

# EFFETS DE L'ACIDE LINOLENIQUE ALIMENTAIRE SUR LES CARACTERISTIQUES DE LA MEMBRANE PLASMIQUE DE L'HEPATOCYTE DE RAT.\*

D. RAHMANI-JOURDHEUIL et B. ENTRESSANGLES

Laboratoire de Lipochimie Alimentaire, Université de Bordeaux I, avenue des Facultés, 33405 TALENCE Cédex ( France ).

## INTRODUCTION.

Le travail qui fait l'objet de cette communication a permis d'étudier l'influence qu'un apport alimentaire, plus ou moins riche en acide linoléique et plus ou moins prolongé, était susceptible d'avoir sur les caractéristiques chimiques, physiques et fonctionnelles de la membrane plasmique de l'hépatocyte de rat. La réversibilité des modifications éventuellement observées a été recherchée.

## METHODES.

Trois lots de rats mâles Wistar ont été préalablement équilibrés sur régime complet pour rats, contenant 3,5% de lipides dont les acides gras renfermaient 3% d'acide linoléique ("régime témoin"). Les rats ont ensuite été maintenus (1 à 17 semaines) sur régime à 10 ou 20%, soit d'huile de lin utilisée comme "modèle hyperlinoléique" (18:3 = 55 % des acides gras de l'huile), soit de nouvelle huile de colza (18:3 = 8,5%), soit enfin d'une huile non linoléique (huile d'olive). Dans tous les cas, l'huile était ajoutée à un régime de base apportant tous les constituants nécessaires au développement des rats, mais totalement dépourvu de lipides. Après 17 semaines sur régime huile de lin, certains rats ont été placés (1 à 17 semaines) sur le régime témoin. A partir du foie, des coupes ont été préparées en vue d'examen histologiques en micros-

\* Ce travail a fait l'objet d'une subvention de la Société OLEAGRI RECHERCHES ET DEVELOPPEMENTS (Paris).

copie optique. Une autre partie aliquote du foie a été utilisée pour purifier la membrane plasmique des hépatocytes. Les activités de certaines enzymes associées à cette membrane ont été mesurées. Les lipides extraits de la membrane ont été analysés. Enfin des mesures de microviscosité membranaire ont été réalisées par la technique de dépolarisation de fluorescence.

## RESULTATS ET DISCUSSION.

### 1/ Examens histologiques.

Les microphotographies obtenues en microscopie optique ne permettent pas de mettre en évidence de différence dans l'aspect des parenchymes hépatiques des rats témoins et des rats ayant reçu le régime à 10% d'huile de colza. En particulier, l'élargissement des sinusoides sanguins qui est très apparent dans le parenchyme hépatique des rats ayant ingéré pendant 15 semaines le régime à 10% d'huile de lin n'est pas observé chez les rats nourris 15 semaines avec un régime renfermant 10 ou même 20% d'huile de colza.

### 2/ Composition des phospholipides de la membrane plasmique des hépatocytes.

Les proportions relatives des divers phospholipides sont les suivantes pour la membrane des rats témoins:

phosphatidyléthanolamine (PE)	: 23,8 ± 1,0 %
phosphatidylcholine (PC)	: 42,0 ± 2,5 %
phosphatidyl sérine (PS)	: 9,3 ± 1,0 %
phosphatidylinositol (PI)	: 5,9 ± 0,5 %
sphingomyéline (SM)	: 16,2 ± 0,6 %

Au cours des régimes lin et colza, on note une augmentation régulière du taux de PI, qui de 5,9 % (témoin) passe à 7,5% et 8,3% après 17 semaines d'un régime à 10% et à 20% d'huile de lin. Pour les régimes (10% et 20%) colza, les valeurs correspondantes sont 7,0% et 7,5%. La sphingomyéline, par contre, diminue au cours des régimes lin et colza: 12% et 11% après 17 semaines de régimes renfermant respectivement 10% d'huile de lin et d'huile de colza, contre 16% pour les témoins. Les proportions des autres phospholipides ne sont pas affectées par les huiles étudiées.

### 3/ Compositions en acides gras des phospholipides membranaires.

L'analyse a été limitée au deux principaux phospholipides (PC et PE) qui à eux deux représentent près des 2/3 des phospholipides totaux.

3.1/ Acides gras saturés: Comparativement aux rats témoins, chez les animaux alimentés avec les régimes lin et colza, le taux d'acide 16:0 diminue tandis que celui d'acide 18:0 augmente; ceci aussi bien pour PC que pour PE. Il en résulte que la somme des acides gras saturés est inchangée par rapport à PC et PE témoins. Les changements mis en évidence dans les proportions relatives des acides 16:0 et 18:0, traduisent l'action inhibitrice que les acides polyinsaturés alimentaires sont connus exercer sur l'activité de l'acide gras synthétase (d'où diminution de 16:0) et sur l'activité de la  $\Delta 9$  désaturase (d'où diminution de 18:0).

3.2/ Acides gras insaturés n-6: Les acides linoléique (18:2) et arachidonique (20:4) constituent 13 % et 21 % des acides totaux de PC et 9 % et 19 % de ceux de PE pour la membrane des rats témoins. Les animaux nourris avec le régime à 10% d'huile de lin présentent une diminution importante de 20:4 et une augmentation de 18:2, dans PE et PC. Le rapport molaire 20:4/18:2 diminue de ce fait de moitié après 4 semaines de régime à 10% en huile de lin et d'un facteur 3 dans le cas du régime lin à 20%. Ces variations sont le reflet de la compétition qui se manifeste au niveau de la  $\Delta 6$  désaturase entre les acides linoléique et linoléique. Dans la mesure où il a été démontré que cette compétition est en faveur de ce dernier, on conçoit, qu'en raison de la richesse toute spéciale de l'huile de lin en acide linoléique par rapport à l'acide linoléique (18:3/18:2 = 3,0), la biosynthèse de l'acide arachidonique soit particulièrement perturbée. Par contre, nous avons démontré que, dans PC et PE, les taux d'acides linoléique et linoléique ne sont pas modifiés à la suite d'ingestion pendant 17 semaines consécutives d'un régime à 10% et même à 20% d'huile de colza. En d'autres termes, pour un rapport molaire 18:3/18:2 égal à 0,3 (huile de colza) la biosynthèse des acides polyinsaturés n-6 n'est pas altérée. Enfin, nous avons pu montrer que les modifications entraînées par l'huile de lin régressent lorsque le régime lin est remplacé par le régime témoin. Les proportions de

18:2 et de 20:4 reprennent leurs valeurs initiales.

3.3/ Acides gras insaturés n-3: En dépit de la richesse de l'huile de lin en acide linoléique, celui-ci n'est que très faiblement incorporé dans PE et PC (respectivement au plus 3% et 4% des acides gras totaux du phospholipide considéré). Dans le cas des régimes apportant de l'huile de colza, PC et PE renferment moins de 2% de 18:3 après 17 semaines d'une alimentation à 20% d'huile. Par contre, dans les deux phospholipides, on note une très nette augmentation de l'acide 20:5 (10 fois pour PC comme pour PE) aux dépens de l'acide 22:6, lorsque les rats reçoivent le régime à 10% d'huile de lin pendant 17 semaines. Pour le régime correspondant d'huile de colza, l'accroissement du taux de 20:5 est seulement de trois fois en moyenne pour PC et PE, également aux dépens de l'acide 22:6.

#### 4/ Influence de l'acide linoléique sur l'activité des enzymes associées à la membrane.

4.1/ 5' Mononucléotidase: L'activité spécifique de cette enzyme augmente de près de deux fois après 10 semaines de régimes à 10% d'huile de lin ou d'huile de colza. Toutefois l'essentiel de cette augmentation est lié non pas à l'apport alimentaire en acide linoléique mais à la surcharge lipidique des régimes. Nous avons en effet observé que l'huile d'olive, pour une même quantité dans le régime, provoque aussi une élévation d'activité de l'enzyme, mais qui représente seulement 75% de celle entraînée par les régimes correspondants lin ou colza.

4.2/ ATPase Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup> dépendante: L'ingestion par des rats d'un régime lin, colza ou olive est suivie d'une diminution de deux fois de l'activité de l'enzyme (pour 10% d'huile dans l'aliment). La perturbation est donc associée à la nature hyperlipidique des régimes et non à la présence d'acide linoléique.

4.3/ ATPase Mg<sup>2+</sup> dépendante: Des trois enzymes examinées, celle-ci est la seule qui soit particulièrement sensible à l'acide linoléique alimentaire, du moins lorsqu'il est ingéré en quantités importantes. En effet, pour 10% d'huile de lin dans le régime,

l'activité enzymatique diminue de trois fois après 17 semaines d'alimentation et de presque deux fois après seulement deux semaines. Toutefois, dès que l'huile de lin est supprimée du régime, on assiste immédiatement à un retour à l'activité normale. Enfin, en ce qui concerne l'huile de colza (ainsi d'ailleurs que l'huile d'olive) il n'y a pas d'effet sur l'activité de l'enzyme, même pour 20% d'huile de colza dans le régime.

#### 5/ Microviscosité membranaire.

Les mesures de dépolarisation de fluorescence que nous avons pratiquées sur les préparations de membrane purifiée n'ont pas permis de mettre en évidence de perturbations dans la microviscosité membranaire (pour une température donnée).

---