

SENSIBILISATION DU MYOCARDE DE RAT A L'INCORPORATION EXCESSIVE D'ACIDE [14-¹⁴C] ÉRUCIQUE OU D'ACIDE [10-¹⁴C] OLÉIQUE APRÈS INGESTION D'HUILE DE COLZA

Danielle LAPOUS, P. KETEVİ et Claude LORIETTE

*Équipe de Lipophysologie du C. N. R. S., (I. N. S. E. R. M. U-56),
Hôpital de Bicêtre,
94270 Le Kremlin Bicêtre*

RÉSUMÉ

On établit une comparaison entre l'incorporation de ER* (acide [14-¹⁴C] érucique) et celle de OL* (acide [10-¹⁴C] oléique) dans le myocarde du Rat au sevrage. Les résultats indiquent clairement que l'incorporation de ER* comme celle de OL* dépendent essentiellement du conditionnement biochimique antérieur de l'animal.

Lorsque le rat reçoit de l'huile de colza (C) par intubation gastrique et qu'on lui administre par la même voie 24 h avant le sacrifice une dose unique de ER* en émulsion, la radioactivité spécifique (RAS) est particulièrement forte vers la 48^e heure d'expérience. Cette RAS élevée concerne les mitochondries et les microsomes. Le cytosol est aussi très radioactif, les noyaux le sont moins.

Si l'on administre une dose unique de OL* en émulsion 24 h avant le sacrifice des rats C cet acide est aussi fortement incorporé, si ce n'est plus, que ER* et le phénomène ne se produit pas chez le témoin (O) à l'huile d'olive.

Au-delà du 4^e jour d'expérience et jusqu'au 7^e jour, les phénomènes sont inversés : la RAS des cœurs est faible et quasi identique dans les lots « C+ER* » et « O+OL* ». Par contre, la RAS des myocards « O+ER* » et « C+OL* » est considérable.

Le métabolisme de l'acide érucique est étudié par radioscanning des lipides des homogénats de myocarde et dans ceux des mitochondries.

En 24 h la moitié de ER* est déjà convertie en OL* mais à la 48^e h le rapport ER*/OL* est toujours le même. Au 3^e jour, les lipides des mitochondries sont encore très chargés de ER*.

L'augmentation de poids et de teneur en DNA des cœurs C par rapport aux témoins pourrait être la conséquence de la présence temporaire d'éléments lymphomono- ou histiocytaires.

INTRODUCTION

Depuis les travaux de BING (1954), de GORDON et CHERKES (1956), de CARLSTEN (1961) on admet que les lipides constituent la source énergétique préférentielle du muscle cardiaque. Il se peut qu'on soit amené d'ici peu à réviser cette position (OPIE,

1968, 1969 *a* et *b*) mais de toute façon, le myocarde utilise les lipides circulants en forte proportion.

Le cœur extrait peu d'acides gras estérifiés (triglycérides et phospholipides), il capte mieux les composés lyso- (CARLSTEN, 1963 ; WILLEBRANDS, 1964 *a*) et utilise surtout les acides gras libres.

L'extraction des acides gras non-estérifiés s'effectue dans le cœur sans dépense d'énergie (EVANS, 1964 *a*). Elle se fait en fonction du taux d'albumine plasmatique, de la longueur de la chaîne et du degré d'insaturation de l'acide gras (EVANS, 1964 *b* ; WILLEBRANDS, 1964 *b*), de sa rapidité d'utilisation dans la cellule. La captation des chylomicrons et des VLDL, s'effectue après hydrolyse des triglycérides par la lipoprotéine-lipase dont l'activité est élevée (SCHEUER, 1967).

L'activité acylCoA-synthétase est particulièrement forte dans le cœur (PANDE, 1968 ; MARQUIS, 1964) et le taux de carnitine important chez l'adulte ; la transacylation réversible catalysée par la « long chain » carnitine acyltransférase (FRITZ, 1963 ; FRIEDBERG, 1965) est localisée dans les mitochondries. Toutefois, les oxydations ne sont pas toujours rapides et les lipides s'accumulent dans le myocarde. La stéatose cardiaque peut aussi se produire par excès d'acides gras circulants ou par défaut de stimulation de la lipase hormonosensible. Il existerait en effet une relation dans le myocarde entre la concentration de la noradrénaline et celle de l'AMP cyclique (MOSKOWITZ, 1969, 1971).

Lorsque la stéatose du myocarde est provoquée par ingestion d'huile de colza, certains arguments tendent à en faire porter la pleine responsabilité à l'acide érucique puisqu'on retrouve à peu près les mêmes symptômes après administration de triérucine, tout au moins chez le Rat (ROCQUELIN, 1968 ; ABDELLATIF, 1970 *a*, 1971 *a* et *b*). Cependant, chez le caneton, les perturbations sont plus sévères avec l'huile de colza qu'avec la triérucine (ABDELLATIF, 1970 *b*) et l'huile de canbra, sans acide érucique, provoque également des lésions du myocarde (ROCQUELIN, 1969, 1973). On est ainsi amené à envisager d'autres causes et, notamment :

- un déséquilibre relatif entre les acides saturés et insaturés (ROCQUELIN, 1970),
- un trouble du métabolisme des acides gras essentiels localisé au niveau du myocarde (BEARE-ROGERS, 1963, 1972 *a* ; ROCQUELIN, 1972) bien qu'il n'ait pas été observé dans les autres organes (CARREAU, 1968 ; LAPOUS, 1970 ; CHRISTOPHERSEN, 1972).

En outre, les oxydations mitochondriales se font mal et, lorsque le rat est nourri à l'huile de colza, le rapport P/O (mesuré *in vitro*) est significativement plus faible que chez les témoins (HOUTSMUELLER, 1970). Cette inhibition des phosphorylations oxydatives pourrait provenir de ce que l'acide érucique est dégradé plus lentement que les autres acides gras ou encore de ce qu'il inhibe lui-même l'oxydation des autres acides gras.

La « sensibilisation » du myocarde à l'incorporation de l'acide érucique et à son accumulation se produit peut-être sous l'influence de certains éléments (autres acides gras ou constituants de l'insaponifiable) encore imprécisées de l'huile de colza. Notre propos n'étant en aucune façon d'aborder l'étude exhaustive des répercussions biochimiques des facteurs éventuels de perturbation, nous nous sommes simplement demandés : *a*) si le comportement spécial du myocarde, quelques jours après le début de l'administration d'huile, se produit ensuite parce qu'on poursuit le traitement au-delà du seuil de tolérance et qu'on exagère ainsi la prise l'acide érucique,

ou bien : *b*) si la structure des membranes du myocarde, acquise à ce stade sous l'impulsion d'un facteur X quelconque de l'huile ingérée, se prête alors tout aussi bien à l'incorporation et à l'accumulation excessive de n'importe quel acide gras.

Ce raisonnement nous a conduit à entreprendre en parallèle l'étude de l'incorporation de l'acide [10-¹⁴C] oléique ou de l'acide [14-¹⁴C] érucique dans le myocarde du très jeune rat soit après ingestion d'huile de colza, soit après ingestion d'huile d'olive utilisée comme témoin. Nous avons déterminé, en outre :

- la radioactivité des particules subcellulaires : noyaux, mitochondries, microsomes et celle du cytosol — en fonction de la durée d'administration des huiles,
- la radioactivité des acides érucique et oléique et celle de leurs métabolites dans les lipides du myocarde et dans ceux des mitochondries.

Les observations les plus spectaculaires de cette étude effectuée sur le rat au sevrage suggèrent une mise en condition particulière des cellules du myocarde qui s'établit de 24 à 48 heures après le début de l'administration d'huile de colza et qui se modifie ensuite. Ce conditionnement particulier des cœurs « colza » favoriserait l'accumulation d'acide oléique tout autant que celle de l'acide érucique.

TECHNIQUES EXPÉRIMENTALES

1. — Préparation des animaux

On utilise des rats mâles Wistar CF au sevrage (élevage Janvier) en lots homogènes. Ces animaux reçoivent par sonde gastrique et en plus d'un régime lipidoprive, une dose quotidienne de 0,5 (détermination de la teneur en DNA et fractionnements cellulaires) ou 1 ml d'huile de colza (C) ou d'huile d'olive (O) fournies par l'I. T. E. R. G. Vingt-quatre-heures avant le sacrifice, on administre, toujours par sonde gastrique, 1 ml d'une émulsion radioactive renfermant 5 ou 10 μ C d'acide gras marqué. Pour l'étude du métabolisme des acides gras marqués, les rats reçoivent l'émulsion radioactive sans aucun complément d'huile.

2. — Préparation de l'émulsion radioactive

On transvase dans un tube de 25 ml le contenu d'une ampoule (C. E. A., Saclay) renfermant 0,1 mC d'acide [14-¹⁴C] érucique (radioactivité spécifique = 47,15 mC/mmmole) ou d'acide [10-¹⁴C] oléique (radioactivité spécifique = 42,50 mC/mmmole) en solution dans l'hexane. On évapore l'hexane sous azote et on ajoute 10 ml d'une solution de tween/glucose composée de : glucose 5 g, tween « 20 » 1 g, eau QS pour 100 ml. On homogénéise au bain-marie à 75°C.

3. — Homogénéisation des cœurs et fractionnement cellulaire

Les rats sont sacrifiés par décapitation. On recueille le sang dont on sépare le sérum par centrifugation à 1 000 *g* pendant 5 minutes. On prélève les cœurs qui sont ouverts, vidés de leur sang, lavés dans une solution de NaCl à 9 p. 1 000. Ils sont immédiatement pesés et homogénéisés à 0°C dans une solution de saccharose 0,25 -M pH 7,2 (tampon *Tris* 0,02 M-EDTA 0,002 M).

L'homogénat est utilisé tel quel ou fractionné par ultracentrifugation différentielle. Dans ce cas, on le centrifuge à 1 000 *g* pendant 10 minutes pour obtenir une sédimentation des *noyaux*. Le surnageant (S₁) est centrifugé à 5 500 *g*, accélération qui donne le meilleur rendement en *mitochondries*, pendant 20 minutes. Le surnageant (S₂) est centrifugé à 105 000 *g* pendant une heure pour sédimenter les *microsomes*. Le surnageant (S₃) de cette dernière centrifugation est constitué du *cytosol*.

Les sédiments des différentes particules sont purifiés par lavages et recentrifugations successifs, remis en suspension dans un volume donné de tampon saccharose.

4. — *Analyses*a) *Protéines.*

Les protéines sont dosées dans les premiers essais par le biuret mais en général, selon la méthode de LOWRY (1951) après traitement par le TCA 5 p. 100 et dissolution du précipité dans 2 ml d'une solution de NaOH N.

b) *Lipides.*

Les lipides du sérum, de l'homogénat du myocarde et ceux des mitochondries sont extraits à froid selon la technique de FOLCH (1957) par le mélange chloroforme-méthanol (2/1) utilisé en volume au moins égal à 20 fois le volume de la suspension. L'extrait brut de lipides est lavé dans un mélange chloroforme-méthanol-eau (8/4/3). Les acides gras sont transestérifiés selon la méthode de LOURY (1967) et les esters méthyliques séparés sur couche mince de gel de silice imprégné de nitrate d'argent (de VRIES, 1963).

L'analyse des esters méthyliques est effectuée en chromatographie gaz-liquide (appareil Girdel 75 FD 1 — Giravions — Dorand) équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (colonne de 3 mètres, DEGS 7 p. 100 sur Chromosorb W 80/100, pression d'azote 1 bar, température d'injection 210°C, température de la colonne 190°C).

c) *Radioactivité.*

La mesure de la radioactivité des homogénats, des fractions subcellulaires et des extraits lipidiques est effectuée sur compteur à scintillation liquide (Intertechnique SL 30). Les protéines des aliquotes d'homogénat ou des fractions subcellulaires sont dissoutes par quelques gouttes d'hyamine et l'on ajoute 10 ml de solution de Bray.

La radioactivité des lipides ou de leurs esters méthyliques séparés sur couche mince est détectée et enregistrée directement au moyen du compteur proportionnel Dünnschicht Scanner Berthold type LB 2722.

RÉSULTATS

A. — RADIOACTIVITÉ DU MYOCARDE

I. — *Administration d'huiles et d'acides gras marqués homologues*

Lot O+OL* (huile d'olive + acide [10-¹⁴C] oléique).

Lot C+ER* (huile de colza + acide [14-¹⁴C] érucique).

1. *Radioactivité totale et RAS (radioactivité spécifique).*

Pour simplifier l'interprétation de ces premiers résultats, on choisit les homogénats de myocardes qui présentent approximativement la même teneur en protéines. Le tableau 1 et le graphique 1 consignent les radioactivités des cœurs 24 heures après administration de ER* ou de OL* avant qu'on ait distribué (jour 0) ou après qu'on ait fait ingérer pendant 1, 2 ou 3 jours l'huile de colza ou l'huile d'olive.

La radioactivité des échantillons est de même ordre de grandeur dans un lot et pour une durée expérimentale donnée mais présente des écarts individuels relativement importants.

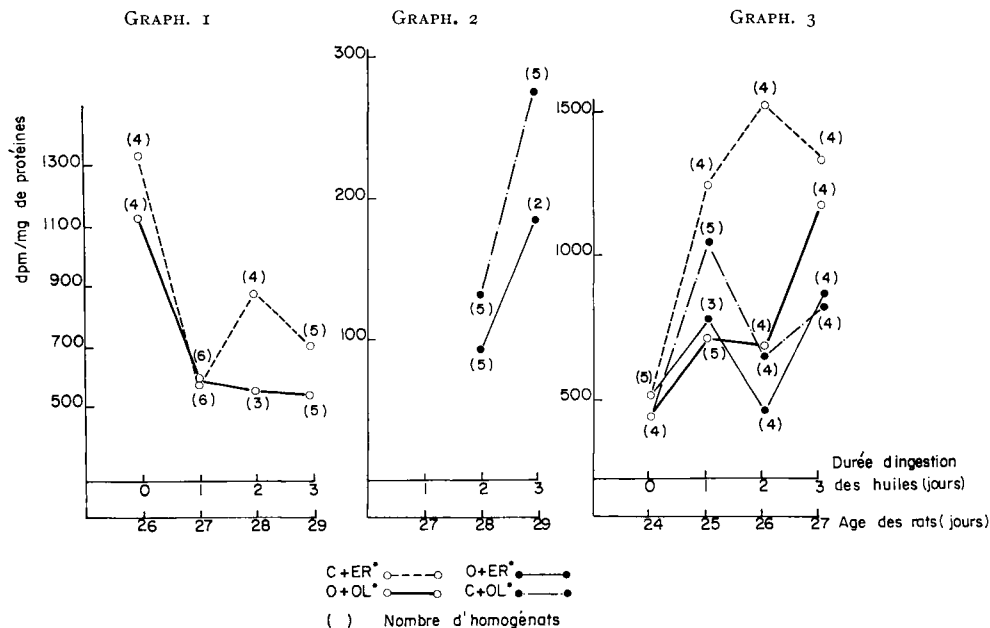
Au bout de 48 heures la radioactivité, relativement faible, atteint un état quasi stationnaire dans les myocardes O+OL*. A ce stade, l'incorporation de la radioactivité est beaucoup plus forte dans les myocardes C+ER*. Le troisième jour d'expérience, la radioactivité des cœurs de ce lot s'abaisse et rejoint celle des cœurs O+OL*. On constate donc *un comportement spécial du myocarde envers l'acide érucique marqué au cours du second jour d'administration d'huile de colza* (rats de 28 jours, 7^e jour après le sevrage).

TABLEAU I

Radioactivité des homogénats de myocarde et du plasma après ingestion d'huile et 24 h après administration d'acides gras marqués homologues (10 µC/rat)

Durée d'administration des huiles (jours)	Age des rats (jours)	Radioactivité du plasma (d.p.m./100 µl)	Radioactivité de l'homogénat		Radioactivité de l'homogénat / Radioactivité du plasma
			d.p.m./cœur	d.p.m./mg de protéines	
O + OL*					
0 (4)	26	13 047	28 825	1 123 ± 115	2,2
1 (6)	27	8 353	27 083	607 ± 77	3,2
2 (3)	28	4 326	14 933	558 ± 57	3,3
3 (5)	29	6 922	17 320	535 ± 70	2,5
C + ER*					
0 (4)	26	11 346	31 937	1 343 ± 146	2,8
1 (6)	27	4 790	15 460	578 ± 108	2,8
2 (4)	28	6 663	24 987	881 ± 264	3,7
3 (5)	29	6 152	15 047	669 ± 96	2,5

O + OL* : Huile d'olive + acide [10-¹⁴C] oléique ;
 C + ER* : Huile de colza + acide [14-¹⁴C] érucique.
 () Nombre d'échantillons.



GRAPH. 1. — Radioactivité spécifique des homogénats de myocarde

GRAPH. 2. — Radioactivité spécifique des homogénats de myocarde 24 h après administration d'acide gras marqué (5 µC)

GRAPH. 3. — Radioactivité spécifique des homogénats de Myocarde 24 h après administration d'acide gras marqué (10 µC)

2. Radioactivité du myocarde rapportée à celle du plasma.

A partir du moment où l'animal reçoit l'une des 2 huiles « colza » ou « olive », le rapport « radioactivité totale du myocarde/radioactivité de 100 μ l de plasma » s'accroît sensiblement et notamment le second jour, ce rapport est significativement plus élevé si les rats reçoivent de l'huile de colza.

II. — Administration d'huiles et d'acides gras hétérologues

Deux expériences sont conduites successivement. Dans la première, qui dure 3 jours, on inverse simplement les données de l'expérience précédente. Dans la deuxième qui dure 7 jours, on reprend l'ensemble des opérations. On administre donc l'huile d'olive soit avec OL* soit avec ER* et l'huile de colza soit avec ER* soit avec OL*.

TABLEAU 2

Radioactivité des homogénats de myocarde 24 h après administration d'acides gras marqués (5 μ C) hétérologues (1)

Durée d'administration de l'huile	Age des rats (jours)	Poids des cœurs (mg)	d.p.m. totaux	d.p.m./mg de protéines	Moyenne d.p.m./mg de protéines
2 jours	28	168 162 222 217 190	1 446 1 615 2 545 1 165 2 085	86,0 91,7 128,5 69,3 96,5	94,4
O+ER* { 1					
2					
3					
4					
5					
2 jours	28	168 191 207 167 271	4 145 1 925 2 335 2 105 2 170	195,5 125,0 101,5 146,1 90,4	131,7
C+OL* { 1.....					
2.....					
3.....					
4.....					
5.....					
3 jours	29	250 262	3 000 3 400	178,0 203,0	190,5
O+ER* { 1					
2					
3 jours	29	168 277 206 234 227	3 381 4 575 7 695 2 700 3 655	211,3 254,1 480,9 198,5 231,3	275,2
C+OL* { 1.....					
2.....					
3.....					
4.....					
5.....					

O+ER* : huile d'olive + acide [14-¹⁴C] érucique ;

C+OL* : huile de colza + acide [10-¹⁴C] oléique.

(1) On a transcrit à dessein dans ce tableau les valeurs obtenues pour chaque échantillon dans le but de mieux rendre compte des variations individuelles possibles dans ces expériences.

1. *Expérience de 3 jours.*

Lot O+ER* (huile d'olive + acide [14-¹⁴C] érucique).

Lot C+OL* (huile de colza + acide [10-¹⁴C] oléique).

Les variations individuelles de radioactivité ici encore assez fortes (tabl. 2) n'empêchent pas de constater que le myocarde des rats qui reçoivent OL* après ingestion d'huile de colza incorporent particulièrement bien l'acide gras marqué. L'accroissement de la radioactivité des cœurs C+OL* par rapport à celle des cœurs O+ER* est encore plus accentuée le 3^e jour que la veille.

2. *Expérience de 7 jours.*

Lot O+OL* (huile d'olive + acide [10-¹⁴C] oléique).

Lot O+ER* (huile d'olive + acide [14-¹⁴C] érucique).

Lot C+ER* (huile de colza + acide [14-¹⁴C] érucique).

Lot C+OL* (huile de colza + acide [10-¹⁴C] oléique).

Les résultats suggèrent de rapporter cette expérience en deux temps :

a) incorporation de la radioactivité dans les 3 premiers jours,

b) incorporation de la radioactivité à partir du 3^e et jusqu'au 7^e jour.

a) *Incorporation des acides gras marqués dans les 3 premiers jours.*

Les 2 groupes de rats (O = huile d'olive et C = huile de colza) se comportent de façon radicalement différente (tabl. 3 et graph. 3) :

TABLEAU 3

Radioactivité des homogénats de myocarde après ingestion d'huile et 24 h après administration d'acides gras marqués homologues et hétérologues (10 µC/rat)

Durée d'administration de l'huile (jours)	Moyenne poids des cœurs (mg)	Radioactivité		Age des rats (jours)	Durée d'administration de l'huile (jours)	Moyenne poids des cœurs (mg)	Radioactivité		
		d.p.m. totaux	d.p.m./mg de protéines				d.p.m. totaux	d.p.m./mg de protéines	
O+OL*					C+OL*				
0 (4)	185	7 217	449 ± 62	24	0 (4)	185	7 217	449 ± 62	
1 (5)	185	11 840	716 ± 179	25	1 (5)	193	17 702	1 049 ± 197	
2 (4)	188	12 608	690 ± 106	26	2 (4)	180	10 886	671 ± 128	
3 (4)	182	15 990	1 185 ± 252	27	3 (4)	206	14 740	846 ± 253	
O+ER*					C+ER*				
0 (5)	178	8 529	512 ± 124	24	0 (5)	178	8 529	512 ± 124	
1 (3)	182	12 848	797 ± 265	25	1 (4)	177	22 638	1 260 ± 136	
2 (4)	187	8 948	464 ± 46	26	2 (4)	177	26 699	1 578 ± 710	
3 (4)	186	13 406	860 ± 175	27	3 (4)	205	26 026	1 346 ± 285	

(*)Nombre d'échantillons.

O+OL* : huile d'olive + acide [10-¹⁴C] oléique ;

O+ER* : huile d'olive + acide [14-¹⁴C] érucique ;

C+ER* : huile de colza + acide [14-¹⁴C] érucique ;

C+OL* : huile de colza + acide [10-¹⁴C] oléique.

1° Le myocarde du groupe O présente approximativement la même RAS dans les 2 lots après administration de ER* ou de OL* avec une faible hausse après le début de l'ingestion d'huile d'olive.

2° Le myocarde du groupe C est nettement plus radioactif que celui du groupe O : la RAS s'accroît de 2 à 3 fois entre le premier et le second jour d'ingestion d'huile de colza, quel que soit l'acide marqué (ER* ou OL*) administré.

Dès le premier jour de l'administration des huiles les RAS et les radioactivités totales du myocarde des 4 lots s'étagent par ordre décroissant : C+ER*, C+OL*, O+ER* et O+OL*. Le troisième jour, est un jour de transition : les radioactivités des lots C+OL* et O+ER* sont faibles et approximativement identiques, celles des lots C+ER* et O+OL* sont nettement supérieures.

L'importance de l'incorporation de la radioactivité OL ou ER* n'est donc pas la même suivant que le myocarde provient d'un animal qui a reçu de l'huile d'olive ou de l'huile de colza.*

b) *Incorporation des acides gras marqués à partir du 4^e jour et jusqu'au 7^e jour.*

A partir du quatrième jour d'administration d'huile les résultats s'inversent (tabl. 4 et graph. 4). Les RAS des lots C+ER* et O+OL* restent relativement faibles et sans différences significatives jusqu'au 7^e jour ; les RAS des lots C+OL* et O+ER* augmentent considérablement pendant la même période.

TABLEAU 4

Radioactivité des homogénats de myocarde après ingestion d'huile et 24 h après administration d'acides gras marqués homologues et hétérologues (10 µC/rat)

Durée d'administration de l'huile (jours)	Moyenne poids des cœurs (mg)	Radioactivité		Age des rats (jours)	Durée d'administration de l'huile (jours)	Moyenne poids des cœurs (mg)	Radioactivité	
		d.p.m. totaux	d.p.m./mg de protéines				d.p.m. totaux	d.p.m./mg de protéines
O+OL*					C+OL*			
3 (4)	182	15 990	1 185 ± 252	27	3 (4)	206	14 740	846 ± 253
4 (4)	228	20 415	1 107 ± 137	28	4 (4)	194	43 612	2 640 ± 451
5 (4)	200	20 539	1 405 ± 172	29	5 (4)	208	38 861	2 667 ± 440
7 (4)	218	29 517	2 011 ± 294	31	7 (4)	212	40 030	2 763 ± 743
O+OL*					C+ER*			
3 (4)	186	13 406	860 ± 175	27	3 (4)	205	26 026	1 346 ± 285
4 (5)	190	96 607	4 675 ± 124	28	4 (4)	211	21 403	1 365 ± 296
5 (4)	204	55 404	3 284 ± 675	29	5 (4)	210	38 422	1 735 ± 197
7 (3)	213	87 106	4 470 ± 967	31	7 (4)	227	36 230	1 804 ± 235

() Nombre d'échantillons.

O+OL* : huile d'olive + acide [10-¹⁴C] oléique ;

O+ER* : huile d'olive + acide [14-¹⁴C] érucique ;

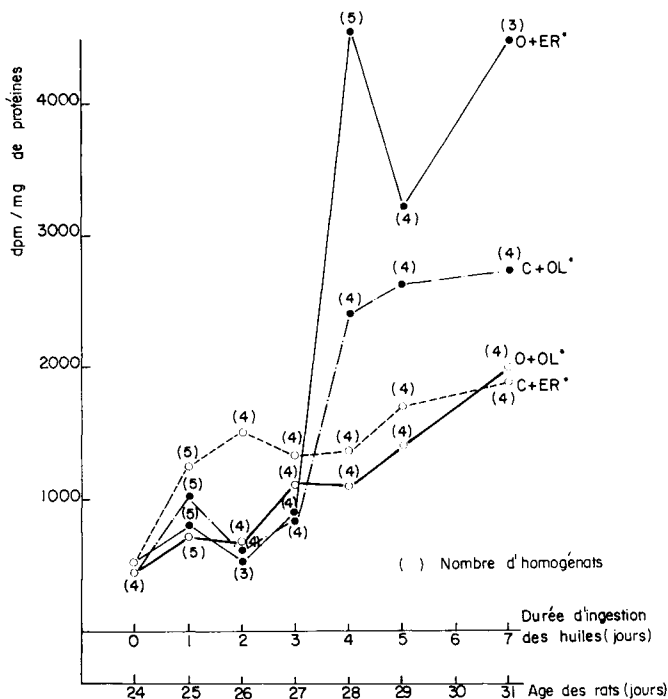
C+ER* : huile de colza + acide [14-¹⁴C] érucique ;

C+OL* : huile de colza + acide [10-¹⁴C] oléique.

Il se passe donc du 4^e au 7^e jour un phénomène inverse de ce qui a été vu au début de l'expérience mais ici encore l'importance de l'incorporation de la radioactivité OL* ou ER* n'a pas les mêmes effets suivant qu'on administre l'huile d'olive ou l'huile de colza :

— après administration de OL* : la RAS des cœurs « colza » est le double de celle des cœurs « olive »,

— après administration de ER* : la RAS des cœurs « olive » est le triple de celle des cœurs « colza ».



GRAPH. 4. — Radioactivité spécifique des homogénats de myocarde 24 h après administration d'acide gras marqué (10 µc)

c) Relation entre la radioactivité du myocarde et celle du plasma.

La radioactivité de 100 µl de plasma (tabl. 5 et graph. 5) est affectée de 0 à 7 jours des mêmes modulations biphasiques que les RAS du myocarde avec une transition au 3^e jour.

Cette relation quasi directe peut être une indication d'un comportement assez proche de l'ensemble de l'organisme vis-à-vis de ER* ou de OL* ; tout au moins dans chaque lot et dans les premières 24 h qui suivent l'ingestion des acides gras marqués.

d) Poids des cœurs et teneur en DNA.

L'augmentation de poids des cœurs dans toutes nos expériences est à peu près la même dans les différents lots (tabl. 2, 3, 4). Une exception cependant et unique-

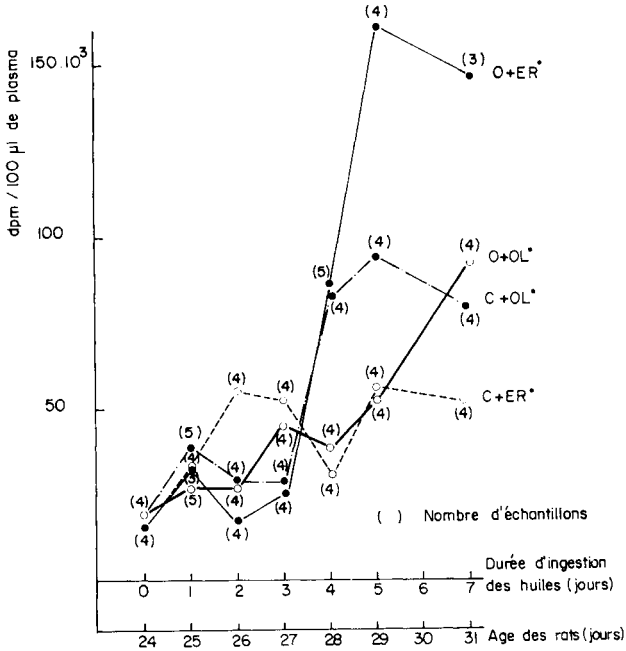
TABLEAU 5
Relation entre les radioactivités du myocarde et du plasma

Durée d'administration de l'huile (jours)	C+ER*		O+ER*		O+OL*		C+OL*	
	myocarde d.p.m./mg frais	plasma d.p.m./100 µl	myocarde d.p.m./mg frais	plasma d.p.m./100 µl	myocarde d.p.m./mg frais	plasma d.p.m./100 µl	myocarde d.p.m./mg frais	plasma d.p.m./100 µl
0	48 (4)	14 936	48 (5)	14 936	40 (4)	18 412	40 (4)	18 412
1	128 (4)	32 715	71 (3)	31 099	65 (5)	27 351	91 (5)	37 960
2	150 (4)	55 637	49 (4)	16 781	68 (4)	26 417	60 (4)	27 073
3	124 (4)	52 248	75 (4)	24 029	92 (4)	44 904	72 (4)	28 617
4	114 (4)	30 613	398 (5)	86 070	90 (4)	37 754	222 (4)	84 209
5	184 (4)	55 639	266 (4)	161 388	102 (4)	54 798	190 (4)	94 967
7	159 (4)	51 578	393 (3)	146 188	138 (4)	92 859	185 (4)	79 592

(*) Nombre d'échantillons.

O+OL* : huile d'olive + acide [10-¹⁴C] oléique ;
 O+ER* : huile d'olive + acide [14-¹⁴C] érucique ;
 C+OL* : huile de colza + acide [14-¹⁴C] oléique ;
 C+ER* : huile de colza + acide [10-¹⁴C] érucique.

ment dans la dernière expérience où, au 3^e jour, les cœurs « colza » sont plus lourds que les cœurs « olive » (différence significative de 12 p. 100). Ce phénomène ne se renouvelle pas au-delà et l'on peut croire qu'il s'agit d'un engorgement du myocarde par certains éléments migrants, phénomène non invraisemblable si l'on se réfère à leur teneur en DNA.



GRAPH. 5. — Radioactivité du plasma 24 h après administration d'acide gras marqué (10 µc)

TABLEAU 6

Teneur en DNA total des homogénats de cœurs (µg) après ingestion d'huile

Durée d'administration des huiles (jours)	Age des rats (jours)	Huile administrée (0,5 ml/jour)		Δ (%)
		olive	colza	
0	26	374 (3) ± 38	374 (5) ± 38	—
1	27	285 (6) ± 24	409 (6) ± 56	43
2	28	309 (3) ± 31	458 (5) ± 12	48
3	29	270 (5) ± 32	360 (4) ± 33	33

() Nombre d'échantillons.

Le dosage de la teneur en DNA des cœurs dont les résultats figurent au tableau 6 est effectué après avoir distribué aux rats une dose quotidienne de 0,5 ml d'huile.

Un jour après le début de l'ingestion d'huile la teneur en DNA des cœurs « colza » est plus forte que celle des cœurs « olive » ; cette différence s'accroît le second jour et paraît régresser ensuite.

B. — RADIOACTIVITÉ DES FRACTIONS SUBCELLULAIRES DU MYOCARDE

Les fractions subcellulaires du myocarde ont été préparées après avoir administré 0,5 ml d'huile de colza ou d'huile d'olive pendant 0, 1, 2 ou 3 jours. Les rats reçoivent une dose unique de 10 μ C de ER* ou de OL* vingt-quatre heures avant leur sacrifice. L'étude porte sur les 2 lots : C+ER* et O+OL* (tabl. 7).

TABLEAU 7

Radioactivité spécifique des fractions subcellulaires du myocarde après ingestion d'huile et 24 h après administration d'acides gras marqués homologues (10 μ C/rat)

Durée d'administration des huiles (jours)	Noyaux	Mitochondries	Microsomes	Cytosol	$\frac{\text{Cytosol}}{100 \mu\text{l Plasma}} \times 100$
O+OL*					
0	(4) 685 \pm 117	(4) 1 310 \pm 216	(4) 1 568 \pm 334	(4) 1 207 \pm 197	9
1	(6) 677 \pm 15	(6) 1 322 \pm 176	(6) 1 310 \pm 125	(6) 1 335 \pm 125	16
2	(3) 490 \pm 84	(3) 654 \pm 144	(3) 942 \pm 208	(3) 901 \pm 148	21
3	(5) 774 \pm 117	(3) 896 \pm 117	(3) 1 608 \pm 423	(5) 1 151 \pm 158	16
C+ER*					
0	(5) 1 004 \pm 132	(5) 1 883 \pm 371	(5) 2 209 \pm 356	(5) 1 453 \pm 175	13
1	(6) 855 \pm 130	(5) 1 753 \pm 335	(6) 1 928 \pm 405	(6) 1 017 \pm 114	21
2	(5) 1 246 \pm 323	(4) 3 535 \pm 671	(5) 2 192 \pm 388	(5) 2 170 \pm 235	32
3	(6) 1 211 \pm 436	(5) 2 943 \pm 890	(6) 1 239 \pm 231	(6) 2 219 \pm 416	30

(*) Nombre d'échantillons.

O+OL* : huile d'olive + acide [^{14}C] oléique ;

C+ER* : huile de colza + acide [^{14}C] érucique.

1. — Lot : O+OL*

Le jour 0 et le premier jour d'administration d'huile d'olive, les RAS des fractions subcellulaires sont approximativement identiques, à l'exception de celle des noyaux, moins marqués. Le deuxième jour toutes les RAS s'infléchissent de 30 à 50 p. 100 et augmentent à nouveau le troisième jour, notamment dans les microsomes.

2. — Lot : C+ER*

Les fractions subcellulaires sont d'emblée plus radioactives que dans le lot précédent et, le jour 0 les RAS s'étagent par ordre décroissant : microsomes, mito-

chondries, cytosol, noyaux. Un jour après le début de l'administration d'huile de colza, toutes les RAS s'infléchissent, les microsomes restant les plus radioactifs. Le second jour, remontée nette de l'ensemble des RAS et, à partir de ce stade les mitochondries sont, de loin, les plus radioactives.

En résumé :

— le point d'inflexion des RAS se situe le premier jour dans les fractions C+ER*, le deuxième jour dans les fractions O+OL*

— le jour 2, la RAS des mitochondries O+OL* est à son minimum alors qu'elle atteint justement à ce stade un très large maximum dans le lot C+ER*,

— les microsomes sont très radioactifs, parfois même plus radioactifs que les mitochondries,

— la RAS du cytosol est toujours élevée, à tous les stades considérés, surtout si l'animal a reçu de l'huile de colza ; si la RAS du cytosol est rapportée à la radioactivité du plasma, la différence entre le lot C+ER* et le lot O+OL* s'accroît encore.

C. — RADIOACTIVITÉ DES LIPIDES DU MYOCARDE

I. — Lipides de l'homogénat total

La figure 1 reproduit un enregistrement potentiométrique de la radioactivité des lipides du myocarde, comparée à celle des lipides du sérum, 24 heures après administration de ER* ou de OL* donné en émulsion par intubation gastrique (dans cette expérience les rats ne reçoivent aucun complément d'huile).

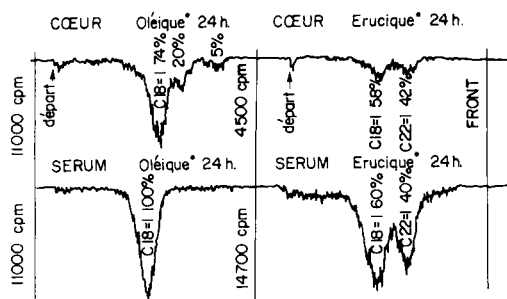


FIG. 1. — Enregistrement de la radioactivité des esters méthyliques (Dünschicht Scanner II Berthold LB 2722)

Plaques de gel de Silice + AgNO₃

A ce stade et dans le lot OL*, un seul pic au niveau de l'oléique dans les lipides du sérum. Dans le cœur, on trouve également le pic de l'oléique (74 p. 100) mais aussi une proportion importante de la radioactivité dans les produits de son métabolisme : monoènes à chaîne longue (20 p. 100) et acides gras saturés (5 p. 100).

A ce stade également dans le lot ER* plus de la moitié de la radioactivité ¹⁴C retrouvée est présente sur l'acide oléique.

48 heures après administration de OL*, la radioactivité de l'acide oléique du cœur est moins forte que le premier jour, celle des autres acides gras augmente

(tabl. 8). Le métabolisme de ER* s'effectue, semble-t-il, moins vite le 2^e jour que dans les premières 24 heures puisque le rapport des radioactivités érucique/oléique est approximativement le même qu'auparavant (tabl. 8).

TABLEAU 8

Répartition de la radioactivité dans les lipides du sérum et du myocarde (p. 100)

	C ₁₈ = 1	C ₂₀ = 1	C ₂₂ = 1	Acides gras saturés
<i>Sérum</i>				
Oléique 10- ¹⁴ C				
Après 24 h	100	—	—	—
Après 48 h	80	—	—	20
Érucique 14- ¹⁴ C				
Après 24 h	60	—	40	—
Après 48 h	90	—	traces	traces
<i>Cœur</i>				
Oléique 10- ¹⁴ C				
Après 24 h	74	20	—	5
Après 48 h	56	35	—	7
Érucique 14- ¹⁴ C				
Après 24 h	58	—	42	—
Après 48 h	55	—	45	—

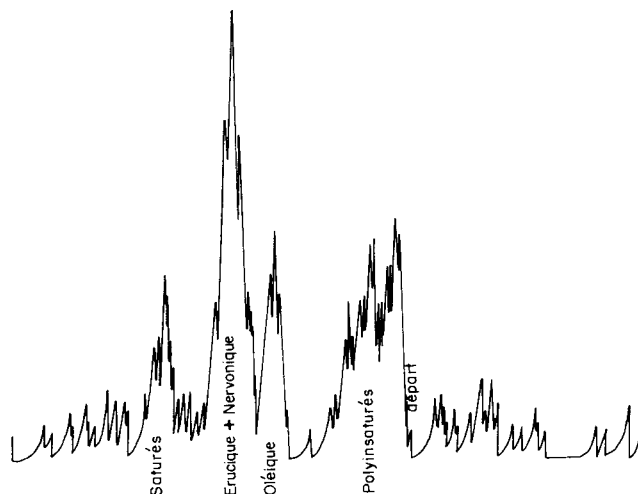


FIG. 2. — Enregistrement de la radioactivité des esters méthyliques des lipides mitochondriaux (Dünnschicht Scanner II Berthold LB 2722)

Plaque de gel de silice + nitrate d'argent. Migration : benzène-éther de pétrole (40-60°) : 85/15

II. — *Lipides des mitochondries*

L'enregistrement de la radioactivité des lipides des mitochondries (C+ER*) obtenus par extraction d'un nombre important de préparations (8 à 10 échantillons réunis après sédimentation à 5 500 g) corrobore et complète les indications fournies par les lipides de l'homogénat. L'acide érucique est encore très fortement marqué 72 heures après le début de l'administration d'huile de colza et 4 jours après avoir fourni une dose unique de ER* (48 p. 100 de la radioactivité totale des lipides). En outre, la radioactivité des acides gras polyinsaturés est importante.

DISCUSSION

Des observations effectuées au cours de cette étude, certaines — concernant l'oxydation de l'acide érucique — apportent simplement confirmation à nos recherches antérieures (CARREAU, 1968), et à celles de plusieurs autres laboratoires (HOUTSMUELLER, 1970 ; BOUCROT, 1973). Il en est ainsi également de l'augmentation de taille du cœur sous l'influence d'un régime riche en huile de colza.

Le travail actuel met l'accent sur plusieurs phénomènes. Il ne semble pas que l'accroissement de la masse cardiaque, quand il existe, persiste au-delà du 3^e jour d'expérience chez le rat au sevrage. Dans aucun des lots expérimentés on ne peut faire état de différences significatives entre les poids des cœurs du 4^e et le 7^e jour d'administration d'huile de colza ou d'olive. Il pourrait donc s'agir en-deçà du 4^e jour de la présence d'éléments lymphomono- ou histiocytaires qui accroîtraient momentanément la teneur en DNA du myocarde. Cette réaction inflammatoire, 24 à 48 heures après le début de l'ingestion d'huile de colza, pourrait être provoquée par l'arrivée inopinée de substances atypiques sur les structures en voie de formation.

On admet depuis longtemps que la configuration d'un acide gras conditionne sa rapidité d'extraction de la circulation : plus la chaîne hydrocarbonée est longue, plus le myocarde a de difficultés à l'extraire. Toutefois, cette interprétation d'expériences déjà classiques ne tient aucun compte du conditionnement biochimique préalable des animaux. Il est pourtant de toute évidence, d'après nos résultats que la structure des lipides de réserves et celle des lipides membranaires jouent un rôle de premier plan dans l'incorporation des acides gras marqués, dans leur transfert transmembranaire notamment au niveau des mitochondries, dans l'équilibre fonctionnel des organelles, au cours des oxydations, etc.

Le cœur du rat nouveau-né ou récemment sevré est encore pauvre en cytochrome-oxydase (DEHAAN, 1961), riche en glycogène, comme durant la vie fœtale. Il conserve les propriétés fonctionnelles du muscle lisse et dépend étroitement de la glycolyse. Sa capacité de dégradation des acides gras à longue chaîne est assez faible en raison d'une relativement basse activité acylCoA-carnitine transférase associée à un taux minime de carnitine libre (WITTELS, 1965). La forte radioactivité des mitochondries « colza » de nos très jeunes animaux ne plaide pourtant pas en faveur d'une difficulté de transfert de OL* ou de ER* vers les sites d'oxydation mais plutôt pour l'hypothèse d'un ralentissement de leur dégradation.

In vitro, la synthèse enzymatique des lipides est bien plus efficace pour l'élongation et la désaturation des acides gras du myocarde que pour la synthèse *de novo* à partir de l'acétate (CHRIST, 1962 ; HULSMANN, 1966 ; WHEREAT, 1967). Ce processus paraît fonctionner parfaitement *in vivo* puisqu'on trouve des acides gras longs polyinsaturés et pratiquement pas d'acides saturés radioactifs dans les mitochondries après administration de ER*. Selon certains auteurs la présence de ces acides gras à longue chaîne provoquerait une inhibition du système oxydatif des mitochondries suivant un processus encore inexpliqué.

Par ailleurs, on sait que le muscle squelettique renferme des lipides en plus ou moins forte proportion et une lipase des triglycérides. D'après certains auteurs, le muscle cardiaque renfermerait également une lipase hormono-sensible qui répondrait au système à double messenger. Dans une courte expérience rapportée par ailleurs (CRESTEIL, 1972) nous pressentons une inhibition de l'adénylate cyclase du myocarde par les acides gras à longue chaîne des phospholipides membranaires. La diminution de l'activité de base suggère aussi une réduction de la synthèse endogène des catécholamines. Leur formation serait perturbée par un quelconque constituant de l'huile de colza qui s'opposerait aux transferts de substrats entre les sites de synthèse dans la cellule du myocarde. L'hypothèse est d'autant plus plausible qu'une accumulation d'acides gras estérifiés a déjà été observée (WELCH, 1958) à la suite de la dénervation sympathique du cœur. Si la déficience de la synthèse endogène de catécholamines peut entraîner une réduction significative de la lipolyse de base, par défaut de stimulation de l'adénylate cyclase membranaire, une inactivation de l'enzyme peut aussi provenir d'une élimination des ions Ca^{++} qui forment facilement des complexes insolubles avec l'acide érucique.

CONCLUSION

Différents travaux indiquent que l'acide érucique est rapidement converti en acide oléique dans le foie (CARREAU, 1968) mais qu'il est oxydé plus lentement dans la rate (LAPOUS, 1970) et incomplètement au niveau du myocarde (BEARE-RODGERS, 1970, 1971, 1972 a et b). Nous nous sommes alors demandés si le phénomène pouvait provenir de ce que le muscle cardiaque l'incorpore plus facilement que les autres acides gras et s'il est extrait sélectivement de la circulation.

Lorsque le rat reçoit de l'huile de colza par intubation gastrique et qu'on lui administre par la même voie 24 heures avant le sacrifice une dose unique de ER* en émulsion, la radioactivité totale du myocarde comme la radioactivité spécifique rapportée aux protéines (RAS) est particulièrement forte vers la 48^e heure d'expérience. Cette RAS élevée concerne les mitochondries et les microsomes. Le cytosol est aussi très radioactif, les noyaux le sont moins (KETEVI, 1973). On peut ainsi admettre que le myocarde du jeune rat est spécialement réceptif à ER* dans les 48 heures qui suivent le début de l'ingestion d'huile de colza. Cette sensibilisation accrue du muscle provient vraisemblablement à ce stade d'une configuration particulière des phospholipides des membranes en voie d'édification.

En fait, si l'on administre une dose unique de OL* en émulsion 24 heures avant le sacrifice des rats qui ont reçu de l'huile de colza cet acide est aussi fortement incorporé, si ce n'est plus que ER*, et le phénomène ne se produit pas chez le témoin à l'huile d'olive.

Au-delà du 4^e jour d'expérience et jusqu'au 7^e jour, les phénomènes sont inversés :

— le myocarde « colza » saturé d'acide érucique accepte mal ER* en surcharge et le myocarde « olive » saturé d'acide oléique accepte mal OL* en surcharge — en conséquence, la RAS des cœurs est faible et quasi identique dans ces 2 lots ;

— par contre, la RAS des myocardes O+ER* et C+OL* est considérable.

A ce stade et après administration d'une dose de OL*, la RAS est 2 fois plus forte chez les rats « colza » que chez les rats « olive » ; elle est 3 fois plus forte chez les rats « olive » que chez les rats « colza » après administration d'une dose de ER*.

24 heures après administration de ER*, plus de la moitié de la radioactivité retrouvée est présente sur OL* mais le métabolisme de ER* semble stationner à ce stade puisqu'à la 48^e heure le rapport ER*/OL* est toujours le même. Au 3^e jour, les lipides des mitochondries sont encore lourdement chargés d'acide érucique. Des acides gras longs insaturés radioactifs (provenant de l'élongation de ER*) existent également, ils pourraient être des éléments de perturbation des oxydations mitochondriales puisque le transfert transmembranaire intramitochondrial de ER* ou de OL* semble s'effectuer parfaitement.

Enfin, nous avons remarqué une augmentation de poids et de teneur en DNA des cœurs « colza » par rapport aux témoins « olive ». Ce symptôme congestif paraît transitoire et ne se produit plus, dans nos conditions d'expérience, au-delà du 3^e jour d'ingestion d'huile de colza (rats de 27 ou 28 jours).

Reçu pour publication en novembre 1973.

REMERCIEMENTS

Avec l'aide, les conseils et la collaboration de : J. RAULIN, M. LAUNAY, M. F. GOUREAU COUNIS, J. P. CARREAU, R. COUNIS et T. CRESTEIL.

SUMMARY

SENSITIVITY OF THE RAT MYOCARDIUM TO EXCESSIVE INCORPORATION OF [14-¹⁴C] ERUCIC ACID OR [10-¹⁴C] OLEIC ACID AFTER INGESTION OF RAPESEED OIL

The incorporation of [14-¹⁴C] erucic acid or [10-¹⁴C] oleic acid (ER* or OL*) was studied in hearts of rats just a few days after weaning. All determinations indicate that rate of myocardial incorporation, accumulation and metabolization are essentially dependent on the membrane and particle biochemical state.

When rapeseed oil (C) is given *per os* with a single tracer dose of ER* (24 hours before slaughter), specific radioactivity (RAS) is very high on the second day of the experiment and incorporation very marked in the mitochondria, microsomes and cytosol. When OL* is administered instead of ER* in the group C, myocardial RAS is as high as with ER* and sometimes even higher, whereas these high RAS are not observed in control animals which receive olive oil (group O).

From the 4th to the 7th day of C and O administration, opposite responses are observed. At this stage, the C hearts are overloaded with erucic acid, and the incorporation of ER* is relatively low. Similarly, in group O hearts are overloaded with oleic acid and the incorporation of OL* is low. However, ER* is more easily incorporated in the O group, and OL* is really strongly incorporated in the myocardium C group.

The metabolism of ER* and OL* is studied by radioscaning in the 2 groups (C and O) of myocardial and mitochondrial lipids. More than half of the ER* is already converted into OL* one day after administration. On the second day, the ER*/OL* ratio is still almost identical, indicating an obvious slackening in the ER* metabolization at this stage. On the third day, mitochondrial lipids contain 48 percent of ER* and long-chain unsaturated fatty acids are very radioactive.

Enlargement and DNA content increase in the heart C group as compared to O could be due to a transitory input of lymphomonocytic or histiocyte elements.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ABDELLATIF, A. M. M., VLES R. O., 1970 a. Physiopathological effects of rapeseed oil and canbra oil in rats. *Proc. Internat. Conf. Science, Technology and Marketing of rapeseed and rapeseed products. Ste. Adèle Canada, September 20-23*, 423-434.
- ABDELLATIF, A. M. M., VLES R. O., 1970 b. Pathological effects of dietary rapeseed oil in ducklings. *Nutr. Metabol.*, **12**, 296-305.
- ABDELLATIF A. M. M., VLES R. O., 1971 a. The effects of various supplements on nutritional and pathogenic characteristics of diets containing erucic in ducklings. *Nutr. Metabol.*, **13**, 65-74.
- ABDELLATIF, A. M. M., VLES R. O., 1971 b. Long term pathological effects of dietary rapeseed oils in rats and rabbits. Unilever Research Vlaardingen. The Netherlands 1971.
- BEARE J. L., CAMPBELL J. A., YOUNGS C. G., CRAIG B. M., 1963. Effects of saturated fat in rats fed rapeseed oil. *Can. J. Biochem. Physiol.*, **41**, 605-612.
- BEARE-ROGERS, J. L., 1970. Nutritional aspects of long chain fatty acids. *Proc. Internat. Conf. on the Science, Technology and Marketing of rapeseed and rapeseed products. Ste. Adèle Canada, September 20-23*, 450-465.
- BEARE-ROGERS J. L., NERA E. A., HEGGTVEIT H. A., 1971. Cardiac lipid changes in rat fed oil containing long chain fatty acids. *Can. Inst. Food. Tech. J.*, **4**, 120-124.
- BEARE-ROGERS J. L., NERA E. A., CRAIG B. M., 1972 a. Accumulation of cardiac fatty acids in rats fed synthesized oils containing C₂₂ fatty acids. *Lipids*, **7**, 46-50.
- BEARE-ROGERS J. L., NERA E. A., 1972 b. Cardiac fatty acids and histopathology of rats, pigs, monkeys and gerbils fed rapeseed oil. *Comp. Biochem. Physiol.*, **41 B**, 793-800.
- BING R. J., 1954. The metabolism of the heart. *Harvey Lect.* **50**, 27-70.
- BOUCROT P., BEZARD, J., 1973. Incorporation et transformations métaboliques de l'acide érucique-¹⁴C *in vivo* dans les lipides de plusieurs organes et tissus de rats soumis à un régime à base d'huile de colza ou de canbra ou d'arachide. *Arch. Sci. Physiol.*, **27**, 1-24.
- CARLSTEN A., HALLGREN B., JAGENBURG R., SVANBORG A., WERKO L., 1961. Myocardial metabolism of glucose, lactic acid, aminoacids and fatty acids in healthy human individuals at rest and at different work loads. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, **13**, 418-428.
- CARLSTEN A., HALLGREN B., JAGENBURG R., SVANBORG A., WERKO L., 1963. Myocardial arteriovenous differences of individual free fatty acids in healthy human individuals. *Metabolism*, **12**, 1063-1071.
- CARREAU J. P., THORON A., LAPOUS D., RAULIN J., 1968. Métabolisme de l'acide érucique : conversion en acide oléique. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **50**, 1973-1981.
- CHRIST E. J., HULSMAN W. C., 1962. Synthesis of long-chain fatty acids by mitochondrial enzymes. *Biochim. Biophys. Acta*, **60**, 72-79.
- CHRISTOPHERSEN B. O., BREMER J., 1972. Erucic acid — an inhibitor of fatty acid oxidation in the heart. *Biochim. Biophys. Acta*, **280**, 506-514.
- CRESTEIL T., KETEVİ P., LAPOUS D., 1972. Modulation de l'activité adénylate cyclase du cœur de rat par ingestion d'huile de colza. *C. R. Ac. Sci.*, **275**, 1443-1446.
- DEHAAN, R. L., 1961. Differentiation of the atrioventricular conducting system of the heart. *Circulation*, **24**, 458-470.
- EVANS J. R., 1964 a. Importance of fatty acid metabolism in myocardial metabolism. *Circulation Research*, suppl. II, **14-15**, 96-108.
- EVANS J. R., 1964 b. Cellular transport of long-chain fatty acids. *Can. J. Biochem.*, **42**, 955-969.
- 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.
- FRIEDBERG S. J., BRESSLER R., 1965. The formation and isolation of long-chain acyl carnitines in mitochondria. *Biochim. Biophys. Acta*, **98**, 335-343.
- FRITZ I. B., YNE K. T. N., 1963. Long-chain carnitine acyl transferase and the role of acylcarnitine derivatives in the catalytic increase of fatty acid oxidation induced by carnitine. *J. Lipid. Res.*, **4**, 279-288.

- GORDON R. S., CHERKES A., 1956. Unesterified fatty acids in human blood plasma. *J. Clin. Invest.*, **35**, 206-212.
- HOUTSMULLER U. M. T., STRUIJK C. B., VAN DER BEEK, A., 1970. Decrease in rate of ATP synthesis of isolated rat mitochondria induced by dietary erucic acid. *Biochim. Biophys. Acta*, **218**, 564-566.
- HULSMANN W. C., 1966. On the synthesis of malonyl CoA in rabbit heart sarcosomes. *Biochim. Biophys. Acta*, **125**, 398-400.
- KETEVI P., LAPOUS D., LORIETTE C., 1973. Huile de colza marquée et radioactivité des éléments subcellulaires du myocarde. *J. Physiol.*, **67**, 200-201 A.
- LAPOUS D., CARREAU J. P., RAULIN J., 1970. Métabolisme de l'acide érucique : sort de l'acide érucique ^{14}C dans différents organes et fractions subcellulaires du Rat. *Arch. Sc. Physiol.*, **24**, 125-131.
- LOURY M., 1967. Une méthode générale permettant la transformation rapide des corps gras en esters méthyliques. *Rev. Fse. Corps Gras.*, **6**, 383-386.
- LOWRY Q. H., ROSEBROUGH N. J., FARR A. L., RANDALL R. J., 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265-275.
- MARQUIS N. R., FRITZ I. B., 1964. Enzymological determination of free carnitine concentrations in rat tissues. *J. Lipid. Res.*, **5**, 184-187.
- MOSKOWITZ J., FAIN J. N., 1969. Hormonal regulation of lipolysis and phosphorylase activity in human fat cells. *J. Clin. Invest.*, **48**, 1802-1808.
- MOSKOWITZ J., HARWOOD J. P., FORN J., KRISHNA G., RODGERS B., MORROW A., 1971. Effect of noradrenaline and prostaglandin E_1 , on adenosine $3'$, $5'$ -monophosphate formation in isolated pericardial fat cells of man. *Nature New Biol.*, **230**, 214-215.
- OPIE L. H., Metabolism of the heart in health and disease.
Part I. *Am. Heart J.*, 1968, **76**, 685-698.
Part II. *Am. Heart J.*, 1969a, **77**, 100-122.
Part III. *Am. Heart J.*, 1969b, **77**, 383-410.
- PANDE S. V., MEAD J. F., 1968. Distribution of long-chain fatty acid activating enzymes in rat tissues. *Biochim. Biophys. Acta*, **152**, 636-638.
- 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. I) Effets sur la croissance, l'efficacité alimentaire et l'état des différents organes. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, **8**, 395-406.
- ROCQUELIN G., CLUZAN R., LECLERC J., Prague 1969. *Communication présentée au VIII^e Congrès International de Nutrition.*
- ROCQUELIN G., MARTIN B., CLUZAN R., 1970. Comparative physiological effects of rapeseed and canbra oils in the rat : influence of the ratio of saturated to monounsaturated fatty acids. *Proc. Internat. Conf. on the Science, Technology and Marketing of rapeseed and rapeseed products. Ste. Adèle Canada, September 20-23 405-422.*
- ROCQUELIN G., SIERGEL J. P., MARTIN B., LECLERC J., CLUZAN R., 1971. The nutritive value of refined rapeseed oils : a review. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **48**, 728-732.
- ROQUELIN G., 1972. L'huile de colza et l'huile de canbra : effets à très court terme sur les lipides cardiaques et hépatiques du rat sevré. *C. R. Ac. Sci.*, **274**, 592-595.
- ROCQUELIN G., CLUZAN R., VODOVAR N., LEVILLAIN R., 1973. Recherches récentes sur les effets physiopathologiques des huiles de colza et de canbra au niveau du myocarde et d'autres organes. *Cah. Nutr. Diet.*, **8**, 103-116.
- SCHUEER J., OLSON R. I., 1967. Metabolism of exogenous triglycerides by the isolated perfused rat heart. *Am. J. Physiol.*, **212**, 301-307.
- VLES R. O., ABDELLATIF A. M. M., 1970. Long term effects of rapeseed oil in rats and rabbits. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **47**, (Abstract 207).
- VRIES (de) B., JURRIENS G., 1963. Trennung von Lipiden mittels Dünnschicht-Chromatographie auf Silbernitrat imprägnierten Kieselgel. *Fette, Seifen, Anstrich*, **65**, 725-727.
- WELCH C. H. JR, BRAUNWALD E., CASE R. B., SARNOFF S. J., 1958. The effect of mephentermine sulphate on myocardial oxygen consumption, myocardial efficiency and peripheral vascular resistance. *Am. J. Med.*, **24**, 871-881.
- WHEREAT A. F., HULL F. E., ORISHIMO M. W., RABINOWITZ J. L., 1967. The role of succinate in the regulation of fatty acid synthesis by heart mitochondria. *J. Biol. Chem.* **242**, 4013-4022.
- WITTELS B., BRESSLER R., 1965. Lipid metabolism in the newborn heart. *J. Clin. Invest.*, **44**, 1639-1646.
- WILLEBRANDS A. F., 1964 a. Utilization of individual non-esterified fatty acids by the isolated perfused rat heart. *Biochim. Biophys. Acta*, **84**, 607-610.
- WILLEBRANDS A. F., 1964 b. Myocardial extraction of individual non esterified fatty acids, esterified fatty acids and aceto-acetate in the fasting human. *Clin. Chim. Acta*, **10**, 435-446.