A. Recherches anatomopathologiques chez le rat ingérant différentes doses d'huile d'arachide ou d'huile de colza à faible teneur en acide érucique (Huile de colza Primor).

6b. Etude structurale et ultrastructurale du myocarde.

par A. BODAK, J. M. DUTRIEUX, M. MORAVEC, H. GUILLEMOT, P. Y. HATT

Unité de Recherches de Pathologie Cardiovasculaire
Hôpital Léon Bernard, 94450 Limeil Brevannes, France.

Summary. A. *Anatomo-pathological research on rats ingesting different doses of peanut oil or of low-erucic acid rapeseed oil (Primor rapeseed oil).* 6b. *Structure and fine structure of the myocardium.*

The results of an electron microscopic and ultrastructural morphometric study (a pluricentric study of the INRA) of the myocardial toxicity of Primor rapeseed oil as compared to peanut oil may be summarized as follows :

— There was little difference between the Primor rapeseed oil and the peanut oil lots as to the frequency of lesions detected by light microscopy at 6 months and 1 year. However, the number of animals used did not permit a valid statistical comparison.

— Ultrastructural observations showed that, besides a mixture of vague signs of disturbance and cellular hyperactivity, there were more specific changes in the mitochondria, some of which enlarged so much that they resembled the megamitochondria already described in overload of high-erucic acid rapeseed oil.

— In spite of these aspects, the volume occupied by the mitochondria in the cell did not statistically vary between lots ; the only planimetric difference seen between the Primor and peanut lots was a smaller number of mitochondria per cell unit in the first lot as compared to the latter. These facts tended to confirm that there was no significant difference in myocardial toxicity between the Primor and peanut oil rats.

L'apport du microscope électronique à l'étude et à l'interprétation des lésions cellulaires myocardiques induites chez l'animal par diverses huiles alimentaires a été l'objet de plusieurs travaux.

Les premiers ont suivi de près la mise en évidence au microscope optique de la toxicité myocardique de l'huile de colza, riche en acide érucique (Bodak, 1972 ; Engfeldt et Brunius, 1975 ; Hatt et Bodak, 1975 ; Vodovar et Desnoyers, 1974). Ils ont montré qu'au premier stade de lipidose intracellulaire il n'y avait, en dehors de la présence de nombreuses gouttelettes de lipides dans les myocytes, aucune altération cellulaire décelable. Après un certain délai (15 à 20 jours) apparaissait une réaction cellulaire interstitielle faite de macrophages et de fibroblastes également riches en lipides.

Les lésions portant sur les myocytes n'apparaissent que plus tard (au 1^{er} mois). Elles comportaient des aspects non spécifiques, car rencontrés dans bon nombre d'autres types d'altérations cellulaires myocardiques (irrégularités et désunions des disques intercalaires, perte de l'ordonnance normale des myofibrilles, multiplication des ribosomes et présence de myofibrilles mal organisées d'aspect jeune), l'ensemble évoquant la présence simultanée de deux processus apparemment contradictoires : l'un de souffrance, l'autre d'hyperactivité cellulaire.

Une lésion paraissait par contre plus spécifique : l'augmentation de la taille des mitochondries, conduisant à l'aspect de mitochondries géantes (Bodak, 1972 ; Clouet *et al.*, 1976 ; Engfeldt et Brunius, 1975 ; Hatt et Bodak, 1975 ; Vodovar et Desnoyers, 1974) et à une augmentation significative du volume fractionnel des mitochondries estimé par la planimétrie (Bodak, 1972 ; Engfeldt et Brunius, 1975 ; Vodovar et Desnoyers, 1974).

Ces altérations mitochondriales furent rapprochées de l'action inhibitrice de l'acide érucique sur la respiration de mitochondries myocardiques isolées *in vitro* (Houtsmuller, Struijk et Van der Beek, 1970) et de l'action générale des acides gras à longue chaîne sur les transferts transmitochondriaux par le biais de l'inhibition d'une translocase (Morel *et al.*, 1974 ; Ozawa, Farmer et Harris, 1976).

Depuis l'introduction sur le marché d'huiles de colza pauvres en acide érucique, il est apparu que, même en l'absence de cet acide gras, les huiles de crucifères pouvaient entraîner des lésions myocardiques (Beare-Rogers, Nera et Heggveit, 1974 ; Cluzan et Levillain, 1974 ; Rocquelin et Cluzan, 1968 ; Rocquelin *et al.*, 1973 ; Vodovar et Desnoyers, 1974 ; Ziemiński et Rosnowski, 1975) et qu'on devait peut être remettre en cause l'inocuité d'huiles utilisées jusqu'alors comme des huiles « témoin ». Il en est ainsi de l'huile de tournesol (Vles *et al.*, 1970) et même de l'huile d'arachide (Engfeldt et Brunius, 1975), dont la toxicité myocardique chez le rat fut discutée. La microscopie électronique confirme cette possibilité en montrant qu'il existait, chez le rat alimenté avec de telles huiles, non seulement des lésions cellulaires, mais également un pourcentage élevé d'altérations mitochondriales du même type que celles qui sont créées par l'huile de colza riche en acide érucique. Des altérations mitochondriales furent également trouvées dans des myoblastes et des fibroblastes cultivés en présence d'acide palmitique (Charbonne *et al.*, sous presse).

Il nous a paru utile de profiter de l'étude patronnée par l'INRA pour :

- 1) Reprendre l'étude ultrastructurale des lésions myocardiques induites par deux huiles de toxicité myocardique théoriquement différente (colza Primor et arachide) ;
- 2) Tester l'apport possible de la morphométrie ultrastructurale dans ce domaine.

Matériel et méthodes.

Les animaux utilisés ont été fournis par l'élevage commun et comportaient, pour la microscopie électronique, 32 rats répartis en 8 lots de 4 animaux chacun. 6 lots de rats nourris pendant 6 mois à raison de 5 p. 100, 10 p. 100 et 15 p. 100 et 2 lots nourris pendant 1 an avec 5 p. 100 d'huiles colza Primor et arachide. La répartition des lots fut réalisée à l'aveugle et ne nous a été communiquée qu'une fois terminée l'étude morphologique.

1. *Sacrifice des animaux et fixation du cœur in vivo.*

Les rats sont anesthésiés avec du pentobarbital à la dose de 40 mg/kg par voie intrapéritonéale. La cavité abdominale est ouverte et l'aorte est dégagée. Un cathéter en Teflon y est alors introduit. Dès que l'arrêt du cœur est obtenu par une injection intraveineuse de procainamide, on débute la perfusion de l'aorte à contrecourant par un soluté dont les caractéristiques sont les suivantes : presse de perfusion : 100 mmHg ; température du perfusé : 4 °C ; cacodylate de sodium : 45,45 mM/l ; glutaraldéhyde : 22,73 g/l.

La perfusion est maintenue pendant 5 min. (le flux de retour se faisant par un orifice pratiqué dans la veine-cave inférieure), au terme desquelles la cage thoracique est ouverte et le cœur prélevé en vue de la pesée et de son étude histologique en microscopies photonique et électronique.

10 blocs de forme parallélépipédique de 5 mm de haut sont choisis au hasard dans le ventricule gauche. Chacun de ces fragments est lavé dans du cacodylate de sodium pendant deux heures, contrefixé par de l'acide osmique à 2 p. 100 tamponné en milieu cacodylate de sodium, déshydraté par passages successifs en milieu alcoolique (30, 60, 90 et 100 p. 100) et inclus dans l'Epon.

On dispose ainsi de 10 blocs par rat qui seront tous étudiés au microscope à contraste de phase après confection de coupes semifines de 1 à 2 μ d'épaisseur. On sélectionne au moins deux blocs par rat à partir desquels seront faites des coupes ultra-fines qui, colorées par l'acétate d'uranyle et le nitrate de plomb, seront étudiées au microscope électronique.

2. *Utilisation des données de la microscopie.*

1) Evaluation semi-quantitative au microscope photonique des altérations rencontrées dans chaque rat après étude des dix blocs.

2) Etude planimétrique pratiquée en myocarde sain sur des micrographies au grossissement final de $4\,250\times$ (40 photos par lot). Elle consiste à compter le nombre de coïncidences existant entre les structures intracellulaires apparaissant sur la micrographie et les intersections d'une grille à mailles orthogonales espacées de 1 cm. On montre que le volume partiel des différentes structures étudiées est proportionnel au nombre de points entrant en coïncidence (Weibel, Gonzague et Walter, 1966).

Nous avons également compté le nombre de mitochondries se trouvant à l'intérieur d'un carré de 6 cm de côté, ce qui permet de savoir si une augmentation de la masse mitochondriale est due au nombre ou à la taille des mitochondries, et inversement.

3) Etude analytique des lésions aux microscopes photonique et électronique.

Résultats.

1. *Microscope optique.*

A. Les résultats de l'appréciation semi-quantitative sont rapportés dans le tableau 1.

TABLEAU 1

Lésions myocardiques : appréciation semiquantitative au microscope optique

Rat	Régime 6 mois		Régime 1 an		Lésions (exprimées par 0, +, ++, +++)
	Arachide	Colza Primor	Arachide	Colza Primor	
116 177 118 119	5 p. 100				+
					+
					0
					+
124 125 126 129	10 p. 100				mal fixé
					mal fixé
					0
					0
132 133 134 135	15 p. 100				++
					mal fixé
					+
					+
120 121 122 123		5 p. 100			0
					++
					+
					++
126 127 130 131		10 p. 100			++
					++
					0
					0
136 137 138 139		15 p. 100			0
					0
					0
					++
140 141 142 134			5 p. 100		++
					+++
					++
					++
144 — 145 146				5 p. 100	+
					mal fixé
					+
					0

Cotations des lésions : 0 Nulle ou discutable ; + simple réaction cellulaire ou fibreuse interstitielle (ou périvasculaire) ; ++ Présentes dans 2 à 10 cellules ; +++ Présentes dans 1 cellule sur 4 à 1 cellule sur 2.

FIG. 1. — Arachide 5 p. 100 pendant 1 an. Nécrose myocytaire jeune ($\times 600$).

FIG. 2. — Colza Primor 10 p. 100 pendant 6 mois. Aspect de nécrose ancienne. ($\times 750$).

— Après six mois, les lésions myocardiques se trouvent principalement dans les lots colza Primor. Les lots arachide ont moins de lésions, mais celles-ci s'accroissent en même temps qu'augmente la richesse des régimes en huile.

— Après un an, on note d'importantes lésions dans les deux groupes, mais surtout dans le lot arachide.

B. Sur le plan morphologique existent deux types de lésions correspondant à deux stades évolutifs.

— La nécrose jeune, riche en macrophages et fibroblastes (fig. 1).

— La nécrose ancienne, paucicellulaire, où prédomine le tissu conjonctif (fig. 2).

A noter le siège essentiellement périvasculaire des foyers lésionnels.

GRAPH. 1. — Planimétrie. Volumes des myofibrilles, des mitochondries et du sarcoplasme à 6 mois et 1 an exprimés en pourcentage du volume myocytaire total.

II. Microscopie électronique.

A. La planimétrie. — Les résultats sont rapportés dans le tableau 2 et les graphiques 1 et 2. Le « témoin » est le lot arachide 5 p. 100.

GRAPH. 2. — Planimétrie. Nombre des mitochondries par unité de surface à 6 mois et 1 an. (Unité de surface = 36 cm² sur micrographies. $\times 4\,250$).

a) A six mois, le volume mitochondrial diminue de façon significative dans les lots colza Primor 5 p. 100 et arachide 10 p. 100. Dans le lot colza Primor 5 p. 100, ce fait s'accompagne d'une diminution du nombre de mitochondries par unité de surface.

b) A un an, il n'apparaît pas de différence significative entre les deux lots.

TABLEAU 2

Résultats de la planimétrie : (micrographies G = 4 250)

Valeurs exprimées en p. 100 du volume cellulaire myocardique. Le témoin est le lot arachide 5 p. 100

Expérience 6 mois

Groupes		Mitochondries	Myofibrilles	Sarcoplasme	Mito./Myo.	Mito./36 cm ²
A.	m	25,362	66,541	8,078	0,387	58,500
Arachide 5 p. 100	sem	± 0,620	± 0,870	± 0,558	± 0,013	± 2,149
	N	40	40	40	40	40
6 mois	p	—	—	—	—	—
B.	m	22,261	64,644	13,115	0,350	51,775
Colza Primor 5 p. 100	sem	± 0,653	± 0,991	± 0,873	± 0,014	± 1,650
	N	40	40	40	40	40
6 mois	p	p < 0,001	NS	p < 0,001	NS	p < 0,02
C.	m	23,204	68,545	8,321	0,344	59,441
Arachide 10 p. 100	sem	± 0,805	± 0,844	± 0,509	± 0,015	± 1,582
	N	40	40	40	40	40
6 mois	p	p < 0,05	NS	NS	p < 0,05	NS
D.	m	25,800	63,007	11,073	0,414	57,425
Colza Primor 10 p. 100	sem	± 0,600	± 0,858	± 0,808	± 0,010	± 2,045
	N	40	40	40	40	40
6 mois	p	NS	p < 0,01	p < 0,001	NS	NS
E.	m	26,832	62,168	10,774	0,441	62,275
Arachide 15 p. 100	sem	± 0,668	± 0,899	± 0,679	± 0,016	± 2,423
	N	40	40	40	40	40
6 mois	p	NS	p < 0,001	p < 0,01	p < 0,01	NS
F.	m	24,099	61,821	14,079	0,395	59,487
Colza Primor 15 p. 100	sem	± 0,573	± 0,948	± 0,856	± 0,013	± 2,233
	N	40	40	40	40	40
6 mois	p	NS	p < 0,001	p < 0,001	NS	NS

Expérience 1 an

		Mito.	Myo.	Sarco.	Noyaux	Mito./Myo.	Mito./6 cm ²
A.	m	22,092	58,437	19,170	0,326	0,381	63,750
Arachide 5 p. 100	sem	± 0,581	± 1,117	± 0,993	± 0,181	± 0,100	± 2,674
	N	40	40	40	40	40	40
1 an	p	—	—	—	—	—	—
B.	m	23,261	58,046	18,326	0,595	0,404	59,358
Colza Primor 5 p. 100	sem	± 0,598	± 1,138	± 1,052	± 0,237	± 0,016	± 2,449
	N	40	40	40	40	40	40
1 an	p	NS	NS	NS	NS	NS	NS

B. *Etude analytique des lésions.* — Les aspects sont différents selon que l'on se trouve en myocarde apparemment sain ou au niveau des foyers de nécrose et de dégénérescence cellulaire.

1. *Dans les zones où le myocarde paraît normal au microscope optique, il y a peu d'altérations cellulaires.*

a) *Au niveau des myocytes, la lipidose est pratiquement absente et se réduit à quelques gouttelettes de lipides dans quelques myocytes, ce qui correspond à une lipidose normale. La charge en glycogène est normale.*

Les mitochondries sont modifiées dans trois directions :

— *Présence de mitochondries géantes* dont la taille peut atteindre 4 à 5 μ et qui peuvent se grouper en agrégats ou en pile d'assiettes (fig. 3). Certaines de ces mitochondries géantes ont des crêtes et une matrice sensiblement normales. D'autres ont des crêtes clairsemées et une matrice clarifiée (fig. 4).

Ces aspects sont nettement pathologiques, mais, d'une part, ils ne sont pas d'une fréquence suffisante pour être l'objet d'une évaluation chiffrée et, d'autre part, ils se rencontrent aussi souvent dans les lots arachide que dans les lots colza Primor.

— *Mitochondries de taille normale mais apparemment altérées* du fait d'une raréfaction de leurs crêtes et d'une clarification de leur matrice (fig. 5). Ces aspects qui évoquent une souffrance mitochondriale sont apparemment plus fréquents que dans le myocarde de rat normal, mais ils sont aussi fréquents dans les lots arachide que dans les lots colza Primor.

— *Amas de petites mitochondries* rassemblées soit en pleine cellule, près du noyau, soit à la périphérie de la cellule, sous le sarcolemme. Ils ressemblent aux amas mitochondriaux décrits dans les surcharges cardiaques mécaniques (Bishop et Cole, 1969 ; Hatt *et al.*, 1970a, 1970b). Ils nous ont paru surtout fréquents dans les cas où il existait de nombreux foyers de lésions cellulaires dégénératives.

Les *myofibrilles* sont le plus souvent normales, mais un petit nombre d'entre elles est le siège d'altérations mineures : élargissement et irrégularités des lignes Z (fig. 6), pertes localisées de l'ordonnance normale des sarcomères entre eux, présence sous le sarcolemme de myofibrilles rudimentaires orientées perpendiculairement ou obliquement par rapport aux myofibrilles du reste de la cellule. Les tubes transverses et longitudinaux sont normaux, à l'exception d'une possible prolifération du système L dans le

FIG. 3. — Arachide 5 p. 100 pendant 1 an. Mitochondries géantes (→) se disposant en pile d'assiettes ($\times 6\,500$).

FIG. 4. — Arachide 5 p. 100 pendant 1 an. Mitochondrie géante (m) avec raréfaction des crêtes et matrice clarifiée ($\times 18\,000$).

FIG. 5. — Colza Primor 5 p. 100 pendant 1 an. Mitochondrie (m) altérée ($\times 32\,000$).

FIG. 6. — Colza Primor 5 p. 100 pendant 1 an. Irrégularités et désalignement des lignes Z (z). Incisures profondes du disque intercalaire (di) ($\times 8\,000$).

lot arachide 1 an (fig. 7). Cette constatation purement qualitative n'a pas été quantifiée morphométriquement.

Le noyau est de morphologie normale ; sa situation marginée a été souvent notée.

Les nucléoles. Dans les cellules, siège des altérations mitochondriales et myofibrillaires, il existe souvent deux à trois nucléoles par noyau.

L'appareil de Golgi est morphologiquement et quantitativement normal. A noter que les grains de sécrétion de type auriculaire sont assez nombreux.

L'ergastoplasme et les ribosomes sont plus abondants dans les zones sous-sarcolemniques ; ces derniers sont soit libres, soit groupés en amas (fig. 8).

La membrane cellulaire est normale, régulièrement cernée par la membrane basale.

Les disques intercalaires sont souvent normaux. Parfois, un aspect irrégulier avec des incisures profondes est noté témoignant d'une souffrance cellulaire déjà avancée (fig. 6).

b) Dans les espaces interstitiels existe une population cellulaire constituée de fibroblastes, de macrophages et de cellules endothéliales d'aspect normal.

2. *Au niveau des foyers lésionnels.* — Les foyers lésionnels prédominent à six mois dans les lots colza Primor et à un an dans le lot arachide. Ils siègent quasi exclusivement au pourtour des vaisseaux, surtout artériels.

a) Les myocytes sont très altérés.

La largeur cellulaire est diminuée donnant à la cellule un aspect allongé, étiré.

Au niveau des *myofibrilles* existe un élargissement, un aspect déchiqueté et un désalignement des lignes Z, une raréfaction des myofilaments qui ne forment plus que des fins fuseaux n'ayant plus leur parallélisme habituel (fig. 9).

Les mitochondries sont nombreuses, petites et de formes très diverses (fig. 9). Certaines ont des altérations très importantes avec raréfaction des crêtes et clarification de la matrice. Les aspects de dégénérescence myélénique sont assez fréquents.

Le sarcoplasme est déshabité en raison de la diminution de la taille des mitochondries et du volume myofilamentaire (fig. 9).

On note l'existence d'images intracytoplasmiques, arrondies, peu denses aux électrons, limitées par une double membrane à l'intérieur desquelles on peut voir un

FIG. 7. — Arachide 5 p. 100 pendant 1 an. Prolifération du système L. ($\times 20\,000$).

FIG. 8. — Arachide 5 p. 100 pendant 1 an. Présence de nombreux ribosomes ($\rightarrow$) sous le sarcolemme ($\times 22\,000$).

FIG. 9. — Colza Primor 5 p. 100 pendant 1 an. Cellule en voie de nécrose. Désalignement des lignes Z (z), déshabitation sarcoplasmique (s), nombreuses mitochondries de petite taille (m) ($\times 4\,500$).

FIG. 10. — Colza Primor 10 p. 100 pendant 6 mois. Présence d'un fragment de macrophage (M) à l'intérieur d'un myocyte ($\times 8\,000$).

noyau, de l'ergastoplasme des aspects mitochondriaux et des inclusions diverses. Ces images correspondent à des digitations des *macrophages* (fig. 10).

Le *noyau* a une forme irrégulière avec contour anguleux. La chromatine semble normale et les nucléoles (un à deux) peuvent être visibles. La membrane nucléaire est normale.

Les *disques intercalaires* sont désunis. La limite de la cellule est très irrégulière à ce niveau avec des incisures profondes.

L'*ergastoplasme* et l'*appareil de Golgi* sont absents. On note la présence de quelques *ribosomes* dans les régions sous-sarcolemniques.

La *charge en glycogène* est le plus souvent diminuée.

b) Au voisinage immédiat de ces myocytes en voie de lyse se trouvent des éléments histiocytaïres :

Fibroblastes nombreux, de forme allongée, possédant un ergastoplasme très développé.

Macrophages de dimensions considérables avec inclusions cytoplasmiques variées et difficilement identifiables. Ils peuvent émettre des digitations cytoplasmiques qui s'invaginent dans les myocytes.

A ces éléments histiocytaïres s'ajoute une *fibrose* plus ou moins développée.

Discussion.

L'appréciation semi-quantitative des lésions myocardiques au microscope optique, bien que donnant des résultats concordants, n'a pas été faite sur une étendue suffisante de surface de coupe, comme le pratiquent Vles *et al.* (1970), pour autoriser une comparaison valable entre les groupes.

Parmi les altérations cellulaires myocardiques ultrastructurales que nous avons décrites, certaines n'ont aucun caractère de spécificité. En particulier, le mélange de lésions myofibrillaires et de signes d'hyperactivité cellulaire de synthèse a été décrit dans des myocardopathies diverses : myocardite émetinienne (Callard et Hatt, 1971), surcharges mécaniques (Hatt *et al.*, 1965), nécrose à l'Isuprel (Moravec et Hatt, 1969). Ce double aspect de lyse et de synthèse visualise sans doute un mécanisme dynamique très général par lequel la cellule tend à limiter la perte de ses organites en les remplaçant au fur et à mesure de leur destruction. La nécrose cellulaire apparaît ainsi quand le processus de lyse l'emporte sur la synthèse.

Les lésions mitochondriales sont un peu plus spécifiques. L'aspect de mitochondrie géante est peu fréquent. On l'a cependant décrit dans l'intoxication alcoolique (Alexander, 1967 ; Alexander, Sekhri et Nagasawa, 1977 ; Segel *et al.*, 1975), les anémies ferriprives (Goodman, Warshaw et Dalman, 1970), les régimes dépourvus de cuivre (Goodman, Warshaw et Dalman, 1970), ou au cours de l'exercice (Laguens et Gomez-Dumm, 1967).

Plus spécifique encore apparaîtrait la disposition des mitochondries en pile d'assiettes.

Les résultats ambigus de la morphométrie peuvent être dus à son absence de sensibilité. En supposant que des lésions mitochondriales existent réellement, la volumétrie

peut ne pas le déceler pour une raison ou pour une autre (durée brève du stade de mitochondrie géante, altération des crêtes ou de la matrice, plutôt que du volume mitochondrial).

En fait, ces résultats négatifs sont peut-être dus au fait que l'huile d'arachide est un mauvais « témoin » et qu'elle crée finalement des altérations cytologiques à peu près identiques à celles qu'engendre l'huile colza Primor.

Conclusions.

L'apport de la microscopie électronique et de la morphométrie ultrastructurale à l'étude de la toxicité myocardique de l'huile colza Primor comparée à l'huile d'arachide peut être résumé ainsi :

La fréquence des lésions décelables au microscope optique est peu différente entre les lots colza Primor et arachide, à 6 mois et 1 an, mais la technique utilisée ne permet pas une comparaison statistiquement valable.

Au microscope électronique, en dehors d'un mélange de signes non spécifiques de souffrance et d'hyperactivité cellulaire, il existe des altérations plus spécifiques portant sur les mitochondries dont certaines augmentent de volume au point de prendre l'aspect de mitochondries géantes (déjà décrites dans les surcharges en huile de colza riche en acide érucique).

En dépit de ces aspects, le volume fractionnel des mitochondries n'est pas statistiquement différent d'un lot à l'autre, la seule différence planimétriquement décelable entre les groupes colza Primor et arachide étant un nombre inférieur de mitochondries par unité de surface dans le premier des deux lots par rapport au deuxième.

Ces faits tendent à confirmer qu'il n'existe pas de différence évidente entre l'huile de colza Primor et l'huile d'arachide, pour ce qui est de leur toxicité respective sur le myocarde du rat.

*Effets physiologiques comparés des huiles de colza et d'arachide.
ATP-INRA, 1974-1976.*

Références

- ALEXANDER C. S., 1967. Electron microscopic observations in alcoholic heart disease. *Brit. Heart. J.*, **29**, 200-206.
- ALEXANDER C. S., SEKHRI K. K., NAGASAWA H. T., 1977. Alcoholic cardiomyopathy in mice. Electron microscopic observations. *J. molec. cell. Cardiol.*, **9**, 247-254.
- BEARE-ROGERS J. L., NERA E. A., HEGGTVEIT H. A., 1974. Expériences nutritionnelles sur les huiles de colza à haute et à basse teneur en acide érucique, 313-327. In *Coll. INSERM. Effets physiopathologiques des acides gras à chaîne très longue*.
- BISHOP S. P., COLE C. R., 1969. Ultrastructural changes in the canine myocardium with right ventricular hypertrophy and congestive heart failure. *Lab. Invest.*, **20**, 219-229.
- BODAK A., 1972. *Etude au microscope électronique des lésions cellulaires myocardiques induites par une surcharge en huile de colza chez le rat*. Thèse Doct. Méd., Fac. Méd. Cochin Port-Royal, Paris, 72 pp.
- CALLARD P., HATT P. Y., 1971. Polyribosomes hélicoïdaux et altérations nucléaires au cours de la myocardite émélinienne expérimentale. *J. Microscopie*, **11**, 35-36.
- CHARBONNE F., PERISSEL B., POALIC J. M., MORIN J., MALET P. Etude ultrastructurale de l'action de l'acide érucique et de l'acide palmitique sur les myoblastes cardiaques de rats nouvellement en culture primaire. *Pathol. Biol.* (sous presse).

- CLOUET P., CARLIER H., BLOND J. P., BEZARD J., 1976. Influence de l'huile de colza alimentaire sur les morphologies et les propriétés oxydatives des mitochondries isolées du cœur de rat. *Ann. Nutr. Alim.*, **30**, 537-548.
- CLUZAN R., LEVILLAIN R., 1974. Etude histologique du myocarde de rat après administration dans le régime d'huiles de crucifères, 85-93. In *Colloque INSERM. Effets physiopathologiques des acides gras à chaîne très longue*.
- ENGELFELDT B., BRUNIUS E., 1975. Morphological effects of rapeseed oil in rats. *Acta med. scand.*, Suppl. **585**, 15-40.
- GOODMAN J. R., WARSHAW J. B., DALMAN P. R., 1970. Cardiac hypertrophy in rats with iron and copper deficiency : quantitative contribution of mitochondrial enlargement. *Pediat. Res.*, **4**, 244-256.
- HATT P. Y., LEDOUX C., BONVALET J. P., GUILLEMOT H., 1965. Lyse et synthèse des protéines myocardiques au cours de l'insuffisance cardiaque expérimentale. *Arch. Mal. Cœur*, **58**, 1703-1721.
- HATT P. Y., BERJAL G., MORAVEC J., SWYNGHEDAUW B., 1970a. Le myocarde ventriculaire dans l'insuffisance cardiaque expérimentale par insuffisance aortique chez le lapin. Etude au microscope électronique. *Arch. Mal. Cœur*, **63**, 383-407.
- HATT P. Y., BERJAL G., MORAVEC J., SWYNGHEDAUW B., 1970b. Heart failure : An electron microscopic study of the left ventricular papillary muscle in aortic insufficiency in the rabbit. *J. molec. cell. Cardiol.*, **1**, 235-247.
- HATT P. Y., BODAK A., 1975. Myocardial lesions induced by rapeseed oil rich diet in the rat : ultrastructural aspects. In FLECKENSTEIN A., RONA G., *Recent Adv. Stud. Cardiac. Struct. Metab.*, **6**, 479-486, Univ. Park Press, Baltimore.
- HOUTSMULLER U. M. T., STRUIJK C. B., VAN DER BEEK A., 1970. Decrease in rate of ATP synthesis of isolated rat heart mitochondria induced by dietary erucic acid. *Biochim. biophys. Acta*, **218**, 564-566.
- LAGUENS R. P., GOMEZ-DUMM C. L. A., 1967. Fine structure of myocardial mitochondria in rats after exercise for one half to two hours. *Circulat. Res.*, **21**, 271-279.
- MORAVEC J., HATT P. Y., 1969. Nécrose myocardique expérimentale provoquée par l'isopropyl-noradrénaline. Etude au microscope électronique. *Path. Biol.*, **17**, 585-594.
- MOREL F., LANQUIN G., LUNARDI J., DUSZYNSKI J., VIGNAIS P. V., 1974. An appraisal of the functional significance of the inhibitory effect of long chain acyl-CoAs on mitochondrial transports. *FEBS Lett.*, **39**, 133-138.
- OZAWA T., FARMER B., HARRIS R. A., 1976. Interaction between oleyl-CoA and the adenine transport system in mitochondria isolated from beef heart. *Abstr. 8th int. Meet., International study group for research in cardiac metabolism*, Tokyo 1976, 44.
- ROCQUELIN G., CLUZAN R., 1968. L'huile de colza riche en acide érucique et l'huile de colza sans acide érucique : valeur nutritionnelle et effets physiologiques chez le rat. Effets sur la croissance, l'efficacité alimentaire et l'état des différents organes. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, **8**, 395-406.
- ROCQUELIN G., SERGIEL J. P., ASTORG P. O., CLUZAN R., 1973. Effets des huiles de Colza et de Canbra sur les lipides et l'anatomie du myocarde du rat : étude à court terme (de 0 à 60 jours). *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, **13**, 587-609.
- SEGEL L. D., RENDIG S. V., CHOQUET Y., CHACKO K., AMSTERDAM E. A., MASON D. T., 1975. Effects of chronic graded ethanol consumption on the metabolism, ultrastructure and mechanical function of the rat heart. *Cardiovasc. Res.*, **9**, 649-663.
- VLES R. O., BIJSTER G. M., KLEINEKOORT J. S. N., TIMMER W. G., ZAALBERG J., 1970. Nutritional status of low. Erucic acid rapeseed oils. *Fette Seifen Anstrichm.*, **78**, 128-131.
- VODOVAR N., DESNOYERS F., 1974. Altérations ultrastructurales des cellules du myocarde de porc et de rat induites par le régime avec les huiles de colza et de ses variétés Canbra et Primor, 115-138. In *Colloque INSERM, Effets physiopathologiques des acides gras à chaîne très longue*.
- WEIBEL E. R., GONZAGUE S. K., WALTER F. S., 1966. Practical stereological methods for morphometric cytology. *J. Cell Biol.*, **30**, 23-38.
- ZIEMLANSKI S., ROSNOWSKI A., 1975. Ultrastructure of rat myocardium after feeding a diet with low erucic rapeseed oil. *Pol. med. Sci. hist., Bull.*, **15**, 123-132.