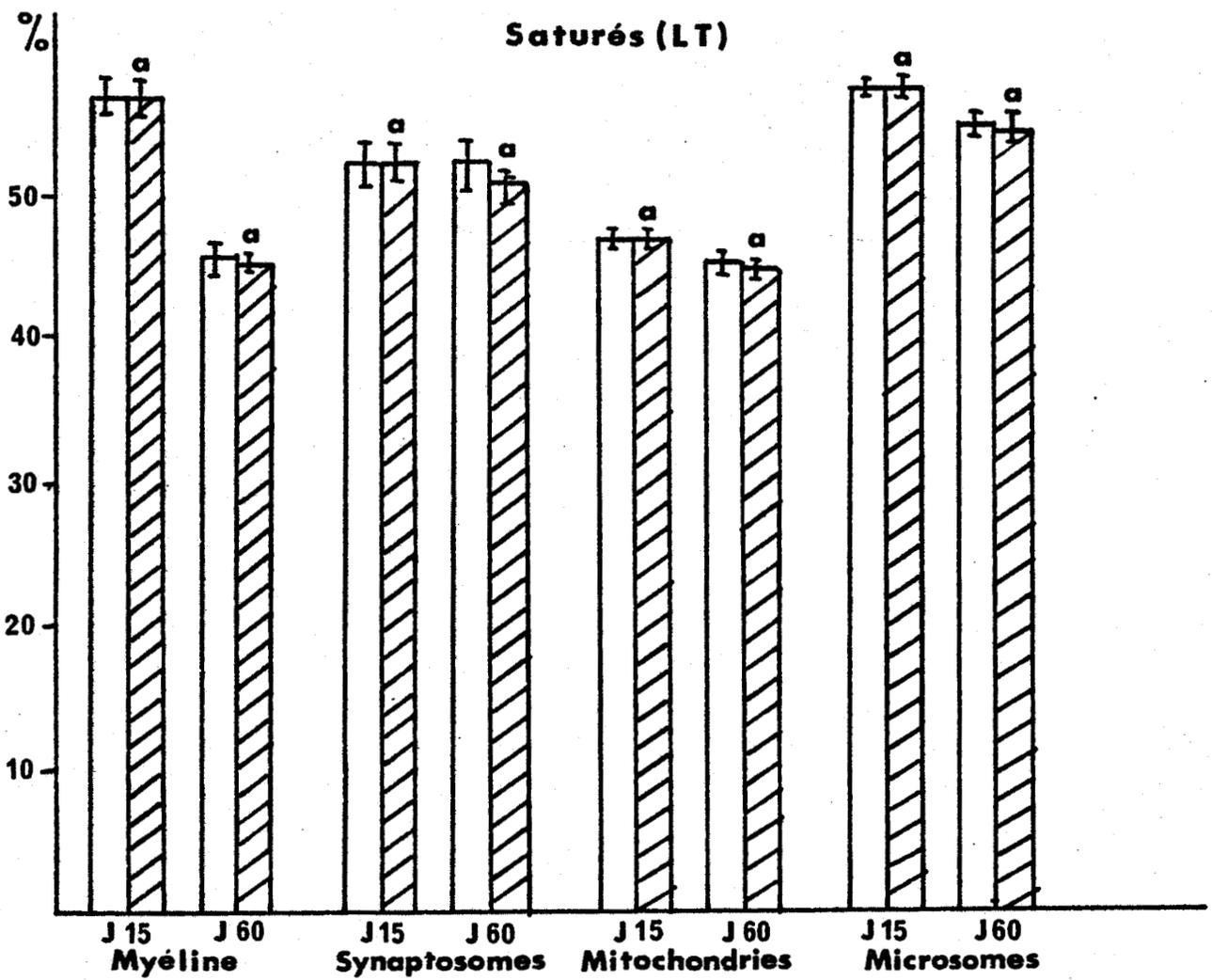


Figure 1

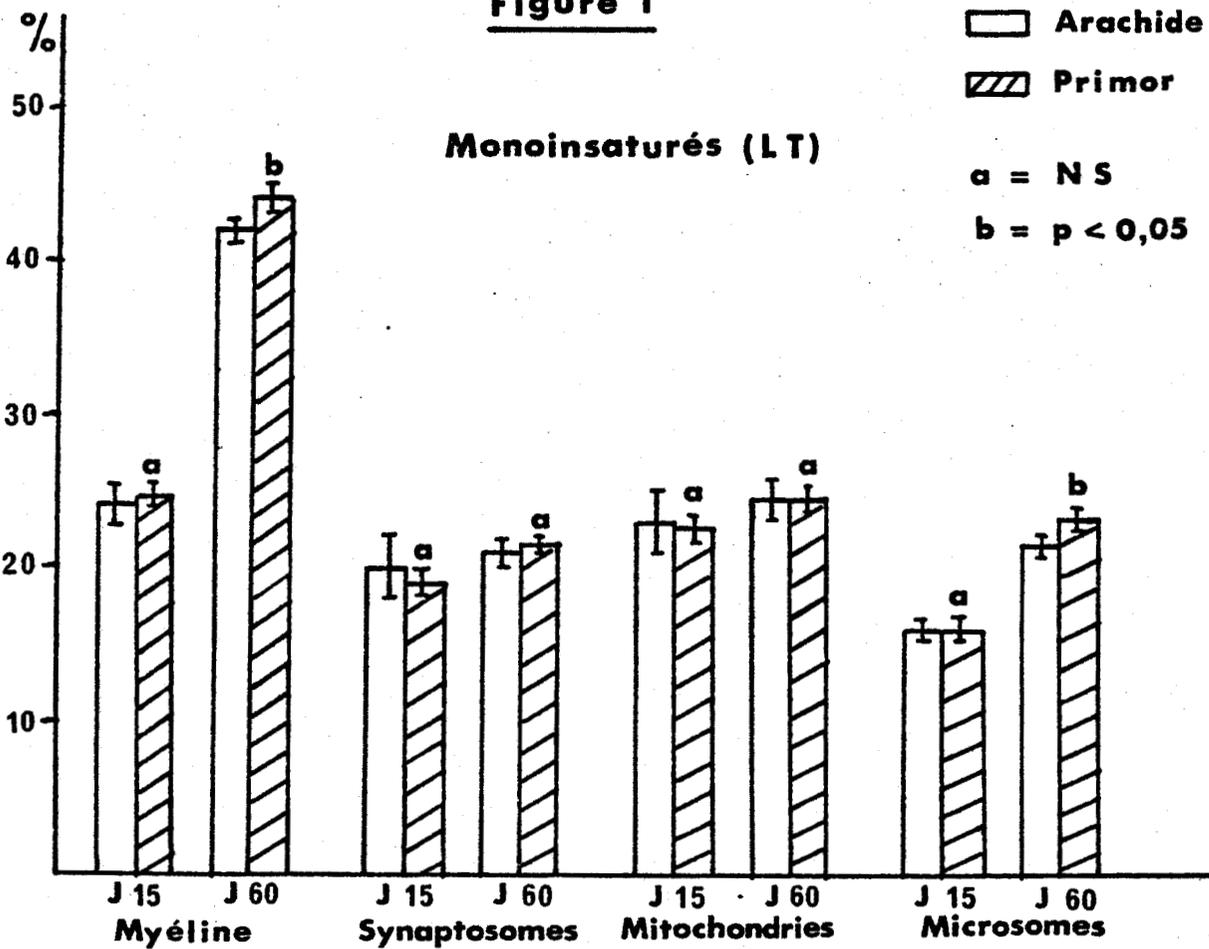


Figure 2



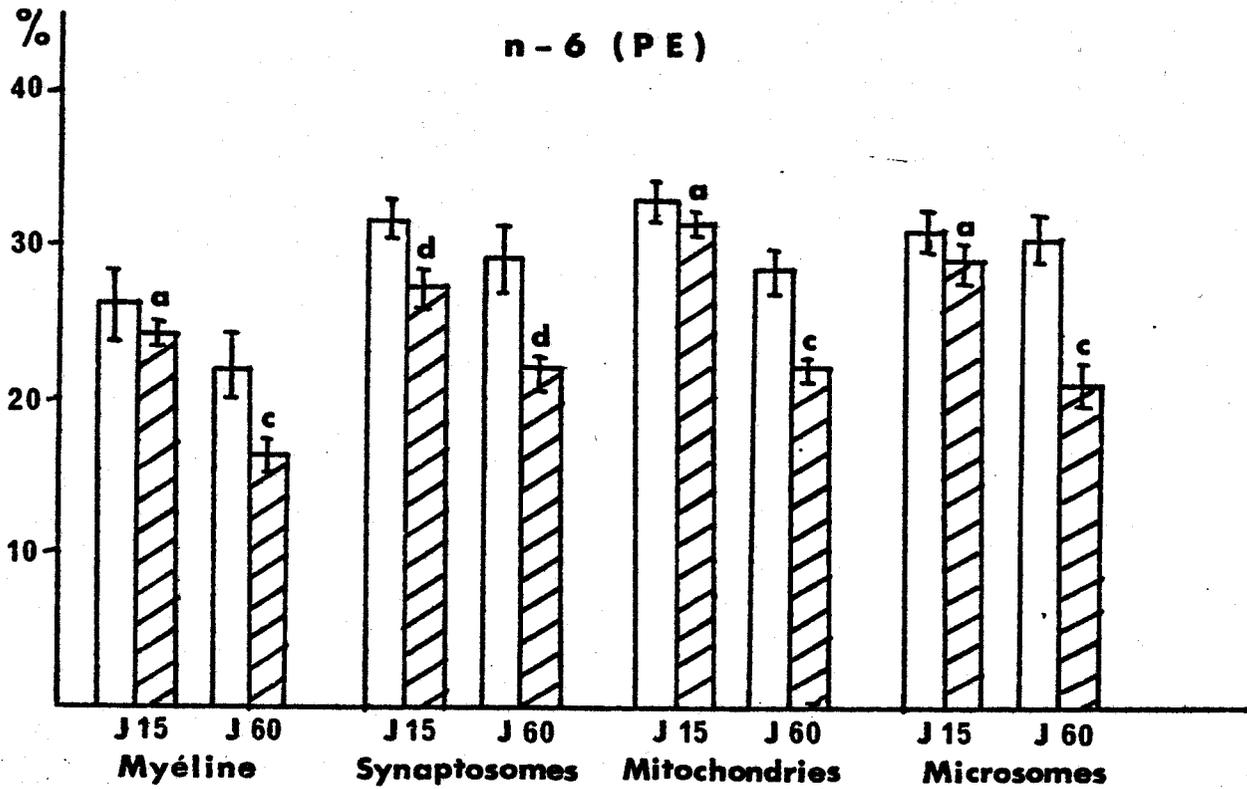


Figure 3

□ Arachide

▨ Primor

a = NS

b = $p < 0,05$

c = $p < 0,01$

d = $p \leq 0,001$

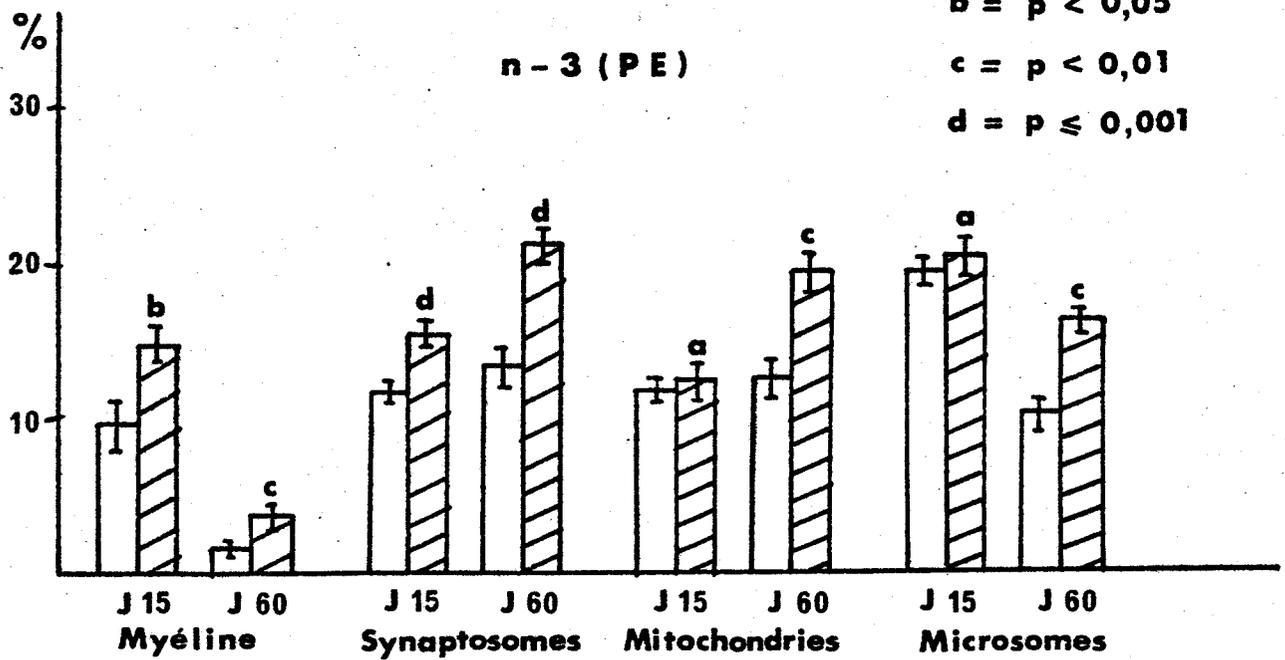


Figure 4

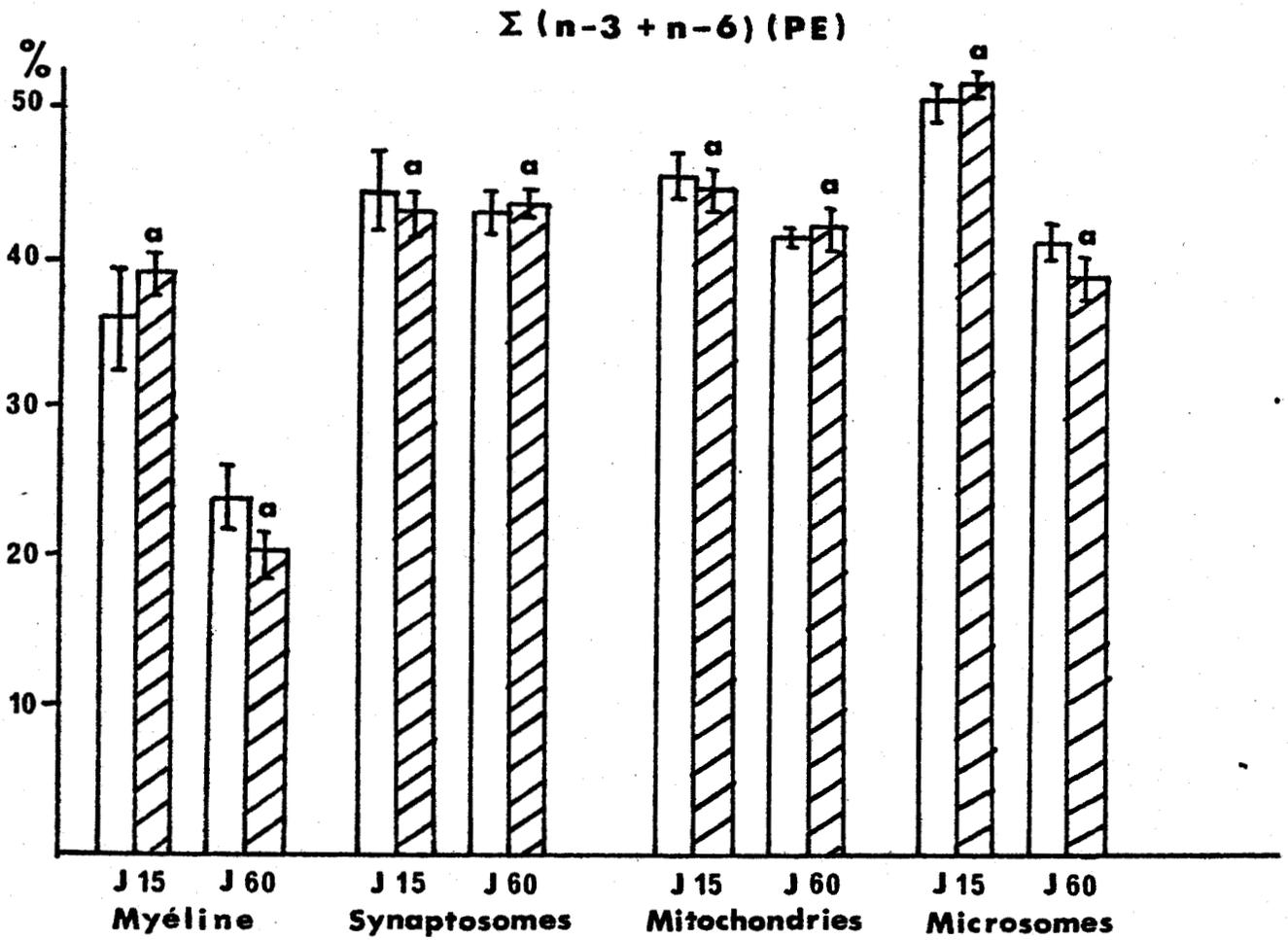


Figure 5

□ Arachide

▨ Primor

a = NS

c = p < 0,01

d = p < 0,001

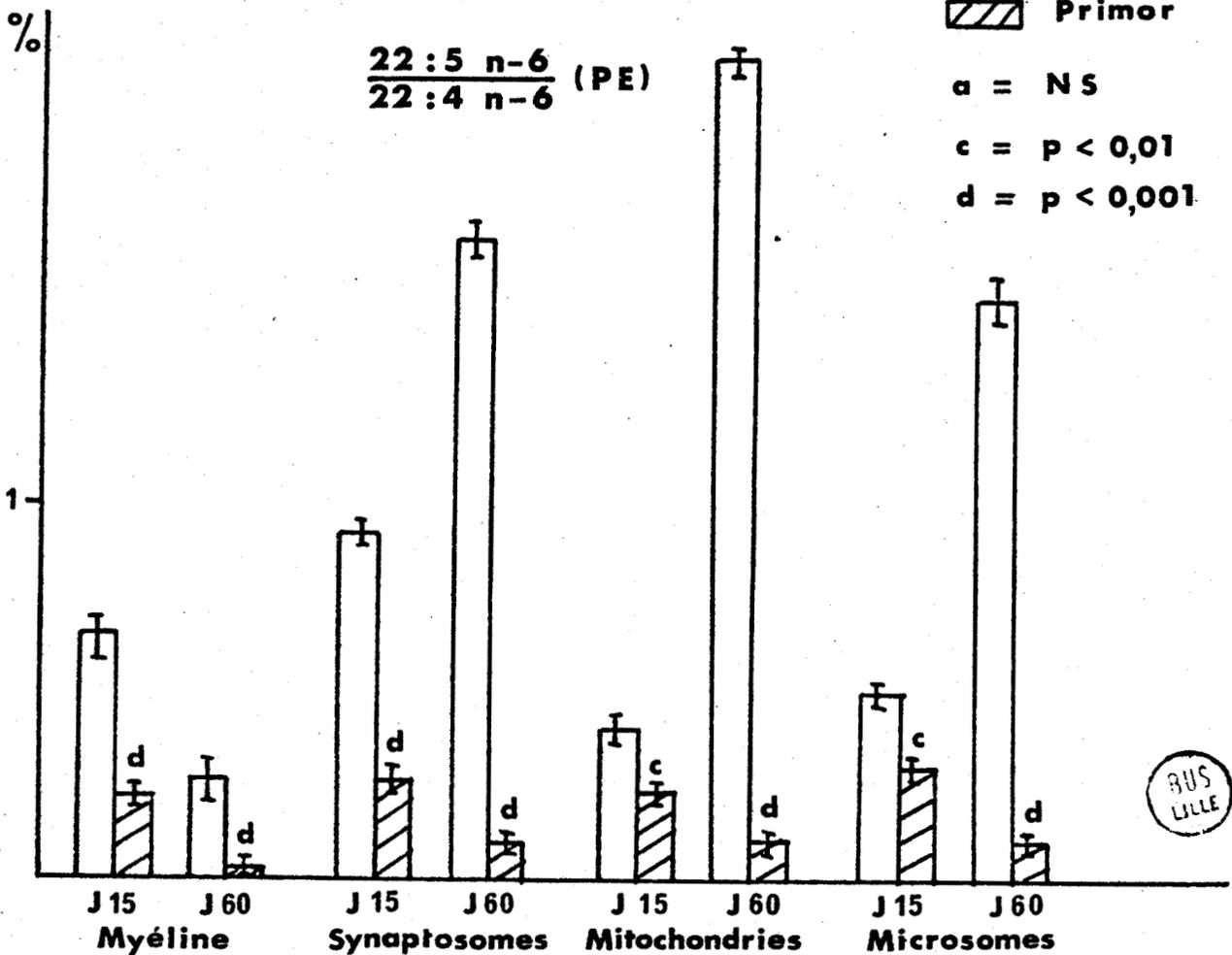


Figure 6



INFLUENCE OF DIETARY ESSENTIAL FATTY ACID LEVEL ON
FATTY ACID COMPOSITION IN PERIPHERAL NERVE AND
MUSCLE.

M. PATURNEAU-JOUAS, G. DURAND, A. NOUVELOT, M. MASSON and
J.M. BOURRE

Reproduction, Nutrition, Développement, 22 : 193-200 (1982)

INTRODUCTION

Many membrane properties are related to membrane fatty acid composition. The characteristics of each particulate fatty acid give it the particulate aptitude to move in space or to join neighboring molecules. Long hydrophobic chains increase the forces of intermolecular attraction (5, 9) ; when a membrane is rich in very long-chain fatty acids, its cohesion, especially in its inner non-polar region, is increased in the areas occupied by the side chains. Such a membrane is found in the nervous system : the myelin sheath is particularly rich in sphingolipids containing very long-chain fatty acids (1, 13, 20).

On the contrary, the presence of monounsaturated or polyunsaturated fatty acids (PUFA) enhances membrane fluidity (15), allowing facilitated ion transport (21) and increased membrane-bound enzyme activity (6, 15, 21). The enrichment in the unsaturated fatty acid (UFA) content of the cell membrane may be an adaptive mechanism in cold resistance (11) as it is in muscle as a result of endurance training (27). Another nervous membrane, the synaptosomal membrane, contains a high proportion of polyunsaturated fatty acids (16). This observation may be related to the highly specialized exchange mechanisms operating at the level of the synapses.

In the peripheral nervous system (4) as in the central nervous system (2, 3, 13, 24), saturated and monounsaturated fatty acids are mainly synthesized by endogenous enzymatic systems. However, they may also be taken up by the brain from the blood and incorporated into lipids (8, 12).

Indeed, this is the only way the brain obtains the essential fatty acids, 18:2 (n-3) (linolenic acid), which mammals cannot synthesize. PUFA, especially 20:4 (n-6) (arachidonic acid) and 22:6 (n-3) (docosahexaenoic acid), are removed from the blood and incorporated into the brain lipids (14, 26). The (n-6) series can be synthesized from 18:2 or the (n-3) series from 18:3 through elongation desaturation mechanisms in the liver. Much less is known of the effects of lowering linolenic acid than of lowering linoleic acid in the diet (7, 17).

Since PUFA are major components of nerve phospholipids and important constituents of muscle membrane, we attempted to determine the effect on the fatty acid profile of both peripheral nerve and muscle of varying the n-6/n-3 ratio in the diet with a sufficient supply of the (n-3) series precursor or a very low supply of 18:3 (n 3).

MATERIAL AND METHODS

ANIMALS AND DIET

Group 1. - Two lots of female rats were fed a semi-synthetic diet containing casein (18 %), starch (30 %), sucrose (36 %), salt mixture (4 %), agar-agar (2 %), fat (10 %) and vitamins. Lot P received peanut oil and lot R rapeseed oil. They were fed the experimental diet ad libitum during pregnancy. After birth, 8 pups were left with each dam and the treatment was continued on them throughout lactation and after weaning.

Group 2. - For 4 generations, female rats were fed a semi-synthetic diet containing 1 % sunflower oil. At the fourth generation and one week before mating, they were divided into two lots : lot SU which continued to receive the sunflower oil diet and lot S which was fed a diet containing 1.15 % soya oil. After weaning, the treatment was continued on the young rats. The fatty acid composition of each dietary oil is given in Table I.

LIPID ANALYSIS

Adult animals were killed by cervical disruption and the sciatic nerve and quadriceps muscle quickly removed. The intact sciatic nerve and the muscle, homogenized in ice-cold water, were freeze-dried and the lipids extracted as previously described (25). The fatty acids were analyzed by gas-liquid chromatography using an open tubular (carbowax 20 M, 50 m long, 0.2 mm wide). Fatty acid concentrations were determined with a computer (ICAP 10, LTT).

RESULTS

Sciatic nerve fatty acid profiles from rats fed with rapeseed, peanut, soya or sunflower oil are shown in Table 2. Total long-chain fatty acids (LCFA) containing 20 carbon atoms or more and fatty acids of the (n-6) and (n-3) series are expressed as a percentage of the total fatty acids on the lower part of the table. As all essential fatty acid derivatives

possess 20 carbon atoms or more, total PUFA was expressed as a percentage of LCFA. At least the respective parts of the (n-6) and (n-3) series in PUFA were calculated.

Much fatty acid profiles and the same calculations as for nerve are presented in Table 3.

DISCUSSION

LCFA represents approximately 1/4 of the fatty acids of each studied membrane. The level of LCFA decreased in both the nerve and the muscle of rats fed with rapeseed oil.

The fact that saturated and monounsaturated LCFA are major components of myelin may explain why the relative percentages of PUFA are much higher in muscle than in nerve. However, as previously shown in brain (10, 19) total PUFA - (n-6) + (n-3) - remained relatively constant in the membranes of a same group of rats whichever diet they were fed.

In rats of group 1, rapeseed oil, which has the lowest ratio of (n-6)/(n-3) compared to peanut oil, was shown to induce a decrease of (n-6) fatty acids and an increase of (n-3) fatty acids in the membranes ; both these effects were much more evident in muscle than in nerve. The same, but less marked, alterations were observed in group 2 rats fed with the low-ratio soya oil or with sunflower oil. It is important to note that linoleic acid, 18:2 (n-6), predominated largely in the four different diets ;

thus, the increase in the (n-3) LCFA is probably due to preferential PUFA biosynthesis from linolenic acid, 18:3 (n-3), when the dietary oil ratio, linoleic/linolenic acid, was low enough. This is particularly evident in the muscle of rats fed with the rapeseed oil : 22:4 (n-6) and 22:5 (n-6) were not detectable but the 22:5 (n-3) and 22:6 (n-3) levels increased.

Conversely, the linolenic acid deficiency in the peanut and sunflower diets, in which 18:3 (n-3) represented less than 0.6 % of overall fatty acids, induced a large decrease in the level of PUFA (n-3) fatty acids.

In conclusion, although dietary linolenic acid deficiency has a marked effect (whose physiological significance remains to be determined) on fatty acid profiles of peripheral nerve and muscle, it is shown that the dietary essential fatty acid ratio itself is a key point in the regulation of long-chain polyunsaturated fatty acid biosynthesis. Further analysis of fatty acid composition in isolated lipids could provide information about the location of these alterations in the membranes of nerve and muscle.

REFERENCES

1. Baumann N.A., Bourre J.M., Jacque C.M., Harpin M.L. : Lipid composition of quaking mouse myelin : comparison with normal mouse myelin in the adult and during development. *J. Neurochem.* 20 : 753-759 (1973).
2. Bourre J.M., Paturneau-Jouas M., Daudu O., Baumann N. : Lignoceric acid biosynthesis in the developing brain. Activities of mitochondrial acetyl-CoA-dependent synthesis and microsomal malonyl-CoA-dependent synthesis and microsomal malonyl-CoA chain-elongation system in relation to myelination. Comparison between normal mouse and dysmyelinating mutants (quaking and jimpy). *Eur. J. Biochem.* 72 : 41-47 (1977).
3. Bourre J.M. : Origin of aliphatic chains in brain. In : Baumann N. Neurological mutations affecting myelination. *INSERM Symp.*, n° 14, Elsevier/North Holland Biomedical Press, Amsterdam (1980).
4. Cassagne C., Darriet D., Boiron F., Larrouquere-Regnier S., Bourre J.M. : Fatty acid biosynthesis in the sciatic nerve from Trembler mouse. In : Baumann N. Neurological mutations affecting myelination, *INSERM Symp.*, n° 14, Elsevier/North Holland Biomedical Press, Amsterdam (1980).

5. Chapman D. : The role of fatty acids in myelin and other important brain structures, 31-57. Lipid, malnutrition and the developing brain. Ciba Found. Symp., Elsevier Ed, Amsterdam (1973).
6. Coleman R. : Membrane-bound enzymes and membrane ultrastructure. Biochim. Biophys. Acta 300 : 1-30 (1973).
7. Crawford M.A., Hassam A.G., Rivers J.P.W. : Essential fatty acid requirements in infancy. Am. J. Clin. Nutr. 31 : 2181-2185 (1978).
8. Dhopeswarkar G.A., Mead J.F. : Uptake and transport of fatty acids into the brain and the role of blood-brain barrier system. Adv. Lipid Biochem. 11 : 109-142 (1973).
9. Dowben R.M. : Composition and structure of membranes, 1-38. In : Dowben R.M., Biological Membranes. Little Brown, Boston, Mass (1969).
10. Galli C., Treciak H., Paoletti R. : Effects of dietary fatty acid composition of brain ethanolamine-phosphoglyceride : reciprocal replacement of n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids. Biochim. Biophys. Acta 248 : 449-454 (1971).
11. Goldman S.S. : Cold resistance of brain during hibernation. III. Evidence of lipid adaptation. Am. J. Physiol. 228 : 834-838 (1975).
12. Gozlan-Devilliere N., Baumann N., Bourre J.M. : Mouse brain uptake and metabolism of stearic acid. Biochimie 58 : 1129-1133 (1976).

13. Hansen I.B., Clausen J. : Lipid composition of brain and serum of young rats in relation to age and diet. *Z. Ernährungswiss* 9 : 278-289 (1969).
14. Hassam A.G., Crawford M.A. : The differential incorporation of labelled linoleic, γ -linolenic, dihomogamma-linolenic and arachidonic acids into the developing rat brain. *J. Neurochem.* 27 : 967-968 (1976).
15. Kimelberg H.K., Papahadjopoulos D. : Effects of phospholipid acyl chain fluidity, phase transitions, and cholesterol on $(Na^+ + K^+)$ stimulated adenosine triphosphate. *J. Biol. Chem.* 249 : 1071-1080 (1974).
16. Kishimoto Y., Agranoff B.W., Radin N.S., Burton R.M. : Comparison of the fatty acids of lipids of subcellular brain fractions. *J. Neurochem.* 16 : 397-404 (1969).
17. Leat N.M.F. : Man's requirement for essential fatty acids. *Trends Biochem. Sciences* 6 : IX-X (1981).
18. Nouvelot A., Bourre J.M., Sézille G., Dewailly P., Jaillard J. : Polyunsaturated fatty acid alterations in brain phospholipids (EPG-CPG) during development from rats fed with peanut or rapeseed oil, taking into account differences between milk and maternal food. *Ann. Nutr. Metab.* (submitted) (1981).

19. Nouvelot A., Dedonder-Decoopman E., Sézille G., Paturneau-Jouas M., Dumont O., Masson M., Bourre J.M. : Influence de la teneur en acide linoléique du régime maternel sur la composition en acides gras polyinsaturés des fractions subcellulaires au cours du développement cérébral chez le rat. *Ann. Nutr. Metab.* (submitted) (1981).
20. O'Brien J.S., Sampson E.L. : Fatty acid and fatty aldehyde composition of the major brain lipids in normal human gray matter, white matter, and myelin. *J. Lipid Res.* 6 : 545-551 (1965).
21. Papahadjopoulos D., Cowden M., Kimelbergh H. : Role of cholesterol in membranes : effects of phospholipid-protein interactions, membrane permeability and enzymatic activity. *Biochim. Biophys. Acta* 330 : 8-26 (1973).
22. Paturneau-Jouas M., Baumann N., Bourre J.M. : Biosynthèse des acides gras dans les mitochondries de cerveau de souris en présence de malonyl-CoA ou d'acétyl-CoA. *Biochimie* 58 : 341-349 (1976).
23. Paturneau-Jouas M., Baumann N., Bourre J.M. : Elongation of palmityl-CoA in mouse brain mitochondria : comparison with stearyl-CoA. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 71 : 1326-1334 (1976).
24. Pollet S., Bourre J.M., Chaix G., Daudu O., Baumann N. : Biosynthèse des acides gras dans les microsomes de cerveau de souris. *Biochimie* 55 : 333-341 (1973).

25. Pollet S., Ermidou S., Le Saux F., Monge M., Baumann N. : Microanalysis of brain lipids : multiple two-dimensional thinlayer chromatography. *J. Lipid Res.* 19 : 916-921 (1978).
26. Sinclair A.J., Crawford M.A. : The incorporation of linolenic acid and docosahexaenoic acid into liver and brain lipids of developing rats. *Febs Lett.* 26 : 127-129 (1972).
27. Thomas T.R., Londeree B.R., Gerhardt K.O., Gehrke C.W. : Fatty acid profile and cholesterol in skeletal muscle of trained and untrained men. *J. Appl. Physiol. Respirat. Environ. Exercise Physiol.* 43 : 709-713 (1977).

TABLE 1

FATTY ACID COMPOSITION OF THE DIETARY OILS STUDIED

Fatty acid	Group 1		Group 2	
	Rapeseed oil	Peanut oil	Soya oil	Sunflower oil
16:0	6.5	9.2	12.2	8.5
16:1	0.2	0.1	-	-
18:0	2.4	3.4	4.1	4.9
18:1	50.1	48.4	23.4	22.4
18:2 (n-6)	25.9	30.2	52.7	63.7
18:3 (n-3)	8.5	0.2	7.6	0.5
20:0	0.5	1.4	-	-
20:1	1.7	1.2	-	-
22:0	0.4	2.9	-	-
22:1	1.9	-	-	-
22:6 (n-3)	2.0	1.6	-	-
24:0	-	1.4	-	-
18:2 (n-6) 18:3 (n-3)	3.0	151.0	6.9	127.4



TABLE 2

FATTY ACID PROFILE OF NERVE IN RATS
FED EXPERIMENTAL DIETS

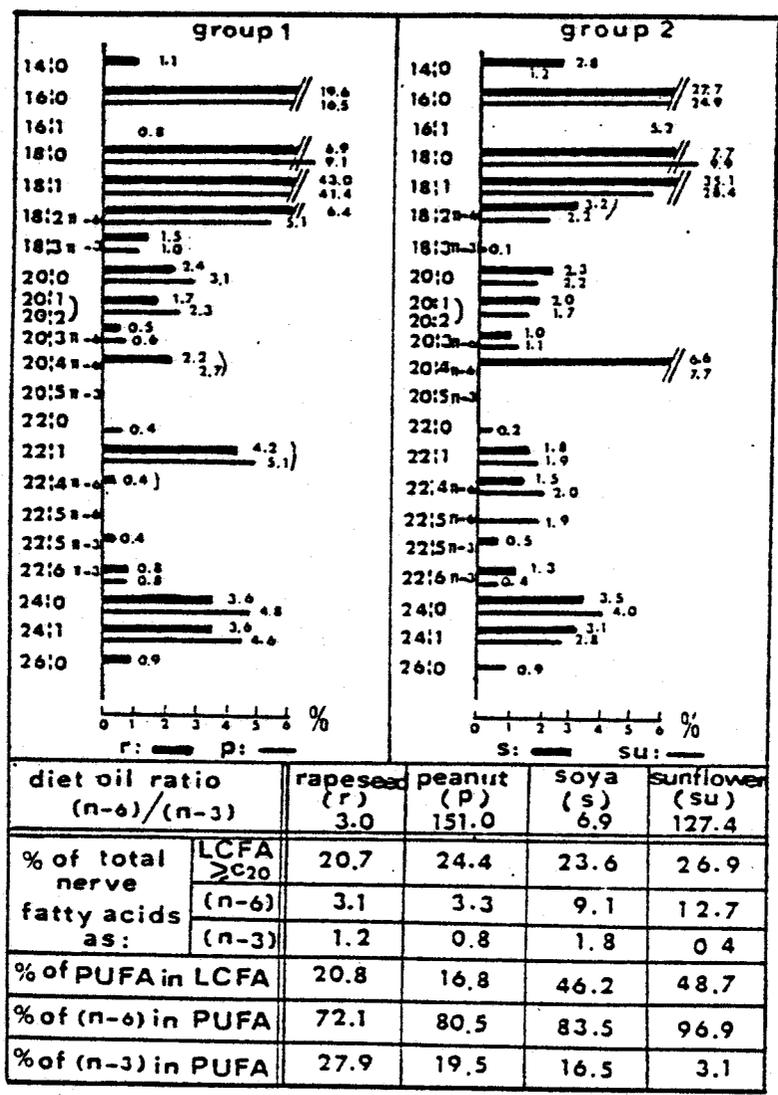
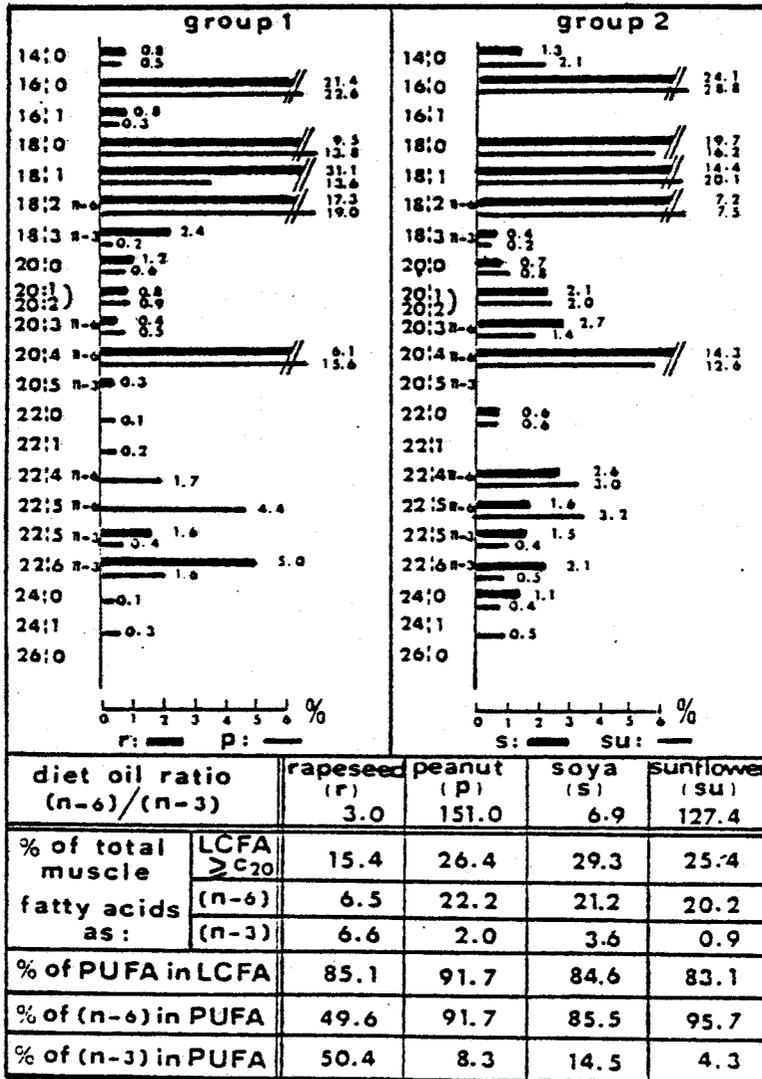


TABLE 3

FATTY ACID PROFILE OF MUSCLE IN RATS
FED EXPERIMENTAL DIETS



ETUDE COMPARATIVE DE L'INFLUENCE D'UN GRADIENT DISCONTINU
D'APPORT EN ACIDE LINOLENIQUE DANS LE REGIME SUR LA
REPARTITION DES ACIDES GRAS POLYINSATURES AU NIVEAU DE
DIFFERENTS TISSUS CHEZ LE RAT.

(Résultats non publiés)

INTRODUCTION

Les études analytiques précédentes nous ont permis de montrer que l'apport d'acide linoléique dans l'alimentation de la mère pendant les périodes de gestation et de lactation modifie de façon significative la répartition des acides gras polyinsaturés en n-6 et n-3 au sein des lipides du cerveau entier, mais également des fractions subcellulaires, des nerfs périphériques et des muscles squelettiques.

Ces résultats ne nous permettent pas toutefois d'apprécier la réelle sensibilité du tissu nerveux central en cours de développement aux apports exogènes en acide linoléique. L'accumulation des acides gras de la série n-3 au détriment des acides gras terminaux de la série n-6 est-elle en relation directe avec l'augmentation du taux de 18:3 n-3 dans le régime, ou existe-t-il un seuil critique à partir duquel la teneur en acides gras polyinsaturés des lipides cérébraux soit régulée ?

D'autres organes plus ou moins riches en AGPI de la série n-3 comme le foie, les testicules, les reins, ont-ils la même interdépendance et la même sensibilité que le cerveau vis-à-vis des apports alimentaires en acide linoléique ?

Afin de déterminer la sensibilité tissulaire aux apports exogènes en 18:3 n-3, nous avons utilisé huit types de régimes dans lesquels l'acide linoléique représente respectivement 0,2 - 0,5 - 1 - 1,5 - 2 - 3 - 6 et 9 % des acides gras totaux. Le taux d'acide linoléique reste identique

pour tous les lots puisque nous avons réalisé ce gradient discontinu d'apport en 18:3 n-3 à partir de mélanges d'huile d'arachide et d'huile de primor dont la teneur en 18:2 n-6 est très voisine.

PROTOCOLE EXPERIMENTAL

Comme nous l'avons rapporté dans les expérimentations précédentes, le régime semi-synthétique est administré aux femelles dès l'accouplement et pendant toute la durée de la gestation et de la lactation. Après sevrage, les jeunes animaux continuent à recevoir les régimes correspondants jusqu'à l'âge adulte.

Compte tenu d'une part, des résultats précédents et d'autre part, des phases de développement cérébral chez le raton, les animaux sont sacrifiés à l'âge de 15 jours (phase intense de myélinisation) et à l'âge de 60 jours (adulte).

L'analyse par chromatographie en phase gazeuse des acides gras du régime (Tableau I) nous montre que la teneur en acides gras essentiels des huiles des différents régimes est très voisine des taux théoriques que nous avons fixés au préalable.

Que ce soit au niveau du foie, des reins, des testicules ou du cerveau entier, nous nous limiterons là aussi, dans la présentation des résultats, à l'étude de la composition en acides gras de la fraction la plus

riche en AGPI, c'est-à-dire à la phosphatidyléthanolamine (PE). Nous ferons toutefois une exception pour le tissu hépatique puisque, à ce niveau, la répartition des acides gras au sein de la PE ne reflète pas les observations faites dans l'extrait lipidique total.

RESULTATS

MODIFICATIONS DE LA REPARTITION DES ACIDES GRAS AU NIVEAU DE LA P.E. DU CERVEAU ENTIER

L'apport croissant de 18:3 n-3 dans le régime se traduit certes globalement par une augmentation des acides gras en n-3 et une diminution des acides gras n-6 comme nous l'avions observé précédemment, mais il est intéressant de remarquer que le taux des acides gras terminaux de chacune de ces séries n'est pas en relation directe avec la quantité d'acide linoléique présent dans l'alimentation.

Si l'on considère le 22:6 n-3, on remarque que cet acide gras s'accumule progressivement dans la PE pour des régimes où le 18:3 n-3 représente entre 0,2 et 2 % des acides gras totaux (Figure 1). Passé ce stade, la teneur en 22:6 n-3 ne varie plus significativement (Figure 2) dans la classe de phospholipides considérée.

Pour le 22:5 n-3, bien qu'il soit difficile de mettre en évidence des variations très significatives compte tenu de sa faible teneur

dans la PE du cerveau, on observe la même tendance c'est-à-dire une stabilisation pour des apports supérieurs à 2 % (Figure 2). Il semble qu'il existe un *effet seuil* à partir duquel le cerveau régule parfaitement la proportion des acides gras terminaux de la série n-3 (22:5 n-3 et 22:6 n-3) dans les phospholipides quel que soit l'apport en acides gras essentiels du régime.

L'analyse du tableau II montre que, si globalement la teneur en acides gras de la série n-6 diminue quand l'apport en 18:3 n-3 augmente, le comportement de tous les acides de cette famille n'est pas identique. On remarque notamment que les taux de 20:4 n-6 et de 22:4 n-6 restent constants, seule la chute du taux de 22:5 n-6 permet d'expliquer la diminution globale. De plus, la régression du taux de 22:5 n-6 est progressive (Figure 3) avec toutefois un léger fléchissement pour des apports exogènes de 18:3 n-3 compris entre 1,5 et 2 %, il faut atteindre des apports de 6 % à 9 % pour obtenir une stabilité de la teneur en cet acide gras.



Les modifications dans la répartition des acides gras polyinsaturés de chaque série sous l'influence du régime, observées à l'âge de 15 jours, persistent chez l'animal adulte.

MODIFICATIONS DE LA REPARTITION DES ACIDES GRAS AU NIVEAU
DE LA P.E. DU TISSU HEPATIQUE

L'enrichissement de la phosphatidyléthanolamine en 22:6 n-3 et 22:5 n-3 dans cet organe, est très dépendant de l'apport en 18:3 n-3 dans le régime (Figure 2). On ne retrouve pas à ce niveau *l'effet seuil* observé

dans le cerveau. L'accumulation de ces deux acides gras est progressive de 0,5 à 6 %. Des apports supérieurs en 18:3 n-3 n'induisent plus de variations significatives.

Le comportement des acides gras de la série n-6 se traduit là aussi, comme dans le cerveau, par une diminution de leur teneur globale, mais l'appauvrissement en acides gras de cette famille porte à la fois sur le 22:5 n-6 et sur le 22:4 n-6. Le taux d'acide arachidonique (20:4 n-6) reste par contre constant dans nos conditions expérimentales au sein de la PE (Tableau III).

Au niveau hépatique, l'étude de la PE ne reflète pas parfaitement les comportements de tous les acides gras polyinsaturés puisque l'étude de l'extrait lipidique total (Tableau VI) permet de mettre en évidence une diminution significative du taux d'acide arachidonique entre les lots 1,5 et 2 %.

Le foie apparaît donc beaucoup plus interdépendant des conditions nutritionnelles que le cerveau, du moins en ce qui concerne la répartition des acides gras polyinsaturés terminaux des séries n-6 et n-3.

MODIFICATIONS DE LA REPARTITION DES ACIDES GRAS AU NIVEAU DE LA P.E. DES REINS ET DES TESTICULES

Comme pour les deux organes précédents, l'apport croissant d'acide linoléique dans le régime induit globalement une augmentation du

taux des acides gras en n-3 et une diminution des acides gras en n-6.
(Tableaux IV et V).

Les variations de la répartition des acides gras terminaux des deux séries sont très comparables dans le foie et le tissu rénal avec toutefois une accumulation beaucoup plus discrète de 22:6 n-3 (Figure 2).

Les testicules ont, par contre, un comportement proche du tissu cérébral. On remarque en effet que le taux de 22:4 n-6 est relativement constant dans tous les lots expérimentaux (Figure 3).

Que ce soit au niveau du foie, des reins, des testicules, les modifications induites par le régime sur la répartition des acides gras polyinsaturés à l'âge de 15 jours persistent chez l'adulte.

DISCUSSION

Dans tous les tissus étudiés, la supplémentation du régime en acide linoléique conduit à une augmentation du taux des AGPI en n-3 (22:5 n-3 et 22:6 n-3) et une diminution du taux de 22:5 n-6. Les modifications de la répartition des AGPI observées à l'âge de 15 jours persistent chez l'adulte toutefois, l'amplitude des variations dépend du tissu considéré.

En accord avec Crawford et coll. (1), nous remarquons que parmi tous les tissus retenus dans cette étude, c'est le foie dont la composition

en AGPI est la plus sensible à la nature et aux taux des acides gras essentiels du régime.

Des apports en 18:3 n-3 dans le régime maternel compris entre 0,2 et 9 % ne semblent pas induire d'inhibition de l'activité des premières étapes d'élongation-désaturation des acides gras essentiels en n-6 dans le cerveau, les reins et les testicules puisque nous n'avons pas pu mettre en évidence de modifications significatives de la proportion de 20:4 n-6 au sein de la phosphatidyléthanolamine mais également des lipides totaux dans ces organes. Par contre, si au sein de la PE du foie, le taux d'acide arachidonique est constant, il n'en est pas de même dans l'extrait lipidique total. La répartition des acides dans les lipides totaux hépatiques chez les animaux âgés de 15 jours montre que la teneur en 20:4 n-6 est très différente entre les deux régimes extrêmes (Tableau VI). Lorsque que l'on compare deux à deux les valeurs obtenues pour cet acide gras dans chacun des lots, on remarque que jusqu'à 1,5 %, les apports en 18:3 n-3 sont sans effet, alors que la chute du taux de 20:4 n-6 entre les lots 1,5 % et 2 % est significative (Figure 4). Le taux d'acide linoléique a par opposition tendance à s'accumuler avec là aussi un accroissement brusque entre les lots 1,5 % et 2 %.

Au niveau hépatique, pour des régimes où le taux de 18:3 n-3 représente 2 % et plus des acides gras totaux, la diminution d'activité de la $\Delta 6$ désaturase dans la série n-6 est assez évidente (l'augmentation du taux de 18:2 n-6 et la chute du 20:4 n-6 en sont les témoins). Ceci permettrait également d'expliquer que, dans ces conditions, la proportion des

acides gras terminaux (22:4 n-6 et 22:5 n-6) est également plus faible. L'inhibition de la première étape métabolique conduit bien évidemment à une réduction de la synthèse de tous les acides gras de cette série.

Toujours au niveau hépatique, lorsque le régime s'appauvrit en 18:3 n-3 (taux de 18:3 n-3 inférieur à 1,5 %), la stabilité de la teneur en 20:4 n-6 des lipides totaux peut s'expliquer par le fait que l'activité $\Delta 6$ -désaturase du 18:2 n-6 n'est pas modifiée mais que par contre les activités d'élongation désaturation en aval du 20:4 n-6 sont limitées puisque même dans ces conditions les taux de 22:4 n-6 et 22:5 n-6 chutent notamment dans la phosphatidyléthanolamine qui est le phospholipide le plus riche en acides gras longs et polyinsaturés. Compte tenu des travaux antérieurs (2, 3, 4) sans préjuger de l'activité de la $\Delta 6$ -désaturase dans ces conditions nutritionnelles, la stabilité du 20:4 n-6 est très certainement due à l'intensité des phénomènes de rétroconversion du 22:4 n-6 et du 22:5 n-6 (5).

Le comportement très particulier des acides gras terminaux de chaque famille (22:5 n-6 et 22:6 n-3) dans le lot 0,2 % par rapport aux lots suivants 0,5 % et 1 %, ne peut évidemment s'expliquer par de simples régulations des vitesses d'activité des systèmes d'élongation-désaturation liées à la nature des apports nutritionnels maternels. Ces observations ne sont pourtant pas le fait d'erreurs expérimentales puisqu'elles ont été confirmées indirectement au niveau des lipides sériques au cours d'expérimentations ultérieures.

Au niveau cérébral, que ce soit dans l'extrait lipidique total ou au niveau de la PE, les taux de 20:4 n-6 et de 22:4 n-6 sont indépendants du régime utilisé. L'inhibition de l'activité de la $\Delta 4$ désaturase du 22:4 n-6 en 22:5 n-6 pourrait être à l'origine de la chute du taux de ce dernier dans les lipides cérébraux. Sprecher (6) a en effet montré que contrairement au foie, l'activité de la $\Delta 4$ désaturase est importante dans le cerveau. Afin d'expliquer le comportement des acides gras polyinsaturés au niveau du cerveau, il faut imaginer une régulation à deux niveaux ; d'une part, par rétrocontrôle des acides gras terminaux de la série n-3 sur les activités enzymatiques des deux séries n-3 et n-6 et d'autre part, par une sélectivité de captation des acides gras au niveau de la barrière hémato-encéphalique qui deviendrait prépondérante lorsque les besoins en acides gras de la série n-3 sont assurés.

Nous venons de voir que la répartition en acides gras polyinsaturés chez le raton en voie de développement dépendait très étroitement de la nature et du taux d'acides gras essentiels du régime maternel. Il ne faut pourtant pas négliger l'importance de la lactation puisqu'au cours de cette étape nutritionnelle intermédiaire, il y a, au niveau des glandes mammaires, une synthèse importante d'acides gras. Cette synthèse endogène conduit à une dilution des acides gras essentiels du régime maternel captés par les glandes mammaires (Tableau VII). L'allure de la courbe présentée sur la figure 5, nous montre que le taux de 18:3 n-3, dans le lait maternel, reste très dépendant des apports maternels.

On remarque alors que les modifications obtenues entre les lots 1,5 et 2 % correspondent en fait à des régimes où le taux d'acide linoléinique varie entre 0,5 et 0,7 % des acides gras totaux.

La très grande sensibilité du tissu hépatique aux apports lipidiques exogènes n'est certes plus à démontrer, la teneur en acides gras polyinsaturés de ce tissu est le reflet assez fidèle des manipulations diététiques. A l'inverse, le tissu cérébral est le plus indépendant de la nature et du taux des acides gras polyinsaturés exogènes à partir d'un certain seuil d'apport.

Ces données analytiques représentent les premiers éléments de référence quant à la définition du besoin en acides gras essentiels de la série n-3 pour le cerveau en voie de développement.

Cette hypothèse est sinon confirmée, du moins renforcée par les résultats préliminaires obtenus lors de la mesure de l'électrorétinogramme chez les animaux soumis à des régimes différents quant à l'apport en acide linoléique. Comme nous le verrons ultérieurement, ce test physiologique a été appliqué à des rats adultes âgés de 60 jours soumis soit au régime arachide, soit au régime primor depuis la période prénatale.

BIBLIOGRAPHIE

1. Crawford M.A., Rivers J.P.W. and Hassam A.G. : Comparative studies on the metabolic equivalence of linoleic and linolenic acids. *Nutr. Metab.* 21 : 189-190 (1977).
2. Peluffo R.O., Gomez-Dumm I.N.T., Dealaniz M.J.T. and Brenner R.R. : Effect of protein and insulin on linoleic acid desaturation of normal and diabetic rats. *J. Nutr.* 101 : 1075-1084 (1971).
3. Holman R.T. : Nutrition and metabolic interrelationships between fatty acids. *Fed. Proc.* 23 : 1962-1968 (1964).
4. Blond J.P., Poisson J., Lemarchal P. : Influence de l'acide α -linoléique alimentaire sur la conversion des acides linoléique et γ -linoléique (1- ^{14}C) en arachidonate chez le rat (in vivo). *Arch. Int. Physiol. Biochim.* 86 : 741-754 (1978).
5. Brenner R.R. : The desaturation steps in the animal biosynthesis of polyunsaturated fatty acids. *Lipids* 6 : 567-575 (1971).
6. Sprecher H. : Biosynthetic pathways of polyunsaturated fatty acids. *Adv. Exp. Med. Biol.* 83 : 35-50 (1975).

TABLEAU I

REPARTITION DES ACIDES GRAS DANS LES DIFFERENTS REGIMES

LOT	0,2 %	0,5 %	1 %	1,5 %	2 %	3 %	6 %	9 %
ACIDES GRAS								
14:0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
16:0	10,8	11,2	10,6	10,4	10,0	9,5	7,2	5,1
16:1 n-7	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,3
18:0	2,5	2,1	2,0	1,9	1,9	1,9	1,6	1,5
18:1 n-9	47,0	46,2	46,7	46,7	47,8	49,4	51,7	57,5
18:2 n-6	32,9	35,3	34,8	34,6	34,0	31,5	28,8	22,5
18:3 n-3	0,2	0,5	1,1	1,6	2,1	3,2	6,5	8,9
20:0	1,1	0,8	0,8	0,8	0,8	0,7	0,6	0,5
20:1 n-9	1,3	1,1	1,2	1,2	1,2	1,2	1,4	1,8
20:2 n-6	< 0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
22:0	2,7	1,9	1,9	1,8	1,4	1,6	0,8	0,3
22:1 n-9	0	0	0	0,1	0,1	0,2	0,7	1,3
24:0	1,3	0,6	0,6	0,6	0,4	0,5	0,2	< 0,1
18:2 n-6 18:3 n-3	113	64,9	32,3	19,8	15	9,3	4,1	2,5

TABLEAU II

REPARTITION DES ACIDES GRAS DANS LA P.E. DU CERVEAU A J15 (Moyenne ± Déviation Standard)

Lots		0,2 %	0,5 %	1 %	1,5 %	2 %	3 %	6 %	9 %
Acides gras									
16:0		11,5 ± 0,6	9,8 ± 0,8	11,0 ± 1,6	9,4 ± 0,9	9,2 ± 0,9	10,2 ± 0,2	8,9 ± 0,9	11,5 ± 0,4
16:1 n-7		1,7 ± 0,5	1,3 ± 0,2	2,3 ± 1,4	1,4 ± 0,5	1,6 ± 0,3	1,9 ± 0,7	1,1 ± 0,5	2,6 ± 0,9
18:0		27,0 ± 1,6	27,2 ± 0,7	26,7 ± 1,1	26,8 ± 0,2	28,6 ± 4,5	27,1 ± 0,8	28,8 ± 1,7	25,5 ± 1,6
18:1 n-9		10,5 ± 1,5	11,1 ± 0,5	11,3 ± 0,6	10,9 ± 0,7	11,5 ± 1,6	11,2 ± 1,2	10,4 ± 1,2	10,5 ± 0,7
18:2 n-6		1,0 ± 0,4	1,2 ± 0,2	1,4 ± 0,2	1,1 ± 0,1	1,1 ± 0,5	1,4 ± 0,2	1,0 ± 0,4	1,4 ± 0,1
18:3 n-3		0,5 ± 0,2	-	-	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,2	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,6 ± 0,1
20:1 n-9		0,3 ± 0,1	0,2 ± 0,1	-	-	-	-	-	-
20:2 n-6		0,4 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,6 ± 0,1
20:3 n-6		0,1 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,9	0,6 ± 0,1	0,6 ± 0,1	0,5 ± 0,1
20:4 n-6		22,6 ± 0,5	22,6 ± 1,2	21,5 ± 1,4	21,8 ± 0,5	20,0 ± 2,8	21,3 ± 0,5	22,8 ± 1,2	21,1 ± 0,5
22:4 n-6		5,9 ± 0,3	5,9 ± 0,4	5,9 ± 0,2	6,3 ± 0,3	5,9 ± 0,2	5,5 ± 0,3	5,4 ± 0,3	5,5 ± 0,4
22:5 n-6		7,0 ± 1,2	6,1 ± 0,3	5,5 ± 0,7	4,0 ± 0,8	3,6 ± 0,3	2,3 ± 0,1	1,4 ± 0,1	1,3 ± 0,1
22:5 n-3		-	0,1 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,5 ± 0,2	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,5 ± 0,1
22:6 n-3		11,5 ± 1,8	14,0 ± 1,4	13,6 ± 0,9	17,2 ± 0,4	17,2 ± 2,2	17,5 ± 0,7	18,6 ± 1,0	18,5 ± 0,6
ε n-3		12,0 ± 2,0	14,1 ± 1,4	13,8 ± 0,9	17,7 ± 0,4	18,0 ± 2,4	18,2 ± 0,7	19,3 ± 1,2	19,6 ± 0,7
ε n-6		37,0 ± 1,9	36,3 ± 3,4	34,8 ± 2,3	33,8 ± 1,4	31,1 ± 3,3	31,3 ± 0,9	31,4 ± 0,5	30,4 ± 0,7



TABLEAU III

REPARTITION DES ACIDES GRAS DANS LA P.E. DU FOIE A J15 (Moyenne \pm Déviation Standard)

Lots Acides gras	0,2 %	0,5 %	1 %	1,5 %	2 %	3 %	6 %	9 %
	16:0	16,4 \pm 0,2	17,8 \pm 1,7	17,3 \pm 3,8	20,6 \pm 1,9	15,8 \pm 1,4	17,2 \pm 1,2	17,6 \pm 1,8
16:1 n-7	0,5 \pm 0,1	0,6 \pm 1,5	0,4 \pm 0,1	0,7 \pm 0,2	0,5 \pm 0,1	0,3 \pm 0,1	0,2 \pm 0,1	0,4 \pm 0,1
18:0	24,7 \pm 1,5	24,6 \pm 0,5	24,8 \pm 3,6	22,6 \pm 0,5	23,5 \pm 1,1	24,8 \pm 0,8	24,4 \pm 1,0	24,4 \pm 0,7
18:1 n-9	5,2 \pm 0,3	6,2 \pm 0,1	8,2 \pm 1,1	8,1 \pm 0,4	8,8 \pm 1,2	4,4 \pm 0,2	5,4 \pm 1,4	5,6 \pm 0,9
18:2 n-6	12,4 \pm 1,3	13,4 \pm 0,2	12,2 \pm 4,4	13,6 \pm 0,4	13,7 \pm 1,2	12,5 \pm 1,5	12,0 \pm 0,9	13,5 \pm 1,8
20:2 n-6	0,4 \pm 0,1	0,6 \pm 0,1	0,4 \pm 0,1	0,4 \pm 0,1	0,5 \pm 0,1	0,5 \pm 0,1	0,3 \pm 0,1	0,4 \pm 0,1
20:3 n-6	0,4 \pm 0,1	0,4 \pm 0,1	0,4 \pm 0,1	0,4 \pm 0,1	0,6 \pm 0,3	0,4 \pm 0,1	0,5 \pm 0,1	0,3 \pm 0,1
20:4 n-6	21,7 \pm 1,0	20,8 \pm 0,8	21,2 \pm 3,0	18,9 \pm 0,6	20,1 \pm 0,6	21,0 \pm 1,1	20,4 \pm 0,7	18,9 \pm 0,2
22:4 n-6	0,8 \pm 0,1	2,1 \pm 0,2	1,5 \pm 0,1	1,5 \pm 0,2	1,2 \pm 0,2	0,8 \pm 0,1	0,3 \pm 0,1	0,1 \pm 0,1
22:5 n-6	1,3 \pm 0,5	7,2 \pm 1,2	5,7 \pm 0,7	4,0 \pm 1,0	2,8 \pm 0,3	1,1 \pm 0,1	0,2 \pm 0,1	0,2 \pm 0,1
22:5 n-3	1,3 \pm 0,2	0,5 \pm 0,1	0,7 \pm 0,1	1,1 \pm 0,1	1,4 \pm 0,1	1,6 \pm 0,3	2,2 \pm 0,1	1,9 \pm 0,1
22:6 n-3	14,9 \pm 2	5,8 \pm 0,6	7,2 \pm 0,7	8,1 \pm 1,0	11,1 \pm 1,6	15,4 \pm 1,1	16,5 \pm 1,5	18,2 \pm 0,2
ϵ n-3	16,2 \pm 2,5	6,3 \pm 0,7	7,9 \pm 0,6	9,2 \pm 1,6	12,5 \pm 1,7	17,0 \pm 1,3	18,7 \pm 1,8	20,1 \pm 0,3
ϵ n-6	37,0 \pm 1,1	44,5 \pm 1,5	41,4 \pm 2,9	38,8 \pm 1,2	38,9 \pm 2,3	36,3 \pm 0,9	33,7 \pm 0,9	33,4 \pm 1,9

BHS
ALLE

TABLEAU IV

REPARTITION DES ACIDES GRAS DANS LA P.E. DES REINS A J₁₅ (Moyenne ± Déviation Standard)

Lots Acides gras	0,2 %	0,5 %	1 %	1,5 %	2 %	3 %	6 %	9 %
	16:0	10,8 ± 0,1	11,1 ± 1,4	9,4 ± 1,0	10,2 ± 0,9	12,8 ± 0,9	11,4 ± 1,1	11,9 ± 0,7
16:1 n-7	0,6 ± 0,1	0,7 ± 0,3	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,9 ± 0,7	0,4 ± 0,1	0,6 ± 0,1	0,6 ± 0,1
18:0	17,5 ± 0,7	21,2 ± 3,6	18,1 ± 0,7	17,8 ± 0,7	19,4 ± 4,3	17,3 ± 0,8	17,4 ± 0,6	19,5 ± 3,6
18:1 n-9	18,4 ± 0,3	15,6 ± 1,7	18,0 ± 0,3	18,4 ± 0,4	18,6 ± 2,4	18,5 ± 0,4	18,4 ± 0,6	18,3 ± 1,7
18:2 n-6	13,0 ± 0,5	7,2 ± 4,5	12,4 ± 0,4	12,0 ± 0,7	8,1 ± 6,1	13,1 ± 0,6	13,7 ± 0,4	10,4 ± 4,3
20:2 n-6	0,6 ± 0,1	0,8 ± 0,2	0,9 ± 0,1	0,8 ± 0,1	0,9 ± 0,2	0,6 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,4 ± 0,1
20:3 n-6	1,2 ± 0,1	0,8 ± 0,2	1,2 ± 0,1	1,2 ± 0,1	1,2 ± 0,1	1,1 ± 0,2	1,2 ± 0,1	1,2 ± 0,1
20:4 n-6	32,1 ± 0,4	34,9 ± 3,7	32,9 ± 0,7	32,3 ± 0,7	31,7 ± 5,4	31,4 ± 0,8	30,7 ± 0,6	32,7 ± 1,9
22:4 n-6	1,5 ± 0,1	2,6 ± 0,4	2,0 ± 0,2	2,2 ± 0,1	2,1 ± 1,5	1,6 ± 0,1	1,0 ± 0,1	1,2 ± 0,2
22:5 n-6	0,3 ± 0,1	1,8 ± 0,5	1,6 ± 0,3	1,2 ± 0,2	1,0 ± 0,7	0,4 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1
22:5 n-3	0,6 ± 0,2	0,2 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,9 ± 0,1	1,1 ± 0,1
22:6 n-3	3,4 ± 0,1	3,0 ± 1,2	2,7 ± 0,1	3,1 ± 0,1	3,0 ± 0,3	3,7 ± 0,4	3,6 ± 0,3	3,8 ± 0,2
ε n-3	4,0 ± 0,4	3,2 ± 1,5	3,0 ± 0,3	3,4 ± 0,3	3,2 ± 0,2	4,1 ± 0,4	4,5 ± 0,4	4,9 ± 0,4
ε n-6	48,7 ± 0,9	48,1 ± 5,3	51,0 ± 1,1	49,7 ± 1,5	45,0 ± 4,9	48,2 ± 1,8	47,2 ± 1,1	46,0 ± 7,3

TABLEAU V

REPARTITION DES ACIDES GRAS DANS LA P.E. DES TESTICULES A J15 (Moyenne \pm Déviation Standard)

Lots Acides gras	0,2 %	0,5 %	1 %	1,5 %	2 %	3 %	6 %	9 %
	16:0	16,8 \pm 4,5	18,9 \pm 0,1	19,6 \pm 3,5	18,9 \pm 1,5	21,0 \pm 1,4	20,3 \pm 1,4	21,2 \pm 1,2
16:1 n-7	1,7 \pm 1,4	4,3 \pm 1,5	1,9 \pm 1,5	2,2 \pm 1,0	1,4 \pm 0,5	1,5 \pm 1,7	1,8 \pm 1,7	1,2 \pm 2,0
18:0	15,1 \pm 2,5	12,9 \pm 0,1	14,6 \pm 3,3	12,7 \pm 0,1	13,8 \pm 4,7	14,9 \pm 3,8	14,9 \pm 3,4	12,8 \pm 0,4
18:1 n-9	25,9 \pm 7,0	27,1 \pm 5,2	19,9 \pm 2,4	23,7 \pm 0,5	23,5 \pm 0,8	22,0 \pm 2,6	22,3 \pm 3,1	25,1 \pm 0,1
18:2 n-6	4,9 \pm 2,2	4,8 \pm 0,6	4,0 \pm 0,9	4,7 \pm 2,1	3,3 \pm 1,1	4,4 \pm 1,2	3,8 \pm 1,3	4,7 \pm 0,4
18:3 n-3	0,3 \pm 0,1	1,8 \pm 0,3	1,8 \pm 1,4	0,4 \pm 0,6	0,5 \pm 0,7	0,4 \pm 0,2	0,2 \pm 0,1	0,1 \pm 0,1
20:3 n-6	0,7 \pm 0,1	0,5 \pm 0,6	0,7 \pm 0,1	0,8 \pm 0,1	0,6 \pm 0,1	0,7 \pm 0,1	0,7 \pm 0,2	0,6 \pm 0,3
20:4 n-6	22,1 \pm 3,2	18,3 \pm 2,4	22,8 \pm 1,9	21,6 \pm 0,6	22,3 \pm 0,8	21,6 \pm 1,4	21,7 \pm 1,2	19,5 \pm 0,8
22:4 n-6	4,0 \pm 0,1	3,7 \pm 0,8	4,7 \pm 0,5	5,0 \pm 0,1	4,0 \pm 0,6	4,8 \pm 0,7	3,7 \pm 0,4	4,6 \pm 0,2
22:5 n-6	3,7 \pm 0,4	5,6 \pm 0,9	6,5 \pm 0,9	6,2 \pm 0,1	5,1 \pm 0,4	4,6 \pm 0,9	4,6 \pm 0,4	2,6 \pm 0,4
22:5 n-3	0,6 \pm 0,2	-	-	-	-	0,1 \pm 0,1	0,2 \pm 0,2	0,9 \pm 0,5
22:6 n-3	4,2 \pm 1,1	2,1 \pm 0,6	3,5 \pm 0,7	3,8 \pm 0,1	4,5 \pm 2,0	4,7 \pm 0,1	4,9 \pm 0,8	7,5 \pm 2,0
ϵ n-3	5,1 \pm 1,7	3,9 \pm 1,1	5,3 \pm 2,3	4,2 \pm 0,8	5,0 \pm 3,1	5,2 \pm 0,5	5,3 \pm 1,1	8,5 \pm 2,7
ϵ n-6	35,4 \pm 6,5	32,9 \pm 3,4	38,7 \pm 2,9	38,3 \pm 3,5	35,3 \pm 1,3	36,1 \pm 1,9	34,5 \pm 2,2	32,0 \pm 1,8

TABLEAU VI

REPARTITION DES ACIDES GRAS DANS LES LIPIDES TOTAUX DU FOIE (Moyenne + Déviation Standard)

Lots Acides gras	0,2 %	0,5 %	1 %	1,5 %	2 %	3 %	6 %	9 %
	16:0	21,4 ± 2,9	28,3 ± 1,6	25,5 ± 0,6	25,7 ± 1,5	26,1 ± 1,7	26,6 ± 3,4	28,3 ± 0,6
16:1 n-2	0,7 ± 0,3	1,3 ± 0,1	1,1 ± 0,1	1,3 ± 0,1	1,1 ± 0,1	1,1 ± 0,2	1,1 ± 0,1	0,6 ± 0,1
18:0	15,1 ± 1,1	13,9 ± 0,3	14,6 ± 2,9	13,2 ± 0,4	13,9 ± 1,3	12,4 ± 3,1	12,9 ± 0,9	11,3 ± 1,8
18:1 n-9	20,4 ± 1,7	20,7 ± 1,4	20,7 ± 0,2	23,6 ± 2,1	28,4 ± 1,1	27,9 ± 1,6	27,6 ± 0,6	26,4 ± 1,1
18:2 n-6	13,4 ± 0,5	12,4 ± 0,5	13,2 ± 0,1	13,7 ± 0,4	17,0 ± 0,6	17,9 ± 0,5	17,3 ± 0,4	17,1 ± 0,1
18:3 n-6	0,3 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,6 ± 0,1	0,6 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,1
18:3 n-3	0,2 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,2 ± 0,2	0,2 ± 0,1	1,4 ± 0,1
20:0	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	-	-	-	-
20:1 n-9	0,5 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,6 ± 0,1
20:2 n-6	0,4 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,5 ± 0,1
20:3 n-6	0,7 ± 0,1	0,6 ± 0,1	0,6 ± 0,1	0,7 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,6 ± 0,1
20:4 n-6	16,2 ± 2,1	14,7 ± 0,2	15,2 ± 0,4	13,4 ± 1,8	9,2 ± 0,4	9,5 ± 1,4	7,7 ± 0,3	8,5 ± 2,6
22:0	0,2 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	-	-	-	-
22:4 n-6	1,0 ± 0,2	1,3 ± 0,1	1,1 ± 0,1	1,1 ± 0,2	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1
22:5 n-6	1,0 ± 0,3	2,3 ± 0,2	2,4 ± 0,1	1,5 ± 0,4	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,1 ± 0,1
22:5 n-3	1,0 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,6 ± 0,1	0,7 ± 0,1	0,9 ± 0,1	1,5 ± 0,1	2,6 ± 0,2
22:6 n-3	6,8 ± 0,3	2,3 ± 0,2	3,1 ± 0,1	2,9 ± 0,8	1,3 ± 0,1	1,5 ± 0,1	1,5 ± 0,1	1,6 ± 1,3
24:0	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,1 ± 0,1
24:1 n-9	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,2 ± 0,1

MS
VILLE

TABLEAU VII

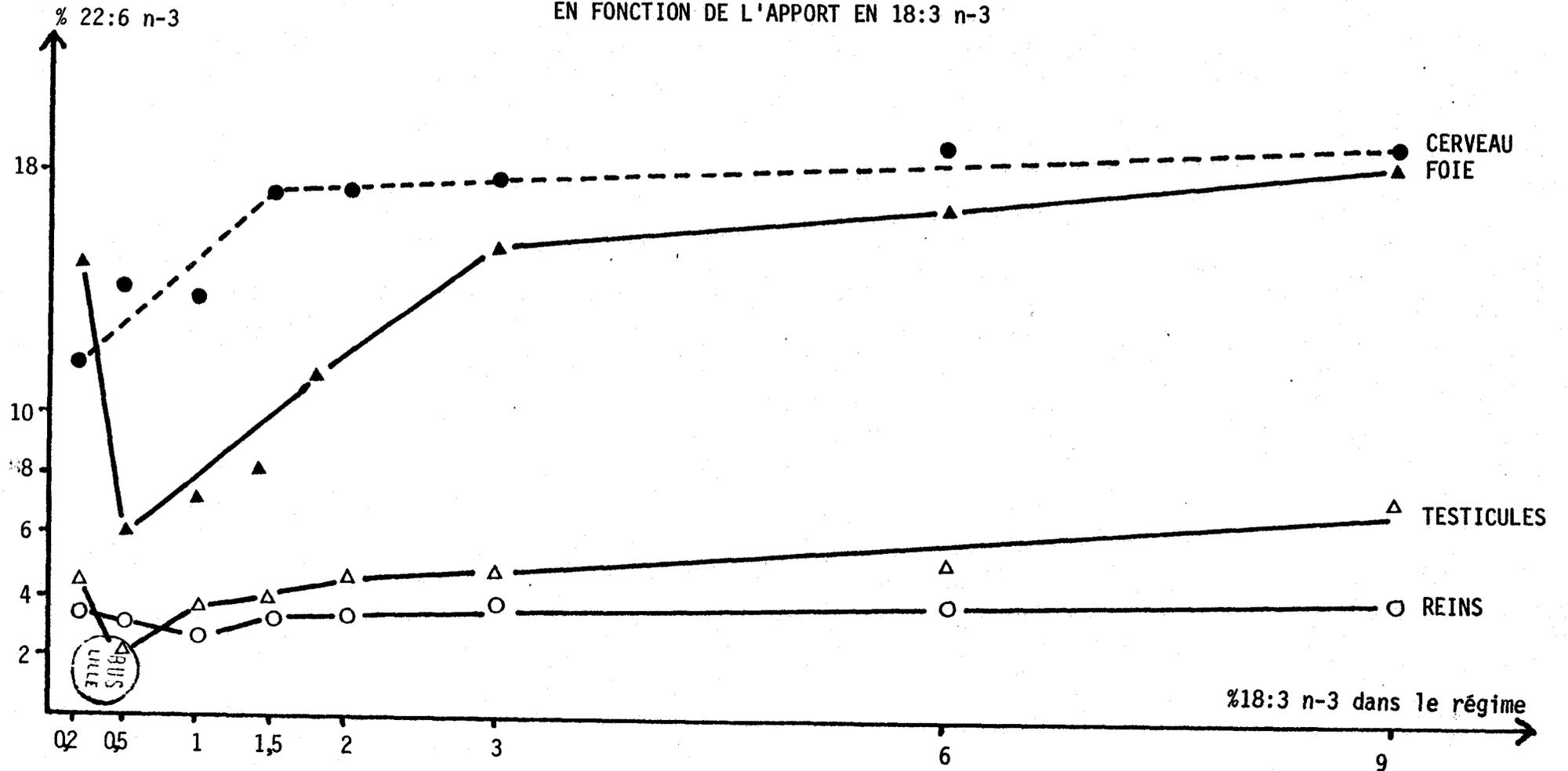
COMPOSITION EN ACIDES GRAS DES LIPIDES STOMACaux DU RATON (Moyenne ± Déviation Standard)

Lots Acides gras	0,2 %	0,5 %	1 %	1,5 %	2 %	3 %	6 %	9 %
	14:0	12,22 ± 2,67	9,93 ± 1,49	10,01 ± 2,34	9,19 ± 1,56	6,68 ± 2,01	6,67 ± 1,92	8,48 ± 1,53
16:0	23,44 ± 4,09	33,24 ± 0,69	28,51 ± 2,09	31,37 ± 0,38	27,55 ± 1,63	26,51 ± 2,46	29,21 ± 1,03	19,62 ± 0,40
16:1 n-7	1,56 ± 0,54	3,09 ± 0,22	2,54 ± 0,34	3,03 ± 0,38	3,22 ± 0,32	2,26 ± 0,46	2,18 ± 0,13	1,53 ± 0,16
18:0	3,52 ± 0,16	3,31 ± 0,08	3,40 ± 0,21	3,31 ± 0,13	3,43 ± 0,09	3,37 ± 0,14	3,25 ± 0,18	3,16 ± 0,18
18:1 n-9	38,13 ± 3,89	33,77 ± 1,40	36,44 ± 2,24	35,71 ± 1,32	39,85 ± 2,33	39,82 ± 2,75	36,87 ± 0,94	41,66 ± 0,47
18:2 n-6	17,12 ± 3,66	13,35 ± 0,54	15,68 ± 0,93	13,96 ± 0,64	14,96 ± 0,67	16,70 ± 1,36	15,00 ± 0,23	16,79 ± 0,36
18:3 n-6	0,80 ± 0,50	0,55 ± 0,02	0,50 ± 0,03	0,55 ± 0,10	0,60 ± 0,07	0,63 ± 0,22	0,40 ± 0,01	0,24 ± 0,05
18:3 n-3	0,18 ± 0,12	0,12 ± 0,05	0,31 ± 0,03	0,38 ± 0,04	0,69 ± 0,03	1,20 ± 0,06	2,26 ± 0,11	4,56 ± 0,02
20:0	0,50 ± 0,24	0,14 ± 0,01	0,22 ± 0,06	0,15 ± 0,03	0,23 ± 0,03	0,21 ± 0,02	0,20 ± 0,03	0,15 ± 0,02
20:1 n-9	0,82 ± 0,01	0,59 ± 0,03	0,70 ± 0,09	0,68 ± 0,12	0,73 ± 0,06	0,71 ± 0,10	0,66 ± 0,09	1,13 ± 0,02
20:2 n-6	0,16 ± 0,04	0,27 ± 0,03	0,21 ± 0,07	0,23 ± 0,11	0,26 ± 0,05	0,24 ± 0,07	0,20 ± 0,03	0,19 ± 0,05
20:3 n-6	0,18 ± 0,03	0,41 ± 0,06	0,33 ± 0,04	0,36 ± 0,02	0,34 ± 0,03	0,33 ± 0,07	0,31 ± 0,15	0,12 ± 0,01
20:4 n-6	0,90 ± 0,13	0,96 ± 0,06	0,81 ± 0,04	0,79 ± 0,18	1,02 ± 0,07	0,90 ± 0,18	0,61 ± 0,19	0,78 ± 0,05
22:0	0,32 ± 0,07	0,12 ± 0,01	0,19 ± 0,02	0,12 ± 0,03	0,18 ± 0,02	0,17 ± 0,02	0,10 ± 0,02	0,09 ± 0,04
22:1 n-9	-	0,03 ± 0,01	0,05 ± 0,03	0,07 ± 0,03	0,12 ± 0,01	0,11 ± 0,02	0,15 ± 0,03	0,56 ± 0,05
22:6 n-3	-	0,09 ± 0,02	0,11 ± 0,03	0,10 ± 0,03	0,14 ± 0,05	0,17 ± 0,04	0,13 ± 0,02	0,21 ± 0,09
18:2 n-6 18:3 n-3	95,11	111,25	50,25	36,73	21,68	13,91	6,63	3,68



Figure 1

EVOLUTION DU TAUX DE 22:6 n-3 DANS LA P.E. DES DIFFERENTS TISSUS
EN FONCTION DE L'APPORT EN 18:3 n-3



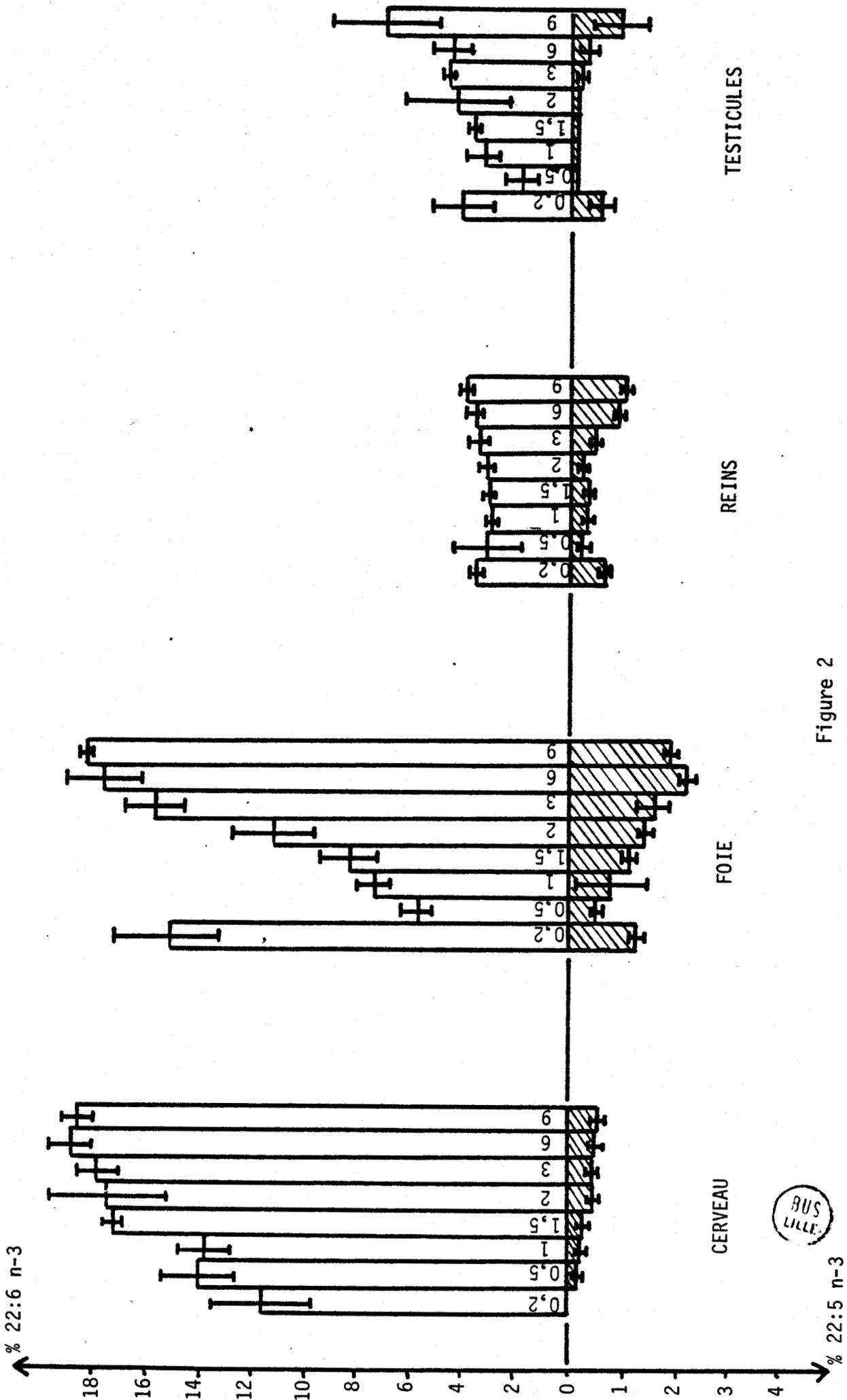


Figure 2

REPARTITION DES ACIDES GRAS TERMINAUX DE LA SERIE n-3 DANS LA P.E. DES DIFFERENTS TISSUS A J15



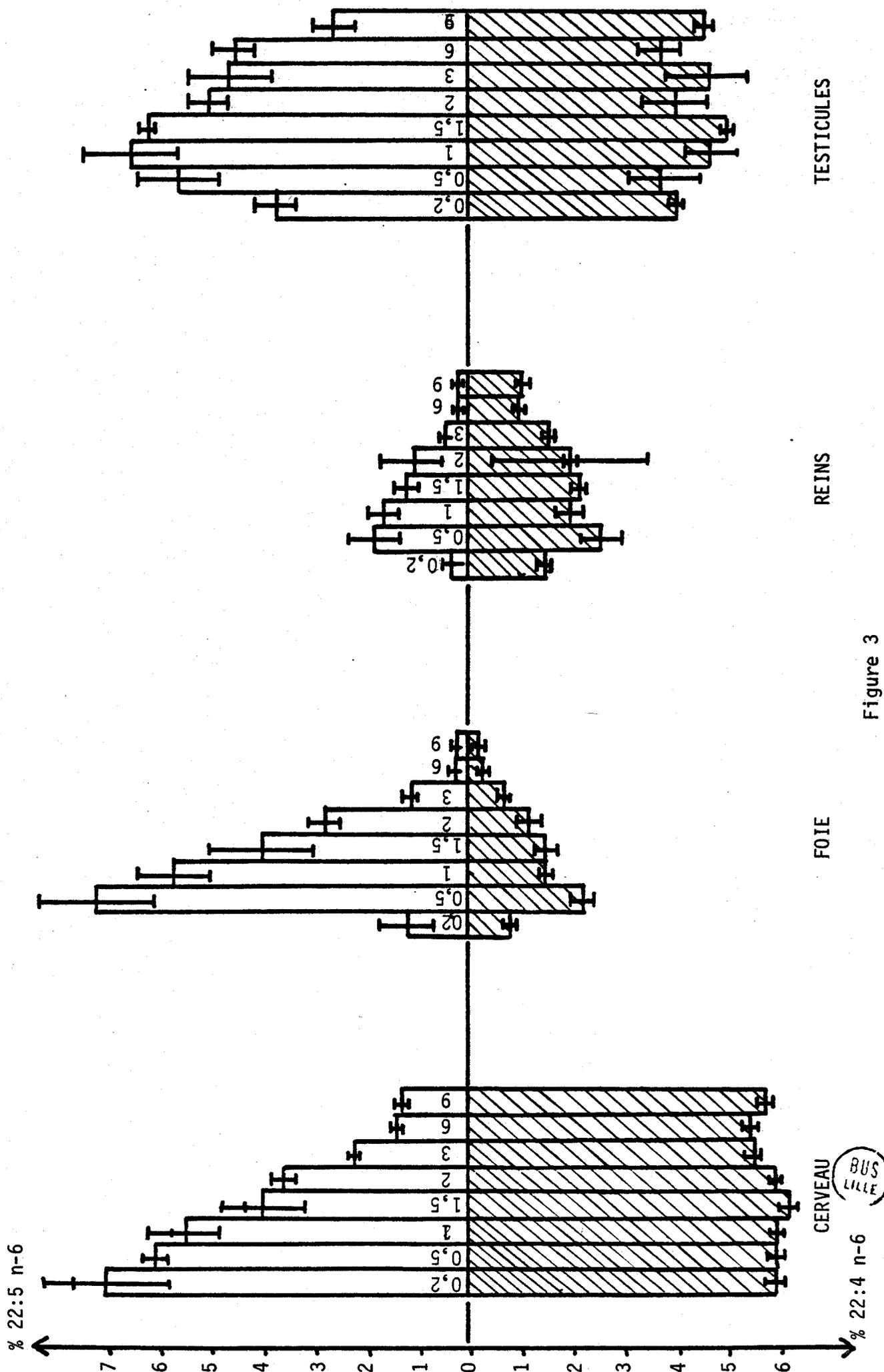


Figure 3

REPARTITION DES ACIDES GRAS TERMINAUX DE LA SERIE n-6 DANS LA P.E. DES DIFFERENTS TISSUS A J15

BUS LILLE

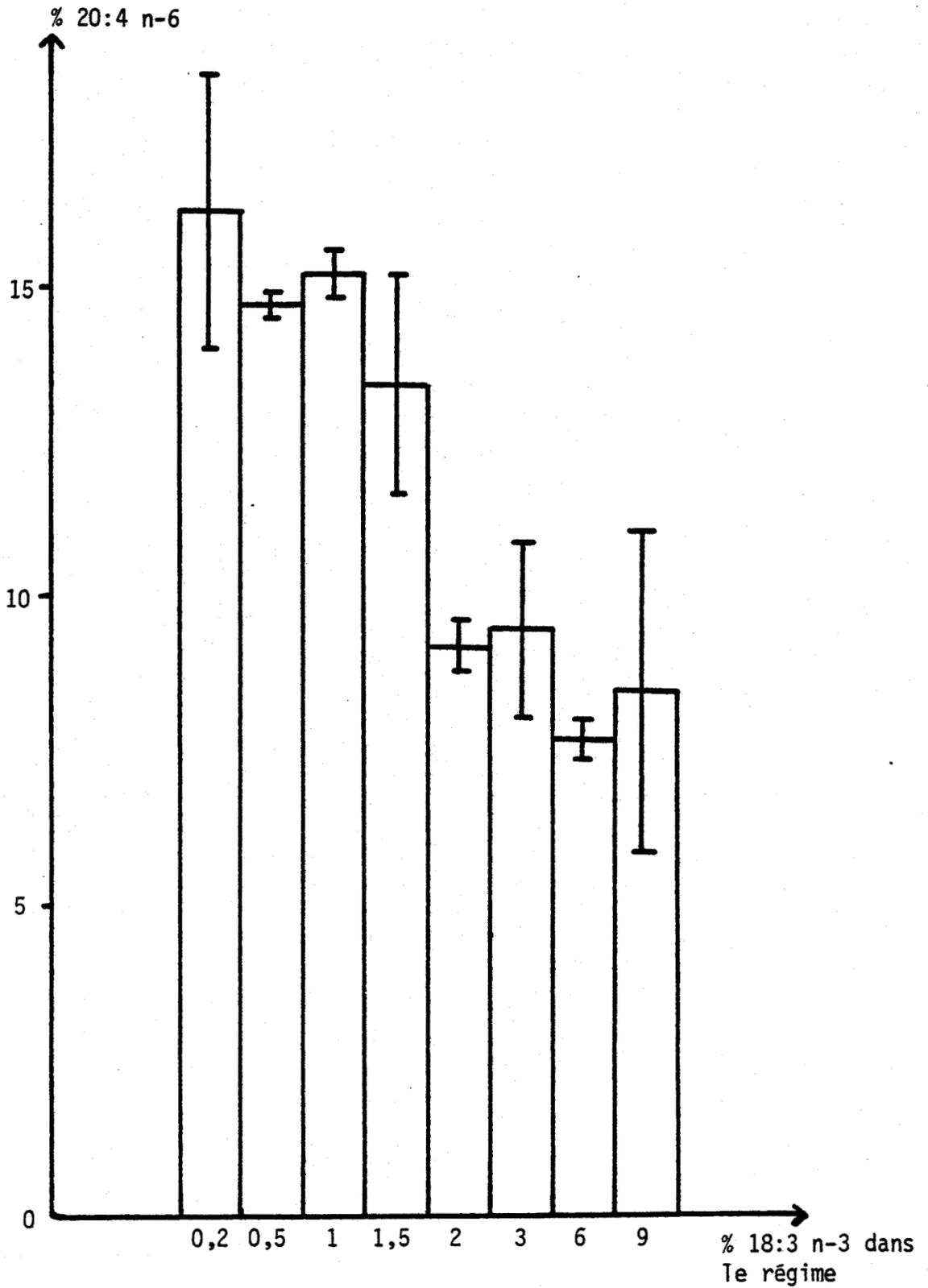
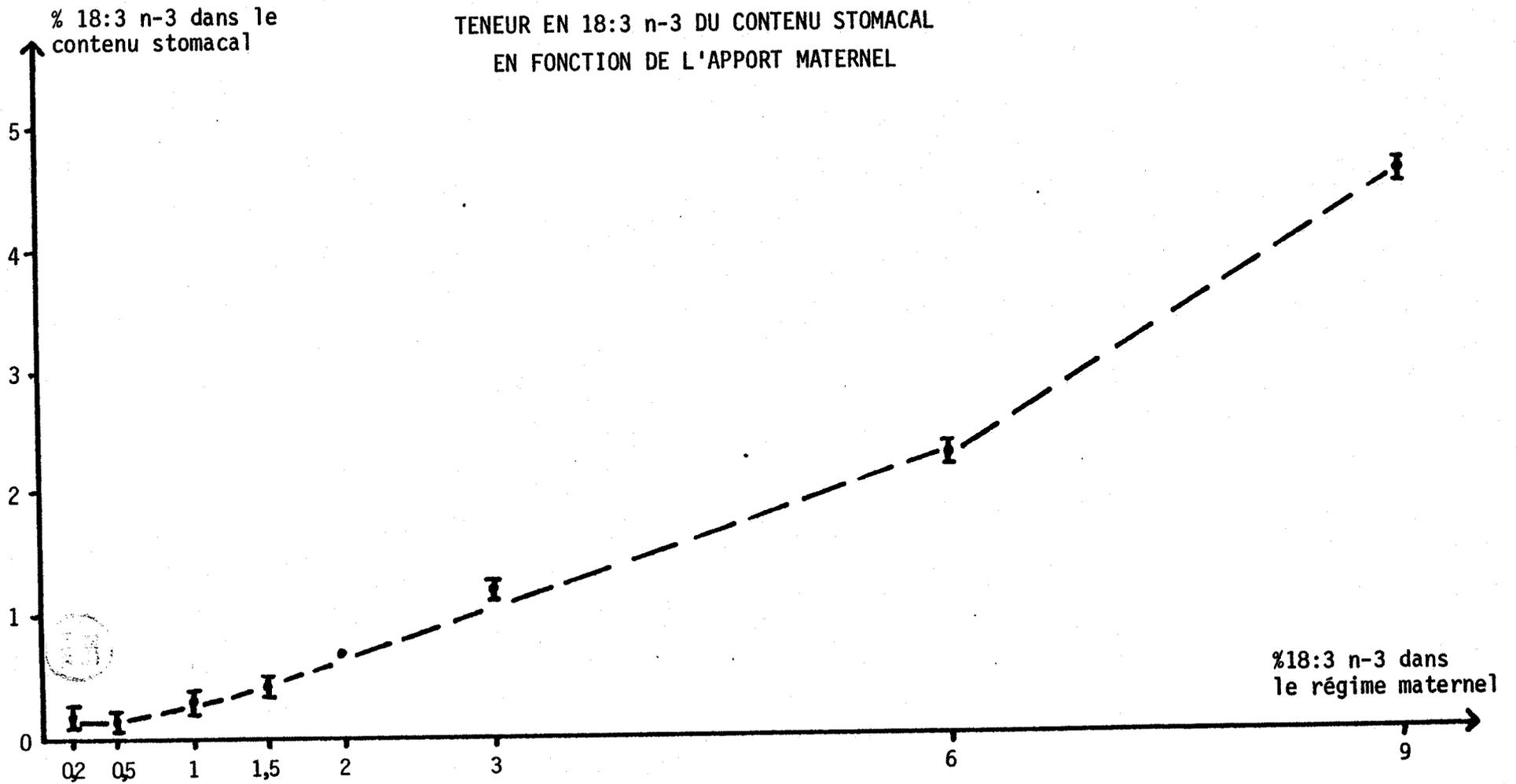


Figure 4



VARIATIONS DU TAUX DE 20:4 n-6 DANS LES LIPIDES DU FOIE
EN FONCTION DE L'APPORT EN 18:3 n-3 DANS LE REGIME MATERNEL

Figure 5



RELATIONS ENTRE LA NATURE DES ACIDES GRAS POLYINSATURES DU
REGIME ET LA REPARTITION DES ACIDES GRAS DANS LES
DIFFERENTES CLASSES DE LIPOPROTEINES CHEZ LE RAT
EN VOIE DE DEVELOPPEMENT.

(Résultats non publiés)

INTRODUCTION

Les acides gras saturés et monoinsaturés de toutes longueurs de chaînes sont synthétisés dans le cerveau par l'intermédiaire de plusieurs mécanismes enzymatiques différents. Dans le réticulum endoplasmique, la synthèse est sous la dépendance de trois systèmes enzymatiques différents (1, 2). Le premier est un système "de novo" élaborant principalement de l'acide palmitique. Le second est un système d'allongement du C16:0 qui fait suite au système "de novo" conduisant à la synthèse d'acide stéarique. A partir du 18:0, un troisième système enzymatique permet la synthèse de très longues chaînes. Les acides gras monoinsaturés sont synthétisés par le même complexe que leurs homologues saturés mais à partir de l'oléyl-CoA (3) dérivant du stéaryl-CoA par action de la Δ^9 désaturase qui est très active dans le cerveau.

Les mitochondries possèdent également un système de synthèse "de novo". Par contre, contrairement au réticulum endoplasmique, il n'existe ici qu'un système d'allongement après la synthèse "de novo", ces organites cellulaires sont totalement autonomes quant à la synthèse de leurs acides gras saturés et monoinsaturés (4).

Toutefois, le cerveau ne synthétise pas tous les acides gras non essentiels nécessaires à l'élaboration de ses membranes, l'évaluation des résultats enzymatiques obtenus "in vitro" comparés aux vitesses de renouvellement "in vivo" et à la quantité d'acides gras déposés au cours

du développement a permis de montrer que *le cerveau ne peut élaborer que 60 % environ de ses acides gras* (5). Pendant très longtemps, le cerveau a été considéré comme un organe autonome, indépendant des apports exogènes quant à ses besoins en acides gras non essentiels, or, il est maintenant démontré que même pour cette catégorie d'acides gras, une origine plasmatique, voire nutritionnelle est évidente. A fortiori, la présence en quantité importante d'acides gras polyinsaturés des séries n-3 et n-6 dans la substance grise implique une origine sérique des acides gras insaturés soit en tant qu'acides gras essentiels en C₁₈ qui sont ensuite allongés et désaturés "in situ", soit sous forme de plus longues chaînes déjà synthétisées par le tissu hépatique.

Sans préjuger des modes de transport à travers la barrière hémato-encéphalique, nous nous sommes attachés dans un premier temps à estimer l'incidence du taux d'acide linoléique dans le régime sur les disponibilités potentielles du cerveau en acides gras polyinsaturés et par là même l'importance du métabolisme intrahépatique intermédiaire par le biais de la répartition des acides gras au sein des lipoprotéines sériques.

PROTOCOLE EXPERIMENTAL

Compte tenu des résultats antérieurs, les apports exogènes en 18:3 n-3 ont été fixés à 0,2 %, 1 %, 2 % et 9 % des acides gras totaux du régime. Les différents régimes ont été administrés aux animaux selon le

protocole décrit précédemment c'est-à-dire durant les périodes de gestation et de lactation. Sur les prélèvements sériques des animaux âgés de 15 jours, nous avons, après précipitation sélective par l'héparine-manganèse (6), étudié la répartition des acides gras dans les phospholipides et les esters de cholestérol des VLDL-LDL et des HDL. Parallèlement, la composition des acides gras libres du sérum a été établie chez les animaux soumis aux mêmes régimes alimentaires.

RESULTATS

REPARTITION DES ACIDES GRAS DANS LES LIPOPROTEINES DE FAIBLE DENSITE (VLDL-LDL)

L'apport croissant de 18:3 n-3 dans le régime n'induit pas de variations significatives du taux de 22:6 n-3 dans les phospholipides de la fraction VLDL-LDL, par contre la teneur en son précurseur, le 22:5 n-3 croît régulièrement lorsque le 18:3 n-3 exogène augmente (Figure 1, Tableau I).

Les acides gras terminaux de la série n-6, présents en grande quantité dans les phospholipides des VLDL-LDL du lot 0,2 %, chutent brusquement et se stabilisent lorsque l'acide linoléique représente 1 à 2 % des acides gras totaux du régime. Dans le dernier lot (9 % de 18:3 n-3), ces acides gras ne sont plus présents qu'à l'état de traces au sein des phospholipides totaux (Tableau I, Figure 1).

Que ce soit au niveau des phospholipides ou des esters de cholestérol (Tableau III), la présence d'acide linoléique n'a pu être détectée excepté pour les esters de cholestérol du lot 9 % où cet acide gras représente plus de 2 % des acides gras totaux.

Le comportement particulier des acides gras du lot 0,2 % observé au niveau du foie, est sinon expliqué, du moins confirmé par les études sérieuses puisqu'il semble qu'il y ait une libération préférentielle des acides gras terminaux en n-6 au détriment du 22:6 n-3.

REPARTITION DES ACIDES GRAS DANS LES LIPOPROTEINES DE HAUTE DENSITE (HDL)

Les observations concernant les acides gras polyinsaturés présents dans les phospholipides et les esters de cholestérol de cette classe de lipoprotéines sont très voisines de celles faites précédemment pour chaque lot expérimental (Figure 1, Tableaux II et IV). La divergence porte essentiellement sur le 22:6 n-3 dont la teneur double pour des apports exogènes en 18:3 n-3 supérieurs à 1 %.

COMMENTAIRES

La très grande sensibilité du tissu hépatique aux conditions nutritionnelles se traduit certes, comme nous l'avons vu, par des répartitions différentes "in situ" des acides gras polyinsaturés, mais également

par des modifications de la nature et du taux de ces mêmes composants lipidiques au sein des lipoprotéines libérées dans le sang. Globalement, l'enrichissement en acides gras essentiels de la série n-3 se traduit par un enrichissement en homologues supérieurs de cette série et un appauvrissement en acides gras de la série n-6. Cette dernière observation est particulièrement nette lorsque l'apport en 18:3 n-3 dans le régime maternel dépasse 2 % des acides gras totaux. Le métabolisme hépatique intermédiaire permet donc la libération importante d'acides gras très polyinsaturés à longue chaîne qui représentent une source potentielle pour assurer la couverture des besoins lipidiques du cerveau.

Nous ne pouvons écarter l'hypothèse d'une captation directe des précurseurs 18:2 n-6 et 18:3 n-3, mais ce phénomène semble quantitativement peu important et ce, pour plusieurs raisons :

- L'analyse des lipides cérébraux ne met en évidence que de très faibles teneurs en ces acides gras.
- Les phospholipides sériques sont également très pauvres en acides gras essentiels et tout particulièrement en 18:3 n-3. On pourrait alors imaginer une captation importante des acides gras libres sériques par la barrière hémato-encéphalique, or même à ce niveau, l'analyse ne permet pas de mettre en évidence d'incidence du régime (Tableau V) sur la répartition des acides gras insaturés en C₁₈ dans nos conditions expérimentales. La seule source possible serait donc représentée par les

triglycérides des lipoprotéines, mais jusqu'à ce jour l'activité d'une lipoprotéine-lipase cérébrale n'a pas été démontrée.

La captation des acides gras longs et polyinsaturés présents dans les phospholipides doit représenter un des modes importants d'apport en acides gras du cerveau. Les mécanismes mis en jeu sont encore inconnus actuellement.

BIBLIOGRAPHIE

1. Bourre J.M., Pollet S., Paturneau-Jouas M. and Baumann N. : Fatty acid biosynthesis during brain development in "Enzymes of lipid metabolism", 1978 (S. Gatt, L. Freysz, P. Mandel eds.) Plenum Publishing Corporation, pp. 17-26.
2. Murad S. and Kishimoto Y. : Chain elongation of fatty acid in brain : a comparison of mitochondrial and microsomal enzyme activities. Arch. Biochem. Biophys. 30 : 300-306 (1978).
3. Bourre J.M., Daudu O. and Baumann N. : Nervonic acid biosynthesis by erucyl-CoA elongation in normal and quaking mouse brain microsomes. Elongation of other unsaturated fatty acyl-CoA (mono and poly-unsaturated). Biochim. Biophys. Acta 424 : 1-7 (1976).
4. Paturneau-Jouas M., Baumann N. and Bourre J.M. : Elongation of palmityl-CoA in mouse brain mitochondria : comparison with stearyl-CoA. Biochem. Biophys. Res. Commun. 71 : 1326-1334 (1976).
5. Bourre J.M. : Origine des acides gras cérébraux non essentiels : Synthèse "in situ" et apport exogène. C.R. Séan. Soc. Biol. 174 : 446-456 (1980).
6. Burstein M., Scholnick M.R. and Morfin R. : Isolation of serum lipoproteins. J. Lipid Res. 11 : 583-595 (1979).

TABLEAU I

MODIFICATION DE LA REPARTITION DES ACIDES GRAS DANS LES PHOSPHOLIPIDES
DES VLDL - LDL EN FONCTION DU REGIME CHEZ LE RAT A J15
(Moyenne \pm Déviation Standard)

Acides gras	Lots			
	0,2 %	1 %	2 %	9 %
16:0	13,5 \pm 2,2	18,0 \pm 2,9	20,7 \pm 5,8	22,4 \pm 2,9
18:0	24,6 \pm 0,7	22,8 \pm 0,9	26,1 \pm 4,0	23,7 \pm 1,9
18:1 n-9	9,9 \pm 1,0	10,5 \pm 1,7	11,2 \pm 5,4	13,9 \pm 0,3
18:2 n-6	15,3 \pm 5,2	21,3 \pm 1,2	15,6 \pm 2,1	19,0 \pm 3,5
20:0	0,6 \pm 0,3	0,5 \pm 0,1	0,4 \pm 0,1	1,2 \pm 0,2
20:1 n-9	0,9 \pm 0,4	0,6 \pm 0,1	0,5 \pm 0,2	1,3 \pm 0,6
20:2 n-6	0,3 \pm 0,1	0,4 \pm 0,1	0,5 \pm 0,4	0,4 \pm 0,1
20:3 n-6	1,4 \pm 0,1	1,2 \pm 0,2	0,9 \pm 0,5	0,9 \pm 0,3
20:4 n-6	21,7 \pm 4,4	16,9 \pm 1,6	16,9 \pm 1,0	10,6 \pm 1,7
22:4 n-6	1,5 \pm 0,3	0,6 \pm 0,1	0,6 \pm 0,2	-
22:5 n-6	4,6 \pm 1,2	1,4 \pm 0,3	1,3 \pm 0,9	0,1 \pm 0,1
22:5 n-3	0,2 \pm 0,1	0,3 \pm 0,1	0,6 \pm 0,4	0,9 \pm 0,1
22:6 n-3	2,2 \pm 0,6	3,8 \pm 0,4	3,9 \pm 1,0	2,9 \pm 0,7
24:0	2,7 \pm 0,5	1,4 \pm 0,1	0,6 \pm 0,2	0,9 \pm 0,3
24:1 n-9	0,6 \pm 0,1	0,3 \pm 0,1	0,2 \pm 0,1	1,8 \pm 0,4
<hr/>				
ε n-3	2,4 \pm 0,6	4,1 \pm 0,6	4,5 \pm 1,4	3,8 \pm 0,8
ε n-6	44,8 \pm 0,6	41,8 \pm 0,7	35,8 \pm 1,0	31,0 \pm 1,3
$\frac{\varepsilon}{\varepsilon}$ $\frac{n-6}{n-3}$	18,7 \pm 1,2	10,2 \pm 1,3	7,9 \pm 3,7	8,1 \pm 3,2

TABLEAU II

MODIFICATION DE LA REPARTITION DES ACIDES GRAS DANS LES PHOSPHOLIPIDES
DES H.D.L. EN FONCTION DU REGIME CHEZ LE RAT A J₁₅
(Moyenne \pm Déviation Standard)

Acides gras	Lots			
	0,2 %	1 %	2 %	9 %
16:0	16,7 \pm 10,0	13,8 \pm 3,5	14,7 \pm 3,4	11,6 \pm 1,1
16:1 n-7	0,4 \pm 0,2	0,2 \pm 0,1	0,4 \pm 0,2	0,3 \pm 0,1
18:0	22,1 \pm 0,2	22,7 \pm 1,1	21,3 \pm 0,5	20,7 \pm 0,8
18:1 n-9	8,7 \pm 0,4	8,9 \pm 0,5	7,7 \pm 1,0	10,8 \pm 1,6
18:2 n-6	13,6 \pm 4,8	20,8 \pm 2,1	15,7 \pm 3,5	19,9 \pm 2,3
18:3 n-3	-	-	0,6 \pm 0,2	0,7 \pm 0,1
20:0	0,4 \pm 0,1	0,4 \pm 0,1	0,3 \pm 0,1	0,2 \pm 0,1
20:1 n-9	0,6 \pm 0,1	0,7 \pm 0,1	0,6 \pm 0,1	1,0 \pm 0,1
20:3 n-6	1,4 \pm 0,1	1,1 \pm 0,3	1,2 \pm 0,2	1,3 \pm 0,2
20:4 n-6	25,3 \pm 2,1	23,7 \pm 2,9	25,6 \pm 3,5	18,5 \pm 1,6
20:5 n-3	-	-	0,3 \pm 0,1	0,7 \pm 0,1
22:4 n-6	1,6 \pm 0,3	0,9 \pm 0,2	0,8 \pm 0,1	0,5 \pm 0,2
22:5 n-6	3,9 \pm 0,2	1,1 \pm 0,1	1,2 \pm 0,6	0,1 \pm 0,1
22:5 n-3	0,4 \pm 0,3	0,7 \pm 0,2	0,9 \pm 0,4	1,7 \pm 0,2
22:6 n-3	4,3 \pm 1,3	3,9 \pm 1,1	7,4 \pm 1,7	8,8 \pm 1,9
24:0	0,4 \pm 0,2	0,5 \pm 0,2	0,7 \pm 0,2	1,2 \pm 0,4
24:1 n-9	0,3 \pm 0,1	0,5 \pm 0,3	0,6 \pm 0,1	2,0 \pm 0,7
ϵ n-3	4,7 \pm 1,7	4,6 \pm 1,3	9,2 \pm 2,1	11,9 \pm 2,3
ϵ n-6	45,8 \pm 7,6	47,6 \pm 2,3	44,5 \pm 1,9	40,3 \pm 0,6
$\frac{\epsilon}{\epsilon}$ $\frac{n-6}{n-3}$	9,7 \pm 2,0	10,3 \pm 2,2	4,8 \pm 1,1	3,4 \pm 0,9

TABLEAU III

MODIFICATION DE LA REPARTITION DES ACIDES GRAS
 DANS LES ESTERS DE CHOLESTEROL DES VLDL-LDL
 EN FONCTION DU REGIME CHEZ LE RAT A J15
 (Moyenne \pm Déviation Standard)

Acides gras	Lots			
	0,2 %	1 %	2 %	9 %
16:0	11,7 \pm 1,2	12,5 \pm 1,4	12,5 \pm 2,0	15,2 \pm 6,1
16:1 n-7	2,1 \pm 0,4	1,9 \pm 0,7	2,1 \pm 0,2	2,2 \pm 0,6
18:0	2,9 \pm 0,9	2,5 \pm 0,5	3,4 \pm 0,3	1,8 \pm 0,3
18:1 n-9	42,9 \pm 5,1	35,9 \pm 5,0	39,9 \pm 1,5	41,0 \pm 1,2
18:2 n-6	17,4 \pm 1,7	20,7 \pm 1,7	19,1 \pm 1,5	19,3 \pm 0,9
18:3 n-3	-	-	0,1 \pm 0,1	2,3 \pm 1,0
20:4 n-6	22,4 \pm 6,2	25,7 \pm 6,1	21,9 \pm 4,5	16,5 \pm 5,4
20:5 n-6	-	-	-	0,7 \pm 0,2
22:5 n-6	0,3 \pm 0,1	0,3 \pm 0,1	0,4 \pm 0,1	-
22:6 n-3	0,3 \pm 0,1	0,5 \pm 0,1	0,6 \pm 0,2	0,9 \pm 3,0
ε n-3	0,3 \pm 0,1	0,5 \pm 0,1	0,7 \pm 0,3	3,2 \pm 1,4
ε n-6	40,1 \pm 7,3	46,7 \pm 6,2	41,4 \pm 3,2	36,5 \pm 4,6
$\frac{\varepsilon}{\varepsilon}$ $\frac{n-6}{n-3}$	233,6 \pm 34,2	193,4 \pm 20,1	159,2 \pm 13,7	11,4 \pm 3,2

TABLEAU IV

MODIFICATION DE LA REPARTITION DES ACIDES GRAS
DANS LES ESTERS DE CHOLESTEROL DES H.D.L.
EN FONCTION DU REGIME CHEZ LE RAT A J₁₅
(Moyenne \pm Déviation Standard)

Acides gras	Lots			
	0,2 %	1 %	2 %	9 %
16:0	8,5 \pm 3,2	12,0 \pm 0,8	11,1 \pm 3,1	12,6 \pm 2,0
16:1 n-7	0,9 \pm 0,2	1,5 \pm 0,6	2,0 \pm 0,7	1,7 \pm 0,9
18:0	0,6 \pm 0,1	0,6 \pm 0,1	1,1 \pm 0,4	0,7 \pm 0,1
18:1 n-9	7,6 \pm 1,3	7,1 \pm 0,5	8,3 \pm 1,8	10,0 \pm 1,7
18:2 n-6	15,9 \pm 2,8	23,8 \pm 3,5	19,3 \pm 4,2	27,0 \pm 2,2
18:3 n-6	1,6 \pm 0,4	1,7 \pm 0,4	1,9 \pm 1,0	1,9 \pm 0,1
20:3 n-6	0,4 \pm 0,1	0,4 \pm 0,1	0,5 \pm 0,1	0,6 \pm 0,2
20:4 n-6	63,6 \pm 1,2	50,9 \pm 2,3	54,3 \pm 9,4	42,8 \pm 3,2
20:5 n-3	-	0,2 \pm 0,1	0,3 \pm 0,1	1,3 \pm 0,5
22:6 n-3	0,9 \pm 0,3	1,8 \pm 0,1	1,2 \pm 0,6	1,4 \pm 0,4
ϵ n-3	0,9 \pm 0,3	2,0 \pm 0,1	1,5 \pm 0,6	2,7 \pm 0,9
ϵ n-6	81,5 \pm 4,6	76,8 \pm 1,8	76,0 \pm 4,4	72,3 \pm 2,0
$\frac{\epsilon}{\epsilon}$ $\frac{n-6}{n-3}$	90,5 \pm 15,9	38,0 \pm 2,3	50,6 \pm 23,6	26,7 \pm 9,7

TABLEAU V

MODIFICATION DE LA REPARTITION DES ACIDES GRAS LIBRES SERIQUES
 EN FONCTION DU REGIME CHEZ LE RAT A J15
 (Moyenne \pm Déviation Standard)

Lots Acides gras	0,2 %	1 %	2 %	9 %
16:0	25,7 \pm 1,4	28,7 \pm 3,1	26,7 \pm 2,1	27,7 \pm 3,8
16:1 n-7	3,8 \pm 0,6	3,1 \pm 0,4	3,5 \pm 1,6	3,4 \pm 0,3
18:0	14,9 \pm 2,4	14,6 \pm 3,2	12,1 \pm 1,1	12,4 \pm 1,2
18:1 n-9	28,9 \pm 2,7	27,8 \pm 2,1	31,5 \pm 0,8	31,4 \pm 2,6
18:2 n-9	16,2 \pm 0,9	16,3 \pm 2,9	16,9 \pm 0,4	17,0 \pm 2,5
20:0	0,8 \pm 0,5	0,8 \pm 0,4	0,9 \pm 0,3	0,8 \pm 0,4
20:1 n-9	0,8 \pm 0,4	0,8 \pm 0,6	1,3 \pm 0,9	0,8 \pm 0,4
20:4 n-6	8,9 \pm 1,1	7,9 \pm 2,1	7,1 \pm 1,3	6,5 \pm 0,9

BUS
LILLE

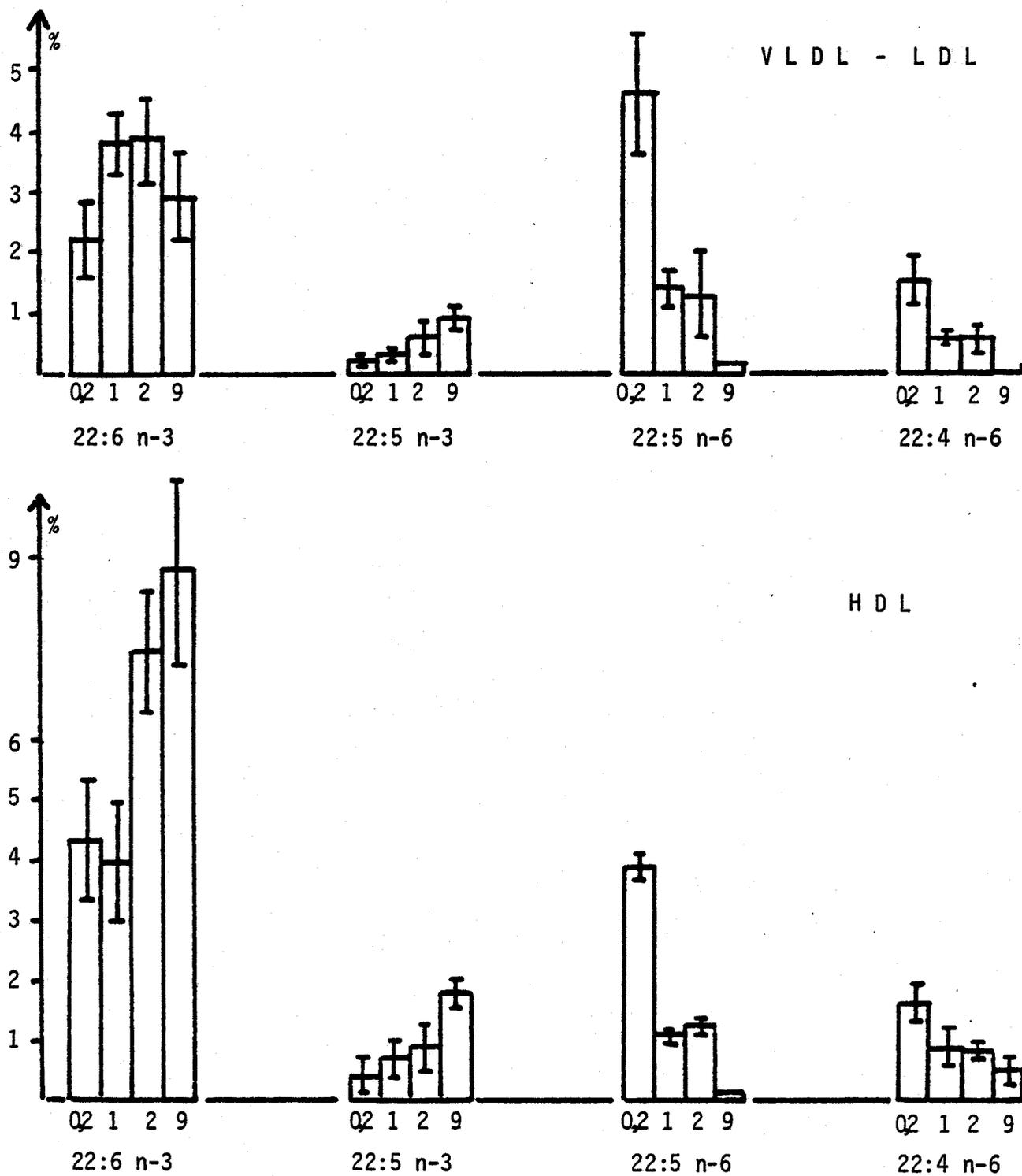


Figure 1

EVOLUTION DU TAUX DES ACIDES GRAS POLYINSATURES DE CHAQUE SERIE
DANS LES PHOSPHOLIPIDES DES LIPOPROTEINES EN FONCTION
DE L'APPORT EN 18:3 n-3 DANS LE REGIME
(0,2 % - 1 % - 2 % - 9 %)



CONCLUSIONS GÉNÉRALES

En périodes pré- et post-natales, le développement cérébral nécessite une incorporation très importante d'acides gras pour l'élaboration des différentes structures. Une partie seulement des acides gras saturés et monoinsaturés (environ 60 %) peut être synthétisée "in situ", un apport exogène est donc indispensable. Ce besoin est encore plus crucial pour les acides gras polyinsaturés dérivant des acides gras essentiels donc d'origine alimentaire. Nos connaissances quant à ces derniers sont encore très fragmentaires tant au niveau des besoins nutritionnels qu'à leur devenir métabolique.

Les différents résultats présentés dans ce mémoire nous ont permis, sinon d'élucider ces questions, du moins de contribuer à apporter quelques éléments de réponse. Nous avons pu en effet montrer que la grande affinité du cerveau pour les acides gras de la série n-3 se traduit par une accumulation de ces derniers même pour des apports exogènes en acide linoléique faibles et ce, au détriment des acides gras en n-6 contribuant à maintenir la somme des acides gras (n-6 + n-3) parfaitement constante.

Cette accumulation d'acides gras en n-3 est cependant très étroitement régulée, lorsque l'apport nutritionnel en 18:3 n-3 dépasse 2 % dans le régime maternel, nous observons un "effet seuil" avec une stabilisation de la répartition des acides gras polyinsaturés des deux séries.

Cette régulation stricte pourrait être la résultante de deux actions convergentes :

- 1) D'une part, un rétrocontrôle de l'activité des systèmes d'élongation-désaturation par les acides gras terminaux et tout particulièrement par le 22:6 n-3. Contrairement aux autres organes, l'activité de la $\Delta 4$ désaturase semble prépondérante dans la régulation de la synthèse des acides gras longs et polyinsaturés du cerveau.
- 2) D'autre part, une captation sélective des acides gras polyinsaturés à partir des lipoprotéines plasmatiques. Les mécanismes de captation des acides gras au niveau de la barrière hémato-encéphalique sont encore inconnus.

Cette incorporation préférentielle des acides gras en n-3 correspond-t-elle à des besoins spécifiques ? Nous possédons très peu d'éléments de réponse à cette question, toutefois un test physiologique réalisé sur des animaux adultes semble très intéressant : c'est la mesure de l'électrorétinogramme (E.R.G.). Cette étude a été réalisée chez des animaux âgés de 60 jours et soumis, selon notre protocole expérimental, soit au régime "Arachide", soit au régime "Primor". Les résultats préliminaires obtenus sont en faveur d'une relation entre les modifications biochimiques induites par le régime et l'efficacité physiologique. Les valeurs présentées dans le tableau ci-dessous mettent en évidence une différence de la réponse à l'excitation lumineuse mesurée par l'E.R.G. entre les deux lots.

Mesure de l'E.R.G. après excitations lumineuses chez les animaux des deux séries

N° des animaux Lot	1	2	3	4	5	6	7
	Arachide	0	0	24	10	0	12,5
E.R.G. (exprimé en μV)	0	0	25	8	0	10	20

N° des animaux Lot	8	9	10	11	12	13
	Primor	37,5	55	40	30	50
E.R.G. (exprimé en μV)	37,7	70	35	30	65	70

* Pour chaque animal, les mesures sont effectuées à deux fréquences de stimulation différentes

L'incorporation préférentielle des acides gras en n-3 pourrait donc correspondre à un besoin réel afin d'assurer des activités physiologiques optimales.

Un apport en 18:3 n-3 compris entre 1 et 2 % des acides gras totaux semble souhaitable dans le régime maternel des femelles en gestation et en lactation. Ces teneurs correspondent en fait à des taux respectifs de 0,5 et 0,7 % dans le lait maternel ingéré par le raton.

L'acide α -linoléinique [Δ 9.12.15 (18:3)] ne représente-t-il pas 0,5 à 0,8 % des acides gras totaux dans le lait maternel humain ?

P E R S P E C T I V E S

ETUDES METABOLIQUES

- 1 - Les systèmes d'élongation-désaturation des acides gras essentiels ont fait l'objet de très nombreux travaux au niveau du tissu hépatique, par contre, les voies métaboliques empruntées par les acides gras essentiels au niveau du cerveau ont été très peu étudiées. L'alternance des mécanismes de désaturation-élongation semble exister également au niveau cérébral, mais qu'en est-il de la régulation des différentes étapes ? Afin d'apporter des éléments de réponse à cette vaste question, nous envisageons dans un premier temps une étude comparative de l'activité $\Delta 6$ désaturase au niveau du foie et du cerveau.

- 2 - Une meilleure connaissance des voies métaboliques empruntées par les acides gras essentiels au niveau du cerveau est certes indispensable, mais il est également primordial de connaître ce qui se passe en amont du cerveau, c'est-à-dire la nature des acides gras polyinsaturés qui traversent la barrière hémato-encéphalique. Les analyses effectuées au niveau des lipoprotéines nous ont déjà permis de mettre en évidence l'importance du métabolisme intrahépatique intermédiaire dans la synthèse d'homologues supérieurs à partir des précurseurs : 18:2 n-6 et 18:3 n-3. Ces homologues supérieurs, plus longs et plus insaturés, représenteraient l'apport principal en AGPI au cerveau.

L'administration par voie carotidienne de différentes lipoprotéines renfermant des AGPI marqués au C^{14} devrait nous permettre de vérifier cette hypothèse.

- 3 - Les acides gras polyinsaturés sont certes indispensables à l'organisme, mais un apport excessif doit être évité, compte tenu de la facilité avec laquelle ces substances sont peroxydables. Nos conditions nutritionnelles ont-elles une incidence sur ces processus ? Le dosage du taux de malondialdéhyde (MA) formé devrait nous permettre d'étudier l'effet du taux d'insaturation du régime.
- 4 - Compte tenu des résultats préliminaires obtenus par la mesure de l'E.R.G., il nous apparaît intéressant de rechercher d'autres tests physiologiques permettant de mieux apprécier l'incidence d'un régime alimentaire sur les activités physiologiques de l'organisme.

ALIMENTATION PARENTERALE

Comme nous l'avons mentionné au début de ce mémoire, l'administration prolongée d'émulsions lipidiques par voie intraveineuse entraîne une chute du taux des AGPI conduisant à une carence en acides gras essentiels, mais également à une diminution de la réponse immunitaire de l'organisme.

L'utilisation d'une émulsion lipidique renfermant 9 % d'acide γ -linoléique [Δ 6.9.12 (18:3)] nous permettra peut-être d'apporter une

solution à ce problème crucial posé par la nutrition parentérale à long terme. Le protocole expérimental prévoit l'analyse lipidique de différents tissus (foie, coeur, rein, surrénales, thymus) ainsi que la composition en acides gras des phospholipides et des esters de cholestérol du sérum et des érythrocytes. Le mini-porc a été choisi comme modèle expérimental compte tenu du fait que les résultats obtenus lors de travaux antérieurs ont été confirmés chez l'homme.

APPENDICE TECHNIQUE

APPENDICE TECHNIQUE

- I - Préparation des régimes
 - II - Précipitation sélective des lipoprotéines plasmatiques
et étude de leur composition en acides gras
 - III - Dosage des protéines
 - IV - Extraction des lipides
 - V - Chromatographie monodimensionnelle des lipides polaires
sur couche mince de gel de silice en gradient
discontinu d'humidité
 - VI - Dosage des phospholipides
 - VII - Préparation des mitochondries, de la myéline, des
synaptosomes et des microsomes
 - VIII - Préparation des colonnes de chromatographie en
phase gazeuse
-

I - PREPARATION DES REGIMES

La préparation du régime se fait en deux étapes :

- 1ère étape : Constitution du régime de base en poudre sans lipides et sans vitamines.
- 2ème étape : (réalisée avant l'administration aux animaux).
Préparation de la bouillie avec adjonction des lipides, des vitamines et de l'eau.

Les valeurs des différents composants du régime sont données par rapport au poids de régime de base sec. Il convient ensuite d'apporter l'eau afin d'obtenir une bouillie à la consistance désirée (environ 1/3 d'eau).

COMPOSITION DU REGIME

Valeurs données en grammes pour 1 000 g de régime de base.

- Caséine	180
- Amidon	360
- Mélange salin de Hubbel	40
- Agar-Agar	20
- Saccharose	300
- Huile	100

1) Composition du mélange de Hubbel (R.E.), Mendel (L.B.)
et Wakeman (A), J. Nutr. 1937, 14, 273

(en grammes pour 1 000 g de mélange salin)

- Carbonate de calcium	543
- Phosphate monopotassique	212
- Chlorure de sodium	69
- Chlorure de potassium	112
- Carbonate de magnésium	25
- Citrate ferreux ammoniacal	20,5
- Sulfate de magnésium	16
- Fluorure de sodium	1
- Sulfate de cuivre cristallisé	0,9
- Sulfate de manganèse	0,35
- Alunde potassium (aluminium-potassium-sulfate)	0,17
- Iodure de potassium	0,08

2) Mélange vitaminique

Il est apporté en solution dans l'eau. La composition pour
1 000 g de régime de base est la suivante :

- B ₁ -chlorhydrate de thiamine, Sobioda	4 mg
- B ₂ -riboflavine.5.phosphate de sodium, Sobioda	5,5 mg
- B ₆ -pyridoxine chlorhydrate, Sobioda	4 mg
- A-vitamine A "hydrosoluble" à 100 000 UI/ML, Sobioda	2 000 UI
- Amide de l'acide nicotinique, Sobioda	50 mg
- Panthoténate de calcium, Sobioda	10 mg
- Biotine, Sobioda	0,2 mg

- Acide folique, Sobioda	1 mg
- B ₁₂ -hydroxycobalamine docélan, Roussel	30 µg
- Chlorure de choline, Prolabo	500 mg
- D ₂ -stéroyl "A" à 600 000 UI, Roussel	500 UI
- K ₁ Roche	1 mg
- E-hydrosoluble DL α tocophérol, Merck	15 mg
- Acide para-aminobenzoïque, Merck*	500 mg
- Méso-inositol, Prolabo*	200 mg

* Ces deux derniers composants sont ajoutés directement au mélange sec de base.

PREPARATION DU REGIME

1) Régime de base

Les différents constituants sont pesés séparément et versés dans un cristalliseur en commençant par ceux apportés en plus faibles quantités (l'agar et l'amidon) . Entre chaque addition, bien mélanger la poudre avec une spatule.

Le mélange sec ainsi préparé peut être stocké à l'abri de l'humidité.

2) Addition des autres constituants

Avant l'administration aux animaux, on reprend 900 g de poudre ainsi préparée à laquelle on ajoute 100 g de lipides et le mélange

vitaminique dissous dans 10 ml d'eau. L'eau est ensuite ajoutée à raison de 400 à 500 ml pour 1 000 g de régime.

Ce régime peut être gardé 4 jours à + 4° C. Au delà, les lipides qui ont une densité inférieure à celle de l'eau, vont remonter en surface et s'oxyder.

Avant de la distribuer aux animaux, il est indispensable de bien mélanger la bouillie.

II - PRECIPITATION SELECTIVE DES LIPOPROTEINES PLASMATIQUES

ET ETUDE DE LEUR COMPOSITION EN ACIDES GRAS

Réf. BURSTEIN M., SCHOLNICK H.R., MORFIN R. ; *Isolation of serum lipoproteins.*
J. Lipid Res. (1970) 11 : 583-595.

PRINCIPE

- L'utilisation d'héparine et de chlorure de manganèse permet de précipiter les lipoprotéines de faible densité (VLDL et LDL), tandis que les HDL restent dans le surnageant.
- La composition en acides gras de ces deux groupes de lipoprotéines est étudiée grâce aux extraits lipidiques préparés selon la méthode de Folch.

REACTIFS

1 - Solutions de chlorure de manganèse :

- Mn Cl₂ 1 M
- Mn Cl₂ 0,05 M

2 - Héparinate de sodium (Prolabo)

TECHNIQUE

- Pour séparer les HDL, 1,5 ml de sérum sont mélangés à 90 μ l de solution de $Mn Cl_2$ 1 M et 60 μ l de solution d'héparinate de sodium (5 000 UI/ml).

Après 30 minutes à + 4° C, les VLDL et LDL forment un précipité qui est séparé par centrifugation à + 4° C et à 3000 g pendant 30 minutes.

- Le précipité obtenu est ensuite soumis à 2 lavages successifs utilisant 1 ml de solution de $Mn Cl_2$ 0,05 M contenant l'héparinate de sodium à 0,1 %. Le précipité est récupéré par centrifugation à + 4° C et à 3000 g pendant 30 minutes.

- Précipité et surnageant sont traités selon la méthode de Folch.

A partir des extraits lipidiques ainsi préparés, on isole par chromatographie couche mince les esters de cholestérol et les phospholipides totaux. Le fractionnement est réalisé par chromatographie monodimensionnelle sur plaque de gel de silice G avec comme solvant de migration le mélange suivant :

Ether de pétrole/Ether éthylique/Acide acétique (90/10/1 - v/v).

Après méthylation, la composition en acides gras des différentes fractions lipidiques est déterminée par chromatographie gaz-liquide.

III - DOSAGE DES PROTEINES

Réf. LOWRY O.H., ROSEBROUGH N.J., FARR A.L. and RANDALL R.S. ; *Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem. (1951) 193 : 265-275.*

PRINCIPE

Il repose sur la réduction des acides phosphotungstique et phosphomolybdique du réactif de Folin, en présence du complexe formé en milieu alcalin entre les ions Cu^{2+} et les groupements tyrosine et tryptophane des protéines. Il se développe une coloration bleue dont l'intensité est proportionnelle au taux de protéines. L'absorbance est mesurée à 750 ou 500 nm.

REACTIFS

1) Solution A

Solution de Na_2CO_3 à 2 % (p/v) dans la soude 0,1 M et contenant 0,02 % (p/v) de tartrate double de Na et de K.

2) Solution B

Solution de $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ à 0,5 % (p/v) dans de l'eau distillée.

3) Solution C

Solution de travail préparée par un mélange de 50 volumes de solution A et de 1 volume de solution B.

Elle se conserve une journée.

4) Réactif de Folin-Ciocalteus (Merck)

A diluer au 1/2 avec de l'eau bidistillée.

5) Etalons de sérumalbumine

(Sérumalbumine bovine Pentex, Laboratoire Miles)

Une gamme d'étalonnage de 5 à 200 μg de sérumalbumine/ml est réalisée par dilution dans de l'eau bidistillée d'une solution mère de sérumalbumine bovine titrant 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$.

MODE OPERATOIRE

Dans un tube à hémolyse très propre, introduire 0,2 ml de la solution à doser et 1 ml de la solution C.

Agiter et laisser 10 minutes au moins à température ambiante.

Ajouter ensuite 100 μl de réactif de Folin-Ciocalteus et mélanger immédiatement.

La coloration se développe en 30 minutes à l'obscurité.

L'absorbance de la solution est mesurée :

- à 750 nm pour les étalons titrant 5 à 25 $\mu\text{g/ml}$,
- à 500 nm pour les étalons titrant 50 à 200 $\mu\text{g/ml}$.

RESULTATS

Une droite d'étalonnage $C = k A$ (A = absorbance et C = concentration) permet de relier directement l'absorbance d'une solution à son taux de protéines exprimé en $\mu\text{g/ml}$.

IV - EXTRACTION DES LIPIDES

Réf. FOLCH J., LEES M., SLOANE-STANLEY G.H. ; *A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues.*
J. Biol. Chem. (1957) 226 : 497-509.

PRINCIPE

Les organes sont broyés mécaniquement dans le mélange chloroforme-méthanol. Le méthanol dénature les protéines et le chloroforme favorise la mise en solution des lipides totaux. Après addition d'eau et mélange, on obtient un déphasage avec passage dans la phase hydro-alcoolique supérieure des substances hydrosolubles, la phase inférieure chloroformique renferme les lipides totaux à l'état pur.

MATERIEL ET METHODE

1) Réactifs

- Solvant d'extraction chloroforme/méthanol (2/1 - V/V).
- Solution de NaCl à 7,5 g/l.
- Liquide de lavage : Chloroforme 8 volumes
Méthanol 4 volumes
Eau 3 volumes

- . Agiter en ampoule à décanter, laisser reposer et récupérer la phase supérieure.
- . Mesurer la phase supérieure et additionner NaCl à raison de 2,9 g pour 1 000 ml.
- . Agiter jusqu'à dissolution complète.

2) Extraction

- 1 g de tissu est homogénéisé dans 20 ml de solvant d'extraction à l'aide d'un homogénéisateur Ultra-Turrax. Laisser reposer 24 heures et filtrer sur filtre sans cendres en rinçant bien le haut du filtre avec le mélange d'extraction.
- Ajouter 4 ml de solution de NaCl à 7,5 g/l et agiter vigoureusement pendant une minute.
- Abandonner une nuit à température ambiante pour permettre le déphasage. Siphonner la phase hydroalcoolique et laver trois fois la phase chloroformique avec le liquide de lavage.
- Prélever une fraction aliquote de l'extrait et évaporer à sec en vue de l'étude pondérale des lipides totaux.

V - CHROMATOGRAPHIE MONODIMENSIONNELLE DES LIPIDES POLAIRES

SUR COUCHE MINCE DE GEL DE SILICE EN GRADIENT

DISCONTINU D'HUMIDITE

Réf. NOUVELOT A., SEZILLE G., DEWAILLY P. et FRUCHART J.C. ;
Revue Française des Corps Gras (1977) 7 : 365-366.

PRINCIPE

Le fractionnement chromatographique des lipides polaires sur couche mince reste délicat, compte tenu du nombre et de la diversité de ces composés. Les techniques bidirectionnelle et monodirectionnelle avec migrations successives de deux types de solvants sont douées d'un bon pouvoir séparateur ; la reproductibilité est cependant difficile à contrôler car elle dépend de la température ambiante, du degré d'activation du gel de silice et surtout de l'humidité relative.

Cette méthode monodirectionnelle avec contrôle simple et précis de l'humidité relative permet d'obtenir une très bonne séparation des principaux phospholipides tissulaires et une excellente reproductibilité.

MATERIEL ET METHODES

Nous utilisons une chambre Vario-KS (Camag : Muttentz/Suisse) pour plaques de verre 20 x 20 cm et du gel de silice H (Merck).

Les plaques sont recouvertes de gel sur une épaisseur de 0,3 mm, puis séchées pendant deux heures à température ambiante et conservées, sous vide partiel, dans un dessiccateur. Avant l'emploi, 5 couloirs de migration de 28 mm de largeur sont délimités par grattage du gel sur des largeurs de 5 mm entre les couloirs et de 10 mm en bordure de plaque.

Les extraits lipidiques tissulaires obtenus par la méthode de Folch et coll. sont déposés, en solution dans le mélange chloroforme-méthanol (2:1 - v/v) et à raison de 0,5 à 0,7 mg au centre des bandes sur une distance de 15 mm de l'extrémité de la plaque ; un courant d'azote assure l'évaporation du solvant de dépôt.

La plaque (gel en dessous) est ensuite placée horizontalement au-dessus du plateau de conditionnement divisé en 5 compartiments, perpendiculaires au sens de migration et contenant 20 ml de différents mélanges d'acide sulfurique (Merck Art. 731, 95 - 97 %) et d'eau : 24/56, 29/47, 32/42, 34/38, 38/30 (v/v) créant sur le gel un gradient discontinu d'humidité relative de 47 %, 32 %, 24 %, 18 %, 9 % à partir du point de dépôt.

Après 90 minutes de conditionnement, ce plateau est remplacé par un autre, identique mais contenant, dans les 2 compartiments situés du côté des points de dépôt, 20 ml de solvant de saturation : tétrahydrofurane (Uvasol, Merck) - méthanol (2 : 1, v/v) ; l'imprégnation, par les vapeurs de solvant, des portions de gel correspondantes s'obtient en 30 minutes.

Une plaque métallique est alors glissée entre le gel et le plateau ; la chromatographie est effectuée, sur une distance de 18 cm, par 20 ml de solvant de développement (chloroforme-méthanol-ammoniaque 4N, 70:50:7, v/v/v) déposés dans l'augette prévue à cet effet.

VI - DOSAGE DES PHOSPHOLIPIDES

RÉF. LOWRY R.R., and TINSLEY I.J. ; A simple sensitive method for lipid phosphorus. *Lipids* (1974) 9 : 491-492.

PRINCIPE

Dosage de phosphore après minéralisation des phospholipides.

REACTIFS

- Acide perchlorique à 70 %.

- Acide nitrique concentré.

- Acétate de butyle.

- Solution chromogène :

. Molybdate d'ammonium 29,2 g

. Acide chlorhydrique concentré 100 ml

Après dissolution complète, ajouter 400 ml d'eau pour préparations injectables.

La solution est stockée à + 4° C.

Il faut la préparer la veille de son utilisation.

Elle est valable 3 mois.

- Etalon :

. Phosphate monopotassique 17,5 mg

. Eau pour préparation injectable 10 ml

(Etalon contenant 4 µg de phosphore minéral dans 10 µl)

TECHNIQUE

Après fractionnement par chromatographie sur couche mince, les portions de gel correspondant aux phospholipides sont grattées et récupérées dans des tubes à mineraliser. Après addition d'1 ml d'acide perchlorique à 70 % et de 2 gouttes d'acide nitrique concentré, les tubes munis de réfrigérants sont portés au thermobloc à 200° C pendant 45 minutes. Il faut ensuite laisser refroidir les tubes pendant 15 minutes avant d'ajouter dans chacun d'eux 3,6 ml d'eau pour préparation injectable. Les tubes sont alors centrifugés 10 minutes à 3000 tours/min. pour éliminer le gel de silice.

On reprend 3 ml du surnageant auquel on ajoute 7 ml d'eau pour préparation injectable et 1 ml de solution chromogène. On agite 20 secondes au Vortex avant d'ajouter 5 ml d'acétate de butyle. On agite de nouveau 30 secondes.

Une centrifugation à froid et à 3000 tours/min. pendant 5 minutes permet de récupérer la phase supérieure dont la densité optique est lue à 310 nm.

N.B. Il faut prendre la précaution d'utiliser de la vaisselle lavée au mélange sulfochromique et soigneusement rincée.

Le tube "blanc" et le tube "étalon" doivent contenir la même quantité de gel de silice que les fractions de phospholipides.

VII - PREPARATION DES MITOCHONDRIES, DE LA MYELINE,
DES SYNAPTOSOMES ET DES MICROSOMES

- Réf. - EICHBERG J., WHITTAKER O., DAWSON R. ; *Distribution of lipids in subcellular particles of guinea pig brain.* *Biochem. J.* (1964) 92 : 91-100.
- NORTON W., PODUSLO S. ; *Myelination in rat brain : method of myelin isolation.* *J. Neurochem.* (1973) 21 : 749-757.
- HAJOJ A. ; *An improved method for the preparation of synaptosomal fraction in high purity.* *Brain Res.* (1975) 95 : 485-489.
- POLLET S., BOURRE J.M., CHAIX G., DAUDU O., BAUMANN N.A. ; *Biosynthèse des acides gras dans les microsomes de cerveau de souris.* *Biochimie* (1973) 55 : 333-341.

REACTIFS

- Tampon phosphate monosodique disodique 0,01 M, pH 7,
Saccharose 0,32 M.
- Tampon phosphate monosodique 0,1 M, pH 7,4,
Saccharose 0,32 M, NaCl 0,9 %.
- Saccharose 1,2 M.
- Saccharose 0,8 M.

TECHNIQUE

a) Préparation des mitochondries

- Les cerveaux sont homogénéisés au froid dans du tampon saccharose 0,32 M phosphate monosodique disodique 0,01 M, pH 7, à raison de 10 ml par gramme de tissu frais.
- L'homogénéisation est réalisée au moyen d'un broyeur Potter-Elevejhem d'une capacité de 50 ml. On effectue 12 "allers et retours" à l'aide d'un piston teflon tournant à environ 500 tours/min. dans la préparation.
- L'homogénat est centrifugé 5 minutes à 2000 g dans une centrifugeuse réfrigérée (Beckman J21 B).
Dans le culot sont éliminés: débris cellulaires, membranes plasmiques, noyaux et gros fragments myéliniques.
Le surnageant est recentrifugé dans les mêmes conditions pour parfaire cette élimination.
- Une centrifugation à 12 500 g sédimente les mitochondries en 30 minutes ; le surnageant contient la fraction microsomale.
Ces mitochondries sont reprises dans 1 ml de tampon d'homogénéisation par gramme de tissu frais et sont purifiées par centrifugation en gradient de densité.
- L'homogénat mitochondrial est déposé sur un gradient discontinu formé de 13 ml de saccharose 1,2 M et de 13 ml de saccharose 0,8 M.
L'ensemble est centrifugé 2 heures à 53 000 g dans un rotor à godets mobiles (centrifugeuse Beckman L8-55).

L'interface 0,32 M - 0,8 M arrête la fraction myélinique et l'interface 0,8 M - 1,2 M la fraction synaptosomale. Ces deux fractions sont éliminées à la pipette Pasteur et le culot restant est constitué par les mitochondries purifiées.

Le rendement de la préparation est d'environ 1,5 mg de protéines de mitochondries purifiées par gramme de cerveau frais.

b) Préparation de la myéline

- Les cerveaux frais sont lavés dans une solution de sucrose 0,32 M puis homogénéisés dans cette même solution (18 ml par gramme de cerveau). 18 ml de la suspension sont déposés sur 15 ml de saccharose 0,85 M. Les tubes sont centrifugés 30 minutes à 75 000 g. L'interface est prélevée et diluée dans l'eau bidistillée froide : la suspension est alors centrifugée dans les mêmes conditions que précédemment, pendant 15 minutes.
- Le culot est homogénéisé deux fois à l'eau bidistillée et centrifugé 15 minutes à 18 000 g. Le culot obtenu est homogénéisé dans 18 ml de saccharose 0,32 M, et la suspension est déposée sur 15 ml de saccharose 0,85 M ; les tubes sont centrifugés 30 minutes à 75 000 g.
- L'interface est prélevée, diluée dans l'eau bidistillée : la suspension est alors centrifugée dans les mêmes conditions que précédemment. Le culot de myéline ainsi obtenu est lavé trois fois à l'eau bidistillée et centrifugé 15 minutes à 48 000 g.

c) Préparation des synaptosomes

Les cerveaux sont homogénéisés dans du saccharose 0,32 M et centrifugé à 1 800 g pendant 10 minutes. Le surnageant est centrifugé à 7 000 g pendant 20 minutes. Le culot est alors remis en suspension dans du saccharose 0,32 M et déposé sur du saccharose 0,8 M. Après une centrifugation de 20 minutes à 8 500 g, la myéline qui flotte au sommet du gradient est éliminée et les synaptosomes sont récupérés dans la fraction saccharose 0,8 M sous le culot. Enfin, les synaptosomes sont concentrés par centrifugation à 17 500 g pendant 30 minutes.

d) Préparation des microsomes

- Les cerveaux sont homogénéisés à + 4° C dans 1 ml de tampon saccharose 0,32 M phosphate monosodique disodique 0,1 M, NaCl 0,9 % par gramme de tissu frais.
- Une première centrifugation de 30 minutes à 17 500 g dans la centrifugeuse Beckman J21 B sépare le surnageant microsomal et soluble du culot dans lequel sont éliminés les débris cellulaires, membranes plasmiques, noyaux, mitochondries, myéline et synaptosomes.
- Le surnageant est centrifugé 1 heure à 105 000 g dans un rotor à angle fixe 50-Ti au moyen de l'ultracentrifugeuse Beckman L8-55. Le surnageant obtenu constitue la "fraction soluble" cependant que le culot est formé des microsomes impurs encore contaminés par cette fraction soluble.

Ils sont resuspendus dans le même tampon et purifiés par une nouvelle centrifugation de 1 heure dans les mêmes conditions que précédemment.

Le rendement de la préparation est d'environ 3 mg de protéines de microsomes purifiés par gramme de cerveau frais.

VIII - PREPARATION DES COLONNES DE CHROMATOGRAPHIE

EN PHASE GAZEUSE

Réf. GROB K. and GROB G. ; A new, generally applicable procedure for the preparation of glass capillary columns. J. Chromatogr. (1976) 125 : 471-485.

A - METHODES DE TRAITEMENT PREALABLE

La surface interne du tube capillaire de verre est parfaitement lisse. Elle serait mal mouillée par certaines phases stationnaires qui ne donneraient pas de film stable. Il faut donc dépolir en effectuant un précipité adhérent (carbonate de baryum). On réalise par la même occasion un début de désactivation.

DEPOT DE CARBONATE DE BARYUM

PRINCIPE

Il s'agit de former une couche microcristalline stable de carbonate de baryum sur la surface interne du capillaire de verre.

Elle se fait en deux étapes :

- a) Attaque du verre par l'acide chlorhydrique en solution aqueuse : son rôle est de former une couche de silice presque pure qui est le support idéal pour la cristallisation du carbonate de baryum.

- b) Dépôt du carbonate de baryum formé in situ (réaction de CO_2 sur solution saturée de $\text{Ba}(\text{OH})_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$).

MODE OPERATOIRE

a) Attaque chlorhydrique

- Remplir le tube capillaire avec une solution diluée d'acide chlorhydrique (20 % pour Pyrex ; 6 % pour verre alcalin B44) en laissant vide approximativement 8 % de la longueur totale.
- Sceller à la flamme les deux extrêmités.
- Placer dans un four à 150°C et laisser une nuit.
- Laisser refroidir. Ouvrir les extrêmités, éliminer l'acide chlorhydrique en faisant passer dans tout le tube un volume d'eau distillée représentant environ 20 % du volume total.
- Chauffer le tube vide pendant 6 heures à 300°C sous léger courant d'azote.

b) Dépôt de la couche de carbonate de baryum

Préparation de la solution saturée de baryte : dans une fiole de 1 litre, peser 50 g de $\text{Ba}(\text{OH})_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ et ajouter 500 ml d'eau distillée. Agiter vigoureusement à plusieurs reprises. Laisser reposer une nuit.

Dans une fiole de 50 ml, peser 5 mg de détergent non ionique et remplir avec la solution saturée précédente après l'avoir filtrée soigneusement.

Effectuer dans l'ordre les opérations suivantes :

Imprégnation polaire (colonne de 20 m)

- 1) Aspiration HCl (0,5 % sur 5 spires).
- 2) Aspiration Ba(OH)₂ (solution saturée sur 10 spires).
- 3) Zone tampon d'air*
- 4) Connection expansion.
- 5) Poussée à l'aide de CO₂ (1 tour/30 secondes).
- 6) Purge par azote (5 minutes).
- 7) Chauffage à 80° C sous azote (5 à 10 minutes), assure la cristallisation.
- 8) Séchage avec acétone à 250° C (30 minutes à 2 heures)

* Importance de la zone tampon d'air :

Elle évite le contact direct de la solution de Ba(OH)₂ avec le CO₂ afin de ne pas précipiter des particules de BaCO₃ dans la colonne.

La longueur du tampon d'air est fonction du diamètre de la colonne :

<u>Longueur_tampon_d'air</u> (cm)	<u>Diamètre_de_la_colonne</u> (mm)
5	0,25
8	0,30
12	0,40

A la suite de ces traitements, les colonnes sont prêtes à subir les opérations de désactivation.

B - METHODES DE DESACTIVATION

Après traitement par le carbonate de baryum, la colonne subit une désactivation en vue d'une imprégnation avec une phase polaire.

La désactivation a pour but de réduire le nombre de sites actifs du verre responsables de phénomènes d'adsorption et si possible de les faire disparaître. C'est une étape très importante dans la préparation des colonnes capillaires.

- Remplir 10 spires d'une solution de Carbowax 20 M à 5 % dans CH_2Cl_2 .
- Mettre sous légère pression d'azote (avancement 1 tour/20 secondes).
- Sécher en tirant au vide pendant 5 minutes.
- Monter dans le chromatographe et brancher le gaz vecteur.
- Porter à 280°C pendant 15 minutes.

C - IMPREGNATION PAR LA PHASE STATIONNAIRE

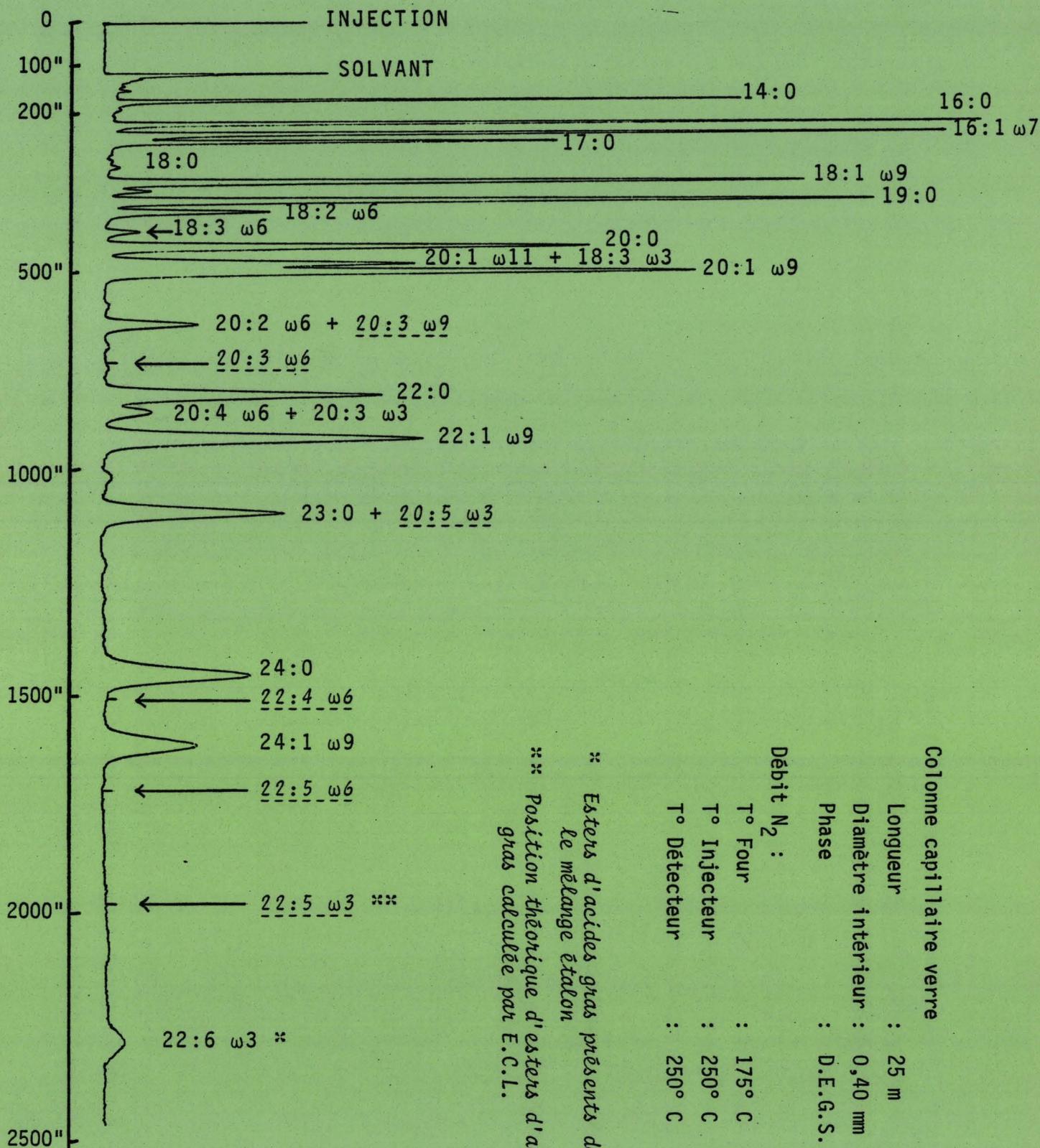
Le but de cette opération est la formation d'un film de phase stationnaire qui sera caractérisé par :

- . sa faible épaisseur (quelques 1/10 de μ),
 - . sa répartition homogène tout le long de la colonne,
 - . son adhérence au verre (on parlera même de greffage).
-
- Disposer la colonne sur un support horizontal, l'une des extrémités étant pendante alors que l'autre est reliée au système à vide.
 - Aspirer 2 spires de chloroforme pur pour éviter la concentration de la solution de phase stationnaire qui va suivre et la formation d'un bouchon.
 - Remplir complètement la colonne de la solution de phase stationnaire (faible concentration 0,2 à 0,25 % dans CH_2Cl_2 pour la plupart des phases ou dans le pentane).
 - En fin d'opération, couper momentanément le vide. Retirer le récipient contenant la solution de phase stationnaire en ne modifiant pas la position de l'extrémité de la colonne.
 - Plonger cette extrémité dans la colle (colle vinylique à bois). Rétablir une légère dépression de façon à introduire un index de colle d'une longueur d'environ 1 cm. Couper le vide à nouveau et libérer l'extrémité collée. Vérifier à la loupe ($\times 10$) l'absence de bulle d'air. Laisser sécher 3 heures.
 - Placer la colonne dans un bain d'eau thermostatée à 27°C . Prendre soin de maintenir l'extrémité collée hors de l'eau. Relier l'autre extrémité à la trompe à vide. L'évaporation complète du solvant demande entre 24 et 72 heures selon la longueur de la colonne.

C H R O M A T O G R A M M E S

IDENTIFICATION DES ACIDES GRAS

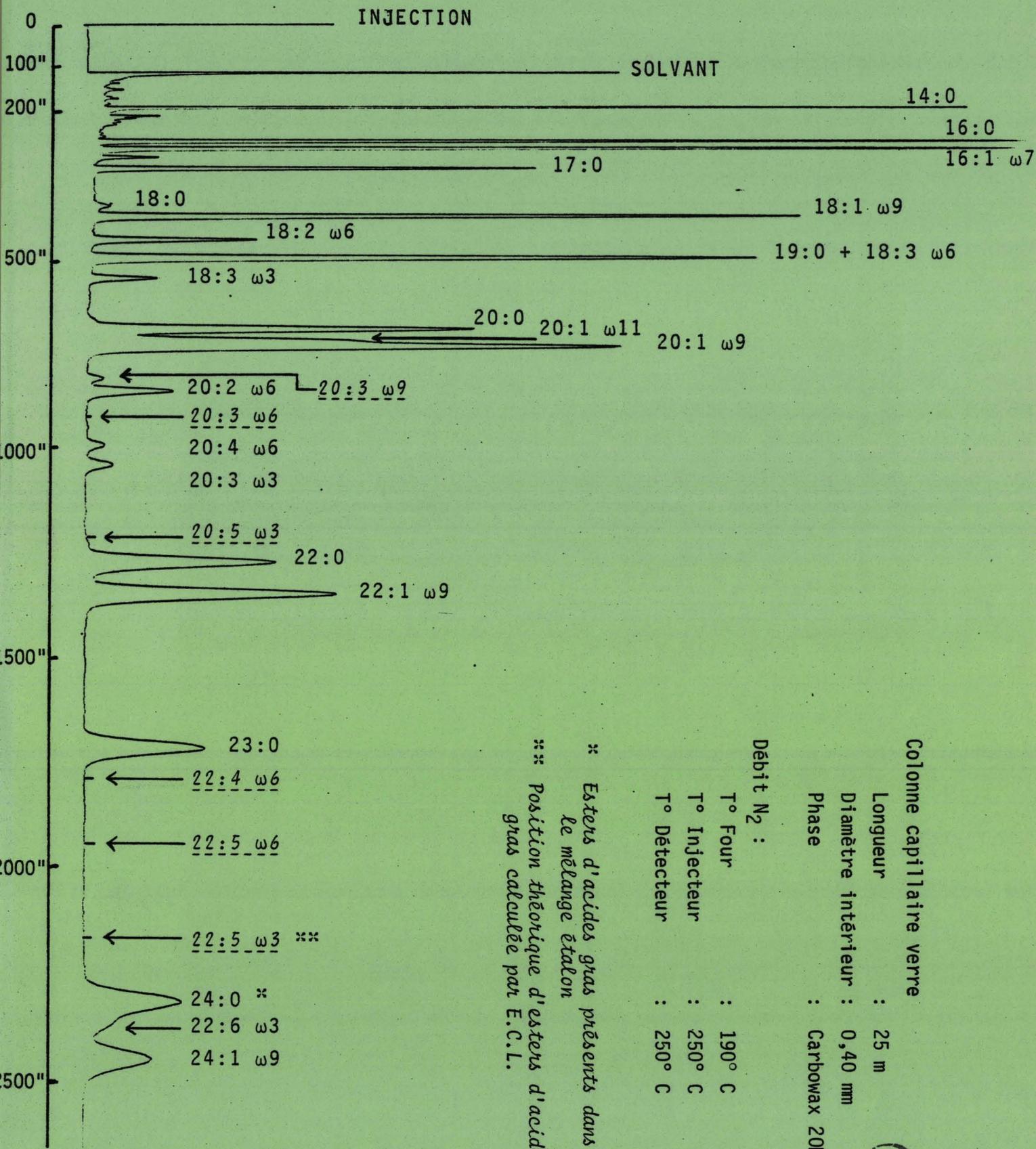
PAR LA VALEUR DES E.C.L.



* Esters d'acides gras présents dans
 le mélange étalon
 ** Position théorique d'esters d'acides
 gras calculée par E.C.L.

Colonne capillaire verre
 Longueur : 25 m
 Diamètre intérieur : 0,40 mm
 Phase : D.E.G.S.
 Débit N₂ :
 T° Four : 175° C
 T° Injecteur : 250° C
 T° Détecteur : 250° C





* Esters d'acides gras présents dans
 le mélange étalon
 ** Position théorique d'esters d'acides
 gras calculée par E.C.L.

Débit N₂ :
 T° Four : 190° C
 T° Injecteur : 250° C
 T° Détecteur : 250° C
 Colonne capillaire verre :
 Longueur : 25 m
 Diamètre intérieur : 0,40 mm
 Phase : Carbowax 20M



VALEURS DES LONGUEURS EQUIVALENTES DE CHAINES (E.C.L.) POUR LES PRINCIPAUX ACIDES GRAS POLYINSATURES. (Les E.C.L. ont été déterminés graphiquement à partir d'esters méthyliques étalons).

ACIDES GRAS	E.C.L. (DEGS)	E.C.L. (20 M)
16:1 ω 7	16,58	16,26
18:1 ω 9	18,45	18,20
18:2 ω 6	19,23	18,70
18:3 ω 6	19,70	19,00
18:3 ω 3	20,25	19,33
20:1 ω 9	20,43	20,23
20:3 ω 9	21,20	20,60
20:2 ω 6	21,23	20,70
20:3 ω 6	21,67	20,93
20:4 ω 6	22,13	21,17
20:3 ω 3	22,13	21,38
20:5 ω 3	23,00	21,89
22:1 ω 9	22,38	22,25
22:4 ω 6	24,10	23,17
22:5 ω 6	24,57	23,43
22:5 ω 3	25,07	23,83
22:6 ω 3	25,53	24,10
24:1 ω 9	24,32	24,23



RÉSUMÉ

Bien que la notion d'acides gras essentiels soit connue depuis longtemps, leurs rôles et leurs besoins respectifs font l'objet de nombreuses controverses. Les estimations quantitatives proposées par les nutritionnistes ne font état que de l'acide linoléique [Δ 9.12 (18 : 2)] dans le cas d'une alimentation entérale, alors que l'acide linoléique [Δ 9.12.15 (18 : 3)], bien qu'essentiel, n'est pas considéré comme indispensable. Il semble pourtant que cet acide gras joue un rôle fondamental en période péri-natale au cours du développement cérébral.

A partir de régimes différents quant à l'apport en acide linoléique nous avons pu, chez le raton en voie de développement, montrer que le cerveau utilise préférentiellement les acides gras de la série n-3 et qu'un apport en 18 : 3 n-3 compris entre 1 et 2 % des acides gras totaux semble souhaitable dans le régime maternel des femelles en gestation et en lactation. Ce seuil doit également être atteint afin d'induire un enrichissement des lipoprotéines sériques en acides gras polyinsaturés à longue chaîne de la série n-3 qui représentent une source potentielle importante pour assurer la couverture des besoins lipidiques du cerveau en voie de développement.

Dans le cas d'une alimentation parentérale exclusive à long terme nous avons pu montrer que malgré un apport théorique suffisant en acides gras essentiels, le taux d'acides gras polyinsaturés tissulaires régresse. Les études analytiques réalisées après alimentation entérale ou parentérale nous ont permis de mettre en évidence des sensibilités particulières des systèmes d'élongation-désaturation en fonction du mode d'alimentation, du tissu considéré, mais également du stade de développement.

MOTS-CLEFS : Acides gras essentiels - Nutrition.