

Influence de régimes hyperlipidiques sur les relations entre cholestérol libre des HDL et des LDL et cholestérol et sels biliaires sécrétés dans la bile de rats, par Françoise CHANUSSOT, Christine DUPUY, Christiane CHABERT, Huguette LAFONT, J. C. HAUTON, H. PORTUGAL (*), Anne Marie PAULI (*). *INSERM U 130, 10, avenue Viton, 13009 Marseille.* (*) *Laboratoire Central, hôpital Sainte-Marguerite, 13009 Marseille.*

La participation importante du cholestérol libre (C) des HDL dans la sécrétion du C biliaire, ainsi que celle du C des LDL dans la sécrétion des sels biliaires dans la bile, avaient été mises en évidence dans un travail antérieur chez le rat (Dupuy *et al.*, 1985).

L'objectif du présent travail est d'étudier l'influence de régimes hyperlipidiques (28 %) et hypercholestéroliques (1,2 %) à graisses saturées (lard) L ou à graisses polyinsaturées (huile de maïs) M sur le devenir du cholestérol libre apporté par les lipoprotéines dans la sécrétion biliaire. Ces régimes ont été administrés pendant 4 semaines. A l'issue de cette période, des HDL et des LDL préalablement isolées de sérum de rats ont été marquées avec du cholestérol-carbone 14 selon une technique décrite précédemment (Dupuy *et al.*, 1985).

Quatre groupes de rats ont été constitués : — groupe L HDL ; — groupe L LDL ; — groupe M HDL ; — groupe M LDL.

Résultats. — La majeure partie de la radioactivité se trouve dans le foie (25 à 35 %) et dans la bile (10 à 40 %) à l'issue de l'expérience, des quantités résiduelles de radioactivité étant détectées dans le plasma, les globules rouges et la rate dans tous les groupes. En radioactivité spécifique : le cholestérol des groupes L et M est éliminé très rapidement dans la bile (30 min) à partir des HDL, plus lentement à partir des LDL (1 h 30).

Les radioactivités spécifiques des sels biliaires sont plus faibles que celle du C. Les radioactivités spécifiques des groupes M-HDL et L-HDL ont des valeurs comparables qui sont plus élevées que celles des groupes M-LDL et L-LDL (C et sels biliaires — à 30 min et 1 h 30).

Conclusions. — Comme dans ces conditions expérimentales la synthèse du cholestérol est inhibée, nos travaux sembleraient indiquer qu'il existerait chez le rat une régulation de l'élimination préférentielle du C alimentaire, par la bile, sous forme de C libre et de sels biliaires.

Avec de tels régimes, les quantités de cholestérol estérifié et libre dans le foie sont très supérieures à celles d'un régime normolipidique. Il pourrait ainsi exister une régulation nutritionnelle d'activité de la cholestérol estérase et de l'ACAT intrahépatiques, puisque la radioactivité apparaît pratiquement uniquement sous forme de C ou de sels biliaires dans la bile et non sous forme de C estérifié dans la plasma.

Dupuy C., Chanussot F., Lafont H., Chabert C., Hauton J. C., 1985. Relation entre le cholestérol libre transporté par les HDL et LDL et le cholestérol et les sels biliaires sécrétés dans la bile de rat. *Regards sur la Biochimie*, 1, 51.

Hydrolyse d'un substrat mixte intralipide par la lipase et la phospholipase A₂ pancréatique, par Monique CHARBONNIER, Renée GRATAROLI, G. NALBONE, D. LAIRON, Huguette LAFONT. *INSERM U 130, 10, avenue Viton, 13009 Marseille, France.*

Comme modèle de l'émulsion physiologique au niveau de la lumière intestinale nous avons utilisé l'intralipide (triglycérides recouverts de phospholipides (PL)). L'intralipide est incubé avec les sels biliaires (SB) dans un rapport SB/PL = 2 ou 4. Après chromatographie en filtration sur gel équilibré en sels biliaires 1,2 mM, les produits de l'émulsion se partagent

de la même façon qu'« *in vivo* » en deux phases : une phase émulsifiée et une phase micellaire. Nous avons tenté de mimer « *in vitro* » le processus de la lipolyse en ajoutant à l'incubation les enzymes pancréatiques : lipase + colipase et/ou phospholipase A₂. D'une part, nos travaux antérieurs ont démontré que la phospholipase A₂ pancréatique se fixe à 90 % sur la phase micellaire et ce quei que soit le type de substrat physiologique et d'autre part certains auteurs ont observé en « bulk » une synergie d'action entre la phospholipase A₂ et la lipase pancréatique. Nous avons donc étudié dans un premier temps le comportement de ces deux enzymes lorsqu'elles sont co-incubées avec le substrat mixte intralipide en présence de sels biliaires et, dans un deuxième temps, nous avons suivi le devenir de cette émulsion au cours de la digestion en fonction de la concentration en SB et de son taux d'hydrolyse. Notre étude est faite par filtration sur gel A4 équilibré en SB (1,2 mM). Les incubations sont effectuées à 4 °C à pH 7 à des rapports définis SB/PC (égal à 4 ou à 2) ; deux quantités de lipase (saturées en colipase) sont utilisées. Les triglycérides de l'intralipide sont marqués par de la trioléine ¹⁴C afin de quantifier le taux d'hydrolyse et les produits de la lipolyse au cours de la chromatographie. La lipase + (co-lipase) incubée avec l'intralipide (taux d'hydrolyse 50 %) induit l'apparition d'une phase lipidique intermédiaire (K_{av} : 0.32) entre la phase émulsifiée (V₀) et la phase micellaire (K_{av} = 0.74). La composition des trois phases est donnée dans le tableau 1. La phase intermédiaire peut être rapprochée de la phase liquide cristalline observée par Carey et Patton pendant l'hydrolyse des triglycérides. L'équilibre entre ces phases est fonction de la concentration en SB. Si la concentration en SB est, soit insuffisante pour solubiliser les produits de lipolyse (hydrolyse = 68 %), soit diminuée (SB/PC = 2), nous observons la disparition de la phase micellaire et même dans le second cas celle de la phase intermédiaire, leurs composants étant co-élués avec la phase émulsifiée.

TABLE 1. — *Distribution of lipids after gel filtration of [1-¹⁴C] triolein intralipid with or without Lipase.*

μmol	Radioactive intralipid no lipase added		Radioactive intralipid incubated with lipase				
	Peak I	Peak III	Hydrolysis 50 % Peak I	Peak II	Peak III	Hydrolysis 68 % Peak I	Peak II
Class I							
Triglycerides	140.0	0	71.6	0	0	46.0	0
Diglycerides	0	0	12.6	5.2	0	5.0	6.5
Class II							
Monoglycerides	0	0	21.5	16.0	29.0	43.0	47.5
Phospholipids	3.7	4.6	1.3	2.5	3.5	3.5	4.1
Class III							
Fatty acids	0	0	81.3	33.8	39.3	94.6	96.2
Bile salts	46.6	131.0	30.0	46.0	120.0	43.8	83.8
Class III/Class II and/or Class I							
	0.3	28.0	1.0	3.3	4.9	1.4	3.0

All the samples been pre-incubated with bile salts at a BS/PC = 4. Peak I refers to the voided emulsified phase, peak II to the intermediate phase and peak III to the micellar phase. Classes I, II and III refer to the classification of lipids (22, 23).

En conclusion, nous n'observons pas de synergie d'action entre la lipase et la phospholipase A₂ pancréatique. Nous observons l'apparition d'une structure intermédiaire de grande taille dans la phase aqueuse durant la lipolyse. Cette phase constitue un nouvel aspect de l'absorption des produits de la lipolyse.