

## INCORPORATION DE L'ACIDE MYRISTIQUE-1-<sup>14</sup>C DANS LES CONSTITUANTS DU LAIT PAR LA GLANDE MAMMAIRE ISOLÉE

Anne-Marie MASSART-LEËN, E. ROETS, R. VERBEKE et G. PEETERS

*Laboratoire de Physiologie,  
Faculté de Médecine vétérinaire, Université Gent,  
9000 Gent, (Belgique)*

---

### RÉSUMÉ

Des glandes mammaires en lactation, provenant de brebis et de chèvres, furent perfusées pendant plusieurs heures en présence d'acide myristique-1-<sup>14</sup>C lié à l'albumine. Des quantités adéquates d'acétate, de glucose et d'acides aminés furent infusées durant les expériences.

Une faible radioactivité a été retrouvée dans le CO<sub>2</sub> expiré. Dans les constituants du lait, le <sup>14</sup>C était principalement localisé dans la fraction de l'acide myristique isolée des triglycérides. Une élévation de la chaîne de l'acide myristique donnant lieu à la formation de l'acide palmitique n'a été observée que sur une échelle réduite.

L'incorporation la plus importante du <sup>14</sup>C a été détectée dans la fraction de l'acide myristique isolée des triglycérides du tissu mammaire. Vingt-trois p. 100 de l'acide myristoléique provenaient de l'acide myristique. Une faible radioactivité a été détectée dans les acides gras volatils à courte chaîne.

---

### INTRODUCTION

Chez les ruminants, deux processus métaboliques sont à l'origine des acides gras des triglycérides du lait. Premièrement, l'acétate et le  $\beta$ -hydroxybutyrate fonctionnent dans la glande mammaire comme précurseurs pour la synthèse de novo des acides gras jusqu'à l'acide palmitique. Dans le deuxième processus, des acides gras préformés sont absorbés directement du sang par la glande mammaire. Ces lipides circulent dans le plasma soit sous forme d'acides gras non-esterifiés liés à l'albumine, soit sous forme de triglycérides dans les chylomicrons ou dans les lipoprotéines à faible densité.

La teneur en acide myristique est considérable dans les graisses du lait des ruminants. La synthèse de novo de cet acide dans la glande mammaire fut démontrée

par l'administration d'acétate marqué à des chèvres *in vivo* ou à des pis isolés et perfusés de vache (POPJAK *et al.*, 1951 ; COWIE *et al.*, 1951).

L'apparition de la radioactivité dans les acides gras du lait fut étudiée chez la chèvre après ingestion par voie orale d'une dose d'acide myristique marqué au tritium (REINIUS et SUOMINEN, 1966). STEELE et MOORE (1968) examinaient, chez des vaches en lactation, les effets d'une substitution isocalorique à 10 p. 100 par l'acide myristique dans le mélange d'aliments concentrés sur le rendement et la composition des graisses du lait. BICKERSTAFFE et ANNISON (1970 *a*) examinaient la dessaturation enzymatique de l'acide myristique dans des fractions subcellulaires isolées à partir de glandes mammaires de chèvre. L'ensemble de tous ces résultats montre qu'une fraction de l'acide myristique des graisses du lait est dérivée des lipides sanguins et que cet acide est dessaturé à un certain degré par la glande mammaire. Ceci donne lieu à l'acide myristoléique des graisses du lait.

Dans le présent travail nous avons étudié ces phénomènes en ajoutant de l'acide myristique- $1-^{14}\text{C}$  lié à l'albumine, au sang de perfusion de pis isolés de brebis et de chèvre. L'incorporation du précurseur dans les acides gras du lait et du tissu mammaire a été étudiée.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

### A. — *Perfusion des pis isolés*

La perfusion des pis isolés de brebis et de chèvre fut réalisée en utilisant des techniques préalablement décrites (HARDWICK et LINZELL, 1960 ; HARDWICK, LINZELL et PRICE, 1961 ; VERBEKE *et al.*, 1972). Au début de l'expérience la glande fut vidée par la traite. Ensuite les deux moitiés du pis furent séparées et prélevées par voie chirurgicale sous anesthésie lumbosacrée, effectuée par l'administration d'une dose tranquillisante de Rompun (BAYER, LEVERKUSEN, ALLEMAGNE). Les glandes isolées furent perfusées séparément à une température de 33-37°C sous une pression constante de 145 cm H<sub>2</sub>O. Le perfusât consistait en 1,3 l de sang homologue hépariné contenant 1 µg/ml de l'acide bromolysergique diéthylamide (B. O. L. 148, A. G. Sandoz, Bâle, Suisse). Des antibiotiques étaient ajoutés au perfusât et aux liquides des reins artificiels comme décrit antérieurement. Le perfusât fut oxygéné par un mélange d'air + CO<sub>2</sub> (93 : 7) et O<sub>2</sub> + CO<sub>2</sub> (93 : 7). Au début de la perfusion de l'ocytocine (200 mU) fut administré par voie intra-artérielle. La moitié expérimentale fut vidée par la traite et le précurseur marqué fut ajouté au système. Une solution de substrats (250 ml), contenant des protéines du plasma, du glucose, de l'acétate, des acides aminés ainsi que du précurseur radioactif fut infusée d'une manière continue au perfusât au cours de l'expérience à l'aide d'une pompe péristaltique dont le débit fut adapté à l'intensité de la sécrétion du lait.

Trois expériences de perfusion ont été faites. La première expérience fut effectuée sur la moitié gauche d'un pis de chèvre. Cette glande pesait 510 g et avait une production moyenne de 43,3 ml de lait/h durant 5 jours précédant la perfusion.

L'acide myristique- $1-^{14}\text{C}$  en provenance de Radiochemical Centre, Amersham, Royaume-Uni, fut purifié comme décrite antérieurement (MASSART-LEËN *et al.*, 1970). L'acide myristique- $1-^{14}\text{C}$  (50 µCi, pH 7) fut dilué dans du plasma jusqu'à un volume de 60 ml. De cette solution, 20 ml (16,6 µCi) furent ajoutés en une fois au sang de perfusion, 33 ml (27,5 µCi) à la solution de substrats et 7 ml (5,8 µCi) à 500 ml de sang. Au cours de l'expérience, cette dernière solution fut ajoutée graduellement au perfusât remplaçant les échantillons de sang prélevé. A la solution de substrats 2,3 mg d'acide myristique non marqué furent ajoutés. Au cours de la perfusion qui dura 11 heures un total de 183 ml de la solution de substrats fut ajouté au perfusât. De cette manière, une quantité totale de 42,6 µCi d'acide myristique- $1-^{14}\text{C}$  a été utilisée. Un volume de 87 ml de lait fut collecté durant la perfusion.

Dans une seconde expérience, la moitié droite du pis d'une brebis fut perfusée pendant 10 heures. La glande pesait 565 g et sa production de lait sur l'animal vivant s'élevait à une moyenne de 31 ml par heure. Comme dans l'expérience 1, 50 µCi d'acide myristique- $1-^{14}\text{C}$  furent ajoutés au sang et à la solution de substrats. Pendant la perfusion un volume de 161 ml de la

solution de substrats fut infusé et une quantité totale de 40,2  $\mu\text{Ci}$  d'acide myristique- $1\text{-}^{14}\text{C}$  fut utilisée ; la production de lait s'élevait à 65,8 ml durant la perfusion.

Une troisième expérience a été effectuée sur la moitié gauche du pis d'une chèvre. Le poids de cette glande était de 418 gr et sa production moyenne *in vivo* s'élevait à 30 ml de lait par heure. Cent  $\mu\text{Ci}$  d'acide myristique- $1\text{-}^{14}\text{C}$  furent répartis au sang et à une solution de substrats dans des proportions décrites antérieurement. Pendant les 8 heures de perfusion un volume total de 112 ml de la solution de substrats fut infusé et une quantité totale de 58  $\mu\text{Ci}$  d'acide myristique- $1\text{-}^{14}\text{C}$  fut utilisée. Un volume de 44 ml de lait fut collecté.

#### B. — *Isolation des constituants du lait*

Le dosage des constituants du lait et l'isolation de la caséine, de l'acide citrique, du lactose et des graisses du lait furent effectués comme décrit (VERBEKE *et al.*, 1968 ; MASSART-LEËN *et al.*, 1970).

Les triglycérides furent séparés des graisses par chromatographie sur colonne (CARROLL, 1961). Après transméthylation, les esters méthyliques des triglycérides furent séparés et collectés par chromatographie en phase gazeuse semi-préparative (MASSART-LEËN *et al.*, 1970). Les quantités d'esters méthyliques collectés furent déterminées par chromatographie en phase gazeuse après addition d'un standard interne. La chromatographie des esters méthyliques a été refaite jusqu'à obtention d'une activité spécifique constante.

#### C. — *Isolations des graisses du tissu mammaire*

A la fin de la perfusion (expérience 3) la peau, les trayons et le tissu adipeux du pis furent écartés et après découpage de la glande, les matières grasses furent extraites pendant plusieurs jours au moyen d'éthanol-éther (3 : 1, v/v) dans un appareil de soxhlet. Après lavage de la graisse avec 1 p. 100 de  $\text{NaHCO}_3$ , les triglycérides furent isolés (CARROLL, 1961). Une partie des triglycérides fut saponifiée et les acides gras en  $\text{C}_4\text{-C}_6$  (après une distillation à vapeur) furent isolés selon la méthode de JAMES et MARTIN (1952). Le reste des triglycérides fut transméthylé. Les quantités des différents esters méthyliques furent déterminées par chromatographie en phase gazeuse sur des phases liquides polaires et non-polaires. Des proportions connues d'esters méthyliques non-marqués furent ajoutées et les différents esters furent isolés par chromatographie en phase gazeuse semi-préparative. Ensuite une séparation complète des esters méthyliques saturés et non-saturés fut obtenue par chromatographie en couche mince sur silicagel imprégné de nitrate d'argent (BICKERSTAFFE et ANNISON, 1970 b).

#### D. — *Analyse du sang et du plasma*

La production du  $^{14}\text{CO}_2$  au cours de l'expérience fut mesurée comme décrite antérieurement (MASSART-LEËN *et al.*, 1970). Après extraction des lipides du plasma par la méthode de FOLCH *et al.* (1957), ils furent séparés en esters de cholestérol, triglycérides et acides gras libres (FFA). Un dosage quantitatif de la fraction FFA fut suivi par une isolation et un dosage de l'acide myristique après dilution avec de l'acide méthylmyristique non-marqué.

#### E. — *Mesure de la radioactivité*

La radioactivité fut mesurée par scintillation liquide dans une solution de 5 g de PPO et 0,3 g de diméthyl-POPOP par litre de toluène. La radioactivité des échantillons du plasma fut déterminée par la méthode de HERBERG (1960). Les activités des composants solubles dans l'eau furent mesurées suivant les techniques précédemment décrites par VERBEKE, FETEANU et PEETERS (1967).

## RÉSULTATS

### I. — *Production et composition du lait*

Les figures 1 et 2 présentent la production du lait par heure durant les expériences 1 et 2. La production moyenne par heure dans l'expérience 3 s'élevait à 16 p. 100 de la production moyenne obtenue dans la semaine qui précédait la perfusion. Les

concentrations de la caséine, de l'acide citrique et du lactose dans le lait des 3 perfusions ressemblent à celles du lait de l'animal vivant. Les concentrations des graisses dans les fractions du lait, collectées dans les perfusions 1 et 2 sont présentées dans les figures 1 et 2.

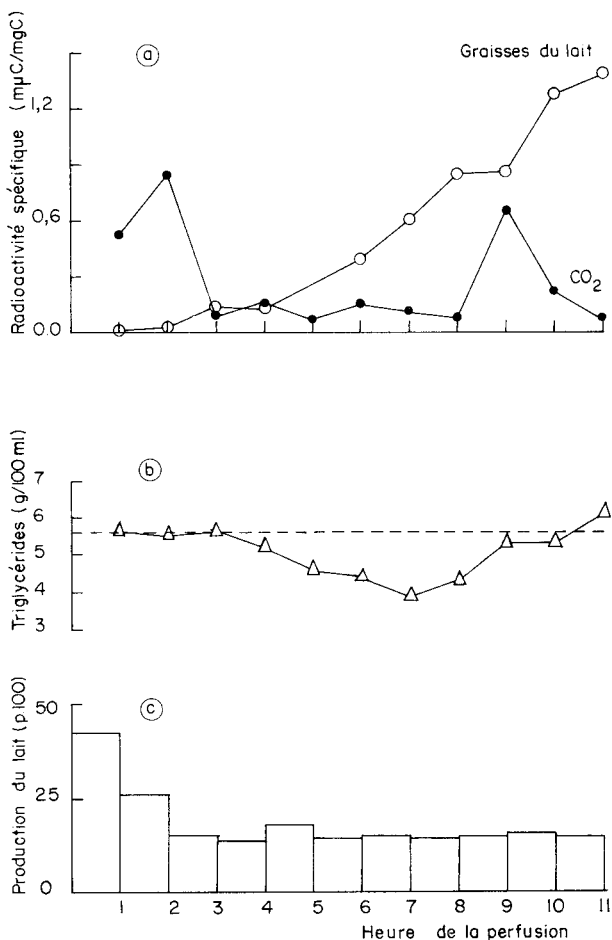


FIG. 1. — *Perfusion d'une glande mammaire de chèvre en présence de l'acide myristique-1-<sup>14</sup>C*

La glande pesait 510 g et produisait 43,3 ml de lait/h sur l'animal vivant (moyenne de 5 jours représentée sur le graphique comme 100 p. 100). L'infusion des substrats contenant l'acide myristique-1-<sup>14</sup>C commençait à 0 h. Le débit sanguin moyen s'élevait à 46,2 ml/mn par 100 g de tissu ; la consommation maximale d'oxygène était d'environ 1,3 ml/mn par 100 g de tissu. *a* : Évolution de la radioactivité spécifique des graisses du lait et du CO<sub>2</sub> expiré ; *b* : teneurs des graisses dans le lait sécrété (les traits horizontaux représentent la concentration moyenne des triglycérides du lait avant l'expérience) ; *c* : production du lait par heure (en pourcentage de la production *in vivo*).

## 2. — Expériences 1 et 2 : Incorporation de <sup>14</sup>C dans les constituants du lait

De très faibles activités spécifiques (< 0,05 µCi/mg C) ont été détectées dans le lactose, l'acide citrique et la caséine du lait. Les activités spécifiques de l'acide aspartique et de l'acide glutamique, isolés de la caséine étaient de 0,09 et 0,03 µCi/mg C.

Les radioactivités spécifiques des graisses du lait, constatées dans les expériences 1 et 2 sont présentées respectivement dans les figures 1 et 2. Dans l'expérience 1, un état d'équilibre ne fut atteint tandis que dans l'expérience 2 une activité spécifique

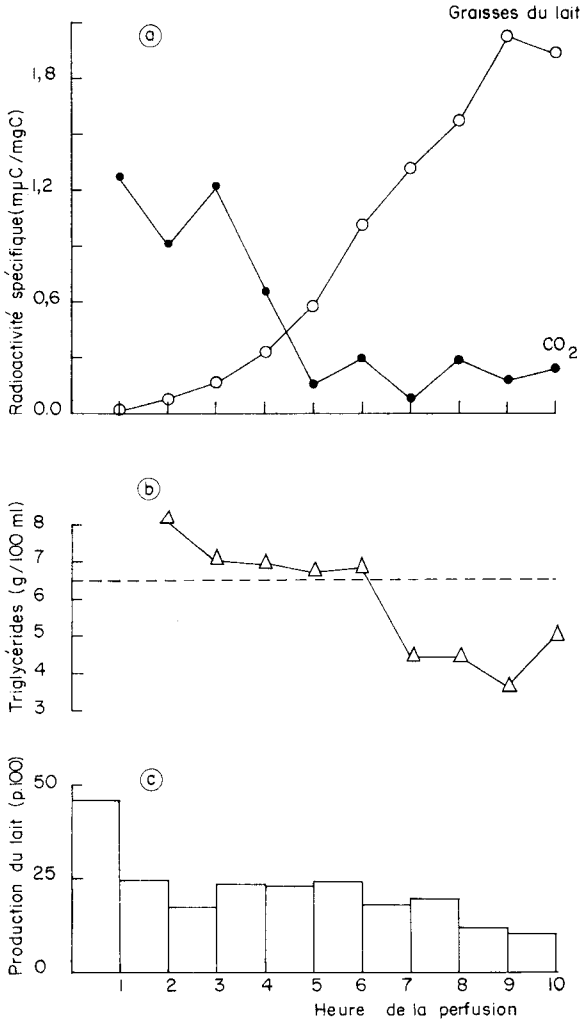


FIG. 2. — Perfusion d'une glande mammaire de brebis en présence de l'acide myristique- $^{14}\text{C}$

La glande pesait 565 g et produisait 31 ml de lait/h sur l'animal vivant (moyenne de 5 jours représentée sur le graphique comme 100 p. 100). L'infusion des substrats contenant l'acide myristique- $^{14}\text{C}$  commençait à 0 h. Le débit sanguin moyen s'élevait à 37 ml/mn par 100 g de tissu ; la consommation maximale d'oxygène était d'environ 1,0 ml/mn par 100 g de tissu. (a : Evolution de la radioactivité spécifique des graisses du lait et du CO<sub>2</sub> expiré ; b : teneurs des graisses dans le lait sécrété (les traits horizontaux représentent la concentration moyenne des triglycérides du lait avant l'expérience) ; c : production du lait par heure (en pourcentage de la production *in vivo*).

constante fut atteinte durant les 2 dernières heures de la perfusion. Les activités spécifiques des acides gras isolés à partir des triglycérides du lait dans les expériences 1 et 2 sont présentées dans le tableau 1. Dans chaque échantillon analysé, la majeure partie du C<sup>14</sup> (96-98 p. 100) des triglycérides fut retrouvée dans le myristate estérifiée,

TABLEAU I

*Radioactivité spécifique et teneur des acides gras des triglycérides du lait ou du tissu mammaire lors des perfusions des glandes isolées en présence de l'acide myristique-1-<sup>14</sup>C*

Expérience n°	1 (chèvre) Triglycérides du lait			2 (brebis) Triglycérides du lait			3 (chèvre) Triglycérides du tissu mammaire		
	10			10			8		
Temps de perfusion (h)	g (%)	act. spéc.	<sup>14</sup> C dans l'ac. gras (†) (%)	g (%)	act. spéc.	<sup>14</sup> C dans l'ac. gras (†) (%)	g (%)	ac. spéct.	<sup>14</sup> C dans l'ac. gras (†) (%)
4 : 0	—	—	—	—	—	—	0,1	0,03 ± 0,01	tr
6 : 0	—	—	—	—	—	—	0,1	0,06 ± 0,03	tr
8 : 0	—	—	—	0,9	0,03 ± 0,005	tr	0,4	0,06 ± 0,004	tr
10 : 0	7,3	0,01 ± 0,003	tr	4,5	0,02 ± 0,004	tr	4,1	0,04 ± 0,003	tr
12 : 0	4,9	0,03 ± 0,004	tr	2,2	0,01 ± 0,004	tr	1,2	0,05 ± 0,005	tr
14 : 0	11,2	16,35 ± 3,20	96,4	9,6	18,32 ± 1,4	95,9	4,4	97,72 ± 2,83	98,2
unknown	—	—	—	—	—	—	0,1	—	—
14 : 1	—	—	—	—	—	—	0,2	22,85 ± 1,57	1,0
15 : 0	0,6	—	—	0,5	—	—	0,7	—	—
15 : 1	0,6	—	—	—	—	—	0,4	—	—
16 : 0	21,0	0,27 ± 0,016	3,0	24,0	0,27 ± 0,09	3,5	24,6	0,08 ± 0,007	0,4
16 : 1	2,0	—	—	0,7	—	—	2,2	0,05 ± 0,007	tr
16 : 2	0,9	—	—	—	—	—	0,9	—	—
17 : 0	1,0	—	—	4,2	—	—	1,7	—	—
17 : 1	0,8	—	—	—	—	—	—	—	—
18 : 0	13,7	0,06 ± 0,003	0,4	16,5	0,05 ± 0,02	0,4	18,4	0,05 ± 0,003	0,2
18 : 1	36,7	—	—	39,8	—	—	40,6	0,005 ± 0,0003	tr
18 : 2	4,7	—	—	—	—	—	—	—	—
18 : 3	0,6	—	—	—	—	—	—	—	—

(†) Pourcentage du <sup>14</sup>C des triglycérides du lait récupérés dans les acides gras.

tr : trace

— : non déterminé.

tandis qu'une radioactivité minime, mais significative, fut retrouvée dans le palmiate. Des activités encore moins importantes furent détectées dans les esters des acides gras ayant une longueur de chaîne de  $C_{10:0}$ ,  $C_{12:0}$  et  $C_{18:0}$ .

### 3. — Expérience 3 : Incorporation de $^{14}C$ dans les graisses du tissu mammaire

Quelques acides gras se présentent dans les graisses du lait en concentrations mineures ( $C_{14:1}$  et  $C_{16:1}$ ). L'isolation des acides gras  $C_4$ - $C_8$  à partir des graisses du lait est difficile à cause de leur volatilité. Pour ces raisons, l'isolation de ces acides et la détermination de leur radioactivité furent effectuées à partir de la graisse du tissu mammaire prélevé à la fin de la perfusion, la quantité de graisse disponible étant plus importante que dans les échantillons de lait. L'activité spécifique des graisses du tissu mammaire à la fin de la perfusion dans l'expérience 3, s'élevait à 3,64  $m\mu Ci/mg C$ . Une analyse détaillée des acides gras des triglycérides du tissu mammaire (tabl. 1, exp. 3) montre l'incorporation  $^{14}C$  la plus élevée dans la fraction acide myristique, ainsi qu'un marquage important de l'acide myristoléique. Des radioactivités très basses furent détectées dans les acides gras ayant une longueur de chaîne de  $C_4$ - $C_{12}$ ,  $C_{16:0}$ ,  $C_{16:1}$ ,  $C_{18:0}$  et  $C_{18:1}$ .

### 4. — Les lipides du plasma

Les activités totales de  $^{14}C$  par ml étaient en général plus basses dans le plasma veineux que dans le plasma artériel, montrant l'absorption du  $^{14}C$  par la glande. Les radioactivités spécifiques de l'acide myristique libre étaient du même ordre dans les échantillons de plasma artériel et veineux (tabl. 2).

TABLEAU 2

*Radioactivités spécifiques ( $m\mu Ci/mg$  de C) de l'acide myristique libre dans l'artère et la veine et du myristate dans les triglycérides du lait dans deux expériences de perfusion*

Expérience n°	1		2	
	8	11	8	10
Temps de perfusion (h)				
Acide myristique libre artériel ..	1217		258	304
Acide myristique libre veineux ..	1435		211	347
Acide myristique des triglycérides du lait .....		16,4		18,3

Comparées à l'activité spécifique de l'acide myristique libre du sang, les activités du  $CO_2$  expiré étaient faibles (fig. 1, 2) (tabl. 2). Seulement 1,2 p. 100 (exp. 1) et 2,6 p. 100 (exp. 2) du  $^{14}C$  administré furent expirés sous forme de  $^{14}CO_2$ .

Une incorporation très basse du  $^{14}C$  fut observée dans les triglycérides et les esters de cholestérol du plasma au cours des perfusions (tabl. 3). Les radioactivités

TABLEAU 3

*Radioactivités spécifiques (pCi/mg de C) des triglycérides et des esters de cholestérol du plasma lors des perfusions de glandes mammaires isolées de chèvre et de brebis après administration de l'acide myristique-1-<sup>14</sup>C.*

Expérience, n°	1			2	
	5	7	8	8	10
Triglycérides du plasma					
Artériel .....	155	101	73	81	162
Veineux .....	63	45	42	74	162
Esters de cholestérol du plasma					
Artériel .....	65	21	39	24	58
Veineux .....	100	22	39	40	47

spécifiques des triglycérides du plasma veineux étaient inférieures à celles des échantillons artériels correspondants. D'autre part, des teneurs de radioactivité similaires furent détectées dans les esters de cholestérol artériels et veineux.

## DISCUSSION

Nous basant sur les radioactivités plus basses dans les échantillons veineux que dans les échantillons artériels et sur l'incorporation de <sup>14</sup>C dans les graisses du lait, il est évident que l'acide myristique-1-<sup>14</sup>C libre du sang est métabolisé par la glande mammaire. Des résultats analogues furent obtenus après addition des acides gras libres-stéarique, oléique et palmitique — au sang de perfusion (LAURYSENS, VERBEKE et PEETERS, 1961 ; MASSART-LEËN *et al.*, 1970. La radioactivité du CO<sub>2</sub> expiré montre que l'acide myristique participe sur une petite échelle au métabolisme oxydatif de la glande mammaire.

La majorité de la radioactivité dans les acides des triglycérides de la graisse du lait était localisée dans la fraction acide myristique. L'activité spécifique de C<sub>16</sub> était supérieure à celle de plusieurs autres acides gras (p. e. C<sub>8</sub>, C<sub>10</sub>, C<sub>12</sub> et C<sub>18</sub>), ce qui indique l'élongation de la chaîne de l'acide myristique sur une petite échelle dans la glande. Dans des expériences dans lesquelles l'acide myristique-<sup>3</sup>H fut administré à une chèvre en lactation, REINIUS et SUOMINEN (1966) ont observé également la formation de l'acide palmitique de la graisse du lait à partir de l'acide myristique par addition d'une unité de 2 atomes de carbone. STEELE et MOORE (1968) ont administré à des vaches un régime riche en acide myristique et ont observé que la concentration de l'acide C<sub>14</sub> mono non-saturé dans les graisses du lait augmente. Dans des expériences effectuées sur des microsomes de glande mammaire de chèvre, BICKERSTAFFE et ANNISON (1970 *a*) ont montré la désaturation de l'acide myristique avec



formation de l'acide myristoléique. Dans les recherches décrites ici, il est évident qu'une dessaturation de  $C_{14:0}$  se manifeste dans la glande mammaire, la fraction  $C_{14:1}$  des triglycérides du tissu mammaire montrant une radioactivité importante. Les principaux acides gras cis-monoénoïques du lait sont les acides oléique, palmitoléique et myristoléique. Des expériences de perfusion effectuées en présence des acides stéarique, palmitique et myristique, marqués dans notre laboratoire ont montré que la glande mammaire des ruminants possède une capacité de dessaturation importante donnant lieu à la formation des acides non-saturés, cités ci-dessus (LAURYSSENS *et al.*, 1961 ; MASSART-LEËN *et al.*, 1970). L'activité de dessaturation la plus importante dans la glande perfusée fut observée en présence de l'acide stéarique. Dans l'expérience décrite ici, le rapport entre les activités spécifiques de  $C_{14:1}$  et  $C_{14:0}$  dans les triglycérides du tissu mammaire nous montre qu'environ 23 p. 100 de l'acide myristoléique estérifié se forment par déshydrogénation de l'acide myristique absorbé du circuit sanguin.

L'acide palmitoléique des triglycérides, isolés à partir du tissu mammaire, a une radioactivité faible mais significative. Dans les expériences de STEELE et MOORE (1968) l'ajoute de grandes quantités d'acide myristique dans la ration augmenta non seulement la teneur en  $C_{14:1}$  mais aussi celle du  $C_{16:1}$  dans les graisses du lait tandis que le pourcentage en  $C_{16:0}$  diminuait. Ainsi est il probable que la concentration augmentée en  $C_{16:1}$  serait due à une élongation de la chaîne de  $C_{14:1}$  (acide  $\Delta^9$ -tétradécénoïque). Dans ce cas le  $C_{16:1}$  serait dû à une production accrue en acide  $\Delta^{11}$ -hexadécénoïque mais pas à l'acide  $\Delta^9$ -hexadécénoïque. HAY et MORRISON (1970) ont déterminé la position de la double liaison dans  $C_{16:1}$  de la graisse du lait chez la vache recevant une ration normale. Les doubles liaisons dans les isomères cis de  $C_{14:1}$  et de  $C_{16:1}$  étaient localisées principalement dans la position 9 mais dans le cas de  $C_{16:1}$  une petite proportion (2,7 p. 100) était détectée également en position 11. D'après ces auteurs, il serait probable que l'acide  $\Delta^{11}$ -hexadécénoïque est surtout le résultat de la dessaturation de l'acide myristique à la position 9 suivi d'une élongation de la chaîne dans la glande mammaire. Les proportions des activités spécifiques des différents acides gras dans nos expériences, nous ont permis de vérifier jusqu'à un certain point la conversion de  $C_{14:1}$  en  $C_{16:1}$ . Les résultats de l'expérience 3 se prêtent assez bien à une telle évaluation, l'activité spécifique de  $C_{14:1}$  est très élevée comparée à celle de  $C_{16:0}$ . On peut calculer que si la conversion de  $C_{14:1}$  en  $C_{16:1}$  dans les triglycérides du tissu mammaire avait lieu dans une proportion de 1 p. 100, l'activité spécifique de  $C_{16:1}$  dépasserait celle de  $C_{16:0}$  par un facteur 3. Mais comme l'activité spécifique de  $C_{16:1}$  s'élevait seulement à 60 p. 100 de celle de  $C_{16:0}$ , nos résultats indiquent que le  $C_{14:1}$  n'est pas transformé d'une manière appréciable en  $C_{16:1}$ . Il est plus probable que la fraction  $C_{16:1}$  dans l'expérience 3 est dérivée, soit de l'acide préformé du plasma, soit de  $C_{16:0}$  par dessaturation. Si une élongation de la chaîne de  $C_{14:1}$  en  $C_{16:1}$  avait lieu dans nos expériences, la proportion de ce phénomène ne dépasserait pas 0,2 p. 100. Néanmoins il faut noter que nos expériences de perfusion furent effectuées en présence de concentrations physiologiques de l'acide myristique. D'après GLOVER-LAURYSSENS et PEETERS (1967) la teneur en acide myristique libre du plasma chez la vache s'élève à 0,05 mg p. 100 et nous pouvons supposer que des teneurs du même ordre se trouvaient dans le perfusé de la glande isolée. Il serait intéressant d'étudier l'incorporation de l'acide myristique- $1-^{14}C$  dans les graisses, par la glande isolée, en présence de concentrations élevées d'acide myristique libre.

Dans nos expériences effectuées sur la glande en absence du foie, il est compréhensible que l'incorporation de l'acide myristique- $1-^{14}\text{C}$  dans les triglycérides et les esters de cholestérol du plasma était très faible. On peut supposer que ces faibles activités pourraient être attribuées à des réactions d'échange dans les globules du sang (WINTERBOURN et BATT, 1968). Néanmoins il est remarquable que les activités spécifiques des triglycérides étaient plus faibles dans la veine que dans l'artère. Des résultats analogues furent obtenus dans des expériences de perfusion précédentes effectuées en présence des acides, palmitique et oléique, marqués au  $^{14}\text{C}$  (MASSART-LEËN *et al.*, 1970). Les triglycérides du plasma sont hydrolysés à la surface interne des cellules endothéliales des capillaires avant l'absorption par la glande mammaire (WEST *et al.*, 1972). Une partie du glycérol et des acides gras libérés sont absorbés par le tissu mammaire tandis que les molécules restantes passent dans le sang veineux. Dans nos expériences les activités spécifiques des triglycérides dans la veine n'étaient pas supérieures à celles dans l'artère : ceci est en accord avec l'hypothèse qu'il n'y a pas de resynthèse de triglycérides du plasma durant le passage par la glande mammaire.

*Reçu pour publication en novembre 1973.*

## REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier vivement le Dr A. HOUVENAGHEL pour sa précieuse collaboration dans la phase chirurgicale de l'expérience. Nous tenons à remercier également M<sup>me</sup> Liliane De NEVE-VAN LANCKER, M<sup>me</sup> Monique BUELENS-VAN HAUTE et M<sup>lle</sup> Martine ANAF pour l'aide technique. Ces recherches ont été financées par l'Institut pour l'Encouragement de la Recherche Scientifique dans l'Industrie et l'Agriculture.

## SUMMARY

### INCORPORATION OF $1-^{14}\text{C}$ MYRISTIC ACID IN MILK COMPONENTS BY PERFUSED MAMMARY GLAND

Lactating mammary glands of sheep and goats were perfused in the presence of albumin bound  $1-^{14}\text{C}$  myristic acid for several hours, while receiving adequate quantities of acetate, glucose and amino acids.

Some activity was recovered in the expired  $\text{CO}_2$ . In milk components, the  $^{14}\text{C}$  was primarily localized in the myristic acid fraction of the triglycerides. Chain elongation of myristic acid to palmitic acid occurred on a very small scale.

The most important  $^{14}\text{C}$  incorporation, in triglycerides isolated from udder tissue, was detected in the myristic acid fraction. This fraction was followed by myristoleic acid. Twenty-three percent of the myristoleic acid was derived from myristic acid. Some activity was detected in the lower volatile fatty acids.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BICKERSTAFFE R., ANNISON E. F., 1970 a. The desaturase activity of goat and sow mammary. *Comp. Biochem. Physiol.*, **35**, 653-665.  
BICKERSTAFFE R., ANNISON E. F., 1970 b. Lipid metabolism in the perfused chicken liver. *Biochem. J.*, **118**, 433-442.

- CARROLL K. K., 1961. Separation of lipid classes by chromatography on florisil. *J. Lipid Res.*, **2**, 135-141.
- COWIE A. T., DUNCOMBE W. G., FOLLEY S. J., FRENCH T. H., GLASCOCK R. F., MASSART L., PEERERS G., POPJAK G., 1951. Synthesis of milk fat from acetic acid ( $\text{CH}_3^{14}\text{COOH}$ ) by the perfused isolated bovine udder. *Biochem. J.*, **49**, 610-615.
- FOLCH J., LEES M., SLOANE STANLEY G. H., 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, **226**, 497-509.
- GLOVER-LAURYSSENS M., PEETERS G., 1967. Studies on lipid composition on lymph from the mammary gland of lactating cows. *Mededelingen der Veeartsenijschool van de Rijksuniversiteit te Gent*, **11**, 3-14.
- HARDWICK D. C., LINZELL J. L., 1960. Some factors affecting milk secretion by the isolated perfused mammary gland. *J. Physiol., Lond.*, **154**, 547-571.
- HARDWICK D. C., LINZELL J. L., PRICE S. M., 1961. The effect of glucose and acetate on milk secretion by the perfused goat udder. *Biochem. J.*, **80**, 37-45.
- HAY J. D., MORRISON W. R., 1970. Isomeric monoenoic fatty acids in bovine milk fat. *Biochim. Biophys. Acta*, **202**, 237-243.
- HERBERG R. J., 1960. Determination of carbon-14 and tritium in blood and other whole tissue. *Anal. Chem.*, **32**, 42-46.
- JAMES A. T., MARTIN A. J. P., 1952. Gas-liquid partition chromatography: the separation and micro-estimation of volatile fatty acids from formic acid to dodecanoic acid. *Biochem. J.*, **50**, 679-690.
- LAURYSSENS M., VERBEKE R., PEETERS G., 1961. Metabolism of stearate- $1^{14}\text{C}$  in the isolated cow's udder. *J. Lipid Res.*, **2**, 383-388.
- MASSART-LEEN A. M., FLORESCU S., VERBEKE R., PEETERS G., 1970. Metabolism of  $1^{14}\text{C}$  palmitate and  $1^{14}\text{C}$  oleate by the isolated perfused mammary gland of the sheep or goat. *J. Dairy Res.*, **37**, 373-387.
- POPJAK G., FRENCH T. H., HUNTER G. D., MARTIN A. J. P., 1951. Mode of formation of milk fatty acids from acetate in the goat. *Biochem. J.*, **48**, 612-618.
- REINIUS L., SUOMINEN T., 1966. Secretion of radioactivity in milk fatty acids after a single oral dose of  $^3\text{H}$  myristic acid to a goat. *Suomen Kemistilehti B.*, **39**, 20-22.
- STEELE W., MOORE J. H., 1968. The effects of a series of saturated fatty acids in the diet on milk-fat secretion in the cow. *J. Dairy Res.*, **35**, 361-370.
- VERBEKE R., FETEANU A., PEETERS G., 1967. Incorporation of  $1^{14}\text{C}$  glycine into casein by the isolated mammary gland of the ewe. *Arch. int. Physiol. Biochim.*, **75**, 675-684.
- VERBEKE R., PEETERS G., MASSART-LEEN A. M., COCQUYT G., 1968. Incorporation of DL- $2^{14}\text{C}$  ornithine and DL- $5^{14}\text{C}$  arginine in milk constituents by the isolated lactating sheep udder. *Biochem. J.*, **106**, 719-724.
- VERBEKE R., ROETS E., MASSART-LEEN A. M., PEETERS G., 1972. Metabolism of U- $^{14}\text{C}$  L-threonine and U- $^{14}\text{C}$  L-phenylalanine by the isolated perfused udder. *J. Dairy Res.*, **39**, 239-250.
- WEST C. E., BICKERSTAFFE R., ANNISON E. F., LINZELL J. L., 1972. Studies on the mode of uptake of blood triglycerides by the mammary gland of the lactating goat. The uptake and incorporation into milk fat and mammary lymph of labelled glycerol, fatty acids and triglycerides. *Biochem. J.*, **126**, 477-490.
- WINTERBOURN C. C., BATT R. D., 1968. Incorporation of  $1^{14}\text{C}$  palmitate into the lipids of bovine blood cells. *Biochim. Biophys. Acta*, **152**, 255-265.