

NUTRITION 91e Congrès de l'AOCS : l'essentiel du programme nutrition (San Diego, 25-28 avril 2000)

Oléagineux, Corps Gras, Lipides. Volume 7, Numéro 5, 388-98, Septembre - Octobre 2000, La filière, aujourd'hui, demain

Auteur(s) : François MENDY, 4, rue du Calvaire,
92210 Saint-Cloud.

Résumé : La densité du programme de la Division Health and Nutrition rendait cette fois très difficile le suivi même partiel du programme des autres divisions. Après l'impressionnante entrée en lice des fonctionnal foods et des nutraceuticals en 1999, il semble que la Division Health and Nutrition ait choisi de traiter de façon approfondie des thèmes importants. Les trois thèmes choisis cette année étaient : * L'acide gamma-linolénique : 22 communications auxquelles il faut sûrement ajouter les 5 communications d'une matinée sur « lipides bioactifs et transduction des signaux ». * Acide gras mono-insaturés versus polyinsaturés dans la gestion du risque de maladies cardio-vasculaires : Que devons-nous choisir ? 6 communications seulement, mais importantes, susceptibles d'avoir un gros impact et témoignant d'un vrai malaise. Selon la remarque de M. Bieber : « si ceci continue, que nous restera-t-il à dire ? ». * Lipides et désordres psychiatrique : 7 communications sur le thème de l'influence des acides gras polyinsaturés en n-3. Enfin la Division Health and Nutrition présentait 18 communications sur le thème Nutrition and General Health, son thème habituel. Parmi celles-ci, il faut relever deux Honored Student Award Winner français : S. Bellenger-Germain de l'équipe de J.-P. Poisson à Dijon, dont nous parlerons, et B. Nay de Bordeaux-II. Ceci ne s'était jamais produit jusqu'ici surtout si l'on ajoute le Herbert J. Dutton Award décerné par la Division analytique à J.-L. Sebedio. À ces 53 communications, il faut ajouter 36 posters pour la Nutrition and Health Division, soit 89 présentations au total. Pour terminer ce tour d'horizon, il faut signaler deux conférences remarquables sur des thèmes majeurs en nutrition lipidique : * celle du Stephen S. Chang Award de B. Herslof : From drug delivery to fonctionnal food. A lipid story ; * celle du Supelco/Nicholas Research Award de H. Sprecher : The regulation of polyunsaturated fatty acids biosynthesis in animals.

ARTICLE

L'acide gamma-linolénique (GLA) : un colza génétiquement modifié riche en GLA, avec rapport GLA/LA élevé, ALA (acide alpha-linolénique) à taux conservé

Il faut reconnaître que depuis 1962, date du brevet de J.W. Williams, antériorisant le travail de H.J. Thomasson [1], et le travail de R.R. Brenner sur le caractère limitant de la delta-6 désaturase, l'acide gamma-linolénique est de très loin le nutriment qui a été le plus étudié sur le plan *fonctionnal food*.

Mais sans préjuger de la valeur physiologique de ce nutriment, il était évident que, si l'on fixait la vraie dose active à 1,5-2 g/j, aucune source connue ne permettait d'abaisser suffisamment son prix par rapport aux possibilités du marché.

L'enrichissement, grâce à une hydrolyse ménagée en réacteur lipidique à membrane, et à des lipases spécifiques, améliorerait certes le rapport GLA/LA mais en augmentait encore le prix de revient. La seule voie possible était donc d'isoler le gène d'une désaturase en delta-6 et de l'exprimer dans un colza transgénique.

Ce faisant, ceci pouvait devenir la première transgénèse avec bénéfice direct pour le consommateur.

Un programme très important a ainsi été mis en place par Calgène avec une implication sans doute importante des Laboratoires Ross, division des Laboratoires Abbott, et de Rick Kulow, Bioriginal Food and Science Corporation (Saskatoon, Canada). Ce symposium du 26 avril avait pour but de relancer le sujet « gamma-linolénique » et de rapporter les premiers résultats, après le mini-symposium de mai 1995 à San Antonio, point de départ du programme. Il était sponsorisé par Bioriginal Food and Science Corp., les Laboratoires Abbott, et Sangster's Health Centers and VSP (Bolier).

Aspects biotechnologiques

* Une revue générale *Gènes impliqués dans la biosynthèse et le métabolisme du gamma-linolénique (GLA)* présentée par l'équipe du laboratoire Abbott, P. Mukerj, Y.S. Huang a ouvert la journée. Une curiosité, le gène de la delta-6-désaturase humaine est localisé près d'un groupe d'allèles chromosomiques impliqués dans diverses maladies de l'œil humain. La delta-6-désaturase codée chez les mammifères contient un domaine cytochrome b5-like près de l'extrémité amino-terminale, qui n'existe pas chez les désaturases végétales (mais est présente chez les delta-6-désaturases fongiques). L'expression d'une delta-6-désaturase fongique chez un canola transgénique permet une production à haut niveau de GLA chez cette plante. Les gènes pour l'élongation de GLA en DGLA ont également été clonés à partir de champignons. Il semblerait qu'ils soient assez différents des gènes d'élongases des acides gras saturés.

* L'équipe de l'Université de Bristol (J.-A. Napier, F. Beaudoin *et al.*) a rapporté des *Études sur la 6-désaturase de la bourrache*. La curiosité principale est la très grande homologie avec une enzyme impliquée dans la désaturation des bases à longue chaîne des sphingolipides. Il semblerait de plus que l'on ait affaire dans ce cas à une *front-end* désaturase, à l'inverse des *methyl-directed* microsomal désaturases plus habituelles dans le domaine végétal. Les auteurs ont entrepris un programme systématique de mutagenèse dirigée sur la delta-6-désaturase de la bourrache. Il semblerait que des *variant form of the third histidine box* séparent complètement les delta-6-désaturases des autres désaturases microsomales, sont indispensables à cette activité delta-6-désaturase et conditionnent sa variabilité *front-end* ou *methyl-directed*.

* P. Sperling *et al.* (Institut de botanique, Université de Hambourg), M. Lee *et al.* (Department of Plant Breeding Res, Svalö, Suède) ont présenté un rapport sur une *Désaturase bifonctionnelle delta-6-acétylénase* extraite d'une mousse *Ceratodon purpureus*. Cette mousse contient une delta-6-désaturase et une delta-6-acétylénase. Deux ADNc ont été isolés et exprimés dans *Saccharomyces cerevisiae*. Les deux cultures de levures génétiquement modifiées sont capables de désaturer en

delta-6 un C16, ou un C18 présentant une double liaison en delta-9, synthétisant ainsi par exemple du GLA ou du stéaridonique. Il s'agit donc d'une *front-end désaturase*. De plus l'un des clones est capable d'introduire une triple liaison en delta-6. Bien entendu ceci n'ouvre pas de débouchés nutritionnels, mais un tel produit peut être en pharmacie un inhibiteur moins dangereux que le tétraynoïque, et peut-être existe-t-il des débouchés en chimie industrielle.

* L'équipe du département de chimie de l'Université de Carleton de Ottawa (L. Fauconnot *et al.*) a présenté une étude sur la *Cryptorégiochimie de la biosynthèse du GLA*. Ce travail a été réalisé sur un protozoaire *Tetrahymena thermophila* qui possède une delta-6-désaturase très efficace. Les résultats obtenus confirment l'hypothèse que cette enzyme initie l'oxydation, obligatoirement au carbone 6 proche de l'extrémité carboxyle. La double liaison en delta-12 n'est pas nécessaire pour l'action de la delta-6-désaturase. Il est intéressant de rappeler que, dès 1968, P. Lemarchal *et al.* avaient montré que, chez le rat la double liaison en delta-9*cis* était indispensable pour l'action de la delta-6-désaturase, alors que la delta-5-désaturase pouvait se passer, toujours chez le rat, d'une double liaison en delta-6, et se contenter d'une double liaison en delta-9*trans* (acide C18:2, 5*cis* 9*trans*).

* *Élongation du GLA : identification et biochimie de la GLA-élongase*. Il s'agit du premier travail rapporté sur l'identification et la caractérisation d'une élongase agissant spécifiquement sur le C18:3n-6 (GLA) et le C18:4n-3 (stéaridonique). Il a été réalisé par Tapas Das *et al.* des Laboratoires Abbott. L'ADNc (957 nucléotides) a été isolée d'un champion *Mortierella alpina* (qui produit de façon endogène des taux élevés d'arachidonique : 30 à 50 % des acides gras totaux), puis exprimé dans une levure, donnant une protéine de 318 acides aminés. Les coefficients d'élongation obtenus sont de 60 %.

* *Caractéristiques de l'huile de colza transgénique à teneur élevée en GLA*. Cet exposé était très attendu. Il a été présenté par J.W. Liu *et al.* des Laboratoires Abbott et D. Knutzon de Calgène (Davis). Les compositions en acides gras de la bourrache, du pépin de cassis, de l'onagre et de cette nouvelle huile ont été comparées. Le canola transgénique contient approximativement deux fois plus de GLA (43 %) et un taux considérablement plus faible de linoléique (23 %) que les trois autres huiles sources de GLA. Il y a très peu d'acide érucique dans ce canola transgénique. L'étude de la répartition des triglycérides donne pour le canola transgénique : GLO (27 %), GGL (15 %), GLL (11 %), GGO (8 %). Les chiffres correspondants pour la bourrache sont : GLL (15 %), GLO (12 %), GLP (10 %). Dans l'onagre, GLL (17 %) est le plus abondant, GLO, GLP, GGL n'étant qu'au taux de 2 %.

Dans le canola transgénique, le GLA est estérifié plus en sn-1, sn-3, qu'à la position sn-2 alors que, pour la bourrache, la position sn-2 semble privilégiée. Le linoléique est davantage en sn-2 dans le canola transgénique et le linoléique reste prioritairement en sn-2. Les apports d'insaponifiables et de tocophérols sont globalement identiques, mais les taux d'alpha-tocophérols doublent, et le bêta-sitostérol augmente alors que le brassicastérol diminue.

Il semble que le gène provienne de *Mortierella alpina*.

Aspects nutritionnels

Cette présentation des aspects biotechnologiques a été suivie de deux exposés concernant l'étude nutritionnelle d'une huile de canola transgénique riche en GLA, amenant 31 % de GLA, soit moins que l'huile étudiée dans l'exposé précédent, chez des rats Sprague-Dawley.

* *Digestion intestinale et absorption d'une huile de canola à teneur élevée en GLA, analysée grâce à des fistules lymphatiques chez des rats.* Ce travail a été réalisé par P. Tso *et al.* (Dpt of Pathology, Cincinnati), et Y.S. Huang *et al.* (Strategic Discovery R et D, Lab. Abbott). Le but était de comparer le canola riche en GLA (HGCO) (31 %, mais essentiellement en sn-1 et sn-3) et huile de bourrache (BO) (23 % de GLA, mais préférentiellement en sn-2). Cette étude a été réalisée sur des groupes de 9 rats. Il n'y a pas de différences dans les flux lymphatiques de GLA entre HGCO et BO. Les rats nourris avec HGCO avaient des taux lymphatiques de GLA, *versus* BO, significativement supérieurs à 2-4 heures et 8 heures. On peut conclure que la digestion, l'absorption et le transport lymphatique de HGCO sont comparables à ceux de BO. Mais aucune donnée n'a été amenée sur l'étape hépatique et le destin final du GLA : phospholipides circulants, esters de cholestérol...

* *Études comparatives sur la croissance et le métabolisme des acides gras chez des rats nourris avec des régimes contenant de l'huile de canola transgénique à teneur élevée en GLA (HGCO) versus des régimes contenant de l'huile de bourrache (BO),* étude réalisée par J. Palombo, B. Bistran *et al.* (Deaconess, Harvard Medical School), S. de Michele *et al.* (Labs Abbott).

Dans cette étude, une quantité égale de GLA (23 % en poids) sous la forme de HGCO, et de BO, était ajoutée à un régime semi-synthétique amenant déjà 10 % de matières grasses en poids. Durée : 6 semaines. Les auteurs n'ont trouvé aucune différence entre les deux lots sur les plans du poids corporel et de la consommation alimentaire. Après 6 semaines, les poids des foies, cœurs, reins, rates étaient identiques ainsi que la masse grasse et le poids des selles. Au niveau des phospholipides hépatiques, les taux de linoléique, GLA, dihomogLA, arachidonique étaient identiques (les taux au niveau des esters de cholestérol circulants n'ont été ni présentés, ni réalisés). Les auteurs concluent : « *These in vivo data provide the first evidence that HGCO is biologically equivalent to BO* », mais l'oxydabilité des systèmes, formation d'isoprostanes par exemple, n'a pas été testée. (Cette curieuse situation du HGCO combinant une chute du linoléique, une augmentation du GLA avec taux d'alpha-linolénique constant, risque de réaliser un système moins oxydable car, *in vitro*, dans notre expérience, à notre grande surprise, ALA - confirmé également par A. Nouvelot - et GLA étaient plutôt moins oxydables que le linoléique.)

Aspects biomédicaux

* Ces deux exposés nutritionnels ont été suivis d'une *Overview, GLA and diabetes* présentée par D. Horrobin (actuellement Laxdale Research, Stirling, Écosse).

D. Horrobin a été présenté par Y.S. Huang comme le père de ce sujet. En fait Y.S. Huang coprésident de ce symposium, actuellement au Laboratoire Abbott, division Ross, a commencé sa carrière avec D. Horrobin chez Efamol.

Son exposé a résumé une série de travaux sur le diabète, travaux en fait initiés par P. Lemarchal, J.-P. Blond, J.-P. Poisson et moi-même chez le rat à Dijon dans les années 1975 [2], puis chez l'homme avec L. Monnier, A. Crastes de Paulet, B. Descomps et moi-même dans les années 80. Mais D. Horrobin a divergé assez rapidement, dans son exposé, sur l'augmentation du stress oxydatif dans le diabète, ce qui est parfaitement exact. Enfin il a démontré l'existence d'une synergie avec l'acide alpha-linolénique et l'acide ascorbique (ascorbyl-gamma-linolénique) dans le traitement des neuropathies du diabète et, pour conclure, a montré l'intérêt d'ajouter un quatrième acteur, l'acide lipoïque. Il est parfaitement exact que, en Allemagne, l'acide lipoïque est considéré comme un

médicament dans cette indication. En fait, D. Horrobin a montré l'existence de possibilités pharmaceutiques dans lesquelles le gamma-linolénique le meilleur marché possible servirait de matière première pour des synthèses de produits brevetables (ascorbyl-gamma-linolénique, par exemple), et secondairement de mélanges synergiques (+ alpha-linolénique, ou Highly Unsaturated Fatty Acid (HUFA) en n-3, + acide lipoïque, + ubiquinone...). Mais toutes ces études ont été réalisées avec des taux faibles de GLA, inférieurs à 500 mg.

* *Efficacité et tolérance (Safety) du GLA : une revue systématique de la littérature* a de même été présentée par M.D. Zilberberg (MetaWorks Inc. Medford, États-Unis), dans le but de rassembler tous les travaux réalisés chez l'homme depuis 1980. Malheureusement, ce travail a été réalisé par un transfuge de l'industrie pharmaceutique, confondant le GLA avec une molécule étrangère, et finalement incapable de raisonner en dehors de la phase III. Cette revue de toute la littérature publiée sur ce sujet en cinq langues aboutit à 38 études éligibles, soit 2 034 patients répartis en 29 études européennes, 2 nord-américaines, 7 provenant d'autres lieux. Le protocole étant inadapté, les résultats obtenus ne pouvaient être que bizarres, ressemblant plutôt à un inventaire à la Prévert qu'à une réflexion scientifique recherchant une liaison mécanisme-preuve-effet.

Cinq autres exposés ciblés complétaient la partie biomédicale de cette journée.

* *Supplémentation combinée GLA-huile de poisson dans le cadre de la mucoviscidose* présenté par A. Christophe *et al.* (Univ. Gand, Belgique). Le nœud du débat est en effet la synergie alpha-linolénique et GLA (que réalise ce canola génétiquement modifié), la synergie alpha-linolénique et DGLA que peut réaliser l'industrie pharmaceutique, la synergie GLA (provenant des mousses et des lichens) et HUFA en n-3 (provenant de la chair de mammifères marins) que réalisent les esquimaux, et la synergie DGLA et HUFA en n-3 parfaitement biodisponibles que pourrait réaliser l'industrie pharmaceutique. C'est ce qu'a tenté de réaliser A. Christophe dans un modèle de pathologie humaine (n = 14) avec 650 mg GLA + 167 mg EPA + 122 mg DHA durant 6 semaines. L'effet de la supplémentation résulte en une augmentation significative (p < 0,01) de GLA, DGLA, EPA, DHA dans toutes les classes lipidiques étudiées. L'arachidonique augmentait significativement dans les TG (+ 25 %), dans les esters de cholestérol (+ 13 %), mais non dans les PL (+ 5 %). L'équilibre résultant est nettement anti-inflammatoire, supérieur à l'action du GLA seul (augmentation du DGLA), de l'huile de poisson seule (augmentation de l'EPA, mais chute du DGLA). Le même produit additionné de sélénium, zinc, vit. A, B6, C et E est actuellement en voie de commercialisation par les Laboratoires Pharma Nord, en France.

* *Activation des Peroxysome Proliferator Activated Receptor-gamma (PPAR γ) par divers acides gras in vitro chez des lignées de cellules humaines de cancer du sein.*

Les auteurs P. Smith *et al.* (Labs Abbott) se sont servis d'un protocole pharmaceutique actuellement utilisé pour évaluer l'activité anticarcinogène de produits de synthèse. Parmi les acides gras testés, le GLA montrait l'activation la plus importante de la transcription de gène par le PPAR-gamma (testée par l'activité luminométrique de la luciférase). Le GLA, l'EPA, le DHA, l'acide phytanique inhibaient significativement la prolifération de toutes les lignées cancéreuses étudiées *in vitro* à des taux de 150 μ mol (ce qui est un taux élevé).

* *Effets du GLA sur le métabolisme lipidique et l'expression de gènes de croissance agissant précocement* (A.K. Dutta-Roy, Rowett Research Institute, Royaume-Uni).

Le PPAR-gamma augmente les processus cellulaires conduisant à l'accumulation de lipides et à la formation de cellules spumeuses à partir de macrophages. Son absence conduit à la lipodystrophie. Il est exprimé de façon ubiquitaire dans les épithéliums des cellules endocrines et exocrines. Les auteurs ont voulu vérifier les effets éventuels du GLA sur l'acyl-CoA thioestérase, un des plus importants régulateurs du taux d'acide gras libres intracellulaires. Pour cela, ils ont choisi des cellules provenant d'un chorio-carcinome placentaire d'origine humaine. Parmi tous les acides gras étudiés - GLA, oléique, CLA (non précisé, sans doute mélange 50/50 des deux principaux isomères), EPA, DHA -, seuls le GLA et le CLA augmentent l'activité de l'acylCoA thioestérase de 40 à 50 %. De plus, le GLA augmente aussi les taux de PPARgamma dans les cellules étudiées. « *Therefore GLA may play an important role in regulating physiological function of PPARgamma in growth and development, insulin resistance, and adipogenesis.* »

* *Blocage par le GLA de l'amplification de la production de l'interleukine 1-B par des monocytes humains* (R.B. Zurier *et al.*, Mass. Med. School).

La stimulation des monocytes périphériques sanguins humains par un liposaccharide (LPS) déclenche une production et une sécrétion d'interleukine 1-B, premier pas d'un système qui s'amplifie par auto-induction. L'addition de GLA, *in vitro* ou *in vivo*, chez des patients ayant une arthrite rhumatoïde freine cette auto-induction, en augmentant l'ARNm du récepteur antagoniste de l'IL-1 (IL-1Ra et la synthèse de la protéine IL-1Ra). Ainsi la modulation du processus d'auto-induction par le GLA améliorerait par une voie différente de celle habituellement revendiquée (DGLA et PGE1) le traitement des maladies caractérisées par l'inflammation. (Sur le plan clinique, l'effet du GLA sur l'arthrite rhumatoïde est le plus sérieusement étudié. Cet effet, nouvellement décrit, ne serait pas bloqué par les inhibiteurs de la synthèse des prostaglandines (AINS), donc des PGE1, largement utilisés dans le traitement de l'arthrite rhumatoïde.) Ce travail, l'une des premières mises en évidence d'un rôle spécifique propre au GLA, est très important.

* Le 5^e exposé *DGLA, acide 15-hydroxyéicosatriénoïc et processus inflammatoires ou prolifératifs de la peau* par V.A. Ziboh *et al.* (Dpt Dermatology, Univ. Davis), pose le problème cette fois de l'effet des dérivés oxygénés, autres que la PGE1, du dihomogamma-linolénique venant lui-même du GLA par élongation. Le dérivé oxygéné produit de la delta-15-lipoxygénase, le 15HETE_E, se révèle ainsi capable d'inhiber de façon dose-dépendante l'activité de la delta-5-lipoxygénase et, de ce fait, la synthèse de leucotriène B4 (LTB4) sur des basophiles de leucémie de rat. De même, après un enrichissement du régime chez l'homme en GLA, les polynucléaires humains prélevés présentent une suppression de la formation de LTB4. Le 15HETE_E se révèle ainsi avoir une activité anti-inflammatoire. Enfin, il est incorporé préférentiellement dans le phosphatidylinositol 4,5 biphosphate de l'épiderme et, de ce fait, pourrait jouer un rôle de contrôle de l'expression de la PKC/MAP-kinase, restaurer une apoptose normale et contrôler ainsi l'hyperprolifération de l'épiderme.

Aspects fonctionnels et métaboliques

Les études citées plus haut, réalisées soit chez l'homme, soit sur des cellules d'origine humaines, sont pertinentes, à des degrés divers, chez l'homme. Les huit études qui suivent n'ont qu'une valeur indicative et doivent être validées chez l'homme ou sur du matériel biologique d'origine humaine avant que l'on puisse en tirer des arguments réels, mais certaines ont une réelle valeur indicative.

* *Prévention de la cytotoxicité induite par l'alloxane et du diabète ainsi provoqué, par le GLA et d'autres PUFA à la fois in vitro et in vivo* (U.N. Das, Norwood, États-Unis). Ce travail rejoint des travaux déjà faits il y a 20 ans en France [2]. Il n'a pas de valeur indicative supplémentaire.

* *Le GLA apporté par l'alimentation retarde la progression de l'athérosclérose* (R.S. Chapking et al., Texas Univ., États-Unis).

Chez la souris, *in vitro*, le GLA semble moduler des interactions fonctionnelles entre macrophages et cellules musculaires lisses vasculaires, aboutissant à une diminution de la prolifération de ces cellules musculaires lisses. Les auteurs ont associé GLA, EPA et DHA, pour améliorer le développement et la progression des lésions athéroscléreuses aortiques chez des modèles de souris *knock-out apo E*, et moduler la prolifération des cellules musculaires lisses au niveau de l'aorte thoracique. Chez ce type de souris mâle, pour obtenir des lésions, il faut ajouter au régime 1,5 % en poids de cholestérol et 0,5 % de cholate de sodium. Dans ces conditions, à 30 semaines, les souris huile de maïs (CO) développent des lésions importantes athéroscléreuses au niveau de l'aorte thoracique. Un nombre de lésions réduit est retrouvé avec GLA (PO), un mix maïs-poisson (FC), un mix GLA-poisson (FPO). L'épaisseur moyenne de la médiane du tissu aortique était significativement plus grande ($p < 0,05$) avec CO et FC, qu'avec PO et FPO. De plus ce sont les souris GLA (PO) qui ont le moins ($p < 0,05$) de prolifération de cellules musculaires lisses au niveau de l'aorte thoracique. L'étude a également montré que le macrophage est très riche en élongase du GLA.

* *Modification des lipides et indices immunitaires chez le rat : dose-dépendances et interactions diététiques* (M. Sugano et al., Kumamoto Univ., Kyushuy Univ., Japon).

Les auteurs ont utilisé un extrait d'huile de bourrache amenant 60 % de GLA, donc majoritairement en sn-2 (et avec un rapport GLA/LA proche de celui des colzas transgéniques riches en GLA). La somme des PUFA des régimes des diverses études réalisées chez le rat était ajustée au même niveau. Durée : 3 semaines. Teneur totale en lipides : 10 % en poids. Les régimes amenaient 0, 2, 4, ou 6 g de GLA/100 g. La production de LTB4 par les exsudats de cellules péritonéales diminuaient significativement avec 6 g de GLA. La production des IgA, IgB, IgM par les lymphocytes des nodules mésentériques augmentait avec les taux de GLA. Ainsi, comme nous l'avions soupçonné depuis longtemps, un certain niveau de GLA est nécessaire pour obtenir un effet favorable sur la fonction immunitaire. Mais 2 g/j de GLA chez l'homme équivaut à peine au niveau 0,5 g de GLA/100 g.

* *Effets de la supplémentation des formules lactiques avec du docosahexaénoïque, de l'arachidonique, du GLA sur la composition en acides gras du cerveau de rats nourris artificiellement* (Wainwright et al., Y.S. Huang, Univ. Waterlow, et Lab. Ross-Abbott).

Il ressort d'une série d'études que les meilleurs résultats sont obtenus avec le GLA. De hauts niveaux de GLA augmentent le C22:4n-6 mais, en contraste avec l'acide arachidonique, ne diminuent pas les taux de DHA au niveau du cerveau. « *This suggest that GLA may be useful in modulating the effects of*

DHA supplementation on the fatty acid composition of the developing brain. » En fait, l'acide adrénique, C22:4n-6, est le 3^e acide gras hautement insaturé jouant un rôle structural au niveau du cerveau, mais il augmente peu quand on ajoute du C20:4n-6 (chemin préférentiel ?), en revanche, par rétroconversion il peut réguler physiologiquement le taux d'arachidonique, régulant ainsi *a minima* la synthèse des dérivés d'oxydation qui rendent dangereuse la supplémentation des laits de nourrissons en acide arachidonique. Il est évident que, en dehors de l'allaitement maternel, l'adjonction dans les aliments pour nourrissons de colza génétiquement modifié riche en ALA et GLA serait certainement la manière la plus physiologique, la plus efficace, la plus économique, pour améliorer les aliments lactés pour nourrissons, en dehors également de l'obligation de réintroduire dans ces aliments une matière grasse lactique appropriée.

Il est intéressant de regrouper les quatre autres présentations (dont trois françaises) ayant trait au rapport GLA et hypertension. Elles ont été présentées dans l'ordre suivant.

* *GLA : un nutriment à effet pharmacologique sur l'hypertension* par J.-P. Poisson *et al.* (UPRES Lipides et Nutrition, Dijon), M. Engler, Univ. California, Y.S. Huang (Lab. Ross-Abbott).

Chez le rat spontanément hypertendu (SHR), on a noté une diminution des activités delta-6, et delta-5 désaturases, conduisant à une diminution des taux de DGLA et d'acide arachidonique. Le GLA contourne la désaturation en delta-6. Des études sur le rat normo-tendu et hypertendu ont montré un effet du GLA sur la pression sanguine (ceci n'a jamais été confirmé chez l'homme). Une supplémentation avec des HUFA en n-3 n'est pas capable de diminuer la pression sanguine chez des rats SHR. En revanche, un mélange GLA + EPA + DHA a cet effet. J.-P. Poisson a évoqué un certain nombre de mécanismes possibles : réponse aux vaso-constricteurs, contractilité de cellules musculaires lisses vasculaires, tonus vasculaire calcium-dépendant, icosanoïdes, modulation des baro-récepteurs, modifications de la composition en acides gras des tissus (en fait la composition en acides gras de la médullaire rénale est curieusement oubliée). Pratiquement tout reste à être confirmé.

* *Effet hypotensif du GLA du régime, modifications simultanées au niveau de la composition en acides gras des tissus, et altérations du système rénine-angiotensine* (M.E. Engler, Univ. California, États-Unis, San Francisco).

Les trois grandes classes thérapeutiques de l'hypertension chez l'homme sont les inhibiteurs de l'angiotensine et les antagonistes des récepteurs de l'angiotensine, les bêta-bloquants, les diurétiques divisés eux-mêmes en trois classes, dont les anti-aldostérones, selon leur point d'action rénal. Il était donc normal de vérifier l'action du GLA sur le système rénine-angiotensine. Pour ce faire, les auteurs ont étudié les effets du GLA *per os* sur des rats normotensifs (Wistar Kioto-WKY), et spontanément hypertendus (SHR), âgés de 6 à 7 semaines, et ce durant 7 semaines (11 % de sésame *versus* 11 % d'huile de bourrache). Des dosages d'activité rénine plasmatique (PRA) et aldostérone (PA) ont été réalisés à la fin de l'étude. L'affinité au récepteur angiotensine a été également mesurée au niveau des glandes surrénales. Chez les rats SHR au GLA, la pression sanguine baissait de 12 mmHg ($p < 0,005$). Les taux d'aldostérone plasmatiques étaient abaissés, le PRA restait élevé, et le rapport PA/PRA était significativement abaissé ($p < 0,05$). De façon étonnante, le GLA réduit la densité et l'affinité des récepteurs surrénaux à l'angiotensine II. En résumé, il existe bien un effet hypotensif chez les rats SHR et chez les rats WKY. Le GLA inhibe la réponse surrénale (sécrétion d'aldostérone) à l'angiotensine II par une action sur les récepteurs surrénaux. Et ces effets

physiologiques sont obtenus malgré une inondation par les deux régimes en acide linoléique et des taux élevés d'acide arachidonique tissulaires. Il faut rappeler que l'on sait depuis 20 ans que dès le 5^e jour de la vie, les tissus rénaux sont parmi les deux plus riches en DGLA et que, avec le thymus, la zone médullaire rénale est le tissu présentant le rapport DGLA/arachidonique le plus élevé.

Les deux dernières présentations provenaient de Dijon (J.-P. Poisson, UPRES Lipides et Nutrition).

* *Bioconversion des PUFA au niveau du rein en présence d'une hypertension* par Narce et al. (Dijon), et N. Odden et al. (Institute of Clinical Biochemistry, Univ. Oslo, Norvège).

Les auteurs ont analysé la composition en acides gras des lipides totaux des reins de rats SHR et WKY, à 1, 3 et 6 mois. Le pourcentage d'acide arachidonique (AA) est significativement plus grand à 1 mois chez les rats SHR mais plus faible à 3 et 6 mois. Le pourcentage d'EPA est très faible chez les rats SHR. Des cellules isolées de reins SHR ou WKY ont alors été incubées avec du linoléique ou du DGLA marqués : 9 provenaient de jeunes rats, 17 de rats adultes. Les activités désaturases se sont pas affectées par l'hypertension au niveau des cellules rénales, à l'inverse de ce qui a été décrit au niveau des hépatocytes. La désaturation en delta-5 diminue avec l'âge. La critique importante que l'on peut faire à cette étude, stimulante par ailleurs, est d'effectuer le dosage sur les lipides totaux et non sur les diverses fractions lipidiques au niveau des diverses zones fonctionnelles du rein : corticale, médullaire, glomérulaire, tubulaire...

* La dernière présentation de cette équipe *Un nouveau rapport n-6/n-3 des PUFA ingérés diminue la pression sanguine, module les activités des désaturases et augmente les niveaux d'écicosanoïdes chez les rats (SHR) spontanément hypertendus* a obtenu un *Honored Student Award* (S. Germain, J.P. Poisson, M. Narce, Univ. Bourgogne, Dijon).

Des rats SHR (hypertendus) de 5, 20, 52 semaines ont été divisés en deux groupes : régime standard, régime complété par un mélange de GLA, EPA, DHA. Le régime expérimental entraînait un ralentissement de l'installation de l'hypertension chez les rats jeunes et un effet hypotenseur chez les rats adultes et âgés. Quel que soit l'âge, la diminution de la pression sanguine était associée avec une moindre efficacité des désaturases, delta-6, delta-5, delta-6n-3. Les taux des acides gras plasmatiques et tissulaires rénaux étaient affectés par le régime. Le GLA, l'EPA, le DHA augmentaient, le taux d'arachidonique diminuait, ce qui est cohérent. Les taux de PGE2 diminuaient dans les urines et le plasma, mais le taux de TxB2 restait inchangé. Le TxB2 est le métabolite stable du TxA2, thromboxane vaso-constricteur et donc hypertenseur, dérivant de l'arachidonique. Il peut très facilement être confondu, en dehors de la spectrométrie de masse, avec le Tx3, métabolite stable du TxA3, thromboxane dérivant de l'EPA et pratiquement inefficace sur le plan de la vaso-constriction. Il semble qu'il faille retenir de ce travail l'effet hypotenseur sur des rats SHR d'un mélange GLA (DGLA induit) et EPA (ou alpha-linolénique correctement transformé, en EPA et DHA).

Lipides bioactifs - transducteurs de signaux

Il semble souhaitable de rapprocher de ce symposium GLA cette séance de 6 communications sur ce thème d'avant-garde qui fait souvent qualifier certains acides gras insaturés de *nutrient hormonal*.

Cette séance était présidée par V.A. Ziboh, Univ. Californie, Davis et A.K. Dutta-Roy, Rowett Institute, Aberdeen, Royaume-Uni.

* *Régulation par des lipides d'origine alimentaires de l'expression de gènes hépatiques* par D.B. Jump *et al.*, Dpt of Physiology Michigan State Univ.

Le PPAR-alpha a un effet extraordinaire sur le métabolisme lipidique hépatique. Les auteurs ont utilisé des souris *knock-out* PPAR-alpha pour montrer que l'induction par les acides gras en n-3 de l'acyl-CoA oxydase et du cytochrome P450 4 A (CYP4A) nécessitait la présence de PPAR-alpha. Cependant le PPAR-alpha n'est pas nécessaire pour la suppression de l'expression du gène lipogénique médiée par les PUFA, ni pour celle de la *fatty-acid synthase* (FAS), de la S14 protéine, ou de la L-pyruvate kinase (LPK). Le candidat pour la régulation de l'expression du gène lipogénique est le *sterol response element binding protein* (SREBP1c). Ces modèles sont maintenant très étudiés en recherche pharmaceutique (mécanisme d'action des fibrates par exemple).

En conclusion, le SREBP1c est impliqué dans la régulation par les PUFA (en n-6, n-3) de la transcription du gène lipogénique. Une régulation par les PUFA et le 18:2, 9*cis*, 11*trans* à la fois du SREBP1c et du PPAR-alpha est bien impliquée dans le contrôle de la balance au niveau du métabolisme hépatique entre la synthèse de lipides et la mise en réserve pour utilisation énergétique.

* *PUFA en n-3 : trop bon pour être vrai ?* R.S. Chapkin *et al.* (Fac. of Nutrition, Biotechnology Center, Texas Univ.).

Cette communication est très importante. Par PUFA en n-3, les auteurs entendent, selon le glissement qui est en train de se produire, EPA et DHA et souhaitent s'inscrire contre les très larges exagérations qui emplissent les journaux sur leurs effets dans le cancer et les maladies chroniques inflammatoires. Pour appuyer leur incitation à la prudence, ils étudient l'effet de régimes enrichis en éthyl-esters de DHA et EPA sur la modulation de l'activation des lymphocytes *via* le *T-cell recepteur* (TcR), et les séquences qui s'ensuivent de transduction du signal intracellulaire. Les résultats montrent que le DHA et l'EPA suppriment l'activation des cellules T par des mécanismes qui induisent un fonctionnement anormal de la régulation autocrine de l'interleukine-2. L'effet de ces deux HUFA en C20-22n-3, donnés en supplément à dose élevée, apparaît impliquer des altérations du système des seconds messagers, partie prenante de la signalisation intracellulaire (phospholipase C-gamma, diacylglycérol, céramide). Un ensemble de travaux permet à R.S. Chapkin de faire entrevoir une action néfaste au niveau moléculaire. Leur conclusion est très nette : « *This research focus is absolutely essential because if we do not know why a dietary component is protective or promotive of chronic disease, then it may be premature or inappropriate to attempt to modify eating behaviors.* » Cela rejoint absolument nos réticences sitôt que l'on saute une étape de régulation, et c'est 3 pour l'EPA, 6 pour le DHA au minimum, on prend des risques qui doivent être évalués. Dans le cas du GLA et/ou de l'acide stéaridonique (C18:4n-3), on ne saute qu'une étape de régulation.

* *Effet de métabolites bioactifs des sphingolipides au niveau de la signalisation cellulaire et dans des processus pathologiques* (E.M. Schmelz, Karmanos Institute, Detroit).

En dehors de leur rôle structural connu, les sphingolipides sont des modulateurs de la croissance cellulaire et de la mort des cellules. En tant que seconds messagers lipidiques, ils sont impliqués dans une série de mécanismes de transduction cellulaire. Les auteurs ont étudié leur rôle dans la prévention de polyposes et de cancers intestinaux, chez des souris présentant des mutations particulières (APC), retrouvés dans la polypose familiale et dans 40 à 80 % des cancers du côlon sporadiques chez l'homme. À des taux étonnamment faibles du régime (0,1 % de sphingolipides complexes), on obtient une réduction de 40 % de cancers et, si on ajoute 0,1 % de céramides, le taux de réduction passe à 53 %. La correction du défaut moléculaire induit par la mutation APC chez la souris, par les sphingolipides exogènes apportés par le régime, a pu être démontrée.

* *Régulation de la transduction des signaux au niveau des cellules immunitaires par des lipides bioactifs* (C. Calder, Institute of human nutrition, Southampton, Royaume-Uni).

L'alpha-linolénique, le gamma-linolénique, parmi les acides gras en C18 ont un effet. Parmi les MUFA en C20-C22, agissent ARA et surtout EPA et DHA. Cette action passe par la modification de la composition en acides gras des Pls cellulaires. Dès lors quatre effets deviennent possibles :

- altération de la nature physique des membranes cellulaires modifiant leur fonctionnalité ;
- altération de la disponibilité des substrats pour la synthèse des éicosanoïdes actifs ;
- altération de la composition des acides gras substrats de la génération des 2^{es} messagers, affectant cette génération, entraînant des signalisations différentes ou anormales ;
- altération du type d'acides gras libres relâchés intracellulairement et extracellulairement.

Or, ces acides gras (ou leurs dérivés oxydés) sont des signaux capables de modifier les flux calciques, l'activité d'isoformes de protéine kinase C, etc. Tout ceci peut entraîner une activation altérée de gènes encodant cytokines, cytokine-récepteurs, molécules d'adhésion, synthase NO₂ inductible. C'est à nouveau un message de prudence.

* *Détournement des mécanismes de signalisation déclenchant l'activation plaquettaire par la prostaglandine E1 (produit du DGLA, lui-même dérivé du GLA)*, A.K. Dutta-Roy, Rowett Research Institute, Royaume-Uni.

L'effet PGE1 fut la découverte de Michel Lagarde en 1980. Il revient à la mode. Ce que l'auteur montre, c'est le mode d'action, véritable détournement, ou boucle de régulation. La PGE1 agit par une augmentation de la synthèse de l'AMP cyclique due à l'activation de l'adényl-cyclase. Cette activation dépend de la liaison à des récepteurs spécifiques de surface des plaquettes. L'augmentation de l'AMP cyclique *down-regulates* les récepteurs de divers agents d'agrégation. Stabilisation des phases d'hyperactivité ? Régulation permanente ? L'existence de récepteurs spécifiques est un argument très fort.

De plus, la PGE1 augmente le nombre des récepteurs à l'insuline et change la dynamique des lipides membranaires, inhibant de ce fait l'agrégation. Le taux de PGE1 dépend de la disponibilité de son précurseur, le DGLA, et plus encore du GLA, la régulation étant au niveau de la désaturase en delta-6 amenant au GLA.

* *L'atténuation de l'hyperprolifération au niveau de la peau par le rapport acide linoléique/13HODE (13hydroxy-octadécadiénoïque) est associée à une down-regulation de la PKC/MAP-kinase nucléaire (V.A. Ziboh et al., Univ. Californie-Davis).*

Il s'agit d'un complément de la présentation déjà citée. Comme il y a des effets régulation et contre-régulation entre PGE1 (parent DGLA), thromboxane (parent ARA) et PGI2 (parent ARA), il y a des effets du même genre entre 13HODE (parent linoléique) et 15HETrE (parent DGLA), en fait 13HODE-DAG et 15HETrE-DAG (DAG signifiant diacyl-glycérol). La peau présentant une déficience naturelle en delta-6 désaturase, le DGLA ou le GLA doivent venir d'ailleurs. L'altération de la cascade nucléaire PKC/MAP-kinase dans l'épiderme est ainsi sous le contrôle diététique de l'acide linoléique et de ses métabolites de régulation 13HODE. C'est à ce niveau que peut intervenir le 15HETrE. Ces résultats attirent l'attention sur le rôle des acides gras monohydroxylés par la 13-lipoxygénase, au niveau de la peau.

En conclusion, trois éléments majeurs semblent devoir être retenus.

* Jusqu'ici deux dérivés structuraux de l'acide linoléique étaient reconnus par les physiologistes, l'acide arachidonique (C20:4n-6) et l'acide adrénique (C22:4n-6) ; il faudra très certainement en ajouter deux autres : le GLA et le DGLA.

* L'accès, grâce au colza génétiquement modifié à teneur élevée en GLA, rapport élevé GLA/LA, teneur élevée en alpha-linolénique en sn-2, à la possibilité de parvenir à des prix peu différents d'une alimentation habituelle à des apports de 1,5 à 2 g de GLA ouvre des horizons passionnants.

* Jusqu'ici les études effectuées chez l'homme étaient réalisées avec des taux de seulement 200 à 400 mg/j de GLA, pour des raisons de prix de revient. Cela correspond à 10 à 20 % environ de la dose que l'individu jeune est capable de synthétiser dans des conditions favorables, alors que les études avec l'EPA et le DHA ont été réalisées à 10 à 20 fois la dose synthétisable dans des conditions physiologiques équivalentes. Une seule étude a été réalisée chez l'homme à 1,6 g de GLA pendant 4 mois, chez 25 moines [3] : les résultats obtenus étaient étonnants : baisse du rapport LDL/HDL de 2,24 à 1,54, augmentation de l'apo A1 de plus de 20 % de 1,49 g/l à 1,79 g/l, avec un p inférieur à 0,01.

Quel que soit le moyen utilisé, apport du GLA à doses nutritionnelles ou réorientation des apports nutritionnels de manière à favoriser la désaturation en delta-6 du linoléique alimentaire en présence d'alpha-linolénique (C18:3n-3) à dose nutritionnelle, les nouvelles voies qui s'ouvrent au monde agro-alimentaire sont captivantes, dès lors que l'on cherche à améliorer des normes (rapport LDL/HDL, ou cholestérol non HDL/CHDL) ou à retrouver des normes disparues.

Acides gras mono-insaturés versus polyinsaturés dans la gestion du risque cardio-vasculaire : que devrions-nous choisir ?

Ce mini-symposium a été coprésidé de façon très énergique par P.J. Huth, Kraft Foods Inc., et M.A. Bieber, Best Foods. Cette question devient en effet très préoccupante.

* *Effets des huiles comestibles à teneur élevée en acides gras insaturés-cis sur le risque de maladies cardio-vasculaires* (M.B. Katan, Wageningen, Hollande).

La première étrangeté de cet exposé est la phrase : « *There is little evidence that oil consumption affects stroke risk, but the beneficial effect of unsaturated unhydrogenated oils on coronary heart disease risk is a well-established fact.* » L'effet préventif de l'alpha-linolénique sur les accidents vasculaires cérébraux a été parfaitement prouvé [4], et l'effet nocif du linoléique également par l'équipe de Framingham [5].

La deuxième : « *The evidence is strongest for oils rich in linoleic acid, including soybean oil. In contrast, monounsaturated oils such as canola and olive oil have not been formally tested in clinical trials with hard endpoints, although the Lyon heart study suggests benefit for canola (rapeseed) oil.* » Cela ressemble à une lente conversion après une opposition totale.

En revanche, enfin, M.B. Katan accepte le critère du rapport LDL/HDL, qui ne serait amélioré que par le linoléique, et implique la chasse aux saturés, produits laitiers, viande et *trans*. Le linoléique ne rend les LDL oxydables qu'*in vitro* !

Soja et canola sont de bonnes sources d'alpha-linolénique. Il y a maintenant quelque évidence que les produits dérivés de l'alpha-linolénique, l'EPA et le DHA, peuvent prévenir les maladies cardiaques.

« *Thus both oleic-acid and linoleic-acid rich oils protect against heart disease, the evidence being slightly stronger for linoleic acid. The effect of alpha-linolenic acid on the heart are promising and deserve further study.* »

Il est évident que cet exposé a soulevé quelques remous dans la salle et au niveau de la présidence. Effectivement, il évoquait quelque part une volonté au moins de ralentissement de l'évolution en cours, et cela avec des arguments qui n'étaient pas forcément les plus pertinents, et quelques prises de position non réellement argumentées étaient difficilement acceptables pour une partie de l'auditoire.

* *Lipides mono-insaturés versus polyinsaturés et lipides sériques : une méta-analyse* (C. Gardner et al., Stanford, Dpt of Epidemiology and Prevent Med.).

Quatorze études de 1983 à 1994 ont été reprises. Sept comprenaient un taux comparable élevé d'acides gras saturés.

Les résultats ne montrent aucune différence significative au niveau du cholestérol total, du cholestérol LDL ou HDL quand les huiles riches en mono-insaturés ou en polyinsaturés étaient comparées directement. Les taux de triglycérides étaient modestement, mais de façon consistante, plus bas avec les régimes élevés en PUFA ($p = 0,5$). Le remplacement des matières grasses saturées avec des matières grasses mono-insaturées ou polyinsaturées abaissait significativement cholestérol total et LDL ($p = 0,001$) et l'intensité des effets mis en pool était comparable pour chaque type

d'acides gras insaturés (de - 0,64 à - 0,68), avec une diminution de 25 mg/dl par rapport au régime saturé, soit 10 % environ. Aucun des types de matières grasses insaturées ne changeait le cholestérol HDL ou les taux de triglycérides, si on les comparait au régime saturé (!).

« *In conclusion, the evidence from this meta-analysis strongly indicates there is no significant difference in LDL or HDL cholesterol levels when oils high in either UFA or PUFA are exchanged in the diet. Any dietary recommendations for the use of one in preference to the other should be based on outcomes other than serum cholesterol levels.* »

L'ennui, c'est que les méta-analyses mises au point par l'industrie pharmaceutique (et critiquées même là) s'appliquent mal à la nutrition et aux traitements hormonaux. Dans l'industrie pharmaceutique, un facteur au moins est invariant : la molécule étrangère qu'est le médicament, même si sa biodisponibilité, sa chronobiologie et son excrétion varient selon les individus. En nutrition, sauf dans le cas de jumeaux vrais, ou de témoins par rapport à eux-mêmes, de régimes strictement définis avec immobilité de tous les facteurs sauf un, et de certitude que tous les besoins en nutrition sont à l'épicentre de leur courbe en U, à l'exception de celui que l'on étudie, il est très difficile d'avoir même un seul invariant. De plus, les corrections pour les biais de dilution des équations de régression surtout en présence de variations biologiques élevées, ou de variations analytiques, sont rarement faites. La possibilité de méta-analyses sérieuses devient donc très difficile. Enfin les statines couramment utilisés actuellement abaissent le cholestérol LDL de 25 à 30 % !

La discussion autour de ces deux premières présentations a été assez tendue !

* *Comparaison des doses-réponses des PUFA et MUFA sur les lipides et les lipoprotéines plasmatiques* (B.V. Howard, MedStar Research Inst., Washington).

L'étude a été réalisée dans le contexte de la NCEP étape 1 (ou *prudent diet*) (30 % ET sous forme lipides, 10 % saturés). Soixante-trois sujets modérément hypercholestérolémiques, hommes et femmes. Âge : 20 à 55 ans. 3, 6, 10, 14 % de PUFA *versus* 17, 14, 10, 6 % de MUFA. Durée : 6 semaines.

Dans les quatre régimes il y avait une tendance à l'augmentation des triglycérides ($p = 0,029$), la plus petite augmentation étant obtenue avec le régime le plus riche en PUFA.

Il semble que les PUFA abaissent davantage les LDL, élèvent moins les triglycérides que les MUFA. En fait, cette augmentation des triglycérides dépend aussi d'une réaction particulière d'environ un quart de la population adulte à un taux trop élevé en glucides du régime (supérieur à 50 % de l'ET, comme dans cette étude) et est partiellement compensée par les PUFA en n-3. Ce point vient d'être très débattu dans deux revues générales [6, 7]. Chez 25 % de la population, un apport en glucides de 55 % de l'énergie totale déclenche une augmentation des triglycérides et des LDL petites et denses particulièrement oxydables.

Les modifications des HDL étaient identiques avec les MUFA et les PUFA, dans cette très courte étude de 6 semaines.

* *Des souris aux singes, les lipides polyinsaturés protègent contre l'athérosclérose, les lipides mono-insaturés ne le font pas : un rôle pour l'ACAT2 hépatique* (L.L. Rudel *et al.*, Arteriosclerosis Research

Program, Wake Forest Univ. Sch. of Med., Winston-Salem, États-Unis). Cette présentation était probablement la plus attendue. Elle a été présentée par L.L. Rudel lui-même.

Ces études ont été réalisées sur deux modèles animaux présentant, comme classe lipoprotéique dominante, les LDL : les singes vervet et des souris transgéniques, LDL-récepteur nul, apo B100 humain transgénique.

Dans ces deux espèces animales, les régimes riches en mono-insaturés ont un effet de promotion de l'athérosclérose, hors de proportion avec un effet sur les CLDL ou CHDL plasmatiques, lorsqu'on les compare à des régimes où les mono-insaturés sont remplacés de façon isocaloriques par des matières grasses saturées ou polyinsaturées. Les lésions anatomiques présentées étaient spectaculaires.

Chez les singes comme chez les hommes, le rapport LDL/HDL était le plus bas quand des régimes riches en mono-insaturés étaient donnés.

Les esters de cholestérol étaient, dans les deux espèces, enrichis en oléate de cholestérol en proportion des mono-insaturés du régime. C'est d'ailleurs là aussi que réside l'un des problèmes : interaction avec les protéoglycanes de la paroi artérielle.

Mais L.L. Rudel a montré pour la première fois que le degré de promotion d'athérogénicité des LDL enrichis en oléate de cholestérol est proportionnel chez les primates à la sécrétion hépatique d'oléate de cholestérol dans les lipoprotéines contenant de l'apo B : « *This hepatic secretion rate was proportional to the extent of coronary artery atherosclerosis.* »

(Il y a près de 5 ans déjà, P. Lemarchal et P. Legrand avaient montré qu'à partir de 16 % de l'ET sous forme d'oléique, il y avait une augmentation anormale de la sécrétion des VLDL (travail réalisé sur des hépatocytes de rat).)

L.L. Rudel a pu démontrer le mécanisme responsable. Il semblerait que cette augmentation de la sécrétion de VLDL riches en oléate de cholestérol (au moins à partir d'un certain pourcentage de l'ET sous forme d'oléique) soit associée à une activité augmentée d'une nouvellement identifiée ACAT2, et résulterait en une activité athérogénique augmentée des lipoprotéines contenant de l'apo B. « *Activation of ACAT2 may be the reason dietary monounsaturated fat promotes atherosclerosis out of proportion to its apparently effects on plasma LDL and HDL cholesterol concentrations.* »

Cette communication passionnante a soulevé moins de questions qu'on aurait pu l'imaginer, sans doute à cause d'une iconographie spectaculaire. Tous les travaux de L.L. Rudel ont été réalisés à des taux élevés d'apport en oléique exprimés en poids et rejoignent parfaitement la notion de « *metabolic overkill* » développée par D.H. Blankenhorn [8], chez l'homme. Dans cette étude, l'essentiel du groupe supérieur à 12,3 % de l'ET sous forme d'oléique était en fait autour de 18 à 20 %. E. Kinsella, à la suite de ce travail, avait d'ailleurs fixé la limite optimale d'acide oléique autour de 14 % de l'ET. Nous sommes en face d'une courbe en U. Mais pour la première fois, L.L. Rudel amène aux biochimistes fondamentaux un critère d'étude.

* *Rôle des acides gras insaturés sur l'oxydation des lipoprotéines et induction de réponses pro-inflammatoires* (Peter Reaven, Harrington Res., États-Unis).

* *Acides gras alimentaires, oxydation lipidique et athérosclérose* (M.J. Thomas *et al.*, Dpt Biochemistry, Wake Forest Univ. Scho. of Med., Winston-Salem, États-Unis) (M.J. Thomas fait partie de la même université que L.L. Rudel).

Il s'agit d'un sujet très étudié. Les petites LDL denses du syndrome X de Reaven qui touche 25 % de la population adulte (phénotype B) sont particulièrement oxydables. Mais M.J. Thomas, au cours de son étude chez des primates non humains, l'a abordé de façon plus nuancée que d'habitude. L'analyse des lipides des plaques d'athérome ne montre pas une corrélation entre le contenu en PUFA et une mesure de l'oxydation lipidique *in vivo*, le taux d'isoprostanes. Nous sommes en présence de phénomènes très complexes. Ainsi, pour les auteurs, « *making plaque lipids more easily oxidized did not give more lipid oxidation* ». Cela soulève quelque problème, le taux d'isoprostanes donne une idée, une preuve, d'une oxydation qui a eu lieu au niveau de phospholipides, mais en aucun cas d'une oxydation de l'acide linoléique au niveau d'un ester de cholestérol donnant un 13-HODE de cholestérol, ou un 9-HODE de cholestérol.

De toutes façons, les résultats suggèrent des relations très complexes entre les oxydations non biologiquement contrôlées et la teneur en PUFA des plaques d'athérome.

Sous l'impulsion de Mark A. Bieber, la séance a été suivie d'une très vive discussion.

À la question : « que choisir ? », la réponse qui apparaissait était, « ni saturés, ni polyinsaturés, ni mono-insaturés » ! Ce qui est pour le moins catastrophique pour une industrie fondée sur le traitement des matières grasses.

Seul l'alpha-linolénique, qui n'a jamais été donné qu'à des doses physiologiques, était épargné.

Et il n'existe en fait qu'une seule voie d'approche possible maintenant, après les approches épidémiologiques, les méta-analyses..., celle d'une sérieuse approche physiologique décrivant les courbes en U de chaque acide gras, leurs inter-actions réciproques, de façon à aboutir à une définition d'espaces de sécurité.

Lipides et désordres psychiatriques (à relier aussi à [9])

Bien que le rôle des HUFA de la famille en n-3, au niveau du système nerveux, au niveau des synapses, des récepteurs des neurotransmetteurs, ait été soupçonné dès 1965, le travail princeps chez l'homme est celui de R.T. Holman [10].

D'emblée le rôle de la famille en n-3 au niveau du système nerveux était confirmé. D'emblée il était démontré que l'acide alpha-linolénique était nécessaire et suffisant pour guérir les troubles neurologiques induits par sa carence d'apport, chez la fillette de 6 ans étudiée.

Pour la 1^{re} fois, la nécessité d'un apport minimal d'acide alpha-linolénique de 0,54 % de l'AET, de 35 mg/kg/j (pour une fillette de 6 ans), était établi chez l'homme, sur la base de troubles neurologiques induits par une carence documentée.

L'étude dite *Lyon Diet Heart Study* de S. Renaud [11] met en fait en valeur un deuxième critère d'ordre neurologique : la prévention de la mort subite par fibrillation ventriculaire de l'adulte, par un apport de 0,8 % de l'AET, de 23 mg/kg/j (n = 219) *versus* 0,27 % de l'AET, 8,5 mg/kg/j (n = 192), et confirme donc le rôle de l'acide alpha-linolénique et de ses dérivés au niveau du système nerveux autonome cardiaque.

De 1983 à 2000, dix-sept ans d'études vont montrer de plus le rôle de la famille en n-3 dans le développement cérébral chez le prématuré et chez le nourrisson.

Il était donc normal que l'on en vienne à se poser le problème des acides gras en n-3 dans le domaine des désordres psychiatriques.

Une séance particulière a regroupé 7 communications sur ce thème.

** Amélioration de la variabilité du rythme cardiaque (HRV) chez des singes rhésus adolescents nourris avec des formules lactées supplémentées avec du DHA et de l'ARA dès les premiers jours de la vie : implications neuropsychiatriques (J.R. Hibbeln, N. Salem et al., NIAA, NICHD, Nat. Inst. of H.).*

Certaines études épidémiologiques semblent trouver une corrélation entre la consommation de poisson et une prévalence diminuée des dépressions post-puerpérales. On trouve aussi bien de l'arachidonique (ARA) que du DHA dans le lait de singe rhésus comme dans le lait humain. On sait induire un modèle animal de singe rhésus (par carence en ARA et DHA, séparation précoce de la mère), qui aura des concentrations cérébrospinales de sérotonine diminuées le restant de sa vie. Un lot de ce modèle a été, dès la naissance, supplémenté en ARA et DHA à dose physiologique (0,8 % ARA, 0,8 % DHA) et ce durant 6 mois. Cette supplémentation a amélioré les scores d'orientation visuelle et motrice de ce lot *versus* le lot témoin, dès l'âge de 7 jours, et à 14 jours. Un effet plafond était atteint au 21^e jour. Après 6 mois d'âge les deux groupes étaient mis à des régimes riches en ARA et DHA. De l'âge de 1 an à l'âge de 3 ans, la variabilité du rythme cardiaque (HRV) était plus grande chez les sujets supplémentés.

Or l'« HRV » est déterminé au départ par le système nerveux central, et un bas niveau d'excitabilité est reconnu comme un prédicteur longitudinal de comportements mal contrôlés jusqu'à l'âge adulte.

Ce modèle est très discuté depuis trois ans. Sa pertinence pour l'homme reste controversée. Mais la réputation des deux équipes qui ont présenté ce travail est très bonne.

Trois études sur les relations entre les acides gras en n-3, la dépression majeure unipolaire (qui toucherait 19 millions d'Américains de plus de 18 ans), et le syndrome maniaco-dépressif bipolaire ont été présentées.

** PUFA¹ dans la dépression majeure (M. Maes et al., Maastricht, Pays-Bas).*

** MUFA² en n-3 au cours de la dépression et du syndrome maniaco-dépressif (A.L. Stoll et al., McLean Hosp. and Harvard Med. School, Boston, États-Unis).*

* *Une étude placebo contrôlée, en double-aveugle, du DHA dans le traitement de la dépression* (L.B. Marangell *et al.* Baylor Coll. of Med, Houston, et Martek).

Bien des problèmes se posent pour interpréter les résultats obtenus.

La première étude a déjà été publiée [12]. Elle montre une chute du taux d'alpha-linolénique dans les esters de cholestérol, et une augmentation compensatrice des MUFA et des HUFA³ en n-6 au niveau des phospholipides sériques chez les patients déprimés, en réponse à l'abaissement du taux des HUFA en n-3.

La deuxième étude montre d'aussi bons résultats avec de l'alpha-linolénique provenant de l'huile de lin qu'avec de l'EPA et du DHA provenant de l'huile de poisson. Le placebo est de l'huile d'olive. Dans cette étude les taux d'EPA : 6,3 g/j, de DHA : 3,3 g/j, utilisés n'ont rien de physiologique, et la durée de 4 mois est très courte pour ce type d'étude.

La troisième étude, randomisée, double-aveugle, placebo contrôlée a été réalisée avec 2 g de DHA/jour, mais ne dure que 6 semaines.

Les mêmes questions se posent pour ces trois études : problème de l'effet des traitements antérieurs ou contemporains sur le métabolisme lipidique membranaire au niveau des cellules nerveuses, sur la composition lipidique des récepteurs, sur leur sensibilité aux neurotransmetteurs..., problème de la modification par les HUFA de la sensibilité des récepteurs, selon les récepteurs et les psychotropes utilisés...

Trois autres communications ont enfin été présentées sur les relations EPA et schizophrénie. (Environ 1 % de la population est atteinte de schizophrénie.)

* *L'EPA dans le traitement de la schizophrénie* (M. Peet, *et al.* Sheffield, UK, et Univ. Baroda India).

On sait depuis 20 ans que le métabolisme des HUFA est souvent anormal dans des cas de schizophrénie. Quarante-cinq sujets prenant régulièrement des médicaments antipsychotiques ont été traités avec soit de l'EPA, soit du DHA, soit un placebo durant 3 mois. Il semblerait que l'EPA soit significativement supérieur au DHA pour les signes positifs (Anova).

Au cours d'une deuxième étude, 12 patients sous placebo ont gardé leur traitement antipsychotique et 8 seulement des 14 sujets EPA ont conservé leur traitement antipsychotique. Malgré cela le groupe EPA a obtenu de meilleurs scores que le groupe placebo.

* *Essai randomisé d'un supplément d'EPA sur des symptômes résiduels de schizophrénie* (W.S. Fenton *et al.*, Stanley Found. Res. Prog., Bethesda, États-Unis).

Les auteurs ont étudié 91 sujets remplissant les critères du DSM IV pour un diagnostic de schizophrénie, ou de troubles schizo-affectifs, en double-aveugle éthyl-EPA (3 g/j) *versus* placebo. Les acides gras des membranes érythrocytaires ont été prélevés pour analyse avant et après traitement. Quarante-cinq patients venaient d'arriver à 3 mois ou plus de traitement. Trop peu de résultats ont été donnés pour pouvoir se faire une opinion exacte de la valeur du traitement.

* *Profils des acide gras chez des phénotypes différents de schizophrénie* (D.M. Bibus, R.T. Holman et al., Hormel Inst., Pfeiffer Treatment Center, Chicago, États-Unis).

Les profils en acides gras de 40 patients schizophréniques ont été analysés après un phénotypage des sujets : taux élevés sanguins d'histamine (profil de méthylation bas), taux bas d'histamine (profil de méthylation élevé), pyrrolurie.

Les taux de DHA au niveau des PL plasmatiques étaient chez tous les schizophrènes entre 65 et 75 % des valeurs des contrôles. La somme totale des acides gras en n-3 était significativement plus basse pour tous les groupes en dépit de taux normaux d'EPA ou de DPA. Chez les patients pyrroluriques, l'EPA était significativement élevé avec des taux d'arachidonique significativement abaissés. L'acide linoléique était normal dans les trois phénotypes. Les déficits des PL en HUFA n-3, n-6 étaient compensés par des taux plus élevés de palmitique. Il n'y avait aucune différence entre les phénotypes méthylation faible et méthylation élevée. En revanche, des différences existaient entre ces deux groupes et le phénotype pyrrolurique. Quand les trois phénotypes étaient regroupés, l'arachidonique était significativement plus bas, malgré les taux normaux pour les phénotypes caractérisés par leur type de niveau de méthylation.

Cette approche aura été la plus intéressante de cette séance et montre à elle seule la complexité du sujet, mais un taux faible peut signifier aussi bien une diminution de la synthèse (problème de la delta-6-désaturase), qu'une augmentation de la consommation, ou une défaillance des systèmes vicariants : suppléance endogène, redistribution systémique...

Ayant participé dans les années 1980-1985 à des études de ce genre, avec une équipe de l'hôpital Henri-Mondor, et de l'INSERM, nous en avons gardé le souvenir d'une extrême complexité, de la nécessité de très longues périodes d'observation, et le danger d'induire de faux espoirs. Toutefois, l'existence d'interactions entre le système nerveux et le système immunitaire a été maintes fois soulevée [15] (d'où l'intérêt présumé de l'EPA qui diminue les réactions immunitaires). Les neuroleptiques classiques augmentent la production de PGE1, et les plaquettes des schizophrènes contiennent moins de PGE1 que celles de sujets normaux (J.P. Olie). Dans le travail de D.M. Bibus les taux faibles de DHA évoquent également une anomalie de fonctionnement de la delta-6-désaturase nécessaire à la synthèse de DHA (voie de Sprecher).

Il nous semble nécessaire de rattacher à cet ensemble de sept communications une revue générale [9].

Diverses études ont rapporté des associations entre régimes ou traitements hypocholestérolémiants, cholestérol sérique abaissé, et dépression, réactions hostiles. Mais d'autres études, tout aussi sérieuses, n'ont pas retrouvé ces corrélations, ou seulement chez des sujets âgés de plus de 70 ans. Plus récemment ces troubles ont été reliés à l'association d'apports en linoléique élevés avec des apports en alpha-linoléique inadéquats. Or, ce sont des données très variables d'une étude à l'autre, susceptibles d'introduire de nombreux biais, si l'on compare ces diverses études antérieures. On peut relever ainsi des apports LA/ALA qui vont de 54/1 à 14/1, pour un rapport souhaitable de 4 ou 5 à 6/1.

L'hypothèse du rôle de la baisse de l'activité de certains systèmes mono-aminergiques dans l'étiologie des dépressions non réactionnelles (ou sans raison apparente) soulève d'emblée le problème de la fonctionnalité de leurs récepteurs et de la composition lipidique de ces récepteurs. Les HUFA font jusqu'à 45 % des acides gras des membranes synaptiques. Ce sont essentiellement le DHA, l'acide adrénique (22:4n-6) et l'acide arachidonique.

Ainsi la neurotransmission sérotoninergique et noradrénergique ainsi que la fonctionnalité de leurs récepteurs sont influencées par l'apport en linoléique et alpha-linoléique du régime. Il semble même que, du moins chez le rat, la 3^e fonction, la fonction dopaminergique soit influencée par une chute du taux de DHA au niveau du récepteur D2 de la dopamine.

Des études, assez convaincantes, commencent à être réalisées chez des patients déprimés (Maes *et al.*, cf. ci-dessus [12]). S'il existe des travaux établissant une corrélation positive entre le niveau de la dépression et un rapport ARA/EPA trop élevé au niveau des phospholipides sériques et membranaires érythrocytaires, peut-être qu'un rapport inverse EPA/ARA trop élevé pourrait-il comporter quelques inconvénients ? (Les parfaits Cathares, au Moyen Âge, en France, ne consommaient que des légumes, des fruits, du saumon, sans jamais de viande, ni d'œufs, ni de produits laitiers, et devaient avoir ce type de rapport !)

Pour l'instant, la seule réponse à tous ces problèmes soulevés ne peut être que la recherche d'une situation physiologique. Les rôles physiologiques de l'acide linoléique et de l'acide alpha-linolénique se révèlent en effet trop importants pour que l'on ait le droit, également dans ce domaine, sans dossier pharmacologique ni médical suffisant, de s'éloigner des limites raisonnables de leur consommation, de leur espace nutritionnel *safe* ou sans risque, entre l'apport le plus bas tolérable et l'apport le plus élevé tolérable. Dans le même temps il faudra tenir compte de leurs apports réciproques, le rapport LA/ALA ne pouvant guère varier de façon physiologique au-delà, ou en deçà, de 4 à 6/1, dans le contexte d'une biodisponibilité favorable.

Enfin, il ne sert à rien, voire il peut même être dangereux, que linoléique et alpha-linolénique soient amenés dans des conditions qui ne permettent pas une utilisation convenable sur le plan métabolique physiologique, une transformation favorable et contrôlée en leur dérivés supérieurs biologiquement actifs, et sans les facteurs anti-oxydants ou co-anti-oxydants nécessaires.

¹ *Polyunsaturated fatty acid.*

² *Mono-unsaturated fatty acid.*

³ *Highly unsaturated fatty acid.*

CONCLUSION

Jamais, depuis vingt-cinq ans, le Congrès annuel de l'AOCs n'avait traité avec une telle intensité de trois problèmes majeurs dans le domaine de la Nutrition lipidique et de la Santé :

- l'acide gamma-linolénique et un OGM à bénéfice direct pour le consommateur ;

- le dilemme des excès en acides gras mono-insaturés, aussi bien qu'en acides gras poly-insaturés, ou en acides gras saturés, et du risque cardio-vasculaire ;

- le problème des lipides, et non plus seulement du développement cérébral, mais des désordres psychiatriques.

Et d'une façon étrange, clés et avertissements discrets, pour qui souhaiterait s'engager dans ces voies, étaient amenés par les deux conférences magistrales sur le thème nutrition lipidique.

* Celle du Stephens S. Chang Award : *From drug delivery to functional foods. A lipid story* (Bengt Herslöf).

Il était normal que ce soit un transfuge de l'industrie pharmaceutique qui développe ce concept majeur de la biodisponibilité, non seulement en général, mais sur le site de la réaction majeure, ou de l'effet majeur souhaité. Les lipides ont joué et jouent un rôle considérable dans l'industrie pharmaceutique en ce domaine. Ne pas tenir compte, dans les *functional foods*, comme on le fait en règle générale, de cet acquis, est aussi regrettable sur le plan efficacité que probablement dangereux.

* Celle du Supelco/Nicholas Pelick Research Award : *The regulation of polyunsaturated fatty acids biosynthesis in animals* (Howard Sprecher).

La discrétion de H. Sprecher est très connue. Mais en deux travaux [13] montrant l'existence d'un mécanisme de rétroconversion : C22:4n-6 =>C20:4n-6 et [14] montrant le mécanisme (ou shunt de Sprecher) de la synthèse des AGHI en delta-4 grâce à deux élongations (C22, C24), suivies d'une désaturation en delta-6 du C24:n-6 ou n-3, puis suivie d'une rétroconversion en C22:n-6, ou n-3, il a ouvert la voie à la compréhension de deux mécanismes fondamentaux en physiologie, appliqués aux lipides. Comment se réalisent en effet les mécanismes d'homéostasie, et d'homéorrhésis, si importants en physiologie humaine, dans le domaine des lipides ?

En période de carence, les mécanismes de rétroconversion permettent une suppléance endogène [15, 16] ou une redistribution systémique [17]. En période d'excès, le C20:4n-6 est mis en réserve sous forme de C22:4n-6, évitant un risque d'explosion de synthèse d'écosanoides inflammatoires... ainsi, vaille que vaille, une homéostasie est maintenue.

L'homéorrhésis est un système de régulation qui fait que les fonctions les plus performantes de l'organisme se mettent en veilleuse au diapason de la fonction la moins performante tant qu'elle n'est pas réhabilitée. L'inondation de l'organisme par des dérivés « fonctionnels » à 2 (?), 3 (?), 10, 20 fois la dose à laquelle leur synthèse est régulée peut créer un changement d'ordre qui nécessitera soit la mise en place (ou l'échec) d'une nouvelle homéostasie ou homéorrhésis. Dans ce domaine presque tout est à découvrir et à décrire.

REFERENCES

1. THOMASSON HJ (1962). *Nature*, 194 : 973.
2. POISSON JP, LEMARCHAL P, BLOND JP, LECERF J, MENDY F (1978). *Diabète et métabolisme*, 4 : 39-45.
3. RICHARD JL, MARTIN C, MAILLE M, MENDY F, DELPLANQUE B, JACOTOT B (1990). *J Clin Biochem*, 8 : 75-84.
4. SIMON JA (1995). *Stroke*, 26 : 778-82.
5. GILMAN MW, *et al.* (1997). *JAMA*, 278 : 2145-50.
6. (2000). Low-fat, high-carbohydrate diets and atherogenic risk. *Nutrition Rev*, 58 : 148-51.
7. (2000). Syndrome X : medical nutrition therapy. *Nutrition Rev*, 58 : 154-9.
8. BLANKENHORN DH (1990). *JAMA*, 263 : 1646-52.
9. BRUINSMA KA, TAREN DL (2000). Dieting, essential fatty acid intake and depression. *Nutrition Rev*, 58 : 98-108.
10. HOLMAN RT (1982). Human linolenic deficiency involving neurological abnormalities. *Am J Clin Nutr*, 35 : 617-23.
11. RENAUD S, *et al.* (1994). Lyon diet heart study. *Lancet*, 343 : 1454-9.
12. MAES, *et al.* (1999). *Psychiatry Res*, 85 : 275-91.
13. SPRECHER H (1967). *BBA*, 144 : 296.
14. SPRECHER H (1991). *JBC*, 26 : 19995-20000.
15. MENDY F, HIRTZ J, *et al.* (1968). *Ann Nutr*, 22 : 267-85.
16. MENDY F, HIRTZ J, *et al.* (1970). *Arch Sci Physio*, 24 : 279-96.
17. KULMAC Z, LANDS WEM, *et al.* (1986). *Lipids*, 21 : 21-5.

Illustrations

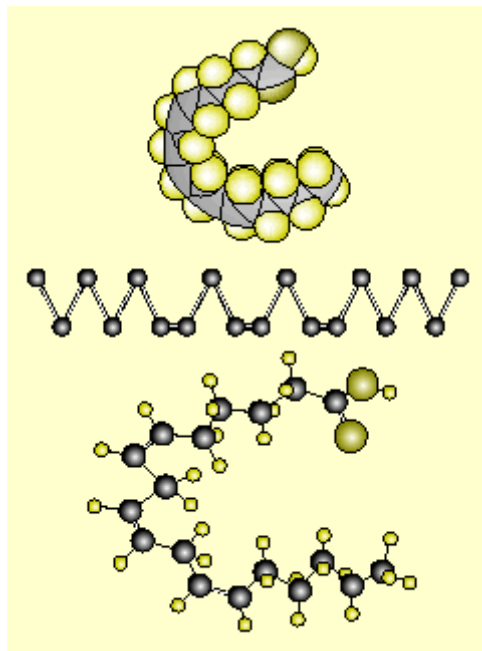


Figure 1. L'acide gamma-linolénique (C18 : 3, n-6) : configuration spatiale, représentation en diagramme et formule spatiale.

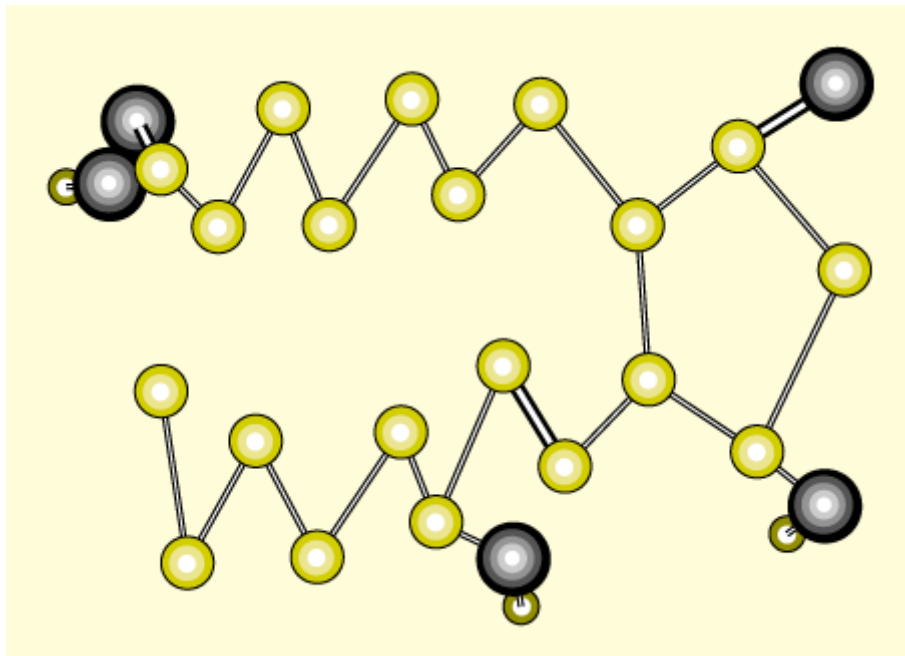


Figure 2. PGE1.



Photo 1. L'auteur (2^e à partir de la gauche) en 1982, dans un champ d'onagre, source d'acide gamma-linolénique.
