

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE
LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

INSTITUT NATIONAL AGRONOMIQUE
EL-HARRACH - ALGER

THESE

Présentée par A. AMMOUCHE

en vue de l'obtention du titre de Docteur d'Etat ès-Sciences
en Agronomie option : Sciences Alimentaires.

MODULATION DES ACTIVITES ENZYMATIQUES MEMBRANAIRES
PAR LES ACIDES GRAS POLYINSATURES ALIMENTAIRES
CHEZ LE RAT EN CROISSANCE.

Soutenue publiquement le 12 septembre 1995 devant la commission d'examen
composée de:

Président : Mr. B. AZZOUT
Rapporteur : Mr. J. M. BOURRE
Rapporteur : Mr. A. YOUYOU
Examineur: Mr. H. AIT - AMAR
Examineur: Mr. G. AYAD
Examineur: Mme. D. SADOUN

1367-1818

SOMMAIRE

Pages

AVANT-PROPOS

LISTE DES PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS

ABREVIATIONS

NOMENCLATURE DES ACIDES GRAS A LONGUE CHAINE ET DES ENZYMES

INTRODUCTION	1
I. Importance physiologique des AGPI.....	2
I.1. Rôle structural	3
I.2. Synthèse et rôle des eicosanoïdes	3
I.2.1. Synthèse des eicosanoïdes	5
I.2.1.1. Voie de la cyclo-oxygénase	5
I.2.1.2. Voie de la 5-lipoxygénase	7
I.2.2. Rôle des eicosanoïdes	7
I.2.3. Equilibre 20:4 n-6/20:5 n-3.....	7
I.3. Physiopathologie des déséquilibres n-6 et n-3.....	9
I.4. Besoins alimentaires en acides gras essentiels	10
II. Métabolisme des AGPI chez les mammifères	11
II.1. Biosynthèse des acides gras à longue chaîne	11
II.2. Elongation	12
II.2.1. Elongation mitochondriale	12
II.2.2. Elongation microsomale.....	12
II.3. Désaturations	14
II.4. Rétroconversion	16
III. Structure et rôle des membranes biologiques.....	18
III.1. Modèle de Singer et Nicholson	18
III.2. Fonctions	20
III.3. Structure des phospholipides	20
III.4. Organisation supra-moléculaire	22

III.4.1. Hétérogénéité transversale	24
III.4.2. Hétérogénéité latérale	24
III.4.2.1. Domaine membranaire	25
III.5. Organisation sub-macroscopique et moléculaire.....	25
III.5.1. Caractéristiques des AGPI.....	25
III.5.2. Notion d'espèces moléculaires et phospholipides.....	26
III.5.3. Ordre et mouvement des chaînes d'acides gras.....	27
III.5.4. Influence de la matrice lipidique sur les propriétés structurales et l'activité des protéines.....	27
III.6. Fluidité membranaire	29
IV. Métabolisme des phospholipides	30
IV.1. Synthèse <i>de novo</i> des phospholipides	30
IV.2. Réappariement des chaînes grasses	30
V. Enzymes membranaires	32
V.1. 5'-nucléotidase	33
V.2. Monooxygénases à fonction mixte.....	33
V.3. Nucléoside triphosphatase	39
MATERIEL ET METHODES	44
I. MATERIEL	44
I.1. Animaux et régimes alimentaires.....	44
II. METHODES.....	47
II.1. Préparations des microsomes.....	47
II.2. Préparation des noyaux et des membranes nucléaires hépatiques.....	49
II.2.1. Préparation des noyaux.....	49
II.2.2. Préparation des membranes nucléaires.....	49
II.3. Dosage des protéines.....	50
II.4. Dosage des acides gras par CPG	50
II.5. Dosage des activités enzymatiques	52
II.5.1. 5'-nucléotidase	52
II.5.2. Nucléoside triphosphatase.....	52
II.5.3. Monooxygénases à fonction mixte	53

II.5.3.1. Cytochrome P-450 et cytochrome b ₅	53
II.5.3.2. NADPH-cytochrome c réductase	54
II.5.3.3. NADH-cytochrome b ₅ réductase.....	54
II.5.3.4. Aminopyrine N-déméthylase.....	55
II.5.3.5. Aniline hydroxylase.....	56
ANALYSES STATISTIQUES DES RESULTATS.....	56
RESULTATS ET DISCUSSIONS.....	57
I. Influence des régimes alimentaires sur la composition en acides gras des microsomes cérébraux et hépatiques de rats.....	58
I.1. Composition en acides gras des microsomes cérébraux.....	58
I.2. Composition en acides gras des microsomes hépatiques	62
I.3. Conclusion.....	66
II. Evolution de l'activité spécifique de la 5'AMPase dans les microsomes cérébraux et hépatiques de rats en fonction des régimes alimentaires et de l'âge.....	67
II.1. Evolution de l'activité spécifique de la 5'AMPase dans les microsomes cérébraux...	67
II.2. Evolution de l'activité spécifique de la 5'AMPase dans les microsomes hépatiques..	67
II.3. Conclusion.....	71
III. Influence des régimes alimentaires et de l'âge sur les activités des monooxygénases à fonction mixte.....	74
III.1. NADH cytochrome b ₅ réductase.....	74
III.2. NADPH cytochrome c réductase	74
III.3. Cytochrome b ₅	75
III.4. Cytochrome P-450.....	76
III.5. Aniline hydroxylase.....	76
III.6. Aminopyrine N-déméthylase.....	77
III.7. Conclusion.....	80
IV. Influence des régimes alimentaires sur la composition en acides gras des membranes nucléaires et sur l'activité spécifique de la NTPase.....	82
IV.1. Observation en microscopie électronique des noyaux et des membranes nucléaires hépatiques.....	82
IV.2. Composition en acides gras des membranes nucléaires hépatiques	82

IV.3. Evolution de l'activité spécifique du NTPase dans les membranes nucléaires 88

IV.4. Conclusion 91

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES..... 92

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES..... 94-128

ANNEXES..... 129

Je tiens tout d'abord à remercier l'Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM) sous la direction du Dr. J.M. Bouarre, Directeur d'unité à qui j'adresse l'expression de ma profonde gratitude de m'avoir accueilli dans son unité de recherche. Ses qualités humaines, ses compétences scientifiques, la justesse et l'originalité de ses idées, sa disponibilité de tous les instants ainsi que son esprit passionné m'ont permis de réaliser ce travail dans les meilleures conditions, qu'il veuille bien accepter mes sincères remerciements.

Je tiens à exprimer ma reconnaissance et mes remerciements à :

- Monsieur A. YOUYOU, Professeur à l'Institut National Agronomique, pour avoir eu l'amabilité de me mettre en relation avec l'Unité 26 de recherche à l'INSERM, et de m'avoir apporté aide et soutien tout au long de mon travail.

- Monsieur B. AZZOUÏ, Professeur à l'Institut National Agronomique d'avoir bien voulu me faire l'honneur de présider ce jury.

- Madame D. SADOÛN, Professeur à l'Institut de Biologie, Université de Béjaïa, pour l'intérêt qu'elle a bien voulu manifester en acceptant de participer à ce jury.

- Monsieur G. AYAD, Professeur à l'Université des Sciences et de la Technologie d'Alger qui a bien voulu se déplacer pour juger ce travail.

- Monsieur H. AÏT-AMAR, Professeur à l'Université des Sciences et de la Technologie d'Alger, qui a accepté d'apporter un jugement éclairé sur ce travail.

Je voudrais également remercier le personnel technique et administratif de l'Unité 26 pour leur collaboration et conseils, tout particulièrement Mr. M. Clément, Mesdames O. Dancet, M. Fricot, M. Touraïer et Nolita.

Enfin, je m'en voudrais de ne pas associer mon collègue et ami Mr BELLAL pour ses encouragements de tous les jours.

RESUME

L'objectif de cette étude est de préciser les conséquences d'une carence ou d'une surcharge alimentaire en acides gras polyinsaturés des séries n-6 et n-3 sur la composition en acides gras des lipides totaux des microsomes cérébraux, hépatiques et des membranes nucléaires du foie de rat et sur les activités enzymatiques membranaires, en particulier, la 5'-nucléotidase (5'AMPase), la nucléoside triphosphatase (NTPase) et les monooxygénases à fonction mixte (MFO).

Cette étude a été réalisée sur des lots de rats mâles de souche (Sprague Dawley) en croissance. Au terme de cette période expérimentale, les principaux résultats obtenus montrent que:

Le régime lipidoprive induit une augmentation du taux des acides gras de la série oléique, particulièrement le 18:1 n-9 et le 20:3 n-9 et une réduction significative du taux des AGPI (n-6 + n-3) dans les membranes microsomales et nucléaires hépatiques. Parallèlement, les activités spécifiques de la 5'AMPase, du NADPH cytochrome c réductase, et de la teneur en cytochrome P-450 sont réduites de façon très significative. En revanche, les activités spécifiques du NADH cytochrome b₅ réductase, et la teneur en cytochrome b₅ sont augmentées de manière significative dans les membranes microsomales hépatiques. De même, l'activité spécifique du NTPase est augmentée de manière significative dans les membranes nucléaires hépatiques.

Le régime tournesol entraîne une augmentation des acides gras polyinsaturés de la série n-6, particulièrement le 20:4 n-6 et une réduction des acides gras de la série n-3. Les activités enzymatiques sont peu ou pas affectées à l'exception de NADH cytochrome b₅ réductase qui est réduite significativement dans les microsomes hépatiques.

Le régime poisson induit une augmentation significative des acides gras polyinsaturés de la série n-3, notamment le 20:5 n-3 et le 22:6 n-3 et une réduction des acides gras de la série n-6. Les activités spécifiques de la 5'AMPase, de NADPH cytochrome c réductase, de l'aminopyrine N-déméthylase, de l'aniline hydroxylase et de la teneur en cytochrome P-450 sont augmentées significativement par rapport aux témoins, alors que la teneur en cytochrome b₅ et l'activité spécifique du NTPase sont réduites de façon significative.

L'ensemble de ces résultats étayent l'hypothèse d'une modulation des activités enzymatiques membranaires par les AGPI, qui semblent agir directement sur les propriétés physico-chimiques des membranes biologiques.

Mots clés: Régimes, rats, AGPI, microsomes, membranes nucléaires, 5'AMPase, NTPase, Monooxygénase à fonction mixte (MFO).