

Isomères trans de l'acide α -linoléinique et agrégation plaquettaire chez l'homme

Trans isomers of alpha-linolenic acid and platelet build-up in humans

Oléagineux, Corps Gras, Lipides. Volume 7, Numéro 1, 44-9, Janvier - Février 2000, Dossier : actes des Journées Chevreul "Corps gras, nutrition et santé, questions d'actualité" (Bordeaux, Pessac)

Auteur(s) : Olivier BERDEAUX, Lionel BRETILLON, INRA, Unité de nutrition lipidique, 17, rue Sully, BP 1540, 21034 Dijon Cedex, France.

Résumé : Les principaux isomères trans de l'acide linoléinique formés aux cours des traitements technologiques et thermiques sont les isomères 18:3-9c,12c,15t,-9t,12c,15c et, à moindre taux, -9t,12c,15t. Ils sont présents dans des huiles raffinées, des huiles végétales partiellement hydrogénées et dans des produits frits, et sont par conséquent consommés par l'homme [1]. Ces isomères 18:3-trans semblent suivre les mêmes voies de conversion que leur homologue naturel, le 18:3n-3. En effet, un certain nombre d'études ont montré que les 18:3-trans étaient allongés en acides gras à 20 et 22 atomes de carbone présentant des liaisons éthyléniques trans [2-5]. Aussi, ces isomères trans de l'acide éicosapentaénoïque (EPA) et de l'acide docosahexaénoïque (DHA) ont été retrouvés dans différentes classes de lipides de différents organes de rats ayant reçu pendant huit semaines un régime contenant 10 % d'huile de lin chauffée 12 heures à 275 °C [3-4, 6]. Cependant, une analyse quantitative de ces 20:5-trans dans le foie de ces rats a révélé que l'isomère 20:5-17t représentait 80 % de l'ensemble des isomères 20:5-trans formés, alors que les isomères 20:5-11t et -11t,17t ne représentaient que seulement 5 % [4, 5]. Ceci montre que l'isomère 18:3-15t est converti en 20:5-trans en quantité plus importante que ne le sont les 18:3-9t et -9t,15t [7]. Chardigny et al., en 1993, ont montré que seuls les 20:5-17t et 22:6-19t issus du 18:3-15t étaient présents dans les plaquettes sanguines humaines [8].

Keywords : rat platelets, human platelets, platelet aggregation, trans fatty acid, α -linolenic acid, eicosapentaenoic acid, arachidonic acid.

ARTICLE

Les plaquettes sanguines

Les plaquettes sont les plus petits éléments figurés du sang (2 à 3 μm) [9]. Le sang humain en contient de 130 000 à 400 000 par microlitre. Ce sont des fragments cellulaires provenant des mégacaryocytes médullaires provenant eux-mêmes des cellules totipotentes qui donnent aussi naissance aux érythrocytes et aux leucocytes. Au repos, les plaquettes présentent une forme discoïde et leur durée de vie est de 8 à 10 jours chez l'homme et seulement de 4 jours chez le rat.

L'acide arachidonique (AA), un des principaux acides gras des phospholipides plaquettaires, est oxygéné dans les plaquettes soit par la voie de la cyclo-oxygénase, soit par la voie de la 12-lipoxygénase (*figure 1*) [10].

L'oxygénation de l'AA par la voie de la cyclo-oxygénase donne les prostanoïdes de la série 2

regroupant les prostaglandines (PGG₂, PGH₂ et à plus faible quantité les PGD₂, PGE₂ et PGF_{2α}) et les thromboxanes (TxA₂ et TxB₂). Les endoperoxydes (PGG₂, PGH₂) et le TxA₂ sont de puissants inducteurs de l'agrégation plaquettaire.

D'autres acides gras polyinsaturés (AGPI) sont aussi substrats de la cyclo-oxygénase. Il s'agit en particulier d'AGPI à 20 atomes de carbones et possédant au minimum trois liaisons de configuration *cis* en position 8, 11 et 14. Ainsi, l'acide 20:3n-6 est le précurseur des prostanoïdes de la série 1 [11, 12] et l'EPA est celui des prostanoïdes de la série 3 [13, 14].

La 12-lipoxygénase catalyse l'oxygénation du carbone 12 de l'AA. Cette 12-lipoxygénase conduit à l'acide 12-hydroperoxyéicosatétraénoïque (12-HPETE) qui est ensuite réduit en acide 12-hydroxyéicosatétraénoïque (12-HETE). D'autres AGPI possédant deux doubles liaisons de configuration *cis* en position 8 et 11 sont substrats de cette enzyme [15]. C'est le cas des acides 20:3n-6, 20:3n-9 et de l'EPA [16] mais aussi du DHA [17].

Les plaquettes sanguines jouent un rôle essentiel dans les premières étapes du processus hémostatique. En effet, lorsqu'un vaisseau sanguin est endommagé sur sa partie luminale, les plaquettes sont activées par des fibres de collagène et le facteur von Willebrand contenus dans le subendothélium. La réponse plaquettaire va se traduire par un changement de forme et par l'adhésion irréversible des plaquettes à la paroi vasculaire endommagée oblitérant ainsi la blessure. C'est le « clou hémostatique ».

La *figure 1* illustre schématiquement la réponse plaquettaire [18]. Celle-ci est induite par de nombreux agents tels que le collagène, la thrombine, l'ADP ou la sérotonine qui exercent leurs effets par l'intermédiaire de récepteurs spécifiques situés sur la membrane plasmique. La liaison d'un agoniste sur son récepteur entraîne l'activation de protéines intracellulaires (interaction avec des protéines G, formation de seconds messagers, activations en chaîne de la protéine kinase C et d'autres enzymes). Les phospholipases A₂ et C sont activées, permettant de libérer l'AA en position sn2 des phospholipides membranaires [9, 19]. L'AA est alors métabolisé en prostanoïdes et notamment en PGH₂ et TxA₂ qui vont aller se fixer sur des récepteurs situés au niveau de la membrane plaquettaire, ce qui va permettre d'amplifier et d'entretenir le processus d'activation.

Une modification de la fonction plaquettaire interviendrait dans la modulation du risque de survenue de maladie [9, 20].

Acides gras *trans* et agrégation plaquettaire

De nombreux travaux ont mis en évidence les propriétés anti-agrégantes des acides gras de la série n-3, en les apportant sous forme d'huile de poisson [21, 22] ou en enrichissant les régimes avec ces acides gras [23]. L'équipe de Lagarde a notamment montré les effets anti-agrégants du DHA et de l'EPA [14, 24, 25]. L'EPA et le DHA inhibent la synthèse du TxA₂, mais chacun de manière différente. Le premier entre en compétition avec l'acide arachidonique au niveau de la cyclo-oxygénase [26], tandis que le second induit un changement dans la membrane plaquettaire ayant pour conséquence la « non-libération » de l'AA et l'inhibition de la cyclo-oxygénase qui est une protéine membranaire. De plus, Swann *et al.* [27] et Parent *et al.* [28] ont montré que l'incorporation de ces deux acides gras dans les phospholipides plaquettaires inhibait le récepteur du complexe PGH₂/TxA₂.

La présence d'une ou de plusieurs doubles liaisons de configuration *trans* modifie-t-elle ces

propriétés anti-agrégantes de l'EPA et du DHA dans les plaquettes ?

Étant donné que le 20:5 17t et le 22:6 19t sont les deux isomères majeurs respectifs de l'EPA et du DHA détectés dans les plaquettes humaines, trois principales études ont été réalisées avec ces AGPI *trans* sur des modèles de plaquettes isolées humaines ou de rats.

La première d'entre elles a porté sur les effets du 20:5-17t sur l'activité plaquettaire lorsqu'il était ajouté de manière exogène aux plaquettes humaines en suspension et activées par de l'AA [29]. Les auteurs ont montré que l'IC₅₀, la concentration nécessaire pour inhiber 50 % de l'agrégation maximale induite par l'AA, était plus élevée avec le 20:5 17t qu'avec l'EPA. Cet isomère présenterait donc un effet anti-agrégant moins prononcé que celui de l'EPA. En ce qui concerne l'inhibition de la production de métabolites de l'AA par la voie de la cyclo-oxygénase, les deux isomères ont des effets comparables lorsqu'ils sont chacun à leur IC₅₀ ; mais, à concentration égale, le 20:5n-3 est un bien meilleur inhibiteur que le 20:5-17*trans*. En contrepartie, pour chaque isomère, les auteurs ont noté une augmentation de la formation du 12-HETE proportionnelle à l'inhibition du TxB₂.

Chardigny *et al.* [30] ont étudié les effets dus à l'incorporation de cet isomère 20:5 17t dans les lipides des plaquettes humaines. Pour cela, dans un premier temps, les plaquettes ont été incubées en présence soit de l'EPA, soit de son isomère 20:5 17t lié à l'albumine. L'agrégation a ensuite été induite avec du collagène ou du U46619. L'U46619 est un analogue stable du TxA₂. Il permet de tester l'influence de la composition en acides gras des phospholipides plaquettaires sur l'activité du récepteur au TxA₂. Le collagène, quant à lui, permet de tester l'influence de la composition en acides gras des phospholipides plaquettaires sur le métabolisme de l'AA en éicosanoïdes et notamment en TxA₂. Les résultats obtenus ont confirmé ceux de O'Keefe [29], montrant que la présence d'une liaison *trans* sur l'EPA en position 17 de l'EPA diminuait son pouvoir anti-agrégant.

Plus récemment, une étude menée sur des plaquettes isolées de rat [31] a montré que le 20:5-17t additionné directement aux plaquettes stimulées par de l'acide arachidonique avait un effet anti-agrégant comparable à celui de l'EPA. En revanche, les auteurs ont mis en évidence que les isomères 20:5-11t et -11t,17t avaient des effets anti-agrégants deux fois supérieurs à celui de l'EPA. Tout comme pour l'étude de O'Keefe [29], les auteurs ont obtenu une inhibition de la formation des métabolites de la voie de la cyclo-oxygénase et une augmentation de la formation du 12-HETE proportionnelles à l'inhibition de l'agrégation plaquettaire pour chaque isomère.

Cette même étude a permis de montrer que l'isomère 20:5-17t additionné seul à des plaquettes était capable d'induire une agrégation, ce qui n'est pas le cas de l'EPA. Cependant, cette agrégation était de plus faible intensité que celle induite par l'AA et nécessitait des concentrations en 20:5 17t beaucoup plus élevées qu'en AA.

En outre, l'utilisation de 20:5-17t marqué au carbone 14 a permis de montrer que cet acide gras était métabolisé en trois composés X₁, X₂ et X₄ et, contrairement à l'EPA, le 20:5-17t ne nécessite pas la présence de l'AA ou du 12-HPETE, des fournisseurs de peroxydes, pour être oxygéné dans les plaquettes. Les inhibitions sélectives de la 12-lipoxygénase avec la bacaléine puis de la cyclo-oxygénase avec l'indométhacine ont montré que les métabolites X₁ et X₄ sont issus de la cyclo-oxygénase et le métabolite X₂ de la 12-lipoxygénase. Enfin, en chromatographie en couche mince, les composés X₁, X₂ et X₄ présentaient des R_f similaires à ceux des HHT, 12-HETE et TxB₂ respectivement.

Les résultats de cette étude chez le rat suggéraient donc que le 20:5 17t ait été reconnu par les systèmes enzymatiques comme un analogue structural de l'AA, la double liaison *trans* en position 17 étant linéaire comme une simple liaison. Une identification des métabolites X₁, X₂ et X₄ doit être faite afin de confirmer cet hypothèse.

Une étude similaire avait été réalisée deux ans auparavant avec un isomère *trans* de l'AA, l'isomère 20:4-14t, le métabolite supérieur du 18:2-9c,12t [32]. Ce travail avait montré que la présence d'une double liaison *trans* en position 14 de l'acide arachidonique modifiait ses propriétés physiologiques dans les plaquettes. En effet, la double liaison en position 14 conférait à l'AA des propriétés anti-agrégantes car l'addition de cet isomère *trans* à des plaquettes en suspension et activées par de l'AA a inhibé l'agrégation plaquettaire induite par l'AA. De plus, comme d'autres agents anti-agrégants, cet isomère a inhibé la formation des métabolites de l'AA formés par la voie de la cyclo-oxygénase et, à l'inverse, il a augmenté la formation du 12-HETE.

Cette même étude a mis en évidence que le 20:4-14*trans* n'induisait pas d'agrégation plaquettaire contrairement à son homologue naturel. En outre, l'utilisation de 20:4-14t radioactif a permis de montrer qu'il n'était métabolisé qu'en un seul composé issu de la 12-lipoxygénase et, comme le 20:3n-9 par exemple, le 20:4-14t a nécessité la présence d'AA ou du 12-HPETE, des fournisseurs de peroxydes, pour être oxygéné par la 12-lipoxygénase. Il semblerait donc que ce composé ait été reconnu par la 12-lipoxygénase comme un homologue structural du 20:3n-9.

Ces deux dernières études réalisées sur des plaquettes de rat montreraient que les doubles liaisons de configuration *trans* non impliquées directement dans le mécanisme enzymatique peuvent être perçues comme des liaisons simples par les enzymes plaquettaires.

Le 22:6 19t est l'autre métabolite issu du 18:3-15t qui est présent sous forme de traces dans les plaquettes humaines [8]. Il aurait un effet anti-agrégant comparable à celui du DHA lorsqu'il est ajouté de manière exogène à des plaquettes humaines isolées, mais il inhiberait davantage la synthèse des produits de la cyclo-oxygénase [29]. En revanche, lorsqu'il est incorporé dans les lipides plaquettaires, il aurait un effet anti-agrégant moindre que celui induit par le DHA [30]. Dans ces conditions, cet isomère n'a aucun effet sur l'oxygénation de l'AA par la cyclo-oxygénase.

Ces différentes études *in vitro* ont mis en évidence que la présence d'une double liaison de configuration *trans* pouvait modifier les propriétés biologiques de ces acides gras essentiels dans les plaquettes : elle leur confère une structure moléculaire plus linéaire et des effets métaboliques et physiologiques souvent différents de ceux de leur homologue *cis*.

Suite à ces résultats, dans le cadre d'un contrat européen (FAIR 95-0594) « *Nutritional and Health Impact of Trans Polyunsaturated Fatty Acids in European Population* », l'étude de l'agrégation plaquettaire a été réalisée sur différents volontaires ayant reçu des régimes contenant de faibles doses d'un mélange de 18:3-*trans* [33]. Ces volontaires ont été recrutés sur trois centres européens, au laboratoire de nutrition humaine (LNH) de Clermont-Ferrand (n = 31) en France, à l'université d'Édimbourg (n = 26) en Écosse et à l'université de Maastricht (n = 31) aux Pays-Bas.

L'agrégation plaquettaire a été mesurée à trois temps de l'intervention nutritionnelle (*figure 2*) : au début de l'étude, à la 6^e semaine, après un régime dépourvu d'acides gras *trans* mono et polyinsaturés et au terme de l'étude, à la 12^e semaine, après six semaines d'un régime apportant

(groupe *trans*, HT) ou n'apportant pas (groupe *cis*, LT) 0,6 % de l'énergie quotidienne sous forme d'un mélange 18:3-*trans*. Ce mélange de 18:3-*trans* contenait principalement du 18:3-9t et du 18:3-15t, et à moindre taux du 18:3-9t-15t avec des proportions entre les différents isomères similaires à celles retrouvées dans les huiles végétales chauffées [34].

Le protocole utilisé est celui illustré par la *figure 3*. L'agrégation plaquettaire a été mesurée en réponse à une gamme de U46619, et une gamme de collagène selon le principe d'une méthode turbidimétrique décrite par Born [35]. Une fois l'incubation finie, la quantité de TxB₂ produit par les plaquettes en réponse au collagène a été dosée par test ELISA.

La *figure 4* présente les différents résultats d'agrégation obtenus pour l'ensemble des volontaires des trois centres. La réponse des plaquettes sanguines exprimée en pourcentage d'agrégation en fonction de la concentration en agent pro-agrégant présente un profil sigmoïdal. Aussi, les résultats sont présentés sous la forme de la valeur logarithmique de l'EC50 qui est définie comme la concentration en agoniste pour laquelle 50 % de l'agrégation maximale a été observée.

On constate que la sensibilité des plaquettes de la population totale reste stable après les six premières semaines de régime sans *trans* quel que soit l'agent agrégant utilisé. De plus, les six semaines de régime expérimental de l'étude n'ont pas modifié l'agrégation plaquettaire que les isomères 18:3-*trans* aient ou n'aient pas constitué 0,6 % de l'apport calorique total quotidien.

Par ailleurs, les résultats obtenus avec le dosage du TxB₂ pour les volontaires du groupe *trans* ont montré que l'apport de 18:3-*trans* dans le régime pendant les six semaines de régime expérimental n'avait pas affecté la production de TxB₂ en comparaison aux résultats obtenus à la 6^e semaine, après le régime préliminaire et aux valeurs obtenues sur les volontaires du groupe [33].

Dans cette étude nutritionnelle, l'apport lipidique ayant été contrôlé de façon très stricte aussi bien quantitativement que qualitativement, il était possible de déterminer spécifiquement les effets des 18:3-*trans*. Néanmoins, on peut dire que dans les conditions d'un apport à hauteur de 0,6 % de l'apport énergétique quotidien pendant une période de six semaines, la consommation de 18:3-*trans* chez l'homme jeune et sain ne modifie pas l'agrégation plaquettaire ni l'oxygénation enzymatique de l'AA dans les plaquettes.

Dans cette même étude, la composition des acides gras dans les phospholipides plaquettaires a été réalisée sur tous les volontaires aux différents temps de l'étude d'agrégation plaquettaire (*figure 5*).

Au cours des six premières semaines, il n'y a pas eu de modification majeure des acides gras, saturés totaux, mono-insaturés totaux, ni des AGPI des familles n-6 et n-3. Une légère augmentation du 20:5 n-3 a été constatée, ce qui est normal étant donné l'apport régulier de 18:3 n-3 durant le régime de la période préliminaire (3,2 g/j).

En revanche, on constate une diminution très nette et significative de l'ensemble des isomères 18:3-*trans*, 18:1-*trans* et 18:2 *trans*. Le taux de 20:5-*trans* quant à lui est resté stable pendant le régime de la période préliminaire malgré l'absence d'apport en 18:3-*trans*.

Au cours des six dernières semaines de l'étude, le profil en acides gras des plaquettes chez les volontaires du groupe *cis* n'a pas été modifié. Seule une très faible diminution des 18:1-*trans* et 18:2-*trans* a été notée et, comme au cours des six premières semaines, le taux de 20:5-*trans* est resté stable.

Ce dernier résultat montre que la période sans *trans* n'a pas été assez longue pour pouvoir éliminer tous les 20:5-*trans* des phospholipides plaquettaires.

Chez les volontaires du groupe *trans*, on note une très légère augmentation des AGPI n-6 et notamment du 20:4 n-6. Concernant les acides gras *trans*, il y a une augmentation du taux en 18:3-*trans* et du taux en 20:5-*trans*. Ces derniers résultats confirment le fait qu'il y a bien une conversion des 18:3-*trans* apportés par l'alimentation en métabolites supérieurs par l'organisme humain. Cependant, l'analyse qualitative réalisée sur ces isomères 20:5-*trans* totaux montre que seul le 20:5-17t était présent. Il semblerait donc que le 18:3-9t, l'autre principal isomère du mélange, n'ait pas été converti de façon suffisante pour que l'incorporation de 20:5-11t puisse être observée dans les phospholipides plaquettaires. La teneur en 20:5-17t détectée dans les phospholipides plaquettaires représente moins de 0,1 % des acides gras totaux, valeur proche des 0,15 % détectés dans les plaquettes humaines par Chardigny *et al.* en 1993 [8].

Des études menées chez l'homme laissent suggérer que l'agrégation plaquettaire ne serait modifiée par la consommation de 18:3 n-3 que lorsque le 20:5 n-3, qui présente des propriétés anti-agrégantes, est augmenté et que le 20:4 n-6, qui présente des propriétés pro-agrégantes, est diminué. Ce que l'on peut illustrer par le rapport 20:4 n-6/20:5 n-3.

Ce rapport, calculé à partir des valeurs des sujets de l'étude, diminue légèrement pendant les six premières semaines de manière significative, mais uniquement en raison de l'augmentation de la teneur en 20:5 n-3, celle en acide arachidonique restant stable. Ainsi, cette seule augmentation du 20:5 n-3 peut expliquer pourquoi l'agrégation plaquettaire n'a pas été modifiée au cours de cette première période de l'étude.

À la fin des douze semaines de l'étude, on constate une augmentation de la teneur en 20:5-17-*trans* chez les sujets du groupe *trans* par rapport aux volontaires du groupe *cis*, pour un taux de 20:5 n-3 équivalent. Cependant, une augmentation du taux de 20:4 n-6 a aussi été constatée seulement chez les volontaires du groupe *trans* en accord avec Loï *et al.* [36]. Le calcul du rapport $20:4\ n-6 / (20:5\ n-3 + 20:5\text{-}trans)$ montre que celui-ci est identique dans les deux groupes, ce qui peut apporter un élément d'explication à l'absence d'effet suite à la consommation des 18:3-*trans*.

CONCLUSION

L'étude chez le volontaire sain a permis de montrer pour la première fois la capacité de l'organisme humain à convertir le 18:3-15*trans* en 20:5-17*trans*.

Cet acide gras s'est bien incorporé aux phospholipides plaquettaires, mais il semble que dans nos conditions expérimentales, son incorporation n'ait pas été suffisante pour modifier l'agrégation des plaquettes sanguines.

Cette étude nutritionnelle chez le volontaire sain aurait certainement mérité une période préliminaire sans *trans* et une période expérimentale beaucoup plus longue apportant le mélange d'isomères des 18:3-*trans* dans le régime.

Remerciements

Certaines études citées dans cette revue ont été réalisées grâce au financement de l'Union européenne par le biais des contrats AIR 92-687 et FAIR 95-0594 et de la région Bourgogne (CERQUAVAL). Le financement de la thèse de Lionel Brétillon a été assuré par l'INRA et Lesieur Alimentaire.

REFERENCES

1. WOLFF RL (1995). Ubiquité et caractéristiques des isomères *trans* de l'acide linoléique. *OCL*, 2 : 391-400.
2. GRANDGIRARD A, SÉBÉDIO JL, FLEURY J (1984). Geometrical isomerization of linolenic acid during heat treatment of vegetable oils. *J Am Oil Chem Soc*, 61: 1563-8.
3. GRANDGIRARD A, PICONNEAUX A, SÉBÉDIO JL, O'KEEFE SF, SEMON E, LE QUÉRE JL (1989). Occurrence of geometrical isomers of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids in liver lipids of rats fed heated linseed oil. *Lipids*, 24 : 799-804.
4. CHARDIGNY JM, SÉBÉDIO JL, GRANDGIRARD A, MARTINE L, BERDEAUX O, VATELE JM (1996). Identification of novel *trans* isomers of 20:5 n-3 in liver lipids of rats fed heated oil. *Lipids*, 31 : 165-8.
5. GRANDGIRARD A, PICONNEAUX A, SÉBÉDIO JL, JULLIARD F (1998). *Trans* isomers of long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids in tissue lipid classes of rats fed with heated linseed oil. *Reprod Nutr Dev*, 38 : 17-29.
6. PICONNEAUX A (1987). *Étude de la désaturation et de l'élongation in vivo d'isomères géométriques de l'acide linoléique*. Thèse de Doctorat 3^e cycle, Université de Bourgogne.
7. BRÉTILLON L, CHARDIGNY JM, NOEL JP, SÉBÉDIO JL (1998). Desaturation and chain elongation of [1-¹⁴C] *monotrans* isomers of linoleic and alpha-linolenic acids in perfused rat liver. *J Lipid Res*, 39 : 2228-39.
8. CHARDIGNY JM, SÉBÉDIO JL, JUANEDA P, VATELE JM, GRANDGIRARD A (1993). Occurrence of n-3 *trans* polyunsaturated fatty acids in human platelets. *Nutr Res*, 13 : 1105-11.
9. BLACHE D (1992). Structure et fonctions des plaquettes sanguines. *Arch Int Physiol Biochim Biophys*, 100 : A17-24.
10. BOUKHCHACHE D, LAGARDE M (1982). Interactions between prostaglandin precursors during their oxygenation by human platelets. *Biochim Biophys Acta*, 713 : 386-92.
11. LAGARDE M, GUICHARDANT M, DECHAVANNE M (1981). Human platelet PGE1 and dihomo-gamma-linoleic acid. *Prog Lipid Res*, 20 : 439-43.
12. GOODNIGHT SH, HARRIS WS, CONNOR WE, ILLINWORTH DR (1982). Polyunsaturated fatty acids, hyperlipidemia and thrombosis. *Atherosclerosis*, 2 : 87-113.

13. HAMBERG M (1980). Transformations of 5,8,11,14,17 eicosapentaenoic acid in human platelets. *Biochim Biophys Acta*, 618 : 389-98.
14. LAGARDE M, DROUOT B, GUICHARDANT M, DECHAVANNE M (1985). *In vitro* incorporation and metabolism of some eicosaenoic acids in platelets. Effect on arachidonic acid oxygenation. *Biochim Biophys Acta*, 833 : 52-8.
15. NUGTEREN DH (1975). Arachidonate lipoxygenase in blood platelets. *Biochim Biophys Acta*, 380 : 299-307.
16. PAPTIOFANIS FJ, LANDS WEM (1995). Lipoxygenase mechanisms. In : LANDS WEM, ed. *Biochemistry of arachidonic acid metabolism*. Boston.
17. YAMAMOTO S (1992). Mammalian lipoxygenases : molecular structures and functions. *Biochim Biophys Acta*, 1128 : 117-31.
18. BLOCKMANS D, DECKMYN H, VERMYLEN J (1995). Platelet activation. *Blood Rev*, 9 : 143-56.
19. RITTENHOUSE SE (1983). Human platelets contain phospholipase C that hydrolyzes polyphosphoinositides. *Proc Natl Acad Sci USA*, 80 : 5417-20.
20. FUSTER V, BOWIE JW, LEWIS JC, FASS DN, OVEN CA, BROWN AL (1978). Resistance to atherosclerosis in pigs with von Willebrand's disease. Spontaneous and high cholesterol diet-induced arteriosclerosis. *J Clin Invest*, 61 : 722-30.
21. AHMED AA, HOLUB BJ (1984). Alteration and recovery of bleeding times, platelet aggregation and fatty acid composition of individual phospholipids in platelets of human subjects receiving a supplement of cod-liver oil. *Lipids*, 19 : 617-24.
22. HORNSTRA G, CHRIST-HAZELHOF E, HADDEMAN E, TEN HOOR F, NUGTEREN DH (1981). Fish oil feeding lowers thromboxane and prostacyclin production by rat platelets and aorta and does not result in the formation of prostaglandin I₃. *Prostaglandins*, 21 : 727-38.
23. SURETTE ME, WHELAN J, LU G, HARDARD'OTTIR I, KINSELLA JE (1995). Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids modify Syrian hamster platelet and macrophage phospholipid fatty acyl composition and eicosanoid synthesis : a controlled study. *Biochim Biophys Acta*, 1255 : 185-91.
24. CROSET M, LAGARDE M (1985). Enhancement of eicosaenoic acid lipoxygenation in human platelets by 12-hydroperoxy derivative of arachidonic acid. *Lipids*, 20 : 743-50.
25. CROSET M, SALA A, FOLCO G, LAGARDE M (1988). Inhibition by lipoxygenase products of TXA₂-like responses of platelets and vascular smooth muscle. 14-Hydroxy from 22:6n-3 is more potent than 12-HETE. *Biochem Pharmacol*, 37 : 1275-80.
26. CROSET M, LAGARDE M (1986). *In vitro* incorporation and metabolism of eicosapentaenoic and docohexaenoic acids in human platelets. Effect on aggregation. *Thromb Haemostas*, 56 : 57-62.
27. SWANN PG, PARENT CA, CROSET M, FONLUPT P, LAGARDE M, VENTON DL, LE BRETON GC (1990). Enrichment of platelet phospholipids with eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid inhibits thromboxane A₂/prostaglandin H₂ receptor binding and function. *J Biol Chem*, 265 : 21692-7.

28. PARENT CA, LAGARDE M, VENTON DL, LE BRETON GC (1992). Selective modulation of the human platelet thromboxane A₂/prostaglandin H₂ receptor by eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids in intact platelets and solubilized platelet membranes. *J Biol Chem*, 267 : 6541-7.
29. O'KEEFE SF, LAGARDE M, GRANDGIRARD A, SÉBÉDIO JL (1990). *Trans* n-3 eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid isomers exhibit different inhibitory effects on arachidonic acid metabolism in human platelets compared to the respective *cis* fatty acids. *J Lipid Res*, 31 : 1241-6.
30. CHARDIGNY JM, SÉBÉDIO JL, JUANEDA P, VATELE JM, GRANDGIRARD A (1995a). Effects of *trans* n-3 polyunsaturated fatty acids on human platelet aggregation. *Nutr Res*, 15 : 1463-71.
31. LOI C, CHARDIGNY JM, BERDEAUX O, VATELE JM, POUILLAIN D, NOEL JP, SÉBÉDIO JL (1998). Effects of three *trans* isomers of eicosapentaenoic acid on rat platelet aggregation and arachidonic acid metabolism. *Thromb Haemost*, 80 : 656-61.
32. BERDEAUX O, CHARDIGNY JM, SÉBÉDIO JL, MAIROT T, POUILLAIN D, VATELE JM, NOEL JP (1996). Effects of a *trans* isomer of arachidonic acid on rat platelet aggregation and eicosanoid production. *J Lipid Res*, 37 : 2244-50.
33. ARMSTRONG RA, CHARDIGNY JM, BEAUFRERE B, *et al.* (article en soumission). No effect of dietary *trans* isomers of alpha-linolenic acid on platelet aggregation and haemostatic factors in European healthy men : the TRANSLine Study.
34. HENON G, KEMENY Z, RECSEG K, ZWOBADA F, KOVARI K (1999). Deodorization of vegetable oils. Part I : Modelling the geometrical isomerization of polyunsaturated fatty acids. *J Am Oil Chem Soc*, 76 : 73-81.
35. BORN GVR (1962). Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal. *Nature*, 194 : 927-9.
36. LOI C, CHARDIGNY JM, ALMANZA S, LECLERE L, GINIES C, SÉBÉDIO JL (2000). Dietary *trans* isomers of alpha-linolenic acid : incorporation, metabolism, influence on fatty acid composition and effect on platelet aggregation in the rat. *J Nutr*, (soumis).

Illustrations

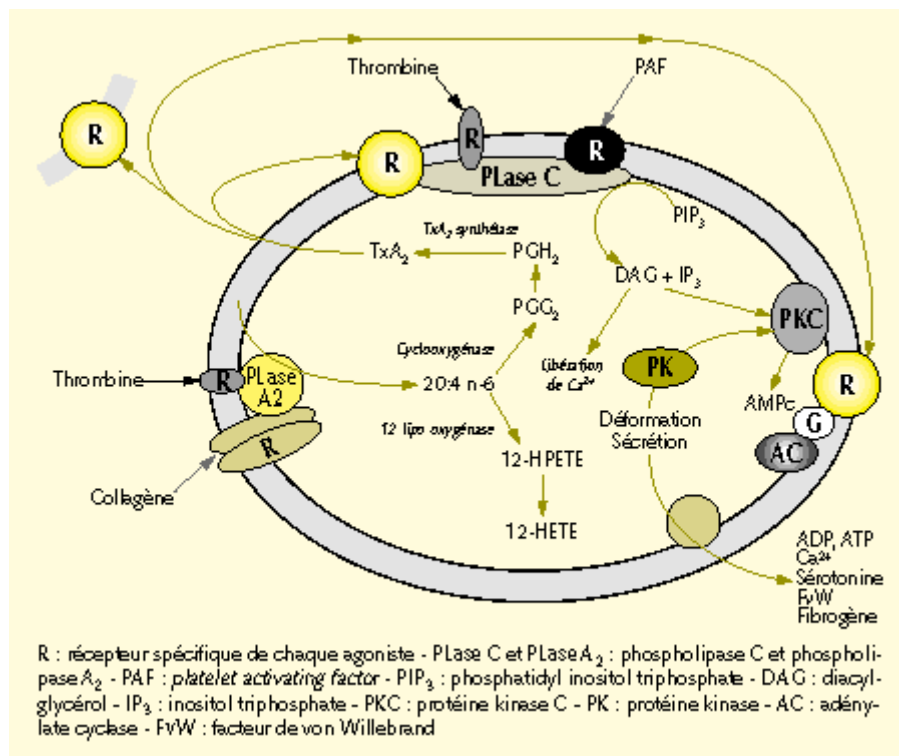


Figure 1. Illustration schématique de l'activation plaquettaire (d'après Blockmans et al., 1995).

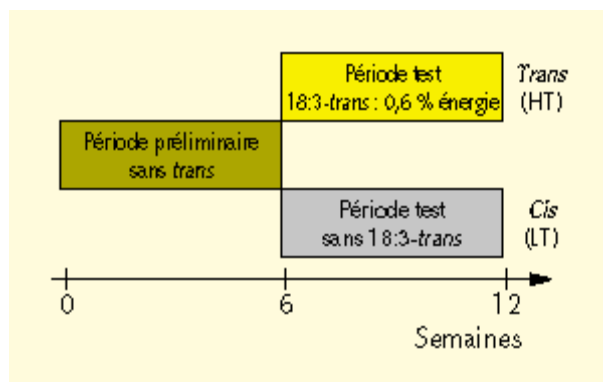


Figure 2. Description de l'intervention nutritionnelle chez l'homme.

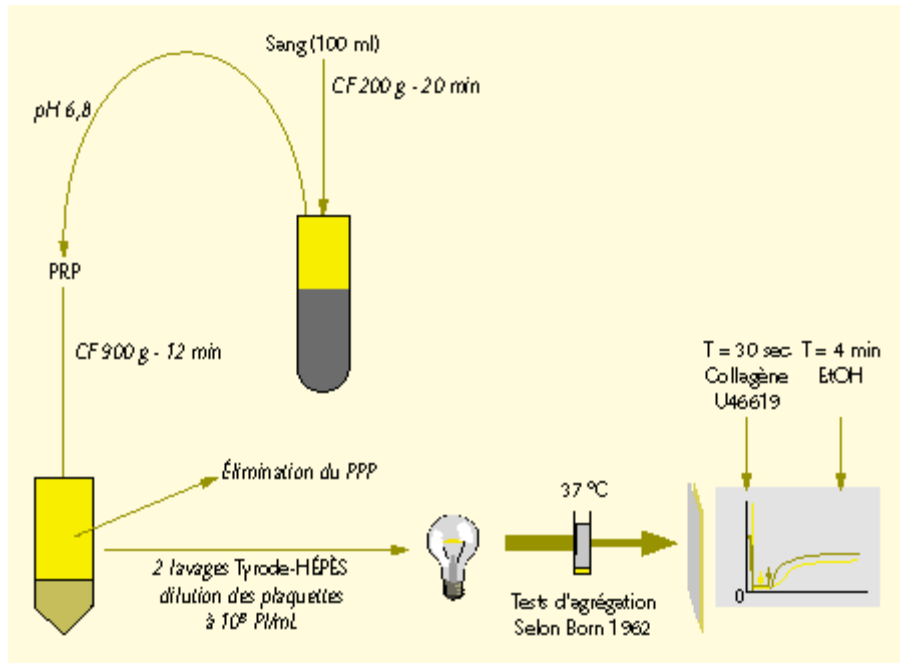


Figure 3. Méthodologie utilisée pour l'isolement des plaquettes et la mesure de l'agrégation plaquettaire.

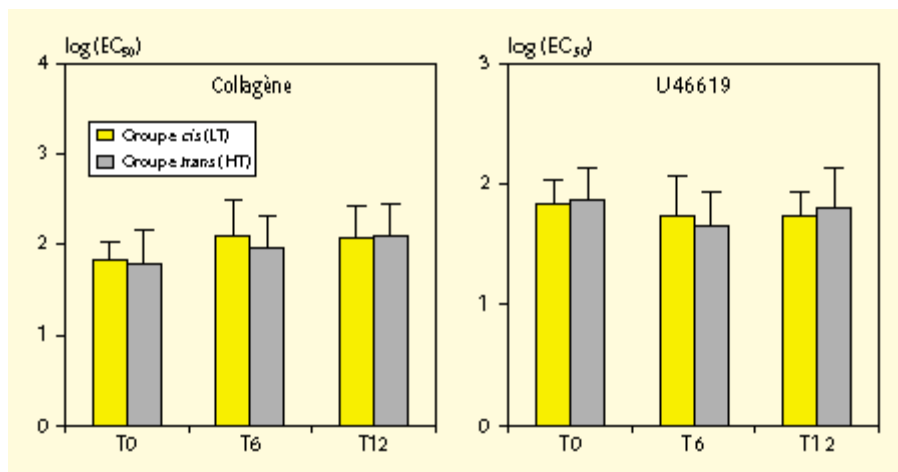


Figure 4. Variation de la sensibilité des plaquettes sanguines à l'agrégation induite par le collagène ou par le U46619 au cours de l'intervention nutritionnelle pour tous les sujets confondus. Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes \pm écarts types (ANOVA $p > 0,05$).

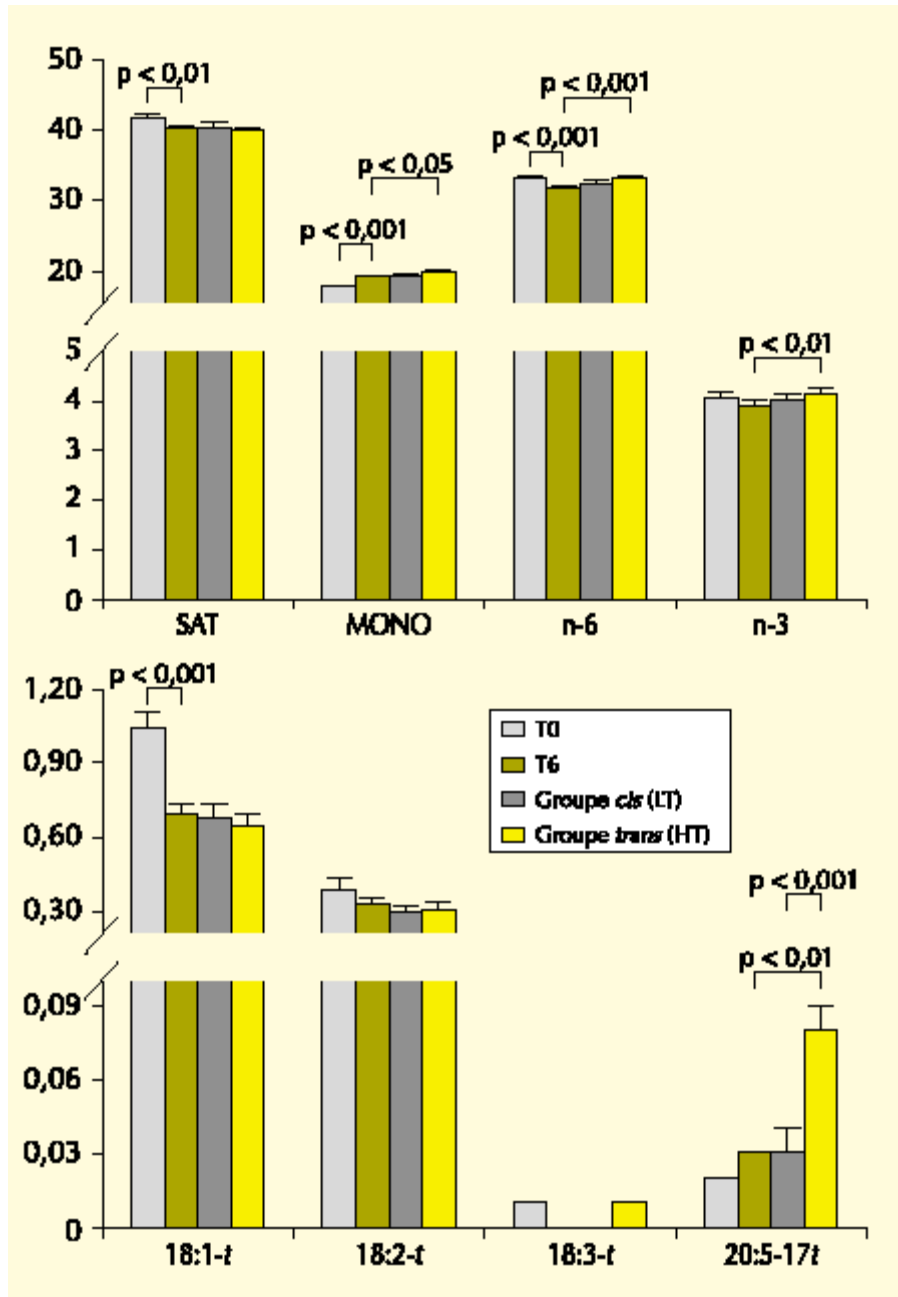


Figure 5. Composition en acides gras des phospholipides plaquettaires des volontaires français, écossais et néerlandais au cours de l'intervention nutritionnelle. Les données sont exprimées sous forme de la moyenne du pourcentage des acides gras totaux \pm erreur standard.