PREMIER MINISTRE

COMMISSARIAT A
L'ÉNERGIE ATOMIQUE

Destinée du cholestérol des chylomicrons chez le rat

I. Recherches sur le stockage des chylomicrons

par

F. CHEVALLIER et J. P. MAURICE

Rapport CEA n° **2065**

1961

CENTRE D'ETUDES
NUCLÉAIRES DE SACLAY

CEA 2065 - CHEVALLIER F., MAURICE J. P.

Destinée du cholestérol des chylomicrons chez le rat - I. Recherches sur le stockage des chylomicrons (1961).

Sommaire. — Des rats, conditionnés à ingérer leur repas quotidien entre minuit et 2 heures, reçoivent à minuit, par tubage gastrique 0,5 mg de cholestérol 4-C^{14} et sont sacrifiés dans les heures qui suivent. Pendant la phase la plus active de l'absorption intestinale les valeurs des radioactivités spécifiques du cholestérol libre et estérifié du foie, et du cholestérol du sérum sont pratiquement égales. En conséquence, la captation par le foie du cholestérol d'absorption n'est pas décelable. Les résultats obtenus permettent, par contre, d'exclure la possibilité pour les poumons de jouer un rôle analogue.

Le problème de la destinée du cholestérol des chylomicrons est discuté. Pour écarter toute ambiguité dans cette discussion, on a déterminé la concentration et la radioactivité spécifique du cholestérol libre et estérifié dans les chylomicrons et la lymphe obtenus par le drainage continu du chyle. 5 p. 100 du cholestérol radioactif du chyle se trouve dans la lymphe; dans les chylomicrons la radioactivité en cholestérol libre l'emporte sur celle du cholestérol estérifié.

CEA 2065 - CHEVALLIER F., MAURICE J. P.

The fate of chylomicron cholesterol in the rat - I. Research into the storing of chylomicrons (1961).

Summary. — Rats conditioned to take their daily meal between midnight and 2 a. m. are given at midnight, by stomach tubing, 0,5 mg 4-^{14}C-cholestérol, and are sacrificed in the following hours. During the most active phase of intestinal absorption, specific radioactivities of free and esterified liver cholesterol and of serum cholesterol are practically equal. Consequently, captation of absorbed cholesterol by the liver is not detectable. The results obtained exclude, on the other hand, the possibility that the lungs might play a similar role.

The problem of the fate of chylomicron cholesterol is discussed. In order to avoid any ambiguity in this discussion, we have determined the concentration and specific radioactivity of free and esterified cholesterol in chylomicrons and lymph obtained by continuous drainage of chyle. 5 p. 100 of the radioactive cholesterol of chyle are found in lymph: in chylomicrons, the radioactivity of free cholesterol is higher than that of esterified cholesterol.

Imprimé avec le périodique « **Bulletin de la Société de Chimie biologique** ».
Extrait du Tome XLIII, nos 5-6, 1961, pp. 827-840.

Printed in France.

DESTINÉE DU CHOLESTÉROL DES CHYLOMICRONS CHEZ LE RAT.
I. — RECHERCHES SUR LE STOCKAGE DES CHYLOMICRONS.

par F. CHEVALLIER et J. P. MAURICE.

Département de Biologie, Centre d'Etudes Nucléaires, Saclay (S. et O.).

(Mémoire reçu le 16 mars 1961).

Le transport dans l'organisme du cholestérol alimentaire absorbé s'effectue par la voie lymphatique [1, 2]. C'est essentiellement inclus dans les chylomicrons que le cholestérol exogène est véhiculé [3, 4, 5, 6]. A ce stade, dans le sang, il se distingue du cholestérol sérique proprement dit. Ce dernier, lié aux lipoprotéines, est disponible pour les multiples transferts dont il est l'objet dans les hématies, le foie, entre autres exemples [7, 8, 9, 10, 11, 12]. De plus, dans cet organe, il est susceptible d'être transformé en acides biliaires [13, 14]. Par contre, la destinée des chylomicrons et de chacun de ses constituants qui correspond à l'ultime étape des processus propres à la digestion des lipides, est toujours contreversée. A ne considérer que les résultats de certains travaux, le mécanisme essentiel serait leur captation par le foie [15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22]. En ce qui concerne le cholestérol, l'expérience la plus démonstrative a été faite par BIGGS [15]. Après l'injection à des rats, par voie intraveineuse, de chyle contenant du cholestérol tritié, cet auteur retrouve dans le foie, trente minutes plus tard, 85 p. 100 du cholestérol radioactif ; la radioactivité spécifique du cholestérol hépatique est alors six fois supérieure à celle du cholestérol sérique. D'autres travaux mettent en valeur le rôle du facteur clarifiant (lipoprotéine lipase). Son action hydrolysante a été mise en évidence pour les triglycérides [16, 20, 22]. Enfin, un troisième mécanisme interviendrait : l'échange du cholestérol entre les chylomicrons et le sérum [5].

Le but du présent travail est d'étudier la destinée du cholestérol des chylomicrons dans des conditions physiologiques convenables, ce qui exige l'administration par voie orale du cholestérol radioactif.

MÉTHODES.

A. — *Protocole expérimental.*

1) ***Préparation des animaux.***

On utilise des rats, mâles, adultes, de même âge, pesant 300 ± 30 grammes qui ingèrent depuis un mois une alimentation synthétique [11]. Pendant les 15 jours qui précèdent l'expérience les rats ne

peuvent s'alimenter qu'entre minuit et deux heures. Ces conditions diététiques ne perturbent pas la croissance des animaux dont les poids sont régulièrement contrôlés. Cette méthode a plusieurs avantages. La période d'ingestion étant d'une part courte et d'autre part définie, les variations de l'absorption dans le temps entre différents rats devraient être minimisées. Par ailleurs, il est possible de faire coïncider le temps zéro de l'expérience avec l'étape correspondante du rythme alimentaire.

2) *Expérience proprement dite.*

Celle-ci a consisté à injecter par tubage gastrique, à minuit, 0,5 cm^3 d'acide oléique contenant 0,5 mg de cholestérol 4-^{14}C (1 µc) (Radiochemical Centre Amersham). Les animaux ont ensuite accès à leur mangeoire durant deux heures. Pour compenser l'apport initial en graisses, l'alimentation en est privée. Les rats sont sacrifiés dans les heures qui suivent. La fracture des os crâniens permet l'écoulement de 5 à 7 cm^3 de sang recueilli sur héparine. Le sérum est ensuite séparé par centrifugation. Deux autres prélèvements sont effectués : ceux du foie et des poumons. Chaque organe est conservé dans un volume connu d'alcool à 95°.

3) *Collection du chyle d'un rat.*

Un cathéter est placé à demeure dans la partie abdominale du canal thoracique selon la technique de BOLLMAN et Coll. [23] (*). L'intervention terminée, les rats sont placés dans des cages à contention après avoir reçu par tubage gastrique 0,5 mg de cholestérol 4-^{14}C comme dans les expériences précédentes. Dans sa cage, l'animal a accès à sa nourriture et à sa boisson (solution saline à 0,9 p. 100). L'écoulement du chyle n'étant pas toujours régulier, on a utilisé les seuls chyles dont le volume recueilli en 24 heures atteignait 40 cm^3. La séparation des chylomicrons de la lymphe est faite selon la technique de BURSTEIN [24].

B. — *Isolement du cholestérol.*

1) *Cholestérol total.*

Ce travail comporte la saponification des tissus, l'extraction de l'insaponifiable, la précipitation du cholestérol par la méthode de CAMINADE, et la rupture du complexe cholestérol-digitonine selon SCHOENHEIMER [25, 26]. Les détails de ces techniques ont été précédemment rapportés [11].

2) *Cholestérol libre et estérifié.*

La séparation est obtenue par chromatographie des extraits lipidiques. L'extraction préalable des lipides est faite à l'alcool dans un

(*) Nous remercions M. SERRELL qui a réalisé pour nous ces interventions.

appareil de Kumagawa durant 48 heures. La solution alcoolique portée à sec est reprise par le benzène. Les conditions de la chromatographie, inspirées de celles de CLEMENT et Coll., ont été définies en considérant un extrait lipidique provenant de 10 cm³ de sérum et d'un foie de rat entier [27].

Pour le sérum on dépose dans une colonne de 13 mm de diamètre intérieur 5 grammes d'alumine neutralisé (Touzart-Matignon). La grosseur maximale des grains correspond au module 80 et la grosseur minimale au module 200. L'extrait lipidique dissous dans 15 cm³ de benzène est versé sur la colonne d'alumine. Elle est lavée par 30 cm³ de benzène. Ce solvant recueilli contient le cholestérol estérifié ; après évaporation, l'extrait est traité comme pour le cholestérol total. Le cholestérol libre adsorbé est élué par l'acétone (25 cm³). Le solvant évaporé, le cholestérol est précipité par la méthode de CAMINADE. Pour le foie les conditions sont les suivantes : colonne de 15 mm, 15 g d'alumine, dissolution de l'extrait par 25 cm³ de benzène, lavage par 75 cm³ du même solvant, élution par 100 cm³ d'acétone.

C. — *Dosage du cholestérol.*

Dans le cas du chyle, on a dosé le cholestérol libre et estérifié sur les deux fractions, lymphe et chylomicrons. Le cholestérol libre obtenu directement par la chromatographie et l'insaponifiable correspondant au cholestérol estérifié isolé dans les mêmes conditions sont dissous par l'alcool-acétone (1/1) et transvasés dans une fiole dont le volume est tel que la concentration en cholestérol soit comprise entre 0,02 et 0,1 mg/cm³. Cinq centimètres cubes sont déposés en double dans des tubes à centrifuger de 15 cm³. La technique utilisée est alors celle de SPERRY et WEBB [28].

D. — *Mesure de la radioactivité spécifique du cholestérol.*

Dans le cas du sérum, du foie et des poumons, le cholestérol obtenu après la rupture du complexe digitonosique est repris par l'éther anhydre dans une fiole jaugée de capacité convenable. De chaque fiole on prélève successivement quatre aliquots. Deux sont déposés dans des tubes à centrifuger ; ils servent à déterminer la concentration du cholestérol dans la fiole. La mesure de la radioactivité est faite à l'aide d'un spectromètre à scintillation liquide (Packard). Dans ce but les deux autres aliquots sont déposés dans des flacons spéciaux. Après évaporation le résidu est dissous dans 15 cm³ de liquide fluorescent composé de 4 g de diphényloxasol et de 100 mg de 1-4 di 2-5 (phényloxasolyl) benzène dans un litre de toluène. La radioactivité des échantillons est ensuite mesurée ; la durée du comptage est telle que l'erreur standard sur la valeur de la radioactivité n'excède pas 2 p. 100. Après correction due au bruit de fond et connaissant la quantité de choles-

térol déposé dans le flacon, on calcule sa radioactivité spécifique exprimée en nombre d'impulsions enregistrées par minute et par milligramme de cholestérol (ipm/mg).

Dans le cas des chylomicrons et de la lymphe, on mesure la radioactivité du cholestérol libre et du cholestérol estérifié sans purifier ces composés par la formation du complexe digitonosique. On prélève donc directement des aliquots de la fiole jaugée qui contient le cholestérol utilisé pour le dosage. Ces aliquots sont déposés dans des flacons et servent à la mesure de la radioactivité comme dans le cas précédent.

Résultats.

Etude de la radioactivité spécifique du cholestérol total du foie, du sérum et des poumons.

Quatre vingt deux rats ont été utilisés. Pour une même durée expérimentale, le nombre d'animaux sacrifiés est, le plus souvent, compris entre 3 et 10. Les courbes 1, 2, 3 ont été tracées en considérant les valeurs moyennes.

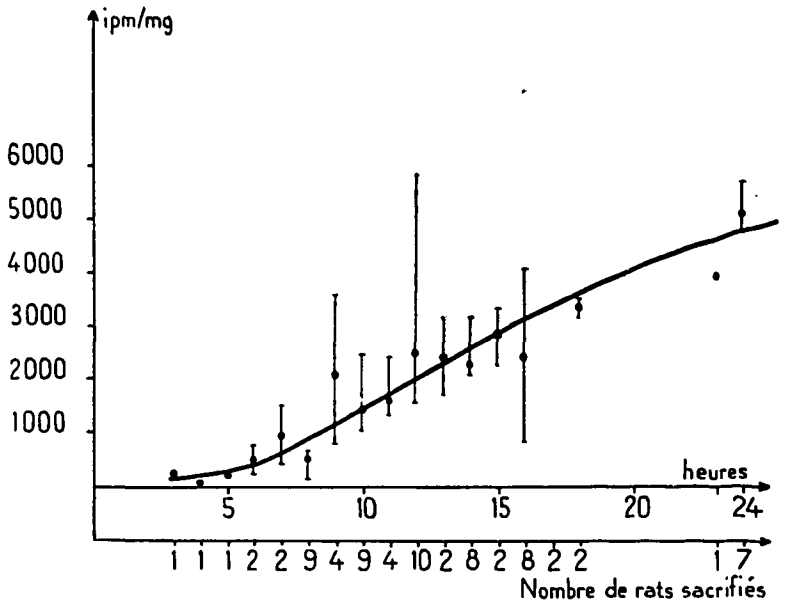

Fig. 1. — Radioactivités spécifiques moyennes du cholestérol (ipm/mg) du sérum en fonction de la durée de l'expérience (les extrémités des traits verticaux correspondent aux valeurs extrêmes.

La radioactivité spécifique du cholestérol des poumons est environ égale au tiers de celle du cholestérol sérique correspondant. Le rôle des poumons dans la captation du cholestérol des chylomicrons ne peut donc être que mineur ou nul. Cette conclusion s'oppose à celle obtenu par Dougherty et Coll. qui, soulignons-le, injectent par voie intraveineuse, le cholestérol solubilisé artificiellement [29].

Si la radioactivité spécifique du cholestérol hépatique est, en règle générale, supérieure à celle du cholestérol sérique, elle l'excède, au maximum, de 50 p. 100. Lorsque les chylomicrons contenant du cho-

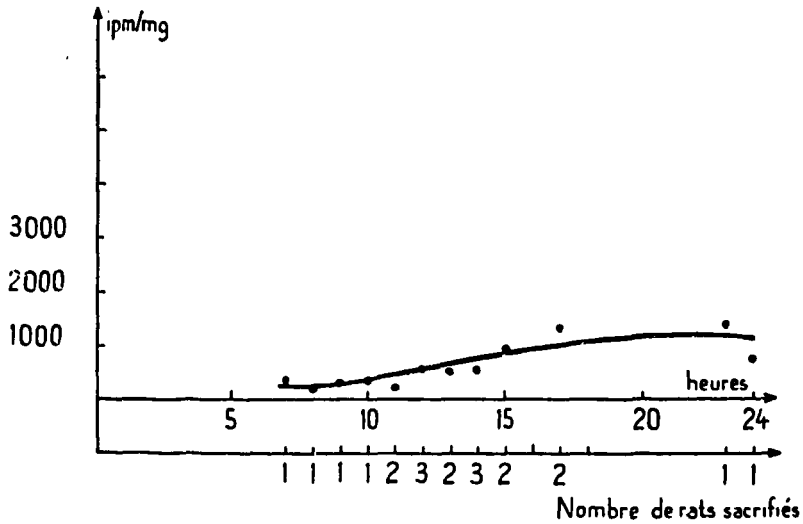

FIG. 2. — Radioactivités spécifiques moyennes du cholestérol (ipm/mg) des poumons en fonction de la durée de l'expérience.

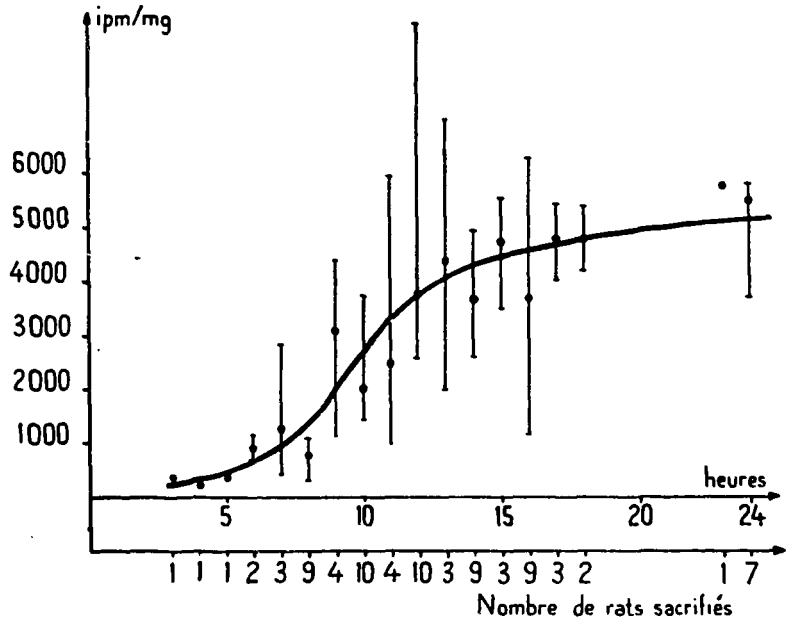

FIG. 3. — Radioactivités spécifiques moyennes du cholestérol (ipm/mg) du foie en fonction de la durée de l'expérience.

lestérol radioactif sont injectés par voie intraveineuse, la radioactivité spécifique du cholestérol hépatique dépasse jusqu'à cinq fois celle du cholestérol sérique. L'amplitude du phénomène décrit par BIGGS appa-

rait donc très atténuée [15]. Cette différence provient du fait que, dans nos conditions, l'expérience s'insère dans un cycle nycthéméral ; le processus de stockage des chylomicrons, s'il est effectif, se trouve étalé dans le temps.

Les résultats obtenus dans cette étude préliminaire permettent, par ailleurs, de constater la lenteur et l'irrégularité de l'absorption digestive. Le fait que le rat n'a accès à son alimentation que deux heures sur 24 explique peut-être la lenteur, les traumatismes insoupçonnés lors du tubage gastrique, l'irrégularité.

Etude de la radioactivité spécifique du cholestérol libre et estérifié du sérum et du foie.

Durant l'absorption digestive la radioactivité spécifique du cholestérol des chylomicrons qui contient le cholestérol d'absorption a une valeur élevée par rapport à celle du cholestérol sérique proprement dit. Pour connaître celle-ci, les chylomicrons doivent être, au préalable éliminés du sérum. Cette précaution une fois prise (technique de Burstein), l'apparition de cholestérol radioactif dans le sérum peut être rapportée avec certitude aux processus consécutifs à la présence des chylomicrons dans le sang mais non à leur présence.

Les animaux ont été sacrifiés 8, 10, 12, 14, 16 et 24 heures après le tubage gastrique. Pour chaque durée expérimentale six rats ont été utilisés. La faible quantité de cholestérol estérifié dans le foie et de cholestérol libre dans le sérum a conduit à grouper les milieux prélevés en 2 lots correspondant à trois animaux. Les résultats obtenus représentent donc une valeur moyenne.

Les radioactivités spécifiques du cholestérol hépatique libre et estérifié sont très voisines. Leurs rapports sont reportés sur la figure 4 A ; ils sont compris entre 1,15 et 0,75, la moyenne étant 0,88. Les rapports des radioactivités spécifiques du cholestérol libre du sérum et du foie (figure 4 B) sont pratiquement égaux à l'unité durant la 1re partie de l'expérience. Entre les 12e et 14e heures, ils s'abaissent à une valeur de 0,6, puis tendent vers 1 et atteignent à nouveau cette valeur à la 24e heure. Quant aux rapports des radioactivités spécifiques du cholestérol estérifié et libre du sérum, ils sont tout d'abord compris entre 0,8 et 0,5 ; puis, simultanément à l'accident signalé précédemment, c'est-à-dire à la 14e heure, les rapports atteignent la valeur 1 et s'y maintiennent jusqu'à la fin de l'expérience (figure 4 C).

Ces résultats permettent de constater que le processus de stockage hépatique n'est pas décelable dans nos conditions expérimentales. La quasi égalité des radioactivités spécifiques du cholestérol libre du sérum, libre et estérifié du foie, entre les 8e et 12e heures, c'est-à-dire durant la période d'absorption la plus active, est l'argument de cette conclusion. Pour Biggs, au maximum de la captation, la radioactivité spécifique du cholestérol estérifié du foie est 3,5 fois plus grande que

celle du cholestérol libre. Le résultat de cet auteur s'explique car, d'une part, la radioactivité du cholestéral présent dans le chyle injecté correspondait pour les 2/3 à du cholestérol estérifié et, d'autre part, par la faible proportion dans le foie du cholestérol estérifié par rapport au cholestérol libre. La discordance des résultats obtenus par BIGGS et par nous-mêmes nous a conduits à étudier dans nos conditions expérimentales la répartition du cholestérol radioactif dans la lymphe.

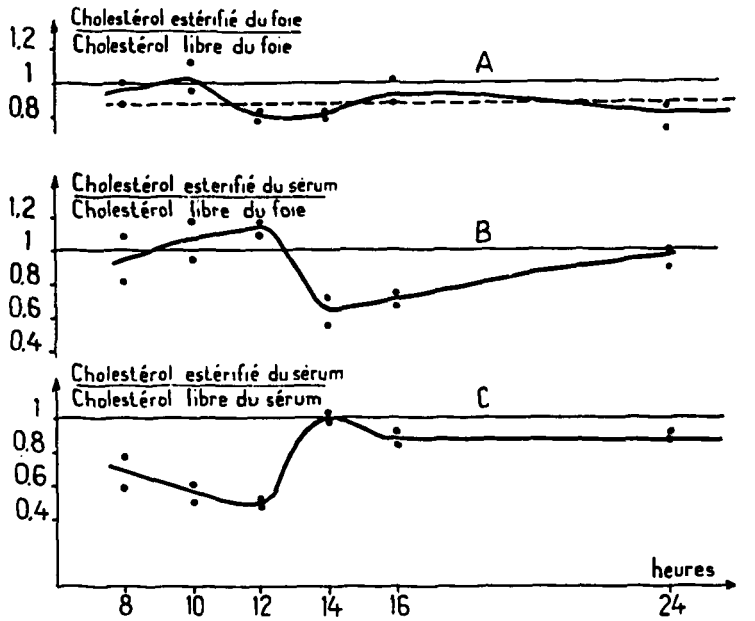

FIG. 4. — Rapports des radioactivités spécifiques du cholestérol estérifié et libre du foie (A), du cholestérol du sérum et du foie (B), du cholestérol estérifié du foie et libre du sérum (C) en fonction de la durée de l'expérience.

Au préalable, il reste à discuter les variations observées dans les rapports des radioactivités spécifiques du cholestérol libre du sérum et du foie. La chute observée entre la 12e et 14e heure (figure 4 B) peut s'expliquer, en théorie, soit par l'augmentation de la radioactivité spécifique du cholestérol libre du foie, soit par la diminution de celle du cholestérol libre du sérum. La première de ces possibilités est à écarter, car, en fait, la radioactivité spécifique du cholestérol libre du foie n'augmente pas brusquement entre les 12e et 14e heures (figure 5). Par contre, l'abaissement de la radioactivité spécifique du cholestérol libre du sérum est manifeste (figure 6) ; cet abaissement correspond à l'apparition dans le sérum de cholestérol libre de faible radioactivité spécifique. Le cholestérol estérifié étant dans le sérum en quantité deux fois plus grande que le cholestérol libre et de radioactivité spécifique deux fois plus faible, pourrait en être l'origine. Pour cela on doit admettre que, d'une manière ou d'une autre, l'estérification du cholestérol sérique est lié aux processus secondaires à l'absorption. Seules

des études complémentaires permettront de confirmer ou d'infirmer cette interprétation.

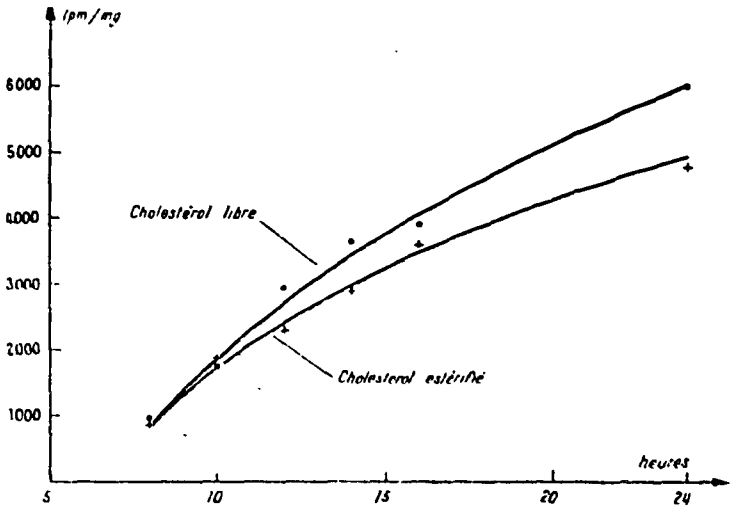

FIG. 5. Radioactivités spécifiques moyennes (ipm/mg) du cholestérol libre et estérifié du foie en fonction de la durée de l'expérience.

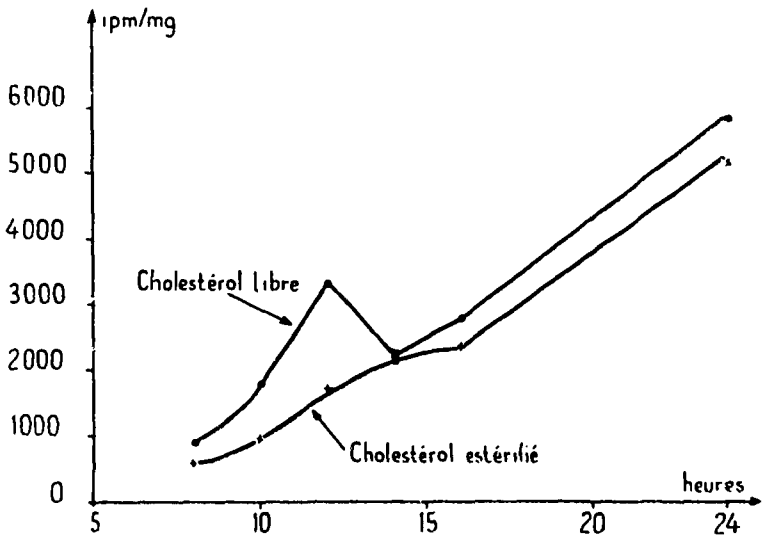

FIG. 6. — Radioactivités spécifiques moyennes (ipm/mg) du cholestérol libre et estérifié du sérum en fonction de la durée de l'expérience.

Etude de la répartition dans le chyle du cholestérol radioactif d'absorption.

L'expérience a porté sur quatre rats ; les volumes de chyle collectés sont de 42, 40, 40 et 44 cm³. Les chylomicrons sont séparés de la lymphe proprement dite ; sur chacune de ces fractions on dose le cholestérol libre et estérifié, et on mesure leur radioactivité spécifique.

A. — *Dosages.*

Les valeurs obtenues pour chacun des quatre différents rats présentent entre elles des variations importantes (Tableau I). Malgré tout certaines conclusions s'imposent.

1) Dans la lymphe, le cholestérol estérifié est en plus grande proportion que le cholestérol libre. Le rapport cholestérol estérifié-cholestérol total correspond en moyenne à celui du sérum sanguin (0,7). La concentration du cholestérol total de la lymphe est très inférieure (1/10) à celle du cholestérol total du sérum.

2) Dans les chylomicrons, le cholestérol libre est plus abondant que le cholestérol estérifié. Le rapport cholestérol estérifié, cholestérol total est environ 0,40. La quantité de cholestérol total présent dans les chylomicrons est très supérieure (5 fois en moyenne) à celle du cholestérol total de la lymphe.

3) Si l'on considère le chyle (chylomicrons + lymphe), la concentration moyenne en cholestérol est de 0,26 mg/cm³, le rapport cholestérol estérifié-cholestérol total de 0,45.

TABLEAU I.

QUANTITÉS DE CHOLESTÉROL (MG) CONTENUES DANS LES CHYLOMICRONS ET LA LYMPHE ISOLÉS DU CHYLE FOURNI EN 24 HEURES PAR QUATRE RATS.

Volumes (cm³) de chyle recueilli en 24 heures	Lymphe		Chylomicrons	
	Cholestérol		Cholestérol	
	libre	estérifié	libre	estérifié
42	0,31	0,56	4,00	1,48
40	0,61	1,33	6,44	3,60
40	0,80	2,50	7,03	6,28
44	0,56	1,21	3,87	2,80

A notre connaissance aucun travail n'a précisé jusqu'à présent la concentration en cholestérol de la lymphe abdominale du rat. Il est intéressant de constater que le rapport cholestérol libre - cholestérol estérifié est semblable à celui du sérum. Parmi les données déjà acquises concernant la composition des chylomicrons, seules celles de LAURELL se comparent aux nôtres ; c'est-à-dire que le cholestérol libre y est plus abondant que le cholestérol estérifié [6, 30, 31]. Il est pourtant bien établi que l'« extra cholestérol » qui apparaît dans les chylomicrons au cours de l'absorption, l'est essentiellement sous la forme

estérifié [6, 32, 33]. Dans nos conditions expérimentales le chyle est recueilli durant 24 heures ; de plus le repas ingéré ne contient qu'une faible proportion de graisses (0,5 cm^3) et de cholestérol (0,5 mg). Ainsi le cholestérol d'absorption ne peut représenter qu'une fraction minime du cholestérol des chylomicrons. Quant au rapport cholestérol libre-cholestérol total obtenu en considérant le chyle, il est inférieur (0,45) à ceux déjà obtenus qui sont, suivant les auteurs de 0,5 ; 0,55 ; 0,60 ; 0,80 [2, 15, 32, 33, 34].

B. — *Radioactivités spécifiques.*

Les radioactivités spécifiques du cholestérol estérifié des chylomicrons ont toujours les valeurs les plus élevées (Tableau II) ; celles du cholestérol libre en représentent, en moyenne, les trois quarts. Les radioactivités spécifiques du cholestérol libre de la lymphe sont soit pratiquement égales, soit inférieures à celle du cholestérol libre des chylomicrons. Quant aux radioactivités spécifiques du cholestérol estérifié de la lymphe elles n'atteignent que le 1/5 ou le 1/10 des valeurs de celles du cholestérol libre du même milieu.

TABLEAU II.

RADIOACTIVITÉS SPÉCIFIQUES (IMPULSIONS PAR MINUTE ET PAR MILLIGRAMME) DU CHOLESTÉROL DES CHYLOMICRONS ET DE LA LYMPHE ISOLÉS DU CHYLE FOURNI EN 24 HEURES PAR QUATRE RATS.

Lymphe		Chylomicrons	
Cholestérol		Cholestérol	
libre	estérifié	libre	estérifié
53.300	5.400	51.200	64.400
49.200	9.100	45.000	68.000
30.000	6.800	41.200	49.800
5.600	540	19.700	22.800

Si avec ces données on calcule la radioactivité spécifique du cholestérol libre et estérifié du chyle, on constate qu'elles sont pratiquement égales. Ce résultat concorde avec celui obtenu par CHAIKOFF ; pour d'autres auteurs, la radioactivité spécifique du cholestérol estérifié est soit supérieure, soit inférieure à celle du cholestérol libre [1, 2, 15, 34].

C. — *Radioactivités.*

En considérant les données relatives aux dosages et aux radioactivités spécifiques on constate qu'au maximum 5 p. 100 du cholestérol

radioactif se trouve dans la lymphe ; la quasi totalité étant présente dans les chylomicrons. Dans ceux-ci la radioactivité en cholestérol libre l'emporte sur celle du cholestérol estérifié.

Discussion.

Doubherty et Coll. après l'injection par voie intraveineuse de cholestérol radioactif solubilisé artificiellement avait mis en évidence sa captation par les poumons. Biggs injectant par la même voie du chyle contenant du cholestérol marqué (sous la forme estérifié pour les deux tiers) constata le rôle quasi exclusif du foie dans le stockage temporaire du cholestérol des chylomicrons. Dans nos conditions expérimentales nous avons voulu serrer de plus près la réalité physiologique en administrant une faible quantité de cholestérol marqué par voie orale Les résultats ainsi acquis permettent d'écarter d'emblée le rôle des poumons. Quant à celui du foie, il ne peut être précisé qu'en considérant 2 séries de faits.

La composition du chyle déversé dans la circulation et la répartition du cholestérol radioactif dans ce milieu constituent les premiers éléments de la discussion. Si, par exemple, le foie capte, à un instant donné, des chylomicrons dont la radioactivité en cholestérol se répartit également entre le cholestérol libre et le cholestérol estérifié, la radioactivité spécifique du cholestérol estérifié sera environ huit fois plus grande que celle du cholestérol libre puisque les concentrations de ces deux composés sont, dans le foie, dans un rapport inverse. On conçoit les différences que l'on pourrait observer à propos des radioactivités spécifiques du cholestérol libre et estérifié de la glande hépatique suivant que le cholestérol libre et estérifié des chylomicrons seraient plus ou moins radioactifs. En fait, les divergences observées entre les données acquises jusqu'à présent et les nôtres sont mineures, et l'on peut conclure que la radioactivité du cholestérol estérifié du chyle est soit égale, soit supérieure à celle du cholestérol libre. En conséquence, si la captation hépatique des chylomicrons est un processus efficient, la radioactivité spécifique du cholestérol estérifié du foie devrait être supérieure à celle du cholestérol libre, comme c'est le cas dans l'expérience de Biggs. Il n'en est pas ainsi en ce qui concerne les résultats acquis dans cette étude. Cette divergence peut être expliquée en faisant intervenir d'autres considérations.

Plusieurs processus s'effectuent simultanément :

— le déversement des chylomicrons dans le sang
— leur captation par le foie
— les transformations intrahépatiques (hydrolyse)
— le déversement du cholestérol radioactif du foie dans le sérum
— les échanges entre le cholestérol libre du foie et du sérum.

Si les vitesses propres aux dernières étapes sont très grandes par rapport à celles de la première, cette dernière vitesse sera limitante : la cinétique d'apparition du cholestérol radioactif dans le foie et dans le sérum reflétera la cinétique du déversement des chylomicrons dans le sang c'est-à-dire celle de l'absorption intestinale des graisses. Cette éventualité est très probable étant donné l'évolution progressive et continue des radioactivités spécifiques du cholestérol hépatique et sérique durant les vingt quatre heures qui suivent l'administration du cholestérol. Par ailleurs, étant donné la succession des processus en jeu et le caractère continu du processus de base (l'absorption), la radioactivité spécifique du cholestérol estérifié du foie devrait être pendant toute la durée du processus de captation supérieure à celle du cholestérol libre du foie qui devrait, elle même, excéder celle du cholestérol libre du sérum. Mais les rapports de leurs valeurs seront d'autant plus voisines de l'unité que les vitesses d'une part de l'hydrolyse, d'autre part des transferts du cholestérol libre entre le foie et le sérum seront grandes. On conçoit donc que, dans ces conditions particulières, les différences entre les radioactivités spécifiques du cholestérol libre et estérifié du foie, et du cholestérol libre du sérum ne soient pas décelables par nos méthodes d'analyse c'est-à-dire inférieures aux erreurs expérimentales.

En conclusion, il est possible que les exigences auxquelles nous avons soumis l'expérimentation, rendent impossible la mise en évidence de la captation des chylomicrons par le foie. Mais si les résultats peuvent être ainsi interprétés, ils peuvent aussi révéler la participation prédominante d'autres processus qui jusqu'à présent n'ont été qu'invoqués. Néanmoins qu'il s'agisse du facteur clarifiant ou de transferts, leur efficience en ce qui concerne la destinée du cholestérol des chylomicrons, est à démontrer.

Résumé.

Des rats, conditionnés à ingérer leur repas quotidien entre minuit et 2 heures, reçoivent à minuit, par tubage gastrique, 0,5 mg de cholestérol 4-C^{14} et sont sacrifiés dans les heures qui suivent. Pendant la phase la plus active de l'absorption intestinale les valeurs des radioactivités spécifiques du cholestérol libre et estérifié du foie, et du cholestérol du sérum sont pratiquement égales. En conséquence, la captation par le foie du cholestérol d'absorption n'est pas décelable. Les résultats obtenus permettent, par contre, d'exclure la possibilité pour les poumons de jouer un rôle analogue.

Le problème de la destinée du cholestérol des chylomicrons est discuté. Pour écarter toute ambiguité dans cette discussion, on a déterminé la concentration et la radioactivité spécifique du cholestérol libre et estérifié dans les chylomicrons et la lymphe obtenus par le drainage continu du chyle. Cinq pour cent du cholestérol radioactif du chyle se

trouve dans la lymphe ; dans les chylomicrons la radioactivité en cholestérol libre l'emporte sur celle du cholestérol estérifié.

Summary.

Rats conditioned to take their daily meal between nidnight and 2 a.m. are given at midnight, by stomach tubing, 0,5 mg 4-^{14}C-cholesterol, and are sacrificed in the following hours. During the most active phase of intestinal absorption, specific radioactivities of free and esterified liver cholesterol and of serum cholesterol are practically equal. Consequently, captation of absorbed cholesterol by the liver is not detectable. The results obtained exclude, on the other hand, the possibility that the lungs might play a similar role.

The problem of the fate of chylomicron cholesterol is discusseed. In order to avoid any ambiguity in this discussion, we have determined the concentration and specific radioactivity of free and esterified cholesterol in chylomicrons and lymph obtained by continuous drainage of chyle. 5 p. 100 of the radioactive cholesterol of chyle are found in lymph ; in chylomicrons, the radioactivity of free cholesterol is higher than that of esterified cholesterol.

Zusammenfassung.

Ratten, welche daran gewohnt sind ihre tägliche Malhlzeit zwischen Mitternacht und 2 Uhr zu bekommen bekommen um Mitternacht durch Röhreneinsetzen in den Magen 0,5 mg 4-^{14}C-Cholestrol und werden in den folgenden Stunden geopfert. Während der tätigsten Phase der Darmabsorption sind die Werte der spezifischen Radioaktivitäten des freien und des veresterten Leber- und Serumcholesterols gleich. Infolgedessen ist das Aufnehmen des absorbierten Cholesterols durch die Leber nicht nachweisbar. Die erhaltenen Ergebnisse erlauben hingegen die Möglichkeit auszuschliessen, dass die Lungen eine ähnliche Rolle spielen.

Das Problem des Werdens des Cholesterols der Chylomicrone wird besprochen. Um jede Zweideutigkeit in dieser Besprechung zu entfernen, wurde die Konzentration und die spezifische Radioaktivität des freien und des veresterten Cholesterols in den Chylomicronen und in der durch dauernde Drainierung des Speisesafts gewonnene Lymphe bestimmt. 5 p. 100 des radioaktiven Cholesterols des Speisesafts befindet sich in der Lymphe : in den Chylomicronen ist die Radioaktivität des freien Cholesterols grösser als disjenige des versesterten Cholesterols.

BIBLIOGRAPHIE.

1. Biggs, M. W., Friedman, M., Byers, S. O. — *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1951, **78**, 641.
2. Chaikoff, I. L., Bloom, B., Siperstein, M. D., Kiyasu, J. Y., Reinhardt, W. O., Dauben, W. G., Eastham, J. F. — *J. Biol. Chem.*, 1952, **194**, 407.
3. Page, I. H., Lewis, L. A., Phahl, G. — *Circulation Res.*, 1953, **1**, 87.
4. Byers, S. O., Friedman, M. — *Am. J. Physiol.*, 1954, **179**, 79.
5. Fredrickson, D. S., Mc Collester, D. L., Havel, R. J., Ono, K. — in Chemistry of lipides as related to atherosclerosis Page I. H., 1958.
6. Hillyard, L. A., Chaikoff, I. L., Entenman, C., Reinhardt, W. O. — *J. Biol. Chem.*, 1958, **233**, 838.
7. Hagerman, J. S., Gould, R. G. — *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1951, **78**, 329.

8. HARPER, P. V., NEAL, W. B., HLAVACEK, G. R. — *Metabolism*, 1953, **2**, 69.
9. CHEVALLIER, F. — *Ann. Nutrit. Alim.*, 1953, **7**, 305.
10. CHEVALLIER, F. — *Arch. Sc. Physiol.*, 1956, **10**, 249.
11. CHEVALLIER, F. — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1960, **30**, 611.
12. ECKLES, N. F., TAYLOR, C. B., CAMPBELL, D. S., GOULD, R. G. — *J. Labor. Clin. Med.*, 1955, **46**, 359.
13. BERGSTROM, S., NORMAN, A. — *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1953, **83**, 71.
14. SIPERSTEIN, M. D., JAYKO, M. E., CHAIKOFF, I. L., DAUBEN, W. G. — *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1952, **81**, 720.
15. BIGGS, M. W. — L'utilisation de l'Energie Atomique à des fins pacifiques. Nations Unies, 1955, **12**, 605.
16. BORGSTROM, B. — Digestion, absorption intestinale et transport des glycérides chez les animaux supérieurs. Marseille 1960 (sous presse).
17. FRIEDMAN, M., BYERS, S. O., ROSENMAN, H. — *Am. J. Physiol.*, 1954, **177**, 77.
18. FRIEDMAN, M., BYERS, S. O., St GEORGES, S. — *Am. J. Physiol.*, 1956, **184**, 141.
19. HILLYARD, L. A., CORNELIUS, C. E., CHAIKOFF, I. L. — *J. Biol. Chem.*, 1959, **234**, 2240.
20. KORN, D. — Digestion, absorption intestinale et transport des glycérides chez les animaux supérieurs. Marseille 1960 (sous presse).
21. NEVEU, T., BIOZZI, G., BENACERRAF, B., STIFFEL, C., HALPERN, B. N. — *Am. J. Physiol.*, 1956, **187**, 269.
22. ROBINSON, D. S. — Digestion, absorption intestinale et transport des glycérides chez les animaux supérieurs. Marseille 1960 (sous presse).
23. BOLLMAN, J. L., CAIN, J. C., GRINDLEY, J. H. — *J. Lab. Clin. Med.*, 1948, **33**, 1349.
24. BURSTEIN, N. — *C. R. Acad. Sc.*, 1956, **243**, 527.
25. CAMINADE, R. — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1922, **4**, 601.
26. SCHOENHEIMER, R., DAM, H. — *Hoppe Seyl. Z.*, 1933, **215**, 59.
27. CLEMENT, G., CLEMENT, J., LOUEDEC, A. — *Arch. Sc. Physiol.*, 1954, **8**, 233.
28. SPERRY, W. M., WEBB, M. — *J. Biol. Chem.*, 1950, **187**, 97.
29. DOUGHERTY, T. F., BERLINER, D. L. — in Connective tissue, Thrombosis and Atherosclerosis Page I. H., 1959.
30. LAURELL, C. B. — *Acta Physiol. Scand.*, 1954, **30**, 289.
31. HAVEL, R. J., FREDRICKSON, D. S. — *J. Clin. Invest.*, 1956, **35**, 1025.
32. VANHOUNY, G. V., FAWAL, I., TREADWELL, C. R. — *Am. J. Physiol.*, 1957, **188**, 342.
33. VANHOUNY, G. V., TREADWELL, C. R. — *Am. J. Physiol.*, 1957, **191**, 179.
34. BORGSTROM, B., LINDHE, B., WLODAWER, P. — *Proc. Soc. Exp. Biol.. Med.*, 1958, **99**, 365.

FIN