J. Soc. Ouest-Afr. Chim ; (2009) 027 ; 39 - 54

Impact d'une supplémentation mensuelle en MaxEPA sur la composition molaire en acides gras des principales sous-classes de la phosphatidyléthanoamine et de la phosphatidylcholine de la membrane érythrocytaire.

Hassimi. Sadou[1*], Mousbahou Malam Alma[1], Claude Louis Léger[2.]

[1]Département de Chimie. Faculté des Sciences. BP. 10.662 Niamey. NIGER.
[2]Laboratoire de Biochimie et Biologie des Lipides. Inst. de Biologie. Bd Henri IV. 34 000 Montpellier. France.

(Reçu le 17/02/2007 – Accepté après corrections le 18/04/2008)

Résumé : L'objectif était de voir dans quelle mesure une supplémentation quotidienne en acide éicosapentaénoïque (EPA ; 20:5n-3) et docosahexaénoïque (DHA ; 22:6n-3) en positions sn-2 et sn-1(3) des triglycérides d'huiles de poissons affecte la composition en acides gras des principales sous classes des phospholipides à éthanolamine (PE) et à choline (PC) de la membrane érythrocytaire. Neuf volontaires sains et normolipidémiques prennent quotidiennement, pendant 30 jours, 11 g de MaxEPA contenant 2 g d'EPA et 1,3 g de DHA. Dans le MaexEPA utilisé, le DHA se trouve principalement en position sn-2. Dans le diacyl-phosphatidyléthanolamine (diacyl-PE), l'EPA et le DHA augmentent significativement ($p<0,05$) au cours de la première semaine mais gagnent en significativité ($p<0,001$) par la suite. Au cours des deux premières semaines nous avons observé une incorporation sélective de l'EPA ($p<0,001$) mais non du DHA ($p<0,01$) dans cette fraction. Les familles n-6 et n-9 principalement le 18:3n-6, le 20:n-6 et le 18:1n-9 diminuent significativement. Dans les plasmalogènes à éthanolamine, l'EPA et le DHA augmentent mais seulement après deux semaines de supplémentation, en réponse, l'acide stéarique (18:0) et l'acide linoléique (18:2n-6) diminuent significativement. Dans cette fraction nous avons également observé une incorporation sélective de l'EPA ($p<0,001$) par rapport au DHA ($p<0,05$). Dans le diacylphosphatidylcholine (diacyl-PC), nous n'avons observé aucune incorporation sélective de l'EPA par rapport au DHA. En effet, dans cette fraction, l'EPA et le DHA augmentent simultanément ($p<0,001$) après une semaine de supplémentation, en réponse, l'acide linoléique (18:1n-6) et l'acide di homo gamma linolénique (20:3n-6) diminuent de façon significative ($p<0,05$). Dans les plasmalogènes à choline l'EPA mais non le DHA augmente significativement ($p<0,001$) après une semaine de supplémentation. L'augmentation du DHA devient significative ($p<0,01$) au cours de la deuxième semaine mais seul le 20:3n-6 diminue de façon significative. Il est important de noter que l'EPA et le DHA continuent d'augmenter de façon significative après deux semaines de supplémentation lorsque nous comparons J30 à J15.
Mots clés : EPA, DHA, PE, PC, Plasmalogènes, Erythrocytes.

Quantitative changes in the fatty acids composition of the main subclasses of the erythrocyte membrane phosphatidylethanolamine and phosphatidylcholine after thirty days daily supplementation of MaxEPA.

Summary : The aims of this study is to investigate how a daily supplementation of eicosapentaenoate (EPA, 20:5n-3) and docosahexaenoate (DHA, 22:6n-3) in the sn-2 and sn-1(3) positions of fish-oil triacylglycerols influenced the fatty acids composition of the main subclasses of ethanolamine (PE) and choline (PC) phospholipids of the red blood cells membrane. Nine healthy volunteers were studied over a long-term (30 days) period of daily supplementation with 2 g EPA and 1,3 g DHA given as 11 g fish-oil triacylglycerol in witch DHA was predominantly situated in the sn-2 position. In the diacylphos-phatidylethanolamine (diacyl-PE), EPA and DHA increased significantly ($p<0,05$) during the first week and gained in significativity after ($p<0,001$). During the first two weeks we observed a preferential incorporation of EPA ($p<0,001$) but not DHA ($p<0,01$) in this fraction. The n-6 and the n-9 families, mainly the 18:3n-6, the 20:3n-6 and the 18:1n-9 decreased significantly. In the ethanolamineplasmalogene EPA and DHA increased but after two weeks of supplementation, in response, the stearic acid (18:0) and the linoleic acid (18:2n-6) decreased significantly. In this fraction we observed too a selective incorporation of EPA ($p<0,001$) in comparison with DHA ($p<0,05$. In the diacylphosphatidylcholine, we do not observe a selective incorporation of EPA in comparison with DHA. Indeed, in this fraction, EPA and DHA increased simultaneously ($p<0,001$) after one week of supplementation, on the other hand linoleic acid (18:2n-6) and di homo gamma lilolenic acid (20:3n-6) decreased significantly ($p<0,05$). In the cholineplasmalogene fraction, EPA but not DHA increased significantly ($p<0,001$) after one week of supplementation. The increase of DHA became significant ($p<0,01$) during the second week but only the 20:3n-6 decreased significantly. It is important to note that EPA and DHA still increase significantly after two weeks of supplementation when we compare D_{30} versus D_{15}.
Key words: EPA, DHA, PE, PC, Plasmalogen, Erythrocyte, Red blood cells.

[*] Auteur de correspondance : hassimi@yahoo.com

1. Introduction

Un intérêt considérable s'attache à l'étude de l'absorption et du métabolisme des acides gras polyinsaturés (AGPI) de la famille n-3 et, notamment, de l'acide eicosapentaénoïque (EPA) et de l'acide docosahexaénoïque (DHA). Cet intérêt en nutrition humaine des n-3 est lié à leur effet antithrombotique et antiathérogène[1], leur intervention dans le développement du SNC et leurs rôles probables dans les processus prolifératifs, inflammatoires et dans le domaine immunitaire[2,3]. Les AGPI de la famille n-3 exercent leurs effets bénéfiques en affectant directement ou indirectement divers processus biologiques tels que l'augmentation de la biosynthèse des agents antiagrégants, anti-inflammatoires, antivasoconstricteurs / vasodilatateurs[4,5,6,7]. Cependant les implications de l'EPA et du DHA dans les processus biologiques que nous venons de citer sont différentes particulièrement au niveau du système nerveux central (SNC), de la rétine[8,] et dans les plaquettes[9]. Ainsi, le DHA interviendrait dans la maturation du SNC et principalement de la rétine[10] alors que l'EPA interviendrait davantage contre les affections cardio-vasculaires[11] et les processus inflammatoires[12]. Ceci a donné lieu à des développements particuliers dans les domaines nutritionnels (supplémentation nutritionnelle du DHA chez le prématuré) et pharmacologiques (utilisation préventive et thérapeutique de l'EPA). L'utilisation prophylactique de l'EPA suscite un intérêt croissant dans diverses pathologies tels que : l'hyperlipidémie [13], l'athérosclérose[14], la resténose après angioplastie[15], le diabète[16, 17, 18], les affections rénales[19,20] , le psoriasis[21] et le cancer du sein et de la prostate[22].

Puisque l'EPA et le DHA ne sont pas quantitativement disponibles à l'état pur, les manipulations diététiques et les prescriptions médicales utilisent les concentrés d'huiles de poisson à la fois riches en EPA et en DHA. On conçoit dès lors, toute l'importance de l'absorption et du transport de ces acides. Nous avons précédemment rapporté, l'influence de la forme chimique d'ingestion de l'EPA et du DHA sur leur cinétique d'absorption dans les différentes classes de lipides des lipoprotéines plasmatiques[23]. Dans le présent article nous examinons l'impact de la supplémentation en MaxEPA sur les différentes sous classes de la phosphatidyléthanolamine et de la phosphatidylcholine érythrocytaires. En effet, les érythrocytes matures perdent leur aptitude de synthétiser *de novo* leurs phospholipides (PL) membranaires. Ils dépendent donc entièrement des lipides circulants plasmatiques pour moduler la composition de leurs phospholipides[24]. Les érythrocytes constituent donc à ce titre de bons modèles pour étudier les modifications de la composition des PL membranaires produites par des manipulations diététiques. De plus, le pourcentage EPA + DHA dans les PL érythrocytaires appelé index en oméga-3 a été proposé comme un marqueur de risque de mort subite par infarctus du myocarde. Ce risque diminuerait quand le pourcentage EPA + DHA augmente [25,26].

2. Matériel et méthodes

Patients

L'étude a été réalisée avec neuf volontaires (5 femmes et 4 hommes) en bonne santé et normolipidémiques âgés de 22 à 29 ans. Lors du recrutement, les femmes enceintes, les sujets dyslipidémiques diabétiques et tous les sujets souffrants de maladies métaboliques ou d'autres pathologies cliniquement décelables n'ont pas été retenus. Les volontaires, exempts de tout traitement médical appartenaient à l'entourage immédiat du service des maladies métaboliques de l'hôpital Lapeyronie (Montpellier France). Ils étaient de poids normal par rapport au poids idéal calculé selon la formule de Lorenz. Aucune modification significative de poids n'a été observée au cours de l'étude. Le protocole est en conformité avec la déclaration de Helsinki de 1975 révisée en 1983. Les neufs volontaires ont conservé leurs habitudes alimentaires durant toute la période de l'étude. Il leur a été cependant demandé de ne pas consommer du poisson et des produits de la mer.

Protocole

L'huile de poisson utilisée contient 180 mg d'EPA/g et 120 mg de DHA/g. Les sujets recevaient quotidiennement per os 11 gélules de MaxEPA soit l'équivalent de 2g d'EPA et

1,3g de DHA par jour. Le premier jour de l'expérimentation les 11 gélules étaient administrées à jeun et les prélèvements sanguins (ponction veineuse au pli du coude) étaient effectués juste avant la prise (t0). Les jours suivants (j1 à j30), les 11 gélules étaient prises aux trois repas (matin, midi et soir) et les prélèvements sanguins effectués le matin à jeun à j1; j2; j7; j15 et j30. Le sang (20 ml) est récupéré sur tube hépariné (2 µl d'héparine CHOAY 5000 unités par ml de sang), puis centrifugé à 4°C à 3500 trs/min. Le culot globulaire est lavé trois fois avec une solution de NaCl 0,9%. On élimine à chaque lavage, la couche supérieure contenant les plaques et les globules blancs.

Analyse des acides gras des différentes classes de lipides

Les lipides sont extraits selon la méthode de Folch[27]. L'extrait lipidique est repris avec 0,5 ml de chloroforme et injecté au sommet d'une cartouche de SEP.PAK (Waters), préalablement lavée avec 10 ml de chloroforme. Les lipides neutres et les glycolipides sont préalablement élués avec 20 ml de chloroforme puis 5 ml d'acétone (SDS qualité analytique). Les phospholipides érythrocytaires sont obtenus par élution avec 20 ml de méthanol. Le méthanol est évaporé sous vide à 40 °C au rotavapor et l'extrait sec est repris avec 250 µl d'un mélange hexane/isopropanol (4 :5) puis injecté en HPLC. Les appareils utilisés sont de fabrication WATERS millipore. Ils sont composés de deux pompes A et B modèle 510, avec injecteur U6K pour la pompe A, d'un contrôleur automatique de gradient et d'un détecteur a ultraviolet (UV modèle 484). La détection se fait à 206 nm, et l'enregistrement avec un intégrateur WATERS data module 746. La séparation est réalisée sur une colonne semi-préparative beckman ultrasphère-Si N°235340 (10/250 mm et dp = 5µ). Les diradyles PE et PC sont séparés par élution à l'aide d'un gradient de solvants. Le système A est composé d'hexane (SDS qualité HPLC), isopropanol (MERCK) et eau (41 :54 :5, v/v/v) et le système B également composé d'hexane isopropanol eau (39:52:9, v/v/v). L'injection se fait dans A puis après 10 min d'élution on passe linéairement de A à B. L'analyse dure 60 min et se déroule à un débit constant de 2,5 ml/min. Les fractions contenant les diradyles PE et PC sont récupérées et évaporées à sec sous azote. La liaison O-alkényle des plasmalogènes à éthanolamine et à choline est hydrolysée[28]. Les 1-lyso-2acyl-3P à éthanolamine et à choline sont séparés des formes diradyles par CCM[29]. La transestérification des acides gras et la séparation des esters méthyliques sont réalisées par chromatographie gazeuse[23].

Analyses statistiques

Les tests de significativité ont été réalisés avec le test-t de Student. Nous avons considéré comme non significative (ns) toute valeur de t se situant au delà de la probabilité p (0,05).

3. Résultats et discussionires

3.1. Modifications intervenues dans le diacyl-phosphatidyléthanolamine

Le tableau I présente les modifications de la composition en acides gras du diacyl-phosphatidyléthanolamine (diacyl-PE) érythrocytaire. Dans cette sous classe de phospholipides (PL), les acides gras saturés (AGS) représentent 51,05 µmol/100ml, les monoinsaturés (AGMI) 35,3 µmol/100ml et les acides gras polyinsaturés (AGPI) environ 40,04 µmol/100ml ce qui correspond respectivement à 39 %, 27,23 et 33 % des chaînes grasses.

Le 16:0 (37,52 µmol / 100ml) et le 18:0 (13,53 µmol / 100ml) sont les principaux acides gras saturés. Le 18:1n-9* (34,86 µmol / 100ml) est l'acide gras majeur des AGMI. Dans la famille des AGPI n-6, les acides gras majeurs sont le 18:2n-6 (9,73 µmol / 100ml), le 20:4n-6 (20,07 µmol / 100ml) et le 22:4n-6 (3,62 µmol / 100ml). Le DHA (5,06 µmol / 100ml) représente à lui seul le double des acides gras de la famille des AGPI n-3. Aucune modification significative n'intervient dans la composition en acides gras du diacyl-PE durant les premières 48 heures. Toutefois des modifications interviennent dès la première semaine. Dans la famille des AGPI n-3 l'augmentation de l'EPA et du DHA atteint le seuil de significativité ($p<0,05$) dès la première semaine et devient significative par la suite ($p<0,001$). Le 22:5n-3 augmente également mais cette augmentation ne devient

Tableau I. Modifications de la composition en acides gras du diacyl-phosphatidyléthanolamine érythrocytaire après 30 jours de supplémerntation de MaxEPA. (Concentration en µmoles par 100 ml culot globulaire)

Acides gras	J_0	J_7	J_7 vs J_0	J_{15}	J_{30}	J_{15} vs J_0	J_{30} vs J_0	J_{30} vs J_{15}
16:0	37,52 ± 1,87	37,03 ± 1,69	ns	37,16 ± 2,13	37,02 ± 2,01	ns	ns	ns
18:0	13,53 ± 0,93	12,89 ± 0,93	***	12,70 ± 0,94	12,91 ± 0,91	***	***	ns
18:1n-9*	34,86 ± 2,72	34,59 ± 2,61	ns	33,84 ± 2,50	32,87 ± 2,50	ns	*	ns
16:1n-7	0,42 ± 0,07	0,49 ± 0,04	ns	0,39 ± 0,07	0,44 ± 0,04	ns	ns	ns
18:2n-6	9,73 ± 1,03	9,20 ± 0,76	ns	8,81 ± 0,68	7,79 ± 0,55	ns	***	ns
20:3n-6	1,29 ± 0,09	1,25 ± 0,10	ns	1,10 ± 0,10	0,98 ± 0,07	**	***	ns
20:4n-6	20,07 ± 2,08	19,79 ± 1,45	ns	20,00 ± 1,55	18,98 ± 1,12	ns	ns	ns
22:5n-6	3,62 ± 0,59	3,38 ± 0,29		3,19 ± 0,29	2,93 ± 0,24	ns	*	ns
18:3n-3	0,79 ± 0,09	0,89 ± 0,07	ns	0,80 ± 0,08	0,67 ± 0,09	ns	ns	ns
20:5n-3	0,70 ± 0,08	1,63 ± 0,51	*	2,62 ± 0,57	3,88 ± 0,90	***	***	ns
22:5n-3	1,78 ± 0,17	2,07 ± 0,22	ns	2,35 ± 0,36	2,94 ± 0,58	ns	*	ns
22:6n-3	5,06 ± 0,36	6,12 ± 0,64	*	6,58 ± 0,70	7,65 ± 0,84	**	***	ns

Test t de Student ns : p>0,05 *p<0,05 **p<0,01 ***p0,001

Tableau II. Bilan des modifications de la concentration des acides gras du diacyl-phosphatidylethanolamine érythrocytaire après 30jours de supplémentation de MaxEPA

Acides gras	µmoles par 100 ml de culot J_0	µmoles par 100 ml de culot J_{30}	J_{30} vs J_0	Bilan µmoles/100 ml	Bilan Ratio J_{30}/J_0
16:0	37,52	37,02	ns	-0,50	0,99
18:0	13,53	12,91	ns	-0,62	0,95
18:1n-9*	34,86	32,87	*	-1,99	0,94
16:1n-7	0,42	0,44	ns	0,02	1,05
18:2n-6	9,73	7,79	***	-1,94	0,80
20:3n-6	1,29	0,98	***	-0,31	0,76
20:4n-6	20,07	18,98	ns	-1,09	0,95
22:5n-6	3,62	2,93	*	-0,69	0,81
18:3n-3	0,79	0,67	ns	-0,12	0,85
20:5n-3	0,70	3,88	***	3,19	5,54
22:5n-3	1,78	2,94	*	1,16	1,65
22:6n-3	5,06	7,65	***	2,59	1,51

Test t de Student ns : p>0,05 *p<0,05 **p<0,01 ***p<0,001

significative qu'au cours de la deuxième quinzaine ($p<0,05$). Le 18:3n-3 et le 18:4n-3 ne sont pas significativement modifiés. En réponse à cette augmentation des AGPI n-3, dans la famille des acides saturés, parmi les acides gras majeurs, seul le 18:0 diminue très significativement ($p<0,001$) dès la première semaine. Dans la famille des AGMI, le 18 :1n-9 diminue et cette diminution atteint le seuil de significativité ($p<0,05$) au cours de la deuxième quinzaine. Dans la famille des AGPI n-6, les modifications majeures surviennent surtout au cours de la seconde quinzaine. L'apport en AGPI n-3 affecte principalement le 18:2n-6 ($p<0 ,001$), le 20:3n-6 ($p<0 ,001$) et le 22:4n-6 ($p<0,05$).qui diminuent tous significativement. Le 20:4n-6 diminue également mais cette diminution n'atteint pas le seuil de significativité au bout de 30 jours de supplémentation.

Le tableau II présente le bilan moléculaire quantitatif (en µmol/100 ml) des modifications des acides gras du diacyl-PE après un mois de supplémentation. L'EPA et le DHA augmentent de 3,19 et 2,59 µmol/100 ml et passent respectivement de 0,79 µmol / 100ml à 3,88 µmol / 100ml et de 5,06 µmol / 100ml à environ 7,65 µmol / 100ml de J_0 à J_{30}. Le 22 : 5n-3 augmente de 1,16 µmol/100ml. En un mois cet acide passe de 1,78 µmol / 100ml à 2,94 µmol / 100ml de J_0 à J_{30}.

Dans la famille des AGS, le 18 :0 diminue de 0,62 µmol/100 et passe de 13,53 µmol / 100ml à 12,91 µmol / 100ml. Dans la famille des AGMI, le 18:1n-9* diminue de 1,99 µmoles/ml et passe de 34,86 µmol / 100ml à 32.87 µmol / 100ml de J_0 à J_{30}. Dans la famille des AGPI n-6, le 18:2n-6 1,94 µmoles/100ml et passe de 9,73 µmol / 100ml à 7,79 µmol / 100ml, le 20:3n-6 diminue de 0,31 µmoles/100 ml et passe de 1,29 à 0,98 µmoles/100ml, le 22:4n-6 diminue de 0,69 et passe de 3,62 à 2,93 µmoles /100 ml. Enfin le 20 :4n-6 diminue de 1,09 µmols/100 ml mais cette diminution n'atteint pas le seuil de significativité ($P>0 ,05$).

La figure I présente l'impact de la supplémentation en MaxEPA sur les concentrations des différentes familles d'acides gras du diacyl-PE au bout de 30 jours. Les AGPI n-3 augmentent de 6,82 µmoles par 100 ml culot globulaire. En réponse, une diminution nette est observée au niveau des autres familles et principalement au niveau des AGPI n-6 qui diminuent de 4,03 µmoles.

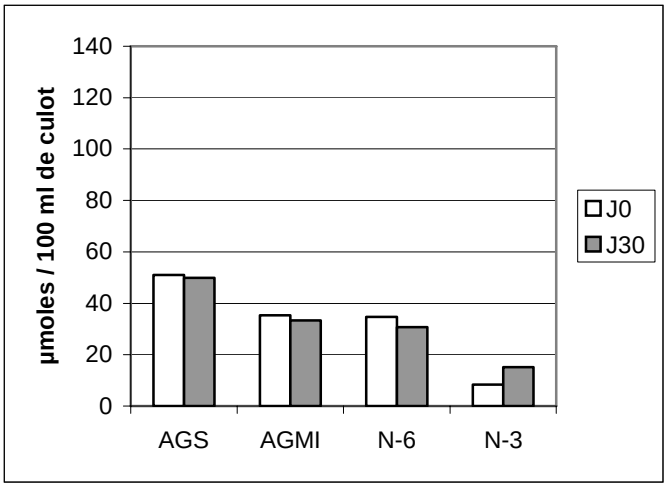

Figure 1. Modifications quantitatives des différentes familles d'acides gras du diacyl-phosphatidyléthanolamine érythrocytaire après 30 jours de supplémerntation de MaxEPA. (Concentration en µmoles par 100 ml culot globulaire)

3.2. Modifications intervenues dans les plasmalogènes à éthanolamine

Le tableau III. présente les modifications de la composition en acides gras des plasmalogènes à éthanolamine (PlasEtn) érythrocytaires. Les PlasEtn représentent certainement la sous classe la plus riche en AGPI, puisque ces AGPI atteignent environ 40% des chaînes grasses, c'est-à-dire environ 80% des chaînes acyles. De plus, ces AGPI sont à 20 atomes de carbone ou plus. Les acides gras monoinsaturés par contre ne représentent qu'environ 5,9% et les saturés, environ 3,7% des chaînes grasses.

Aucune modification significative n'intervient dans la composition en acides gras des plasmalogènes à éthanolamine durant la première semaine de supplémentation. Dans la famille des n-3, l'augmentation de l'EPA et du DHA ne devient significative (respectivement $p<0,01$ et $p<0,05$) qu'au cours de la deuxième semaine. Dans les autres familles d'acides gras seuls le 18 :0 et le 18 :2n-6 diminuent

Tab. III. Modifications de la composition en acides gras des plasmalogènes à éthanolamine érythrocytaires après 30 jours de supplémerntation de MaxEPA. (Concentrations exprimées en µmoles par 100 ml culot globulaire)

Acides gras	J_0	J_7	J_7 vs J_0	J_{15}	J_{30}	J_{15} vs J_0	J_{30} vs J_0	J_{30} vs J_{15}
16:0	2,17 ± 0,14	2,04 ± 0,20	ns	1,83 ± 0,16	1,82 ± 0,28	ns	ns	ns
18:0	1,19 ± 0,16	1,05 ± 0,15	ns	0,86 ± 0n10	0,79 ± 0,79	ns	*	ns
18:1n-9*	5,86 ± 0,38	5,28 ± 0,36	ns	5,24 ± 0,30	5,02 ± 0,35	ns	ns	ns
16:1n-7	-	-		-	-			
18:2n-6	1,38 ± 0,11	1,26 ± 0,10	ns	1,19 ± 0,09	1,03 ± 0,09	ns	*	ns
20:3n-6	0,5 ± 0,04	0,52 ± 0,03	ns	0,48 ± 0,03	0,44 ± 0,03	ns	ns	ns
20:4n-6	19,86 ± 1,25	19,93 ± 1,21	ns	18,52 ± 1,08	18,16 ± 1,08	ns	ns	ns
22:5n-6	5,58 ± 0,70	4,75 ± 0,42	ns	4,97 ± 0,43	4,51 ± 0,43	ns	ns	ns
18:3n-3	0,14 ± 0,02	0,14 ± 0,01	ns	0,14 ± 0,03	0,13 ± 0,01	ns	ns	ns
20:5n-3	1,34 ± 0,18	1,93 ± 0,22	ns	3,01 ± 0,24	3,8 ± 0,31	***	***	ns
22:5n-3	3,33 ± 0,16	3,51 ± 0,21	ns	3,75 ± 0,25	4,32 ± 0,30	ns	*	ns
22:6n-3	5,38 ± 0,31	5,41 ± 0,25	ns	6,43 ± 0,32	6,77 ± 0,43	*	*	ns

Test t de Student : ns p>0,05 *p<0,05 **p<0,01 ***p<0,001. **18:1n-9* = 18:1n-9 + 18:1n-7**

Tab. IV. Bilan des modifications de la concentration des acides gras des palsamolgènes à éthanolamine érythrocytaires après 30jours de supplémentation de MaxEPA (concentrations exprimées en µmoles/100 ml de culot globulaire).

Acides gras	µmoles par 100 ml de culot J_0	J_{30}	J_{30} vs J_0	Bilan µmoles/100 ml	Bilan Ratio J_{30}/J_0
16:0	2,17	1,82	ns	-0,35	0,84
18:0	1,19	0,79	*	-0,40	0,66
18:1n-9*	5,86	5,02	ns	-0,84	0,86
16:1n-7	-	-			
18:2n-6	1,38	1,03	*	-0,35	0,75
20:3n-6	0,5	0,44	ns	-0,06	0,88
20:4n-6	19,86	18,16	ns	-1,70	0,91
22:5n-6	5,58	4,51	ns	-1,07	0,81
18:3n-3	0,14	0,13	ns	-	0,93
20:5n-3	1,34	3,8	***	2,46	2,84
22:5n-3	3,33	4,32	*	0,99	1,30
22:6n-3	5,38	6,77	*	1,39	1,26

Test t de Student : ns p>0,05 *p<0,05 **p<0,01 ***p<0,001. **18:1n-9* = 18:1n-9 + 18:1n-7**

significativement (p<0,05) en réponse à trente jours de supplémentation de Max EPA.

Le tableau IV présente le bilan moléculaire quantitatif (en µmol/100 ml de culot globulaire) des modifications des acides gras des plasmalogènes à éthanolamine érythrocytaires après 30 jours de supplémentation en MaxEPA. Au bout de trente jours, L'EPA et le DHA augmentent de 2,46 et 1,39 µmoles/100 ml et passent respectivement de 1,34 µmol / 100 ml à environ 3,8 µmol / 100 ml et de 5,38 µmol / 100 ml à 6,77 µmol / 100 ml de t0 à J30. Le 22:5n-3 augmente 0,99 µmoles/100 ml et passe de 3,33 à 4,32 µmoles/100ml. Dans cette sous-classe de phospholipides, l'augmentation des AGPI de la famille n-3 se fait principalement au détriment du 18 :0 et du 18:2-6 qui diminue respectivement de 0,40 et 0,84 µmoles/100 ml et passent de 1,19 à 0,79 µmol/100ml et de 1,38 à 1,03 µmoles/100 ml. Toutefois, dans la famille saturée et la famille n-6, on observe une diminution nette des autres acides cependant ces diminutions n'atteignent pas le seuil de significativité (p>0,05) au bout de trente jours.

La figure 2. présente l'impact de la supplémentation en MaxEPA sur les concentrations des différentes familles d'acides gras des plasmalogènes à éthanolamine au bout de 30 jours. Les AGPI n-3 augmentent de 4,84 µmoles par 100 ml culot globulaire principalement au détriment des AGPI n-6 qui diminuent de 3,72µmoles.

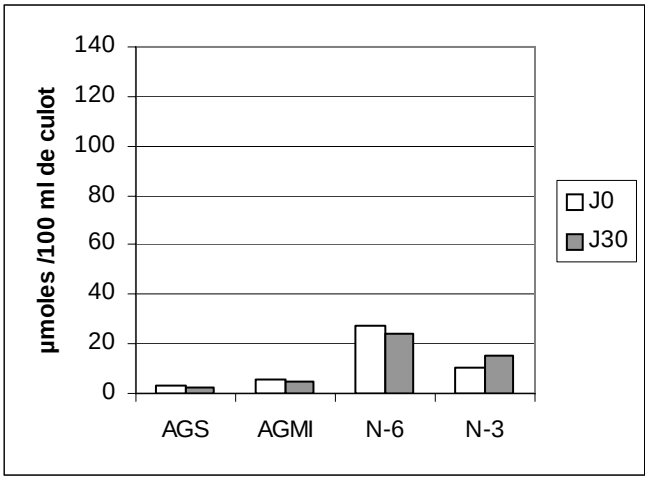

Figure 2. Modifications quantitatives des différentes familles d'acides gras des plasmalogènes à éthanolamine érythrocytaires après 30 jours de supplémerntation de MaxEPA. (Concentration en µmoles par 100 ml culot globulaire)

3.3. Modifications intervenues dans le diacyl-phosphatidylcholine

Le tableau V. présente les modifications de la composition en acides gras du diacyl-phosphatidylcholine érythrocytaire (diacyl-PC). Le diacyl-PC, contrairement aux sous classes de PE, se caractérise par sa richesse en acides gras saturés qui représentent environ 132 µmol/100 ml (54%), la moitié des acides gras contre 43,5 µmol/100 ml (18%) de monoinsaturés, 64 µmol/100 ml (26%) d'AGPI n-6 et 2,5 µomkl/100 ml (2%) d'AGPI n-3. Dans cette sous classe, les AGPI à 20 atomes de carbone et plus ne représentent qu'environ 10%. Les acides gras majeurs de cette sous classe sont, le 16:0 (104,78 µmol/100 ml), le 18:0 (26,96 µmol/100 ml), le 18:1n-9* (42,10 µmol/100 ml), le 18:2n-6 (48,54 µmol/100 ml) et le 20 :4n-6 (11,17 µmol/100 ml). Dans la famille n-3, l'EPA représente (1,47 µmol/100 ml) et le DHA, 3,09 µmol/100 ml.

Aucune modification significative n'intervient dans la composition en acides gras au cours des 48 premières heures de supplémentation en MaxEPA. Dans la famille n-3, l'EPA et le DHA augmentent de façon significative dès la première semaine de supplémentation. Cette augmentation est plus significative (p<0,001) que dans les sous classes de PE à la même période, et elle se fait au détriment du 18:2n-6 qui diminue significativement (p<0,05) au bout de 30 jours.

Le tableau VI présente le bilan moléculaire quantitatif (en µmol/100 ml de culot globulaire) des modifications des acides gras du diacyl-phosphatidylcholine érythrocytaire après 30 jours de supplémentation en MaxEPA. Au bout de trente jours, L'EPA et le DHA augmentent de 6,05 et 3,54 µmoles/100 ml et passent respectivement de 1,47 µmol / 100 ml à environ 7,53µmol / 100 ml et de 3,09 µmol / 100 ml à 6,63 µmol / 100 ml de t0 à

Tab. V. Modifications de la composition en acides gras de la diacyl-phosphatidylcholine érythrocytaire après 30 jours de supplémerntation de MaxEPA. (Concentrations exprimées en µmoles par 100 ml culot globulaire)

Acides gras	J_0	J_7	J_7 vs J_0	J_{15}	J_{30}	J_{15} vs J0	J_{30} vs J_0	J_{30} vs J_{15}
16:0	104,78 ± 2,89	104,12 ± 3,02	ns	104,20 ± 3,17	104,38 ± 3,95	ns	ns	ns
18:0	26,96 ± 1,01	27,51 ± 1,34	ns	26,10 ± 1,79	25,66 ± 1,22	ns	ns	ns
18:1n-9*	42,10 ± 1,77	40,64 ± 1,52	ns	40,56 ± 1,39	39,43 ± 1,56	ns	ns	ns
16:1n-7	1,40 ± 0,10	1,39 ± 0,07	ns	1,10 ± 0,09	1,25 ± 0,05	*	ns	ns
18:2n-6	48,54 ± 2,43	43,91 ± 1,56	ns	45,57 ± 1,59	43,63 ± 1,05	ns	*	ns
20:3n-6	3,32 ± 0,41	3,05 ± 0,33	ns	2,45 ± 0,30	2,23 ± 0,21	ns	*	ns
20:4n-6	11,17 ± 1,00	11,53 ± 0,69	ns	11,45 ± 0,56	11,35 ± 0,51	ns	ns	ns
22:5n-6	0,35 ± 0,13	0,28 ± 0,02	ns	0,18 ± 0,03	0,15 ± 0,03	ns	ns	ns
18:3n-3	0,64 ± 0,04	0,73 ± 0,05	ns	0,64 ± 0,04	0,59 ± 0,03	ns	ns	ns
20:5n-3	1,47 ± 0,47	4,98 ± 0,33	***	5,68 ± 0,31	7,53 ± 0,76	***	***	*
22:5n-3	0,74 ± 0,13	1,09 ± 0,14	ns	1,24 ± 0,13	1,34 ± 0,15	*	**	ns
22:6n-3	3,09 ± 0,18	4,37 ± 0,17	***	5,23 ± 0,24	6,63 ± 0,66	***	***	ns

Test t de Student : ns p>0,05 *p<0,05 **p<0,01 ***p<0,001. **18:1n-9* = 18:1n-9 + 18:1n-7**

Tab. VI. Bilan des modifications de la concentration des acides gras du diacyle phosphatidyle choline érythrocytaires après 30 jours de supplémentation de MaxEPA (concentrations exprimées en µmoles/100 ml de culot globulaire).

Acides gras	µmoles par 100 ml de culot J_0	J_{30}	J_{30} vs J_0	Bilan µmoles/100 ml	Bilan Ratio J_{30}/J_0
16:0	104,78	104,38	ns	-0,40	1,00
18:0	26,96	25,66	ns	-1,30	0,95
18:1n-9*	42,1	39,43	ns	-2,67	0,94
16:1n-7	1,4	1,25	ns	-0,15	0,89
18:2n-6	48,54	43,63	*	-4,90	0,90
20:3n-6	3,32	2,23	*	-1,08	0,67
20:4n-6	11,17	11,35	ns	0,18	1,02
18:3n-3	0,64	0,59	ns	-0,05	0,92
20:5n-3	1,47	7,53	***	6,05	5,12
22:5n-3	0,74	1,34	**	0,60	1,81
22:6n-3	3,09	6,63	***	3,54	2,15

Test t de Student : ns p>0,05 *p<0,05 **p<0,01 ***p<0,001. **18:1n-9* = 18:1n-9 + 18:1n-7**

J30. Le 22:5n-3 augmente 0,6 µmol/100 ml et passe de 0,74 à 1,34 µmoles/100ml.

Dans cette sous-classe de phospholipides, l'augmentation des AGPI de la famille n-3 se fait principalement au détriment du 18:2-6 qui diminue 4,90 µmol/100 ml et passent de 48,54 à 43,63 µoml/100ml. Toutefois, une tendance à la diminution est observée pour tous des familles saturées, n-9 et n-6 sauf le 20 :4n-6 qui maintient sa concentration au bout de trente jours.

La figure 3. présente l'impact de la supplémentation en MaxEPA sur les concentrations des différentes familles d'acides gras du diacyl-PC au bout de 30 jours. Les AGPI n-3 augmentent fortement dans cette sous classe de phospholipides (10,14 µmoles par 100 ml culot globulaire) principalement au détriment des AGPI n-6 qui diminuent de 5,80 µmoles et, dans une moindre mesure, des AGMI (- 2,82 µmoles / 100 ml de culot).

.

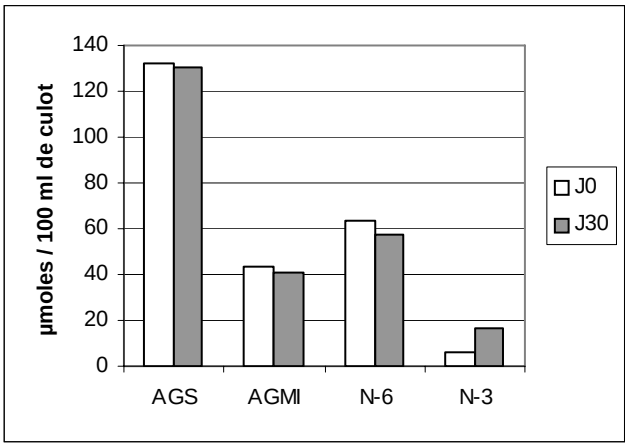

Figure 3. Modifications quantitatives des différentes familles d'acides gras du diacyl-phosphatidylcholine érythrocytaires après 30 jours de supplémerntation de MaxEPA. (Concentration en µmoles par 100 ml culot globulaire)

3.4. Modifications la composition en acides gras des Plasmalogènes à choline érythrocytaires

Le tableau VII. présente les modifications de la composition en acides gras des plasmalogènes à choline (PlasChol) érythrocytaires. Les PlasChol représentent la sous classe la plus faible en quantité, elles représentent moins de 10% des diradyles PC. Les acides gras saturés représentent environ 2,65 µmol/100 ml, (43%), les acides les AGMI : 1,32 µmol/100 ml (21%), les acides gras les AGPI n-6 : 2,07 µmol/100 ml n-6 (33%) et les AGPI n-3 presque à l'état de traces : 0,17 µoml/100 ml (3%). et le DHA totalise à lui seul environ 50% des AGPI n-3. Aucune modification significative dans la composition en acides gras n'intervient au cours des premières 48 heures. Dans la famille n-3, l'EPA augmente de façon significative ($p<0,001$) dès la première semaine de supplémentation. Le DHA augmente aussi mais cette augmentation ne devient significative qu'au cours de la deuxième semaine ($p<0,01$) mais gagne en significativité par la suite ($p<0,001$). En réponse à l'augmentation des n-3, une tendance à la diminution est observée au niveau des acides des familles n-9 et n-6. Ces modifications pourraient être amplifiées par les faibles teneurs de départ en acides gras de cette sous classe de phospholipides

Le tableau VIII présente le bilan moléculaire quantitatif (en µmol/100 ml de culot globulaire) des modifications des acides gras des plasmalogènes à choline érythrocytaire après 30 jours de supplémentation en MaxEPA. Quantitativement, les modifications sont peu importantes comparées aux autres sous classes étudiées. L'EPA gagne 0,22 µmol/100l et le DHA 0,16 µmol/100 ml. A l'inverse le 18 :1n-9 diminue de 0,17 µmol/100 ml et le 18 :2n-6 de 0,23 µmol/100 ml.

La figure 4. présente l'impact de la supplémentation en MaxEPA sur les concentrations des différentes familles d'acides gras des plasmalogènes à choline au bout de 30 jours. Il est important de noter que les concentrations des différentes familles d'acides gras sont si faibles dans cette fraction que l'échelle a été modifiée pour pouvoir mieux les mettre en évidence. Les AGPI n-3 augmentent seulement de 0,44 µmoles par 100 ml culot globulaire en réponse, les AGPI n-6 diminuent de 0,29 µmoles et les AGMI de 0,17 µmoles.

Tab. VII. Modifications de la composition en acides gras des plasmalogènes à choline érythrocytaire après 30 jours de supplémerntation de MaxEPA. (Concentrations exprimées en µmoles par 100 ml culot globulaire)

Acides gras	J_0	J_7	J_7 vs J_0	J_{15}	J_{30}	J15 vs J0	J30 vs J0	J30 vs J15
16:0	2,04 ± 0,13	2,21 ± 0,16	ns	2,17 ± 0,16	2,08 ± 0,14	ns	ns	ns
18:0	0,61 ± 0,05	0,58 ± 0,05	ns	0,59 ± 0,06	0,63 ± 0,07	ns	ns	ns
18:1n-9*	1,32 ± 0,12	1,22 ± 0,13	ns	1,19 ± 0,11	1,14 ± 0,13	ns	ns	ns
16:1n-7	-	-			-			
18:2n-6	1,42 ± 0,13	1,33 ± 0,14	ns	1,28 ± 0,12	1,19 ± 0,11	ns	ns	ns
20:3n-6	0,13 ± 0,02	0,09 ± 0,00	ns	0,1 ± 0,01	0,09 ± 0,01	ns	*	ns
20:4n-6	0,52 ± 0,08	0,52 ± 0,03	ns	0,54 ± 0,04	0,54 ± 0,06	ns	ns	ns
22:5n-6	-	-		-	-			
18:3n-3	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,01	ns	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,01	ns	ns	ns
20:5n-3	0,05 ± 0,01	0,15 ± 0,01	***	0,22 ± 0,01	0,27 ± 0,02	***	***	***
22:5n-3	0,02 ± 0,00	0,03 ± 0,00	ns	0,04 ± 0,01	0,06 ± 0,01	**	***	*
22:6n-3	0,09 ± 0,01	0,10 ± 0,01	ns	0,18 ± 0,02	0,25 ± 0,03	***	***	*

Test t de Student : ns p>0,05 *p<0,05 **p<0,01 ***p<0,001. **18:1n-9* = 18:1n-9 + 18:1n-7**

Tab. VIII. Bilan des modifications de la concentration des acides gras des plasmalogènes à choline érythrocytaires après 30 jours de supplémentation de MaxEPA (concentrations exprimées en µmoles/100 ml de culot globulaire).

Acides gras	µmoles / 100 ml de culot		J_{30} vs J_0	Bilan	
	J_0	J_{30}		µmoles/100 ml	Ratio J_{30}/J_0
16:0	2,04	2,08	ns	0,03	1,02
18:0	0,61	0,63	ns	0,02	1,03
18:1n-9*	1,32	1,14	ns	-0,17	0,86
16:1n-7	-	-			
18:2n-6	1,42	1,19	ns	-0,23	0,84
20:3n-6	0,13	0,09	*	-0,04	0,69
20:4n-6	0,52	0,54	ns	-0,02	1,04
22:5n-6	-	-			
18:3n-3	0,01	0,02	ns	0,01	2,00
20:5n-3	0,05	0,27	***	0,22	5,40
22:5n-3	0,02	0,06	***	0,05	3,00
22:6n-3	0,09	0,25	***	0,16	2,78

Test t de Student : ns p>0,05 *p<0,05 **p<0,01 ***p<0,001. **18:1n-9* = 18:1n-9 + 18:1n-7**

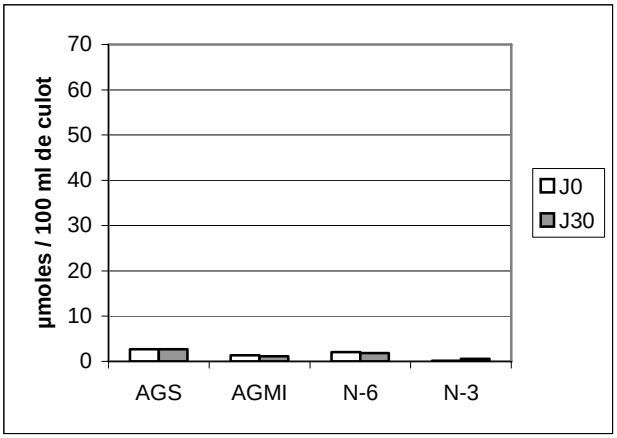

Figure 4. Modifications quantitatives des différentes familles d'acides gras des plasmalogènes à choline érythrocytaires après 30 jours de suppléments tation de MaxEPA. (Concentration en µmoles par 100 ml culot globulaire)

3.5 Evolution du rapport des incrémentations de EPA sur les incrémentations du DHA au cours de la supplémentation

Le tableau IX. présente le ratio des incrémentations de l'EPA et du DHA au cours de la supplémentation. Dans le diacyl-PE le ratio des incrémentations d'EPA et du DHA atteint un maximum à J_{15} et diminue au delà. Il reste inférieur à la valeur dans le MaxEPA (EPA/DHA = 1,5). Dans les plasmalogènes à éthanolamine le ration EPA/DHA croit progressivement et atteint 2,14 à J_{30} une valeur supérieure à celle du MaxEPA.

Dans le diacyl-PC, le ratio des incrémentations EPA/DHA atteint son maximum dès J7 (EPA/DHA = 2,78). Il diminue par la suite mais reste, à J_{30} (EPA/DHA = 1,71), supérieur à celui du MaxEPA (EPA/DHA = 1,5). Dans les plasmalogènes à choline, le ratio EPA sur DHA suit la même évolution que la fraction diacyl-PC. Cependant ce rapport est très élevé à J7 (EPA/DHA = 10). Ceci pourrait être lié à la faible teneur en AGPI n-3 de cette fraction. Il serait hasardeux, à ce stade, de donner une interprétation physiologique à ce comportement différentiel de l'EPA et du DHA dans ces sous classes de phospholipides. Toutefois, nous pensons qu'il serait intéressant d'apporter une attention particulière à ce comportement différentiel car cela pourrait apporter une luminière au niveau de la régulation homéostatique des AGPI en général et notamment des AGPI n-3 dans la physiologie et la dynamique de la membrane biologique.

4. Discussion

La distribution des acides gras que nous avons observée au temps J_0 dans les différentes sous classes de PC et de PE sont conformes aux valeurs que l'on rencontre dans la littérature et nos résultats sont quasiment identiques aux observations précédemment rapportées[30].

4.1. Modification de la composition en AG des PL érythrocytaires par le MaxEPA

La supplémentation en MaxEPA que nous venons de réaliser montre que les AGPI n-3 en occurrence, l'EPA, le 22:5n-3 et le DHA augmentent de façon significative dans les quatre sous classes de phospholipides étudiées. Le 18:3n-3 et le 18:4n-3 par contre ne subissent aucune modification significative au cours de la supplémentation. Dans le diacyl-PE l'augmentation des AGPI n-3 atteignent le seuil de signification au cours de la première semaine ($p<0,05$) et gagnent en significativité par la suite. En réponse, le 18:0 dans la famille des saturés, le 18 :1n-9* dans la famille des AGMI et les acides 18:1n-6, 20:3n-6 et 22:6n-6 dans la famille des AGPI n-6 diminuent significativement. L'acide arachidonique un autre AGPI n-6 tend à diminuer mais cette diminution n'atteint pas le seuil de significativité au bout de un mois de supplémentation ($p>0,05$). Dans les plasmalogènes à éthanolamine il faut attendre la deuxième semaine pour que l'augmentation des AGPI n-3 devienne significative. En réponse à cette augmentation, seuls le 18 :0 et le 18 :2n-6 diminuent significativement. Toutefois, il convient de noter que le bilan moléculaire net des concentrations des autres acides gras est globalement négatif même si ces diminutions n'atteignent pas le seuil de significativité au bout d'un mois ($p>0,5$). Dans le diacyl-PC, l'augmentation des AGPIn-3 devient très significative dès la première semaine notamment pour l'EPA($p<0,01$). Dans cette sous classe seuls le 18:2n-6 et le 20:3n-6 diminuent significativement ($p<0,05$). Néanmoins, il important de préciser, ici aussi, que le bilan molaire est globalement négatif

Tableau :IX Ratio des incrémentations de l'EPA et du DHA au cours de la supplémentation

	J_7 vs J_0	J_{15} vs J_0	J_{30} vs J_0	
Diacyl-PE	0,88	1,26	1,23	Ratio EPA/DHA
PlasEtn	0,83	1,60	2,14	Ratio EPA/DHA
Diacyl-PC	2,78	1,97	1,71	Ratio EPA/DHA
PlasChol	10	1,90	1,37	Ratio EPA/DHA

pour les autres acides gras. Dans les plasmalogènes à choline, l'augmentation de l'EPA devient très significative dès la première semaine ($p<0,001$) mais celle du 22 :5n-3 et du DHA ne devienent significative qu'au cours de la deuxième semaine. Seul le 20:3n-6 diminue de façon significative ($p<0,05$). Néanmoins le bilan moléculaire reste toujours globalement négatif pour les autres acides gras.

A notre connaissance, contrairement au cas des plaquettes[31], il n'existe pas d'étude sur l'incorporation d'AGPI n-3 dans les sous classes de la PC et de la PE érythrocytaire. Les résultats disponibles concernent principalement les PL totaux et, quelques fois, les différentes classes de PL (les diradyles PC, PE, PI, et PS). De plus ces résultats sont généralement exprimés en pourcentage pondéral mais non en concentrations qui rendent pourtant mieux compte des variations quantitatives. L'examen des résultats disponibles montre que la consommation de poisson ou d'huile de poisson se traduit toujours par une augmentation de l'EPA, du 22:5n-3 et du DHA dans les phospholipides de la membrane érythrocytaire. L'ensemble des résultats disponibles nous permet de constater aussi une certaine "résistance" des PL de la membrane des érythrocytes aux manipulations diététiques. Ainsi quand des volontaires sains et diabétiques reçoivent quotidiennement 2,7 g d'huile de sardines (25% d'EPA et 7,5 % de DHA) pendant 8 semaines, chez les sujets sains, l'EPA passe seulement de 1,7 à 2,5 % des aides gras et le 22:5n-3, de 1,6 à 2,5 %. Le DHA par contre n'augmente pas et une tendance à une diminution de 9,2 à 8,7 % est même observée[32]. Chez des volontaires sains consommant du poisson pendant 12 semaines[33], l'EPA de 1,5 à 3,2 % ($p<0,001$) et le DHA de 7,8 à 10,9 % ($p<0,001$) dans les PL totaux de la membrane des érythrocytes. Cette augmentation se fait principalement au détriment du 18:2n-6, du 20:3n-6 et du 22:4n-6 qui diminuent de façon significative ($p<0,01$) et dans une moindre mesure au détriment de l'AA ($p<0,05$). Il semblerait que, l'incorporation de l'EPA dans les PL totaux de la membrane de l'érythrocyte serait fonction de la dose administrée, alors que la durée du protocole constituerait la variable explicative de l'incorporation du DHA[34].

En donnant à des groupes de volontaires sains et normolipémiques, du poisson (5 fois par semaine), de l'huile de poisson contenant 1,33g d'EPA et 0,95 g de DHA par jour et des capsules de DHA (1,68g/j) pendant 14 semaines, les auteurs ont rapporté une augmentation de l'EPA, du 22:5n-3 et du DHA dans les PL circulants et érythrocytaires de tous les patients et cette augmentation se fait principalement au détriment l'acide arachidonique[35] (comparé au groupe contrôle). L'augmentation du DHA n'est cependant statistiquement significative que chez le groupe recevant les capsules de DHA. Ainsi selon ces auteurs le ratio EPA/DHA de l'aliment jouerait un rôle dans l'incorporation du DHA dans les phospholipides érythrocytaires. L'Augmentation de l'EPA observée par ces auteurs dans les phospholipides circulants et membranaires chez les volontaires recevant les capsules de DHA sans EPA pourrait s'expliquer par une retro conversion du DHA en EPA[36].. Cette retro conversion du DHA en EPA pourrait

expliquer l'augmentation de l'EPA au détriment de l'AA dans les PL érythrocytaires de prématurés recevant une formule lactée enrichie en DHA et appauvrie en EPA comparée au lait maternel[37]. En donnant de l'EPA à un sujet schizophrène pendant deux ans, il a été rapporté une augmentation de cet acide dans les PL érythrocytaires mais aussi une augmentation du 22:5n-3 et du DHA qui sont deux métabolites supérieurs de l'EPA[38]. Curieusement ces auteurs ont observé une augmentation de l'acide arachidonique au cours du premier mois alors même que cet acide gras ne peut dériver du métabolisme de l'EPA. Une augmentation de l'acide arachidonique suite à une supplémentation en AGPI n-3 a été également rapportée chez un enfnant malnutri. Des enfants malnutris recevaientquotidiennement, pendant 9 semaines, 500 mg d'huile de poisson contenant 37,5 % d'EPA et 22,5% de DHA[39] . L'EPA, le 22 :5n-3 et le DHA augmentent de façon significative dans les PL érythrocytaires de tous les patients. Chez un enfant où la concentration de la membrane érythrocytaire en acide arachidonique était particulièrement basse, cet acide augmente de 4,04 à 13,84% et cette augmentation se fait au détriment de la famille des acides gras saturés. A l'inverse, chez un autre enfnat où la concentration en acid earachidonique était relativement élevée, cet acide diminue de 15,64 à 10,46%. Ainsi les AGPI n-3 et notamment l'EPA pourrait jouer un rôle dans la régulation homéostatique des AGPI n-6 et notamment de l'acide arachidonique[40].

Des observations sur les diradyles PE et PC de la membrane érythrocytaire sont également disponibles. Des volontaires sains ont reçu quotidiennement, pendant 8 semaines, 6g de Super EPA (31% de EPA et 18,8% DHA)[41]. On observe que, dans la PC, l'EPA et le DHA augmentent de façon significative ($p<0,001$) et cette augmentation s'accompagne d'une diminution significative ($p<0,001$) du 18:2n-6. Dans la PE, la baisse significative ($p<0,001$) du 18:2n-6 s'accompagne d'une diminution ($p<0,01$) de l'AA et du 22:4n-6 en réponse à l'augmentation ($p<0,001$) de l'EPA et du DHA. En donnant quotidiennement 10 capsules de MaxEPA à de volontaires sains pendant 6 semaines, dans la PC, l'EPA augmente de 0,5 à 2,4% ($p<0,001$) et le DHA de 1,3 à 2,4% ($p<0,01$). Seul le 18:2n-6 diminue de façon significative de 20,1 à 14,7% ($p<0,01$). Dans la PE, l'EPA augmente de 1,6 à 4,1% ($p<0,001$) et le DHA de 4,9 à 6,8% ($p<0,001$). Cette augmentation se fait au principalement détriment du 18:2n-6 qui diminue de 5,7 à 4,6% ($p<0,01$) et du 22:4n-6 qui passe de 5,2 à 3,9% ($p<0,05$) alors que l'AA n'est pas significativement modifié[42]. Récemment, en donnant à des végétariens sains et normolipémiques une supplémentation quotidienne de 0,95g de DHA, cet acide augmente de 2,8 à 7,4% dans les phospholipides totaux érythrocytaire et de 6,5 à 12,1 et 1,4 à 3,8% respectivement dans les diradyles PE et PC érythrocytaires. L'EPA augmente également dans les différentes fractions étudiées probablement par la retro conversion à laquelle nous avons précédemment allusion.. En huit semaines de supplémentation, l'index en oméga-3 des phospholipides érythrocytaires passe de 4,8% pour atteindre la valeur idéale de 8,4 % chez 69% des sujets[43].

4.2 Analyse comparative de la modification de la composition en acides gras des deux sous classes de PE.

Les PlasEtn représentent environ 42% du total de deux sous classes de PE. Aucune modification significative de la distribution des sous classes n'intervient pendant l'expérience. En ce qui concerne la composition en acides gras, dans le diascyl-PE, le 20:5n-3, le 22:5n-3 et le 22:6n-3 représentent environ 6,6% des acides gras, contre 11,3% dans les PlasEtn. D'autre part, on observe l'augmentation de l'EPA et du DHA atteint le seuil de significativité $p<0,05$) dès la première dans le diacyl-PE alors que cette augmentation ne devient significative dans la fraction plasmalogène qu'au cours de la deuxième semaine. Alors que l'augmentation de l'EPA atteint le seuil optimale de significativé ($p<0,001$), celle du DHA n'atteint pas ce seuil ($p<0,05$) au bout de trente jours de supplémentation. Il existe donc un décalage au niveau de l'incorporation de ces acides gras dans ces deux principales sous classes de la PE. Enfin, statistiquement, l'augmentation des

AGPI n-3 dans le diacyl-PE se repercute essentiellement sur la famille des AGPI n-6, dans la fraction plasmalogène cette augmentation semble être diluée dans toutes les autres familles.

4.3. Analyse comparative de la modification de la composition en acides gras de deux sous classes de PC

Il est important de noter que contrairement aux diradyl-PE, l'augmentation de l'EPA dans les diradyl-PC atteint le seuil optimale de significativité dès la première dans les eux fractions. Le DHA qui augmente signicitivement ($p<0,001$) dans le diacyl-PC atteint le seuil optimale de significativité ($p<0,001$) dès la deuxième semaine dans la fraction plasmalogène. L'autre fait marquant est que, contrairement aux diradyl-PE, l'EPA continue d'augmenter très significativement et le 22 :5n-3 et le DHA de façon significative ($p<0,05$) l'autre nous comparons la situation à j30 versus celle à J15. L'augmentation des AGPI n-3 dans les deux fractions de PC se fait essentiemment au détriment du 20 :n-6 mais, dans le diacyl-P, en plus, le 18 :2n-6 diminue.

5. Conclusion

In the diacyl-PE fraction. The first significant alterations appear only at the end of the first week. The concentrations of EPA and DHA increase significantly. The increase can be numbered to about 6 µmoles / 100 ml for the whole three acids, it corresponds to a loose in oleic, linoleic and dihomo, gamma linolenic acids. **In the PlasEtn fraction**. An increase of the main fatty acids of the n-3 series is observed. The significativities are reached only during the second week. **In the diacyl-PC fraction.** The strongest quantitative decrease of 20:3n-6 contrasts with the lack of the alteration of 20:4n-6. The decrease of EPA and DHA becomes significant during the 7 days. **In the PlasChol fraction**. The values of the begninnig of n-3 are very weak in this fraction. The mouvement in masses of fatty acids ramain equally weak. Here also the consequences of the supplementation in n-3 on the n-6 family appears significantly on the 20:3n-6 before the 20:4n-6.

Bibliographie

[1] - Kinsella JE; Lokesh B., Stone RA. Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids and amelioration of cardiovascular diseases: possible mechanisms. Am. J. Clin. Nutr. (1990) ; 52:1-28.

[2] - Simopoulos AP. Essential fatty acids in health and chronic disease. Am. J. Clin. Nutr. (1999) ; 70:560S-569S.

[3] - William E Connor. Importance of n-3 fatty acids in health and disease. Am. J. Clin. Nutr. (2000) ; 71:171S-175S.

[4] - Hodge J., Sanders K., Sinclair A. Differential utilization of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid in human plasma. Lipids (1993) ; 28:525-31.

[5] – Dennis WT Nilsen and William S. Harris. n-3 Fatty acids and cardiovascular disease. Am. J. Clin. Nutr. (2004) ; 166:1-3.

[6]- Jing X. Kang, MD, PhD ; Alexander Leaf, MD. Antiarrhythmic effects of polyunsaturated fatty acids. Circulation. (1996) ; 94 : 1774-1780

[7]Wang C., Harris W. S., Chung M., Lichtenstein A. H., Balk E. M., Kupelnick B., Jordan H. S. and Lau J. n-3 fatty acids from fish or fish oil supplements, but not linolenic acid, benefit cardiovascular disease outcomes in primary – and secondary prevention studies : a systemic review. Am. J. Clin. Nutr. (2006) ; 84:5-17.

[8] - Neuringer M., Anderson GJ., Connor WE. The essentiality of n-3 fatty acids for developpment and function of retina and brain. Annu. Rev. Nutr. (1988) ; 8:517-41.

[9] - Terano T., Hirai A., Hamazaki T. Effect of administration of highly purified eicosapentaenoic
acid on platelet function, blood viscosity and red cell deformability in healthy human subjects. Atherosclerosis. (1983;46) :321-32.

[10] Lauritze L., Hansen H. S., Jorgensen M. H., Michaelsen K. F. The essentiality of long-chain n-3 in relation to developpement and fonction of the brain and retina. Prog. Lipid Res. (2001) ; 40: 1-94.

[11] – Weber P. C., Leaf A. Cardiovascular effects of omega-3 fatty acids.Atherosclerosis risk factor modification by omega-3 fatty acids. World Rev. Nutr. Diet. (1991) ; 66 : 218-32.

[12] - Lefkowith JB., Morisson A., Lee V., Rogers M. Manipulation of the acute inflammatory response by dietary polyunsaturated fatty acid modulation. J. Immunol. (1990); 145:1523-9.
[13] - Maggie Lailaw and Bruce J. Holub. Effects of supplementation with fish oil-derived fatty acids and g linolenic acid on circulatiob pklasma and fatty acid profiles in women. Am. J. Clin. Nutr. (2003) ; 77:37-42.
[14] Leaf A., Weber PC. Cardiovascular effects of n-3 fatty acids. N. Engl. J. Med. (1988) ; 318:549-57.
[15] - Milner MR., Gallino RA., Leffingwell A. Usefulness of fish oil supplements in preventing clinical evidence of restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty. Am. J. Cardiol. (1989) ; 62:294-9.

[16] - Zambon S., Friday KE., Childe MT., Fujimoto WY., Bierman EL., Ensinck JW. Effect of glyburide and omega-3 faty acid dietary supplements on glucose and lipid metabolism in patients with non-insulin-dependent diabets mellitus. Am. J. Clin. Nutr. (1992) ; 56:447-54.
[17] - Woodman R. J., Mori T. A., Burke V., Puddey I. B., Watts G. F. and Beilin J. Effects of purified eicosapentaenoic acids on glycemic control, blood pressure and serum lipids in type 2 diabetic patients with treated hypertension. Am. J. Clin. Nutr. (2002) ; 76:1007-1015.
[18] – Undurti N. Das. Long-chain polyunsaturated acids and diabetes mellitus. Am. J. Clin. Nutr. (2002) ; 75:780-781.
[19] - Donadio JV. A potential new treatment of immune renal disease. Mayo. Clin. Proc. (1991) ; 66:1018-28.
[20] - Hogg R. J., Fitzgibbons L., Atkins C. Efficacy of omega-3 acids in children and adults with IgA nephropathy is dose and size depent. Clin. J. Am. Soc. Nephrol. (2006) ; 1 : 1167-1172.
[21] Ziboh VA. Implications of dietary oils and polyunsaturated fatty acids in the management of cutaneous disorders. Arch. Dermatol. (1989) ; 125:241-5.
[22] - Terry P. D., Rohan T. E. and Wolk A. Intakes of fish and marine fatty acids and the risks of cancers of the breast and protate and other hormone-related cancers : a review of the epidemuiologic evidence. Am. J. Clin. Nutr. (2003) ; 77:532-543.
[23] - Sadou H., Léger C -L., Descomps B., Barjon J -N., Monnier L and Crastes de Paulet A. Differential incorporation of fish-oil eicosapentaenoate and docosahexaenoate into lipids of lipoprotein fractions as related to their glyceryl esterification: a short-term (postprandial) and long-term study in healthy humans. Am. J. Clin. Nutr .(1995) ; 62:1193-1200.
[24]. Shohet S. B., Nathan D. G. and Karnovsky M. Stages in the incorporation of fatty aids into red blood cells. J. Clin. Invest. (1968) ; 47 : 1096-1108.
[25] – Albert C. M., Hennekens C. H;, O'Donnell C. J., MD; Ajani U. A., MBBS; Carey V. J., PhD; Walter C., MD; Ruskin J. N., MD; Manson J. E, MD. Fish consumption and risk of sudden cardiac death. JAMA. (1998) ; 279 : 1-11.
[26]- Albert C. M, M.P.H., Campos H., PhD.; Stampfer M. J. M.D.; Ridker P. M. M.D.; Manson J. E., M.D.;Willett W. C. and Ma J. M. D. Blood levels of long-chain n-3 fatty acids and the risk of sudden death. The New England Journal of Medecine. (2002) ; 346 : 1113-1118.
[27].Foch J., Lees M. and Stanley . H. A simple method for the isolation and purification of total lipis from animal tissues. J. Biol. Chem. (1957) ; 226 : 497-509.
[28] Renkonen O. Individual molecular species of phospholipis. III. Molecular species of ox brain lecithins. Biochim. Biophs. Acta. (1966) ; 125 : 288-309.
[29] Horrock L. A. Thin-layer chromatography of brain phospholipids. J. Am. Oil Chem. Soc. (1963) ; 40 :235-236.
[30] - Myher J. J., Kuksis A. and Pinds S. Molecular species of glycerophospholipids and sphingomyelins of human erythrocytes : Improved method of analysis. Lipids (1989) ; 24 : 396-407.
[31] - Holub B. J. Effect of dietary suoolementation with fish concentrate on alkenylacyl class of ethanolamine phospholipid in human platelets. J. Lipid. Res. (1989) ; 30 : 59-64.
[32] - Kamada T., Yamashita T., Baba Y., Setoyama S. S., Chuman Y. And Otsuji S.. Dietary sardine oil increase erythrocyte

membrane fluidity in diabetic patients. Diabetes. (1986) 35 : 604-611.
[33] - Hessel E., Agren J. J., Paulitschke M., Hännimen O., Hännimen A., Lerche D. Fresh water fish diet affects lipid composition, deformability and aggregation properties of erythrocytes. Atherosclerosis. (1990.) ; 82 : 37-42.
[34]- -Brown A. J., Pang E., Roberts D.C.K. Persistent changes in the fatty acid composition of erythrocyte membranes after moderate intake of n-3 polyusaturated fatty acids study design implications. Am. J. Clin. Nutr. (. 1991); 54. 668-673.
[35] Vidgren H. M., Agren J. J., Schwab U., Rissanen. Incorporation of n-3 fattyu acids into plasma lipid fractions, and erythrocytes and platelets during dietary sypplementation with fish oil, and docosahexaenoic acid-rich oil among healthy young men. Lipids. (1997) ; 32 : 697-705.
[36] - [Tocher D. R. and Dick J. R. Effects of essential fatty acid deficiency and supplementation with docosahexaenoic acide (DHA ; 22:6n-3) on cellular fatty acid compositions and fatty acyl desaturations in cell culture model. Prostaglandins, leukotrienes and essential fatty acides. (2001) ; 64 : 11-12.
[37] – Lapillonne A., Picaud J-C., Chirouze V., Goudable J., Reygrobellet B., Claris O and Salle B. L. The use of low-EPA fish oil for log-chain polyunsaturated fatty acid supplementation of preterm infants. Pediatric Reasearch (2000) ; 48 : 835-841.
[38] – Richardson A. J., Easton T. and Puri B. K. Red cell and plasma fatty acid change accompanying symptom remisson in a patient with schizophrenia treated with eicosapentaenoic acid. European Neuropsychopharmacology (2000) ; 10 : 189-193.
[39] – mit E. N., Oelen E A., Seerat E., Boersma E. R. and Muskiet F. A. Fish oil improves docosahexaenoic acid status of malnourished infants. Arch. Dis. Child. (2000) ; 82 : 366-369.
[40] Bjerve K. S. N-3 fatty acid deficiency in man. J. Intern. Med. (1989) ; 225. suppl. 1 : 171-175.

[41] - Popp-Snijders C., Schouten J. A., De Jong A. P. and Van Der Veen E. A. Effect of dietary cod-liver on the lipid composition of human erythrocyte membres. Scand. J. Clin. Lab. Invest. (1984); 44 : 39-46.

[42] - Cartwright I. J., Galloway J. H., Greaves M. and Pretson F. E. The effects of dietary ω-3 polyunsaturated fatty acids on erythrocyte membrane phospholipids, erythrocyte deformability and blood viscosity in healthy volunteers. Atherosclerosis. (. 1985) ; 55 : 267-281.

[43] – Geppert J., Kraft V., Demmelmair H. and Koletko B. Docosahexaenoic acid supplementation in vegetarians effectively increases omega-3 index : a randomized trial. Lipids. (2005) ; 40 : 34.3-347.