

N° d'ordre : 3315

# THÈSE

présentée à

## L'UNIVERSITÉ BORDEAUX I

ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES DU VIVANT,  
GÉOSCIENCES, SCIENCES DE L'ENVIRONNEMENT

par M<sup>elle</sup> Nadège RICHARD

POUR OBTENIR LE GRADE DE

## DOCTEUR

SPÉCIALITÉ : SCIENCES DES ALIMENTS ET NUTRITION

\*\*\*\*\*

**EFFET DU TAUX ET DE LA NATURE DES LIPIDES ALIMENTAIRES SUR LES  
MECANISMES INTERVENANT DANS LA CONSTITUTION DES DEPOTS  
LIPIDIQUES (TRANSPORT, CAPTAGE, SYNTHÈSE)  
CHEZ LA TRUITE ARC-EN-CIEL ET LE BAR**

\*\*\*\*\*

Soutenue le : 20 décembre 2006

Après avis de :

Mr BAUCHART Dominique, Directeur de recherches INRA  
Mr PEGORIER Jean-Paul, Directeur de recherches CNRS

**Rapporteurs**

Devant la commission d'examen formée de :

Mr HIGUERET Paul, Professeur Université Bordeaux I  
Mr BAUCHART Dominique, Directeur de recherches INRA  
Mr PEGORIER Jean-Paul, Directeur de recherches CNRS  
Mr SEBADIO Jean-Louis, Directeur de recherches INRA  
Mr KAUSHIK Sadasivam, Directeur de recherches INRA

**Président  
Examineurs**



N° d'ordre : 3315

# THÈSE

présentée à

**L'UNIVERSITÉ BORDEAUX I**

ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES DU VIVANT,  
GÉOSCIENCES, SCIENCES DE L'ENVIRONNEMENT

par M<sup>elle</sup> Nadège RICHARD

POUR OBTENIR LE GRADE DE

**DOCTEUR**

SPÉCIALITÉ : **SCIENCES DES ALIMENTS ET NUTRITION**

\*\*\*\*\*

**EFFET DU TAUX ET DE LA NATURE DES LIPIDES ALIMENTAIRES SUR LES  
MECANISMES INTERVENANT DANS LA CONSTITUTION DES DEPOTS  
LIPIDIQUES (TRANSPORT, CAPTAGE, SYNTHÈSE)  
CHEZ LA TRUITE ARC-EN-CIEL ET LE BAR**

\*\*\*\*\*

Soutenue le : 20 décembre 2006

Après avis de :

Mr BAUCHART Dominique, Directeur de recherches INRA  
Mr PEGORIER Jean-Paul, Directeur de recherches CNRS

**Rapporteurs**

Devant la commission d'examen formée de :

Mr HIGUERET Paul, Professeur Université Bordeaux I  
Mr BAUCHART Dominique, Directeur de recherches INRA  
Mr PEGORIER Jean-Paul, Directeur de recherches CNRS  
Mr SEBEDIO Jean-Louis, Directeur de recherches INRA  
Mr KAUSHIK Sadasivam, Directeur de recherches INRA

**Président  
Examineurs**

- 2006 -



## REMERCIEMENTS

Ce travail de thèse a été réalisé sous la conduite de Monsieur Kaushik, Directeur de l'Unité Mixte de Recherche "Nutrition, Aquaculture et Génomique" et de Madame Corraze, responsable de l'équipe "Nutrition Métabolisme Aquaculture", à la Station d'Hydrobiologie de Saint Pée-sur-Nivelle dans le cadre d'un cofinancement INRA/IFREMER.

Je leur adresse à tous deux mes remerciements les plus sincères et les plus chaleureux :

- à Monsieur Sachi Kaushik, mon directeur de thèse pour m'avoir accueillie au sein de l'unité ainsi que pour ses conseils et son regard critique sur ce travail qui m'ont permis d'avancer dans ma réflexion.

- à Madame Geneviève Corraze, responsable scientifique de ce travail, pour son encadrement, son dynamisme et la confiance qu'elle m'a accordée tout au long de ces quatre années.

Je tiens à formuler ma profonde reconnaissance aux membres du jury :

- Monsieur le Professeur Higuieret pour avoir accepté d'assurer la présidence de ce jury.

- Messieurs Bauchart et Pégurier pour avoir accepté d'être les rapporteurs de ce travail de thèse et pour leurs remarques avisées.

- Monsieur Sébédio pour l'attention qu'il a portée à ce travail.

Je tiens également à remercier les personnes avec lesquelles j'ai collaboré dans le cadre de ce travail de thèse :

- Françoise Médale pour m'avoir permis de participer à l'étude sur les deux lignées de truite arc-en-ciel ainsi que pour tous ses conseils et nos échanges fructueux.

- Edwige Quillet du laboratoire Génétique de l'INRA de Jouy-en-Josas qui a réalisée la sélection des deux lignées de truite.

- Vincent Buchet et Jean Robin de l'IFREMER de Brest pour leur disponibilité lors de l'expérience du projet MULTIBAR.

- Gabriel Mourente de l'Université de Cádiz pour son aide dans le cadre de l'expérience sur le bar du projet RAFOA.

Mes profonds remerciements vont à Laurence Larroquet pour son aide précieuse et inconditionnelle dans les analyses biochimiques ainsi que pour son constant et réconfortant soutien.

Un très grand merci à Stéphane Panserat pour m'avoir initiée à la biologie moléculaire et m'avoir fait profiter de ses connaissances dans ce domaine, et également à Stéphanie Fontagné, pour leur disponibilité, leurs encouragements dans les moments délicats, leurs judicieux conseils ainsi que pour tous nos échanges qui m'ont énormément apportés. Sont également associés à ces remerciements Inge Geurden, Iban Seiliez, Georges Choubert et Sandrine Skiba.

Je voudrais remercier Marianne Cluzeaud et Elisabeth Plagnes-Juan pour m'avoir fait bénéficier de leurs précieuses compétences en biologie moléculaire. Merci également à Marianne pour ses encouragements et son enthousiasme inaltérable, travailler avec elle fut un réel plaisir.

Je tiens aussi à exprimer toute ma reconnaissance à Peyo Aguirre et Yvan Mercier pour leur présence constante et amicale, leur soutien moral, leur bonne humeur permanente et leur oreille attentive.

Je remercie également tous les membres du personnel de la Station d'Hydrobiologie de Saint Pée-sur-Nivelle pour leur accueil chaleureux et notamment Marie-Josée Borthaire (qui a "risqué sa vie" à Cádiz avec Laurence pour les prélèvements), Anne Surget, Elisabeth Azcarraga, Janine Brèque, Christiane Vachot, Marie-Christine Artola, Marie-Josée Elissalde, Pantxo Ostiz et Maïté Jorajuria pour leur soutien et leur sympathie. Sont également associés à ces remerciements Frédéric Terrier, Franck Sandres et Yves Hontang de la pisciculture expérimentale de Donzacq pour leur disponibilité et leur gentillesse lors des prélèvements.

Je tiens également à exprimer le témoignage de mon amitié aux nombreux stagiaires que j'ai pu rencontrer et en particulier à Emilie, Maïéna, Cathy, Céline, Matthieu, Marie, Vanessa, Mirentxu, Stéphanie, Beñat pour leur soutien et tous les bons moments passés ensemble.

Enfin, je tiens à adresser mes remerciements les plus reconnaissants aux personnes de mon entourage qui ont su être présentes, parents et amis, pour leur affection, leur soutien, leur patience et leur compréhension.

Ce travail est dédié à mon père, dont la présence à mes côtés, m'a accompagné tout au long de ces années ...



## PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS

### PUBLICATIONS :

- **Richard, N., Kaushik, S., Larroquet, L., Panserat, S., Corraze, G., 2006.** Replacing dietary fish oil by vegetable oils has little effect on lipogenesis, lipid transport and tissue lipid uptake in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Br. J. Nutr.* 96 : 200-309.
- **Richard, N., Mourente, G., Kaushik, S., Corraze, G., 2006.** Replacement of a large portion of fish oil by vegetable oils does not affect lipogenesis, lipid transport and tissue lipid uptake in European seabass (*Dicentrarchus labrax L.*). *Aquaculture* 261 : 1077-1087.
- **Ducasse-Cabanot, S., Zambonino-Infante, J., Richard, N., Médale, F., Corraze, G., Knoll-Gellida, A., Babin, P.J., Mambrini, M., Robin, J., Cahu, C., Barthe, C., Kaushik, S., Panserat, S., 2006.** Dietary fish oil suppression *per se*, related to drastic modifications of intestinal digestion capacities and metabolism in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J. Nutr.*, fin de redaction.

### COMMUNICATIONS ORALES :

- **Richard, N., Mourente, G., Kaushik, S., Corraze, G., 2006.** Replacement of dietary fish oil by vegetable oils : impact on the mechanisms involved in lipid deposition in rainbow trout and European seabass. IV FORM Thematic Network Meeting, 25-27 mai, Biarritz, France.
- **Richard, N., Kaushik, S., Larroquet, L., Corraze, G., 2004.** Remplacement de l'huile de poisson par des huiles végétales dans l'aliment : incidence sur les mécanismes de constitution des dépôts lipidiques chez la truite arc-en-ciel. 10<sup>èmes</sup> Journées Science du Muscle et Technologie de la Viande, 25-26 octobre, Rennes, France.

- **Corraze, G., Radunz-Neto, J., Richard, N., Cardinal, M., Kaushik, S., 2004.** Flesh quality of rainbow trout fed diets containing a blend of vegetable oils over a full cycle. XI International Symposium on Nutrition and Feeding in Fish, 2-7 mai, Phuket, Thaïlande.

#### COMMUNICATIONS AFFICHEES :

- **Richard, N., Larroquet, L., Robin, J., Buchet, V., Corraze, G., 2006.** Lipid metabolism in European seabass (*Dicentrarchus labrax*) is more affected by rearing temperature than by dietary lipid level. XII International Symposium on Nutrition and Feeding in Fish, 28 mai-1<sup>er</sup> juin, Biarritz, France.
- **Richard, N., Médale, F., Corraze G., 2005.** Lipogenèse hépatique et captage tissulaire des lipides chez deux lignées de truites arc-en-ciel : effet de l'alimentation précoce. 1<sup>ères</sup> Journées d'Animation Scientifiques du département PHASE, 15-16 mars, Tours, France.
- **Richard, N., Mourente, G., Kaushik, S., Corraze, G., 2004.** Effect of dietary lipid sources on lipid transport and lipogenesis in European seabass (*Dicentrarchus labrax*). 6<sup>th</sup> Congress of International Society for the Study of Fatty Acids and Lipids, 27 juin-1<sup>er</sup> juillet, Brighton, Angleterre.
- **Richard, N., Larroquet, L., Kaushik, S., Corraze, G., 2004.** Effect of dietary lipid sources on lipid transport and lipogenesis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). XI International Symposium on Nutrition and Feeding in Fish, 2-7 mai, Phuket, Thaïlande.
- **Kolditz, C., Quillet, E., Richard, N., Labbé, L., Corraze, G., Médale, F., 2006.** Response of rainbow trout selected for high or low muscle lipid content to different dietary energy supply. 9<sup>th</sup> International Symposium for Genetics in Aquaculture, 25-30 juin, Montpellier, France.
- **Corraze, G., Larroquet, L., Richard, N., Kaushik, S., 2006.** Use of fish oil finishing diet to tailor fatty acid composition of the flesh of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) previously fed with vegetable oil diets over a full cycle. XII International Symposium on Nutrition and Feeding in Fish, 28 mai-1<sup>er</sup> juin, Biarritz, France.

- Médale, F., Bujeon, J., Richard, N., Labbé, L., Corraze, G., Devenel, A., Cardinal, M., 2006. Effect of early nutrition of fat storage and quality criteria in 600g rainbow trout selected for muscle fat content. XII International Symposium on Nutrition and Feeding in Fish, 28 mai-1<sup>er</sup> juin, Biarritz, France.
  
- Corraze, G., Radunz-Neto, J., Richard, N., Cardinal, M., Kaushik, S., 2004. Remplacement de l'huile de poisson par des huiles végétales chez la truite arc-en-ciel : incidence sur les qualités nutritionnelles et organoleptiques. 10<sup>èmes</sup> Journées Science du Muscle et Technologie de la Viande, 25-26 octobre, Rennes, France.
  
- Ducasse, S., Corraze, G., Richard, N., Médale, F., Kaushik, S., Panserat, S., 2004. Effects of the suppression of dietary fish oil on hepatic intermediary metabolism in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). XI International Symposium on Nutrition and Feeding in Fish, 2-7 mai, Phuket, Thaïlande.



## LISTE DES ABREVIATIONS

ADN	:	acide désoxyribonucléique
ADNc	:	acide désoxyribonucléique complémentaire
ACAT	:	acyl-CoA cholestérol acyltransférase
AGMI	:	acides gras monoinsaturés
AGPI	:	acides gras polyinsaturés
AGS	:	acide gras synthase
AGsat	:	acides gras saturés
apo	:	apolipoprotéine
ARN	:	acide ribonucléique
ARNm	:	acide ribonucléique messenger
ARNr	:	acide ribonucléique ribosomique
ATP	:	adénosine triphosphate
BHT	:	butylhydroxytoluène
BSA	:	albumine bovine serique
CETP	:	cholesteryl ester transfert protein
ChREBP	:	carbohydrate-responsive element-binding protein
CoA	:	coenzyme A
d	:	densité
DHA	:	acide docosahexaénoïque (22:6 n-3)
dNTP	:	désoxyribonucléotides tri-phosphates
DTT	:	dithiothréitol
EDTA	:	acide éthylène diamine tétracétique
EF1 $\alpha$	:	elongation factor 1 $\alpha$
EM	:	enzyme malique
EPA	:	acide eicosapentaénoïque (20:5 n-3)
G6P	:	glucose-6-phosphate
G6PDH	:	glucose-6-phosphate déshydrogénase
HDL	:	high density lipoprotein
IDL	:	intermediate density lipoprotein
kDa	:	kilo Dalton
LCAT	:	lécithine-cholestérol acyl-transférase

LDL	:	low density lipoprotein
LPL	:	lipoprotéine lipase
NADP	:	nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
NADPH	:	nicotinamine adénine dinucléotide phosphate réduit
pb	:	paire de bases
PCR	:	polymerase chain reaction
PLTP	:	phospholipid transfert protein
PPAR	:	peroxisome proliferator activated receptor
R-LDL	:	récepteur aux LDL
RT	:	reverse transcription
SDS	:	sodium dodécyl sulfate
SRE	:	sterol response element
SREBP	:	sterol regulatory element binding protein
SSC	:	saline sodium citrate
UI	:	unité internationale
VLDL	:	very low density lipoprotein

# SOMMAIRE

<b>Avant-propos .....</b>	<b>1</b>
<b>Chapître I : Introduction.....</b>	<b>5</b>
I.1. Introduction générale .....	5
I.1.1. L'essor de l'aquaculture.....	5
I.1.2. Evolution des aliments aquacoles .....	6
I.1.3. Les dépôts lipidiques.....	7
I.2. Voies d'apport des lipides.....	8
I.2.1. La synthèse <i>de novo</i> des acides gras .....	9
I.2.1.1. Lieux de néosynthèse des acides gras.....	9
I.2.1.2. Les voies de synthèse des acides gras.....	10
I.2.1.3. Effets de la teneur en lipides de l'aliment sur la lipogenèse hépatique.....	13
I.2.1.4. Effets de la nature des acides gras de l'aliment sur la lipogenèse hépatique .....	15
I.2.2. Transport des lipides par les lipoprotéines plasmatiques .....	16
I.2.2.1. Caractéristiques et composition des différentes classes de lipoprotéines.....	16
I.2.2.2. Le métabolisme des lipoprotéines.....	20
I.2.2.3. Effets du cholestérol alimentaire sur la composition en lipides du plasma et des lipoprotéines plasmatiques.....	22
I.2.2.4. Effets de la teneur en lipides de l'aliment sur la composition en lipides du plasma et des lipoprotéines.....	23
I.2.2.5. Effets de la nature des acides gras de l'aliment sur la composition en lipides du plasma et des lipoprotéines.....	25
I.2.3. La lipoprotéine lipase : régulateur du captage des triglycérides par les cellules .....	29
I.2.3.1. La lipoprotéine lipase .....	29
I.2.3.2. Effets de la teneur en lipides de l'aliment sur la lipoprotéine lipase .....	32
I.2.3.3. Effets de la nature des acides gras de l'aliment sur la lipoprotéine lipase.....	33
I.3. Objectifs du travail.....	35
<b>Chapître II : Matériel et Méthodes.....</b>	<b>39</b>
II.1. Prélèvements des échantillons .....	40
II.2. Analyse de la composition des aliments .....	40

II.3. Quantification des lipides totaux, neutres, polaires et analyse de la composition en acides gras de la chair des poissons .....	41
II.3.1. Quantification des lipides totaux .....	41
II.3.2. Quantification des lipides neutres et polaires .....	42
II.3.3. Analyse de la composition en acides gras des lipides .....	42
II.4. Mesures des activités enzymatiques .....	43
II.4.1. Mesure de l'activité de la lipoprotéine lipase (LPL) .....	43
II.4.1.1. Principe .....	43
II.4.1.2. Dosage .....	43
II.4.2. Mesure de l'activité de trois enzymes de la lipogenèse : glucose-6-phosphate déshydrogénase, enzyme malique, acide gras synthase .....	44
II.4.2.1. Préparation des homogénats hépatiques.....	44
II.4.2.2. Mesure des activités G6PDH et EM.....	45
II.4.2.3. Mesure de l'activité de l'AGS.....	46
II.4.3. Dosage des protéines solubles .....	48
II.5. Séparation des différentes classes de lipoprotéines plasmatiques (VLDL, LDL et HDL).....	48
II.6. Détermination des concentrations en cholestérol total, triglycérides, phospholipides, acides gras libres et protéines.....	49
II.7. Analyse de l'expression des gènes par Northern blot et RT-PCR en temps réel .....	50
II.7.1. Extraction des ARN totaux.....	50
II.7.2. Clonage d'ADNc partiels de la G6PDH, de l'AGS et de la LPL de truite.....	50
II.7.2.1. Choix des amorces.....	51
II.7.2.2. Transcription inverse des ARNm (RT) en ADNc.....	52
II.7.2.3. Amplification des ADNc, purification et clonage.....	52
II.7.2.4. Analyse des séquences.....	53
II.7.3. Analyse de l'expression des gènes codant pour la G6PDH, l'AGS et la LPL par Northern blot .....	53
II.7.4. Analyse de l'expression des gènes par PCR en temps réel .....	55
II.7.4.1. Principe .....	55
II.7.4.2. Choix des amorces.....	56
II.7.4.3. Transcription inverse.....	57
II.7.4.4. Conditions de PCR .....	57
II.7.4.5. Efficacité de PCR.....	58
II.7.4.6. Quantification relative des PCR en temps réel et analyses statistiques.....	59

II.8. Tests statistiques .....	60
<b>Chapître III : Effets de la nature des lipides alimentaires sur les mécanismes de constitution des dépôts lipidiques .....</b>	<b>63</b>
III.1. <u>Expérience 1</u> : Effets du remplacement de l'huile de poisson de l'aliment par un mélange d'huiles végétales sur la constitution des dépôts lipidiques chez la truite arc-en-ciel	66
III.1.1. Conditions expérimentales .....	66
III.1.1.1. <i>Matériel biologique et régimes alimentaires</i> .....	66
III.1.1.2. <i>Prélèvements et analyses réalisées</i> .....	69
III.1.2. Résultats .....	70
III.1.2.1. <i>Croissance et paramètres morphométriques des truites</i> .....	70
III.1.2.2. <i>Composition en lipides et acides gras du muscle des truites</i> .....	71
III.1.2.3. <i>Activité et expression des enzymes de la lipogenèse hépatique (G6PDH, EM, AGS)</i> .....	76
III.1.2.4. <i>Teneur en lipides du plasma et des différentes classes de lipoprotéines, et expression du récepteur aux LDL dans différents tissus</i> .....	79
III.1.2.5. <i>Activité et expression de la lipoprotéine lipase dans différents tissus (tissu adipeux périviscéral, muscle blanc et foie)</i> .....	83
III.2. <u>Expérience 2</u> : Effets du remplacement de l'huile de poisson de l'aliment par des mélanges d'huiles végétales sur la constitution des dépôts lipidiques chez le bar .....	87
III.2.1. Conditions expérimentales .....	87
III.2.1.1. <i>Matériel biologique et régimes alimentaires</i> .....	87
III.2.1.2. <i>Prélèvements et analyses réalisées</i> .....	89
III.2.2. Résultats .....	91
III.2.2.1. <i>Croissance, paramètres morphométriques et teneur en lipides totaux du muscle et du foie et composition en acides gras du muscle des bars</i> .....	91
III.2.2.2. <i>Activité des enzymes de la lipogenèse hépatique ( G6PDH, EM, AGS)</i> .....	93
III.2.2.3. <i>Teneur en lipides du plasma et des différentes classes de lipoprotéines</i> .....	94
III.2.2.4. <i>Activité de la lipoprotéine lipase dans différents tissus (tissu adipeux périviscéral, muscle blanc, foie)</i> .....	97
III.3. Discussion .....	98
III.3.1. Performances de croissance .....	98
III.3.2. Lipogenèse hépatique.....	99
III.3.3. Transport des lipides .....	103
III.3.4. Captage des lipides.....	106

III.3.5. Profil en acides gras du muscle .....	108
<b>Chapître IV : Effets de la teneur en lipides de l'aliment en interaction avec le génotype chez la truite arc-en-ciel et la température chez le bar .....</b>	<b>115</b>
IV.1. <u>Expérience 3</u> : Effets de la teneur en lipides de l'aliment sur la lipogenèse hépatique et le captage tissulaire des lipides chez deux lignées de truite arc-en-ciel.....	118
IV.1.1. Conditions expérimentales.....	118
IV.1.1.1. <i>Matériel biologique et régimes alimentaires</i> .....	118
IV.1.1.2. <i>Prélèvements et analyses réalisées</i> .....	119
IV.1.2. Résultats .....	120
IV.1.2.1. <i>Croissance, paramètres morphométriques et teneur en lipides corporels et musculaires des truites</i> .....	120
IV.1.2.2. <i>Activité et expression des enzymes de la lipogenèse hépatique (G6PDH, EM, AGS)</i> .....	122
IV.1.2.3. <i>Activité et expression de la lipoprotéine lipase dans le tissu adipeux périviscéral et le muscle blanc</i> .....	125
IV.2. <u>Expérience 4</u> : Effets de la teneur en lipides de l'aliment et de la température d'élevage sur la constitution des dépôts lipidiques chez le bar .....	128
IV.2.1. Conditions expérimentales.....	128
IV.2.1.1. <i>Matériel biologique et régimes alimentaires</i> .....	128
IV.2.1.2. <i>Prélèvements et analyses réalisées</i> .....	128
IV.2.2. Résultats .....	129
IV.2.2.1. <i>Croissance et paramètres morphométriques des bars</i> .....	129
IV.2.2.2. <i>Activité des enzymes de la lipogenèse hépatique (G6PDH, EM, AGS)</i> .....	131
IV.2.2.3. <i>Teneur en lipides du plasma et des différentes classes de lipoprotéines plasmatiques</i> .....	133
IV.2.2.4. <i>Activité de la lipoprotéine lipase dans différents tissus (tissu adipeux périviscéral, muscle blanc, foie)</i> .....	136
IV.3. Discussion .....	138
IV.3.1. Performances de croissance .....	138
IV.3.2. Lipogenèse hépatique.....	139
IV.3.3. Transport des lipides .....	141
IV.4.4. Captage des lipides.....	144

<b>Chapître V : Conclusions générales et perspectives.....</b>	<b>149</b>
<b>Chapître VI : Références bibliographiques .....</b>	<b>157</b>
<b>Résumé .....</b>	<b>189</b>

## INDEX DES FIGURES

<b>Figure I.1</b> : Voies d'apport des lipides aux cellules.....	9
<b>Figure I.2</b> : Représentation schématique des différentes voies impliquées dans la lipogenèse.	11
<b>Figure I.3</b> : Schéma simplifié du métabolisme des lipoprotéines plasmatiques. ....	20
<b>Figure I.4</b> : Schéma de la synthèse, de la maturation et de la translocation de la lipoprotéine lipase. ....	30
<b>Figure II.1</b> : Hybridation par Southern blot de produits PCR obtenus avec les amorces AGS ayant servies au clonage de la sonde à partir d'ADNc de foie de truite arc-en-ciel avec la sonde spécifique AGS de truite arc-en-ciel.....	55
<b>Figure II.2</b> : Hybridation par Southern blot de produits PCR obtenus avec les amorces LPL ayant servies au clonage de la sonde à partir d'ADNc de tissu adipeux périviscéral, muscle blanc et foie de truite arc-en-ciel avec la sonde spécifique LPL de truite arc-en-ciel.....	55
<b>Figure II.3</b> : Courbe de fusion obtenue par gradient croissant de température (0,5°C/10 secondes de 55°C à 94°C) après RT-PCR temps réel d'ARN totaux de muscle de truite arc-en-ciel avec les amorces EF1 $\alpha$ .....	58
<b>Figure II.4</b> : Gamme étalon (dilutions successives de 1/2 en 1/2) obtenue après RT-PCR en temps réel d'ARN totaux de foie de truite arc-en-ciel avec les amorces EF1 $\alpha$ . ....	59
<b>Figure III.1</b> : Courbe de croissance des truites de l'expérience 1 en fonction de l'aliment testé. ....	70
<b>Figure III.2</b> : Activités G6PDH, EM et AGS dans le foie chez la truite après 44 et 62 semaines d'alimentation.....	77
<b>Figure III.3</b> : Expression du gène G6PDH dans le foie des truites à 44 semaines par Northern blot.....	78
<b>Figure III.4</b> : Comparaison de l'expression du gène AGS dans le foie entre les 3 aliments testés à 44 semaines. ....	78
<b>Figure III.5</b> : Comparaison de l'expression du gène R-LDL dans le tissu adipeux périviscéral, le muscle blanc et le foie chez la truite après 62 semaines. ....	83
<b>Figure III.6</b> : Activité LPL dans le tissu adipeux périviscéral, le muscle blanc et le foie chez la truite après 44 et 62 semaines d'alimentation. ....	85
<b>Figure III.7</b> : Comparaison de l'expression du gène LPL dans le tissu adipeux périviscéral, le muscle blanc et le foie chez la truite, à 44 semaines.....	86

<b>Figure III.8</b> : Activités G6PDH, EM et AGS dans le foie chez le bar après 64 semaines d'alimentation..	93
<b>Figure III.9</b> : Activité LPL dans le tissu adipeux périviscéral, le muscle blanc et le foie des bars après 64 semaines d'alimentation.....	97
<b>Figure IV.1</b> : Activités G6PDH, EM et AGS, dans le foie des deux lignées de truites en fin d'alimentation précoce (6 mois) et d'alimentation de finition (13 mois). .....	123
<b>Figure IV.2</b> : Expression du gène G6PDH dans le foie des deux lignées de truites en fonction de l'alimentation précoce reçu (à 6 mois) par Northern blot. ....	124
<b>Figure IV.3</b> : Comparaison de l'expression du gène AGS dans le foie des deux lignées de truites en fonction de l'alimentation précoce reçu (à 6 mois).....	124
<b>Figure IV.4</b> : Activité LPL dans le tissu adipeux périviscéral et le muscle blanc des truites en fin d'alimentation précoce (6 mois) et d'alimentation de finition (13 mois).....	126
<b>Figure IV.5</b> : Comparaison de l'expression du gène LPL dans le tissu adipeux périviscéral et le muscle blanc des deux lignées de truites en fonction de l'aliment précoce reçu, à 13 mois.....	127
<b>Figure IV.6</b> : Courbe de croissance des 4 lots de bars en fonction des conditions testées. ..	130
<b>Figure IV.7</b> : Activités G6PDH, EM et AGS dans le foie des bars élevés à 16 ou 22°C avec un aliment à 11 ou 20% de lipides, après 17 semaines d'alimentation.....	132
<b>Figure IV.8</b> : Activité LPL dans le tissu adipeux périviscéral, le muscle blanc et le foie des bars élevés à 16 ou 22°C avec un aliment à 11 ou 20% de lipides, après 17 semaines d'alimentation. ....	137

## INDEX DES TABLEAUX

<b>Tableau I.1</b> : Propriétés physicochimiques et concentration plasmatique des différentes classes de lipoprotéines chez l'homme et la truite arc-en-ciel.....	17
<b>Tableau I.2</b> : Composition en lipides et protéines (% en poids) des différentes classes de lipoprotéines plasmatiques chez la truite et l'homme.....	19
<b>Tableau II.1</b> : Tableau récapitulatif des différentes expériences.....	39
<b>Tableau II.2</b> : Séquences des amorces nucléotidiques utilisées pour le clonage des ADNc partiels de G6PDH, AGS et LPL de truite arc-en-ciel, température d'hybridation des couples d'amorces et taille de l'amplicon.....	51
<b>Tableau II.3</b> : Séquences des amorces nucléotidiques utilisées pour les mesures d'expression en PCR temps réel.....	57
<b>Tableau III.1</b> : Composition des aliments testés (7 mm) dans l'expérience 1 avec les truites.....	67
<b>Tableau III.2</b> : Proportions des principaux acides gras des aliments (7 mm).....	68
<b>Tableau III.3</b> : Paramètres morphométriques des truites en fonction de l'aliment testé après 44 et 62 semaines d'alimentation.....	71
<b>Tableau III.4</b> : Teneur en lipides totaux, lipides neutres et lipides polaires du muscle chez la truite après 44 et 62 semaines d'alimentation.....	72
<b>Tableau III.5</b> : Pourcentages des principaux acides gras dans les fractions lipides neutres et lipides polaires du muscle chez la truite après 44 semaines d'alimentation (% des acides gras totaux).....	74
<b>Tableau III.6</b> : Pourcentages des principaux acides gras des lipides neutres et lipides polaires du muscle chez la truite après 62 semaines d'alimentation (% des acides gras totaux) ..	75
<b>Tableau III.7</b> : Teneurs en triglycérides, cholestérol total, phospholipides, acides gras libres et protéines plasmatiques (g/l) chez la truite après 44 et 62 semaines d'alimentation. ....	79
<b>Tableau III.8</b> : Teneurs en triglycérides, cholestérol total, phospholipides, acides gras libres et protéines des VLDL, LDL et HDL plasmatiques chez la truite (g/l plasma) et taux des différentes classes de lipoprotéines (g/l plasma) après 62 semaines d'alimentation. ....	81
<b>Tableau III.9</b> : Proportion en triglycérides, cholestérol total, phospholipides, acides gras libres et protéines dans les VLDL, LDL et HDL plasmatiques (% de la fraction) chez la truite après 62 semaines d'alimentation.....	82

<b>Tableau III.10</b> : Composition des aliments (5 mm) de l'expérience 2 avec les bars.....	88
<b>Tableau III.11</b> : Pourcentage des principaux acides gras des aliments (5 mm) de l'expérience 2 (% des acides totaux). .....	89
<b>Tableau III.12</b> : Paramètres morphométriques des bars et teneur en lipides du muscle et du foie après 64 semaines d'alimentation. ....	91
<b>Tableau III.13</b> : Pourcentage des principaux acides gras des lipides totaux du muscle chez le bar après 64 semaines d'alimentation (% des acides gras totaux). ....	92
<b>Tableau III.14</b> : Teneurs en triglycérides, cholestérol total, phospholipides, acides gras libres et protéines plasmatiques (g/l) des bars après 64 semaines d'alimentation. ....	94
<b>Tableau III.15</b> : Teneurs en triglycérides, cholestérol total, phospholipides, acides gras libres et protéines des VLDL, LDL et HDL plasmatiques des bars (g/l plasma) et taux des différentes classes de lipoprotéines (g/l plasma) après 64 semaines d'alimentation. ....	95
<b>Tableau III.16</b> : Proportion en triglycérides, cholestérol total, phospholipides, acides gras libres et protéines dans les VLDL, LDL et HDL plasmatiques des bars (% de la fraction) après 64 semaines d'alimentation. ....	96
<b>Tableau III.17</b> : Activité des enzymes de la lipogénèse hépatique chez différentes espèces de poissons.....	101
<b>Tableau III.18</b> : Différences entre la proportion en acides gras des lipides totaux du muscle et celle des aliments chez la truite arc-en-ciel (à 62 semaines) et le bar Européen (à 64 semaines).....	109
<b>Tableau IV.1</b> : Composition analytique des aliments de l'expérience 3 menée sur les lignées de truites. ....	118
<b>Tableau IV.2</b> : Paramètres morphométriques, performances de croissance et teneur en lipides corporels et musculaires des lignées de truites en fin d'alimentation précoce (6 mois) et fin d'alimentation de finition (13 mois). ....	121
<b>Tableau IV.3</b> : Composition des aliments commerciaux des bars de l'expérience 4. ....	128
<b>Tableau IV.4</b> : Paramètres morphométriques et teneur en lipides du muscle des bars après 17 semaines d'alimentation. ....	130
<b>Tableau IV.5</b> : Teneurs en triglycérides, cholestérol total, phospholipides, acides gras libres et protéines plasmatiques (g/l) des bars après 17 semaines d'alimentation. ....	133
<b>Tableau IV.6</b> : Teneurs en triglycérides, cholestérol total, phospholipides, acides gras libres et protéines des VLDL, LDL et HDL plasmatiques des bars (g/l plasma) et taux des différentes classes de lipoprotéines (g/l plasma) après 17 semaines d'alimentation. ....	135

**Tableau IV.7** : Proportion en triglycérides, cholestérol total, phospholipides, acides gras libres et protéines dans les VLDL, LDL et HDL plasmatiques des bars (% des fractions) après 17 semaines d'alimentation. .... 136

**Avant-propos**



## AVANT-PROPOS

La consommation humaine de poisson en France, comme au niveau mondial, est en constante progression. L'exploitation des ressources naturelles étant limitée, la part de produits issus de l'aquaculture occupe une place de plus en plus importante sur le marché.

Les principaux ingrédients (farines et huiles de poisson) entrant dans la composition des aliments utilisés dans les élevages aquacoles sont issus des produits de la pêche. Pour permettre un développement durable de l'aquaculture, il est donc nécessaire de s'affranchir de l'emploi de ces matières premières d'origine marine dans la formulation des aliments, tout en préservant la richesse en acides gras polyinsaturés à longue chaîne de la série n-3 de la chair des poissons, qui sont bénéfiques pour la santé de l'homme. Ainsi on s'oriente vers l'incorporation dans les aliments pour poissons d'huiles d'origine végétale qui sont disponibles en plus grande quantité et avec plus de régularité mais dont la composition en acides gras diffère de celle de l'huile de poisson.

Par ailleurs, les aliments utilisés en aquaculture, et notamment dans l'élevage des salmonidés, sont de plus en plus riches en lipides. L'utilisation de ces aliments permet notamment d'améliorer les performances de croissance des poissons mais conduit également à une augmentation des dépôts lipidiques corporels, ce qui a des répercussions sur la qualité des produits (qualité nutritionnelle et organoleptique de la chair, rendement et aptitude à la transformation des produits, ...).

Dans ce contexte du remplacement de l'huile de poisson par des huiles végétales et de l'augmentation de la teneur en lipides des aliments pour poisson, l'objectif de ce travail de thèse est de mieux connaître la régulation des voies d'apport des lipides aux tissus par la nature et la teneur des lipides alimentaires. Pour cela, nous nous sommes plus particulièrement intéressés à la synthèse endogène des acides gras (lipogenèse), au transport des lipides par les lipoprotéines ainsi qu'au captage des acides gras par les tissus (étape sous la dépendance de la lipoprotéine lipase). Nous avons choisi de travailler sur deux espèces d'intérêt commercial, la truite arc-en-ciel et le bar européen, qui se distinguent notamment par leur site préférentiel de stockage des lipides (tissu adipeux périviscéral et foie respectivement). Le but de ce travail est également d'améliorer les connaissances actuelles sur les mécanismes déterminant la teneur en lipides et la composition en acides gras de la chair des poissons.



# **Introduction**



## **I. INTRODUCTION**

### **I.1. Introduction générale**

#### **I.1.1. L'essor de l'aquaculture**

La consommation humaine mondiale de poissons provenant des pêches de capture et de l'aquaculture a plus que triplé entre 1961 et 2003, passant de 28 à 103 millions de tonnes (FAO 2004). La pêche ne pouvant satisfaire seule à cette demande croissante, l'exploitation des ressources naturelles ayant déjà atteint son niveau maximal à la fin des années 80, la contribution de l'aquaculture à l'offre mondiale de poissons est passée de 3,9% en 1970, à 31,7% en 2003 avec 41,9 millions de tonnes produites (FAO 2004). L'essor de l'aquaculture a été plus rapide que dans tous les autres secteurs de production animale. Ainsi, au plan mondial, l'aquaculture s'est développée selon un taux moyen de 8,9% par an depuis 1970, contre seulement 1,2% pour les pêches de capture et 2,8% pour les systèmes de production de viande terrestre au cours de cette même période (FAO 2004). Alors que plus de 75% des poissons d'eau douce destinés à la consommation provient de l'aquaculture, la part de poissons marins consommés provenant de l'aquaculture est seulement de l'ordre de 3% (FAO 2004).

En France, la production totale émanant de l'aquaculture est de 250000 tonnes en 2003 (dont 60000 tonnes pour la pisciculture). La production française se caractérise par une forte proportion de coquillages et de poissons d'eau douce. La truite arc-en-ciel est l'espèce la plus produite en France (40000 tonnes en 2003) suivie de la truite Fario (1650 tonnes) et des salmonidés de diversification (550 tonnes de saumon Atlantique, omble de fontaine et omble chevalier). La France est le troisième producteur mondial de truite après le Chili et la Norvège. Apparue au début des années 1970, la pisciculture marine française a assuré une production d'environ 7000 tonnes en 2003, les principales espèces marines élevées étant le bar (3900 tonnes), la daurade (1100 tonnes) et le turbot (900 tonnes).

Un des principaux facteurs ayant permis cette intensification de l'aquaculture a été l'utilisation d'aliments artificiels.

### **I.1.2. Evolution des aliments aquacoles**

L'alimentation des poissons se caractérise par sa richesse en protéines (acides aminés). Les poissons utilisent préférentiellement les acides aminés comme source d'énergie (Walton et Cowey, 1982). Beaucoup d'efforts ont été consentis pour réaliser une épargne protéique en augmentant la part d'énergie digestible d'origine non protéique de l'aliment, c'est à dire d'origine glucidique ou lipidique (Cho et Kaushik, 1990). En milieu naturel, l'alimentation des poissons est pratiquement dépourvue de glucides et l'aptitude des poissons à utiliser les glucides alimentaires est mauvaise. Un élan préférentiel s'est donc porté vers le remplacement d'une partie de l'énergie d'origine protéique par celle fournie par les lipides, qui sont hautement caloriques (>36 KJ/g). Au cours de ces 25 dernières années, on a donc assisté à une évolution de la composition des aliments piscicoles avec une diminution de la teneur en protéines associée à une augmentation de l'apport lipidique, apport souvent supérieur à 25% de l'aliment chez le saumon (Hemre et Sandnes, 1999) et pouvant atteindre plus de 30% de l'aliment (Einen et Roem, 1997 ; Refstie *et al.*, 2001 ; Torstensen *et al.*, 2001). L'augmentation de la teneur en lipides des aliments conduit à une augmentation des performances de croissance des poissons ainsi qu'à une réduction des rejets azotés (Johnsen *et al.*, 1993 ; Arzel *et al.*, 1994 ; Hemre et Sandnes, 1999 ; Santinha *et al.*, 1999). Cependant, l'emploi de tels aliments à forte teneur en lipides, induit une augmentation des dépôts lipidiques corporels (Cowey et Sargent, 1979 ; Watanabe, 1982 ; Greene et Selivonchick, 1987 ; Corraze et Kaushik, 1999). Cette augmentation de la masse lipidique peut avoir des répercussions sur la qualité des produits.

Les principaux ingrédients entrant dans la composition des aliments piscicoles (farines et huiles de poisson) proviennent des produits de la pêche. Une tonne de poissons est nécessaire pour produire 200 à 250 kg de farine et 50 à 80 kg d'huile. Au cours des 20 dernières années, la production de farines et huiles de poisson s'est stabilisée aux environs de 6 millions de tonnes de farine par an et de 1 million de tonne d'huile par an. En 2003, l'aquaculture mondiale a utilisé 2,94 millions de tonnes de farine de poisson et 0,80 millions de tonnes d'huile de poisson, ce qui représentait 53% et 87% des productions totales respectives (Tacon, 2005). D'après les prévisions d'expansion de l'aquaculture, en 2015, la demande en farine de poisson devrait représenter 70% de la disponibilité alors que la demande en huile de poisson dépasserait la capacité de production bien avant cette date (New et Wijkstroem, 2002). Afin de préserver les ressources naturelles il est donc nécessaire de diminuer l'emploi de matières premières d'origine marine. Ainsi on s'oriente vers

l'incorporation dans les aliments pour poissons de matières premières d'origine végétale (protéines et huiles) qui sont disponibles en plus grandes quantités et avec plus de régularité. Cependant la composition en acides gras des huiles végétales est différente de celle des huiles de poissons. Les huiles végétales renferment de fortes teneurs en acides oléique (18:1n-9), linoléique (18:2n-6) et linoléique (18:3n-3), dont les proportions varient selon l'origine des huiles, mais elles sont dépourvues d'acides gras polyinsaturés (AGPI) n-3 à longue chaîne. Les huiles de poissons sont plus riches en acides gras monoinsaturés (AGMI) à longue chaîne (20:1 et 22:1) et sont les seules sources d'AGPI n-3 à longue chaîne (EPA et DHA). De nombreuses études ont montré que la composition en acides gras de la chair des poissons reflète celle des lipides alimentaires (Watanabe, 1982 ; Guillou *et al.*, 1995 ; Torstensen *et al.*, 2000 ; Caballero *et al.*, 2002 ; Bell *et al.*, 2003 ; Izquierdo *et al.*, 2003). La richesse en AGPI n-3 à longue chaîne de la chair des poissons lui confère une valeur nutritionnelle. En effet, ces acides gras sont notamment reconnus pour participer à la prévention des maladies cardiovasculaires (Ackman, 1995 ; Psota *et al.*, 2006), des maladies inflammatoires (Simopoulos, 2002) et des maladies neurodégénératives comme la maladie d'Alzheimer par exemple (Moyad, 2005). Les AGPI n-3 à longue chaîne ont également un effet inhibiteur sur le développement de certains cancers tels que le cancer du sein, du colon ou de la prostate (Leitzmann *et al.*, 2004 ; Roynette *et al.*, 2004 ; Binukumar et Mathew, 2005 ; Moyad, 2005 ; Judé *et al.*, 2006). Préserver la richesse en AGPI n-3 (surtout l'EPA et le DHA) est donc un objectif primordial pour l'alimentation de l'homme.

### **I.1.3. Les dépôts lipidiques**

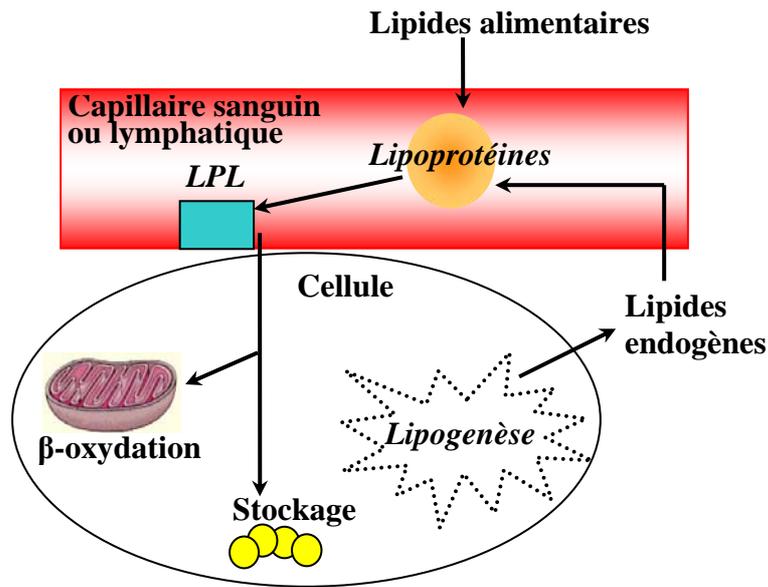
Chez les poissons, comme chez les mammifères, les lipides non utilisés pour la fourniture d'énergie sont stockés sous forme de lipides neutres (triglycérides essentiellement). Ces lipides sont stockés sous forme de gouttelettes dans le cytoplasme des cellules. A la différence des mammifères qui stockent les lipides principalement dans un seul tissu (le tissu adipeux, localisé dans les cavités thoracique et abdominale), les poissons sont capables de stocker les graisses en différents sites : les tissus adipeux périveriscéral et sous-cutané, le muscle et le foie (Sheridan, 1988). L'importance relative de ces différents sites de stockage varie selon les espèces : tissu adipeux périveriscéral et, dans une moindre mesure, le muscle chez les poissons d'eau douce comme les salmonidés, le foie chez les poissons marins comme le bar ou la morue (Corraze et Kaushik, 1999).

Le tissu adipeux entourant la cavité viscérale des poissons, considéré comme un site de stockage des graisses à long terme, renferme plus de 90% de son poids en lipides (Sheridan, 1988). Chez les salmonidés, les viscères peuvent représenter 7 à 22% du poids vif. Un développement excessif des dépôts lipidiques périvercéraux diminue le rendement en carcasse et constitue de ce fait une perte préjudiciable pour le transformateur (Corraze *et al.*, 1999).

Une part conséquente des lipides est également stockée dans les muscles du poisson. Les lipides du muscle blanc sont stockés dans les adipocytes dispersés entre les fibres musculaires et les lipides du muscle rouge sont stockés dans des gouttelettes à l'intérieur des fibres (Sheridan, 1994 ; Zhou *et al.*, 1995). La teneur en lipides de la chair des poissons est très variable d'une espèce à l'autre et est communément utilisée comme critère de classification (Henderson et Tocher, 1987 ; Ackman 1995). Le hareng, le maquereau ou l'anguille sont dits poissons "gras", leur muscle ayant une teneur en lipides supérieure à 10%. Les poissons dits "maigres" comme le bar, la morue ou l'églefin ont une teneur en lipides dans le muscle inférieure à 5%. Ces poissons déposent massivement les lipides dans le foie. La teneur en lipides du foie est comprise entre 15 et 30% chez le bar et peut atteindre 50-75% chez la morue et l'églefin. Entre ces deux catégories, les poissons dits "intermédiaires", comme la truite arc-en-ciel, le saumon Atlantique ou l'esturgeon, ont une teneur en lipides du muscle comprise entre 5 et 10%. Ces poissons accumulent les lipides principalement dans le tissu adipeux périvercéral et ensuite dans le muscle. Chez la truite arc-en-ciel, le contenu en lipides du foie est compris entre 3,5 et 6% (Corraze et Kaushik, 1999)

## **I.2. Voies d'apport des lipides**

Les lipides constitutifs des dépôts lipidiques dans la cellule peuvent avoir deux origines : exogène (provenant de l'alimentation) ou endogène (synthétisés par la lipogenèse) (**Figure I.1**). Les lipides alimentaires et nouvellement synthétisés sont véhiculés dans la circulation sanguine, sous forme de lipoprotéines jusqu'aux différents tissus. L'entrée des lipides dans les tissus est possible grâce à une enzyme, la lipoprotéine lipase (LPL), qui libère les acides gras contenus dans les lipides et permet ainsi leur diffusion dans les tissus.

**Figure I.1 :** Voies d'apport des lipides aux cellules

### I.2.1. La synthèse *de novo* des acides gras

La lipogenèse convertit les substrats provenant du catabolisme des glucides ainsi que du catabolisme des acides aminés en acides gras. Ces acides gras nouvellement synthétisés pourront être utilisés par les tissus ou stockés sous forme de triglycérides.

#### I.2.1.1. Lieux de néosynthèse des acides gras

Chez les mammifères, la lipogenèse a lieu majoritairement dans le foie et le tissu adipeux où elle est 10 à 1000 fois supérieure comparés aux autres tissus (Hillgartner *et al.*, 1995). Les glandes sébacées et les glandes mammaires des mammifères ainsi que la glande uropygiale des oiseaux synthétisent également les acides gras à un taux élevé (Hillgartner *et al.*, 1995). Dans le muscle, la synthèse des acides gras est plus faible que celle du tissu adipeux et du foie chez le rat (Carbó *et al.*, 1991), le lapin (Gondret *et al.*, 1997) ou le porc (Kouba et Mourot, 1999).

L'importance relative du tissu adipeux et du foie dans la néosynthèse des acides gras varie selon les espèces. La synthèse des acides gras a lieu principalement dans le foie chez l'homme (Shrago *et al.*, 1971 ; Hillgartner *et al.* 1995) et chez les oiseaux (O'Hea et Leveille,

1969a ; Leveille *et al.*, 1975). Par contre la lipogenèse se déroule majoritairement dans le tissu adipeux chez le porc (O’Hea et Leveille, 1969b ; Allee *et al.*, 1971), le cobaye (Patel et Hanson, 1974), le chien (Baldner *et al.*, 1985), le chat (Richard *et al.*, 1989), le lapin adulte (Leung et Bauman, 1975) ainsi que chez les ruminants (Ingle *et al.*, 1972 ; Liepa *et al.*, 1978 ; Hood *et al.*, 1980). Chez le rat et la souris, la synthèse *de novo* est importante dans les deux tissus (Clarke *et al.*, 1977 ; Baker *et al.*, 1978).

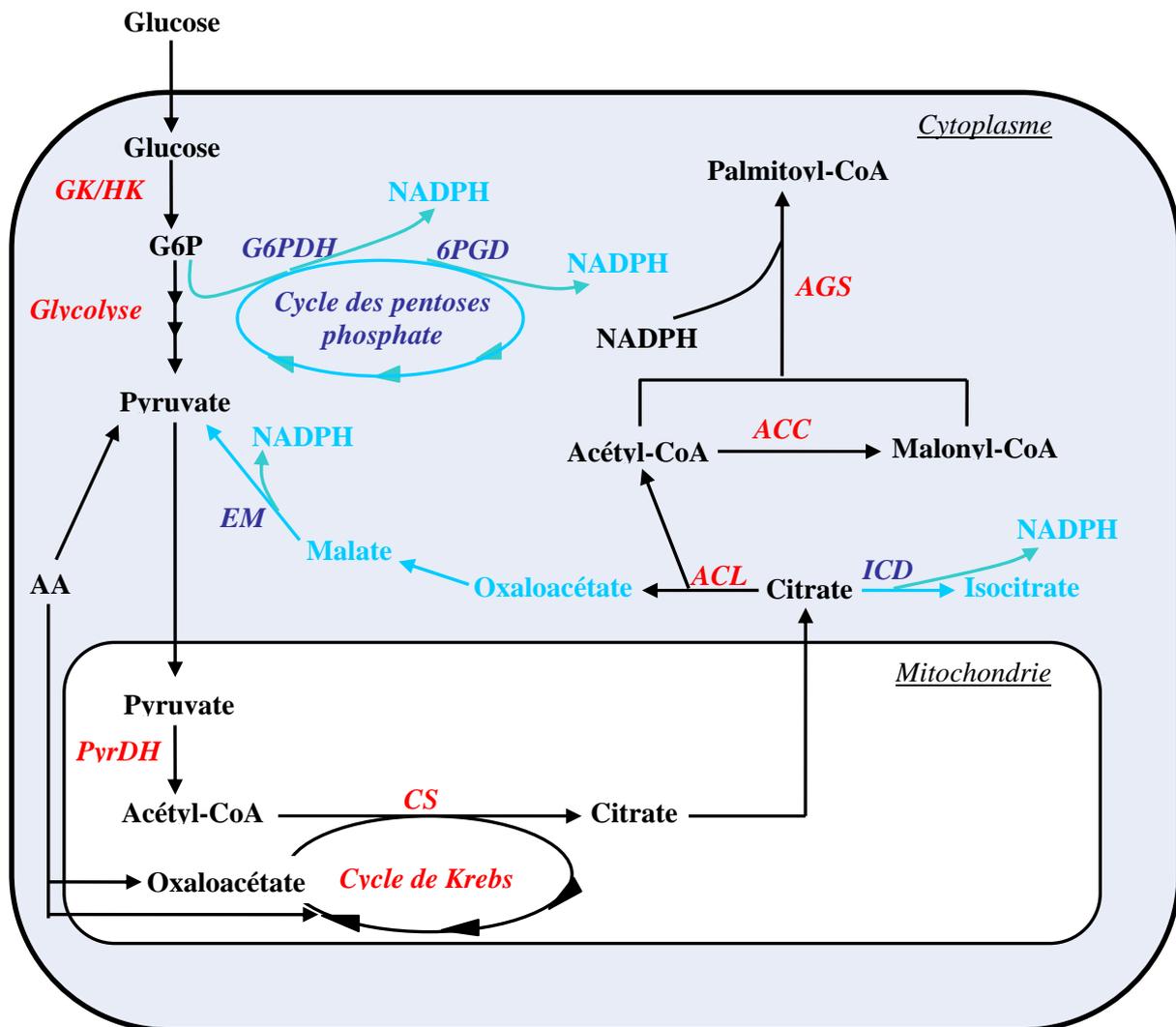
Chez les poissons, la biosynthèse des lipides a lieu essentiellement dans le foie (Greene et Selivonchick, 1987). L’activité des principales enzymes intervenant dans la synthèse *de novo* des acides gras est plus élevée dans le foie que dans le tissu adipeux chez la truite arc-en-ciel (Baldwin et Reed, 1976 ; Henderson et Sargent, 1981), le poisson chat (Likimani et Wilson, 1982), l’anguille d’amérique (Aster et Moon, 1981) ou le saumon coho (Lin *et al.*, 1977a,b). Chez cette dernière espèce, la synthèse des acides gras est 30 fois plus faible dans le tissu adipeux comparé au foie (Lin *et al.*, 1977a).

#### ***1.2.1.2. Les voies de synthèse des acides gras***

Chez les poissons, les mécanismes biochimiques de la synthèse des acides gras sont comparables à ceux des mammifères (Iritani *et al.*, 1984 ; Sargent *et al.*, 1989). Cependant la régulation de cette voie métabolique diffère entre les poissons et les mammifères puisque le principal substrat utilisé pour la synthèse des acides gras est différent. En effet, chez les mammifères et les oiseaux, le glucose représente la principale source de carbone utilisée pour la synthèse des acides gras alors que chez les poissons, dont l’alimentation en milieu naturel est riche en protéines, ce sont les acides aminés qui sont les principaux substrats utilisés pour la lipogenèse (Henderson et Tocher, 1987 ; Hillgartner *et al.*, 1995). Chez la truite arc-en-ciel, Henderson et Sargent (1981) ont montré *in vitro* que l’alanine est utilisée à un taux plus important que le glucose pour la synthèse d’acides gras dans le foie. Chez la carpe, le taux de synthèse des acides gras est également plus élevé à partir de l’alanine qu’à partir du glucose (Shikata et Shimeno, 1997). En plus de leur rôle de substrat, les acides aminés ont également un rôle important dans la régulation de la lipogenèse chez les poissons, puisqu’au même titre que le glucose, ils ont la propriété d’induire la sécrétion de l’insuline qui est une hormone majeure dans la régulation du métabolisme et notamment de la lipogenèse (Mommsen et Plisetskaya, 1991 ; Cowley et Sheridan, 1993).

La synthèse *de novo* des acides gras consiste en la formation d'acyl-CoA à partir d'acétyl-CoA dérivant du catabolisme des glucides ou de la désamination des acides aminés (Figure I.2).

**Figure I.2:** Représentation schématique des différentes voies impliquées dans la lipogénèse (d'après Hellerstein, 1996)



**GK/HK** : glucokinase/hexokinase – **PyrDH** : pyruvate déshydrogénase – **CS** : citrate synthase – **ACL** : ATP-citrate lyase – **ACC** : acétyl-CoA carboxylase – **AGS** : acides gras synthase – **G6PDH** : glucose-6-phosphate déshydrogénase – **6PGD** : 6-phosphogluconate déshydrogénase – **EM** : enzyme malique – **ICD** : Isocitrate déshydrogénase – **G6P** : glucose-6-phosphate – **AA** : acides aminés.

Le pyruvate, issu de la glycolyse et du catabolisme des acides aminés est converti dans la mitochondrie par les enzymes du cycle de Krebs en citrate. Le citrate est ensuite transporté hors de la mitochondrie pour être pris en charge dans le cytoplasme par l'ATP-citrate lyase

qui le clive en acétyl-CoA et oxaloacétate. L'acétyl-CoA est transformé par l'acétyl-CoA carboxylase en malonyl-CoA. L'acétyl-CoA et le malonyl-CoA sont utilisés par l'acide gras synthase (AGS), la principale enzyme de la lipogenèse, pour former des acyl-CoA. Certains métabolites issus du catabolisme des acides aminés peuvent aussi entrer dans la lipogenèse au niveau du cycle de Krebs (Hellerstein, 1996).

L'AGS des mammifères est un complexe enzymatique codé par un seul gène et constitué de deux monomères identiques, qui possèdent chacun 7 activités enzymatiques (Smith *et al.*, 2003). La synthèse d'acyl-CoA par le complexe enzymatique débute par la condensation d'un acétyl-CoA avec un malonyl-CoA et se poursuit par les réactions de décarboxylation, réduction, déshydratation, et réduction pour fournir un acide gras à 4 carbones, le butyryl. La synthèse d'acides gras, palmitate par exemple, est donc le produit de la répétition de cette séquence, qui à 6 reprises permettra d'ajouter au butyryl des chaînons à 2 carbones provenant du malonyl-CoA. La synthèse d'un palmitate (16:0) nécessite donc 1 acétyl-CoA, 7 malonyl-CoA et 14 NADPH. L'AGS des poissons a une masse moléculaire, des propriétés cinétiques et un Km vis à vis de son substrat qui sont semblables à l'AGS des mammifères (Hansen et Knudsen, 1981 ; Iritani *et al.*, 1984). Chez les mammifères, l'AGS synthétise principalement du 16:0 puis du 18:0 et 14:0 en plus faible quantité. Il en est de même chez les poissons, mais la proportion de ces acides gras varie selon les espèces. Par exemple, l'AGS produit deux fois plus de 16:0 que de 14:0 chez la truite (Eberhagen *et al.*, 1969), autant de 16:0 que de 14:0 chez la carpe (Eberhagen *et al.*, 1969) et plus de 16:0 que de 18:0 chez le carrelet (Wilson et Williamson, 1970). Chez le poisson chat, le 18:0 est le principal produit de l'AGS, suivi par le 16:0 (Warman et Bottino, 1978).

Le NADPH, cofacteur indispensable à la réaction catalysée par l'AGS, est fourni principalement par 4 déshydrogénases cytoplasmiques chez les mammifères : 2 enzymes appartenant au cycle des pentoses phosphates, la glucose-6-phosphate-déshydrogénase (G6PDH) et la 6-phosphogluconate déshydrogénase, l'enzyme malique (EM) et l'isocitrate déshydrogénase (**Figure I.2**). La G6PDH est la première enzyme intervenant dans le cycle des pentoses phosphate qui permet l'approvisionnement de la cellule en ribose-5-phosphate, nécessaire à la synthèse des acides nucléiques. Elle oxyde le glucose-6-phosphate en 6-phosphogluconolactone. La 6-phosphogluconate déshydrogénase est la deuxième enzyme du cycle des pentoses phosphate. Elle catalyse la transformation du 6-phosphogluconate en ribulose-5-phosphate. L'EM catalyse la décarboxylation oxydative du malate en pyruvate et

CO<sub>2</sub>, en générant simultanément du NADPH. L'isocitrate déshydrogénase catalyse la conversion du citrate en isocitrate en libérant du NADPH. Chez le rat, dans le tissu adipeux tout comme dans le foie, la G6PDH produit 50 à 75% du NADPH nécessaire à la synthèse des acides gras (Flatt et Ball, 1966 ; Rognstad et Katz, 1979). Chez le lapin, l'activité G6PDH est également supérieure à celle de l'EM (Gondret *et al.*, 1997). Au contraire, la plupart du NADPH est fourni par la réaction catalysée par l'EM chez le porc (Kouba et Mourot, 1999) et chez les oiseaux (Goodridge et Ball, 1966 ; O'Hea et Leveille, 1968).

Chez les poissons, la G6PDH, l'EM, la 6-phosphogluconate déshydrogénase et l'isocitrate déshydrogénase sont actives dans le foie (Baldwin et Reed, 1976 ; Lin *et al.*, 1977b). Le NADPH nécessaire à l'activité de l'AGS est principalement fourni par la G6PDH, dont l'activité est très élevée par rapport à celle de l'EM chez le bar (Alvarez *et al.*, 1998 ; Dias *et al.*, 1998) et la truite arc-en-ciel (Walzem *et al.*, 1991 ; Alvarez *et al.*, 1998 ; Barroso *et al.*, 1998 ; Gélinau *et al.*, 2001). Il en est de même chez le turbot (Regost *et al.*, 2001b, 2003), la sole sénégalaise (Dias *et al.*, 2004) ou la perche (Borrebaek et Christophersen, 2001). Par contre, la contribution de l'EM est supérieure à celle de la G6PDH chez le saumon Atlantique (Arnesen *et al.*, 1993 ; Menoyo *et al.*, 2003 ; Torstensen *et al.*, 2004a) et l'esturgeon Américain (*Acipenser transmontanus*) (Hung *et al.*, 1989 ; Fynn-Aikins *et al.*, 1992). L'activité de l'isocitrate déshydrogénase et celle de la 6-phosphogluconate déshydrogénase sont plus faibles que l'activité de la G6PDH chez la carpe (Shimeno *et al.*, 1997), le saumon Coho (Lin *et al.*, 1977b), le poisson chat (Likimani et Wilson, 1982). Par contre, chez le saumon Atlantique, l'isocitrate déshydrogénase est l'enzyme qui a l'activité la plus élevée parmi les 4 enzymes génératrices de NADPH (Arnesen *et al.*, 1993 ; Menoyo *et al.*, 2003 ; Torstensen *et al.*, 2004a)

### ***1.2.1.3. Effets de la teneur en lipides de l'aliment sur la lipogenèse hépatique***

De nombreuses études indiquent que les activités des enzymes lipogéniques du foie sont modifiées par la teneur en lipides de l'aliment chez les mammifères comme chez les poissons.

Chez le rat, une augmentation de la teneur en lipides de l'aliment au détriment de la teneur en glucides, entraîne une diminution de la lipogenèse hépatique, évaluée par l'incorporation de <sup>3</sup>H à partir d'eau tritiée dans les acides gras (Kelley *et al.*, 1987 ; De Deckere *et al.*, 1993). De nombreuses études indiquent également une inhibition de l'activité des enzymes de la lipogenèse suite à l'ingestion d'un aliment à forte teneur en lipides chez les

rongeurs, le porc et les ruminants (Tsai et Gong, 1987 ; Clarke et Hembree, 1990 ; Chilliard, 1993 ; Hillgartner *et al.*, 1995 ; Brooks et Lampi, 1999 ; Rosolowska-Huszcz *et al.*, 2001).

Chez la souris, la diminution de l'activité de la G6PDH induite par l'augmentation de la teneur en lipides de l'aliment s'accompagne d'une diminution du taux d'ARNm G6PDH, alors que l'activité transcriptionnelle du gène reste inchangée, ce qui indique une régulation post-transcriptionnelle de l'enzyme (Stabile *et al.*, 1996). De même pour l'EM, chez le rat, l'activité et le taux d'ARNm de l'enzyme diminuent avec un aliment riche en lipides sans que le taux de transcription du gène ne change (Katsurada *et al.*, 1987). Une stimulation de la dégradation de l'ARNm de l'EM dans le cytoplasme a été suggérée (Katsurada *et al.*, 1987). Chez cette même espèce, l'ingestion d'un aliment riche en lipides entraîne une diminution du taux d'ARNm AGS, qui est fortement corrélée à la diminution de l'activité de l'enzyme, suggérant une régulation prétraductionnelle de l'AGS (Clarke *et al.*, 1990a ; Shillabeer *et al.*, 1990 ; Middleton et Schneeman, 1996).

Chez les poissons également, il s'avère qu'une forte augmentation de la teneur en lipides de l'aliment associée à une diminution simultanée du contenu glucidique diminue l'activité des principales enzymes génératrices de NADPH (G6PDH et EM) ainsi que de l'AGS dans le foie. Ceci a été montré chez de nombreuses espèces : la truite arc-en-ciel (Sanchez-Muros *et al.*, 1996 ; Corraze *et al.*, 1999 ; Gélinau *et al.*, 2001), le bar Européen (Dias *et al.*, 1998, 1999 ; Boujard *et al.*, 2004), la truite Fario (Regost *et al.*, 2001a), le saumon Atlantique (Arnesen *et al.*, 1993), le saumon coho (Lin *et al.*, 1977b), la daurade royale (Metón *et al.*, 1999), la carpe (Shimeno *et al.*, 1995), la sole sénégalaise (Dias *et al.*, 2004), le poisson chat (Likimani et Wilson, 1982), la sériole du Japon (Shimeno *et al.*, 1981), le tilapia du Nil (Shimeno *et al.*, 1993).

Chez les poissons, la régulation de la lipogenèse par la teneur en lipides de l'aliment semble moins bien contrôlée que chez les mammifères. Ainsi, chez les poissons, la diminution de la synthèse *de novo* des acides gras n'est effective que pour des variations du taux de lipides supérieures à 10% (Henderson et Sargent, 1981 ; Brauge *et al.*, 1995), contrairement aux mammifères chez lesquels le seuil d'inhibition est d'environ 3% (Iritani *et al.*, 1984 ; Kelley *et al.*, 1987 ; Chilliard, 1993). Le temps de réponse de la lipogenèse suite à une modification de la teneur en lipides de l'aliment est également plus long chez les poissons que chez les mammifères. Par exemple, la diminution de l'activité des enzymes de la lipogenèse en réponse à une augmentation du taux de lipides de l'aliment nécessite une 20<sup>aine</sup> de jours d'adaptation chez le saumon Coho (Lin *et al.*, 1977c) et la sériole du Japon (Shimeno *et al.*,

1981). Chez le rat, l'inhibition de l'activité des enzymes de la lipogenèse est détectable dès 24 heures après la modification du contenu en lipides de l'aliment (Kelley *et al.*, 1987).

#### ***1.2.1.4. Effets de la nature des acides gras de l'aliment sur la lipogenèse hépatique***

Chez les mammifères, l'influence de la composition en acides gras de l'aliment sur la lipogenèse est bien établie. Les acides gras saturés et monoinsaturés ont un effet neutre sur la lipogenèse chez les mammifères (Hillgartner *et al.*, 1995 ; Clarke et Jump, 1996). Par contre, chez le rat ou la souris, les aliments riches en AGPI diminuent l'activité de la G6PDH, de l'EM et de l'AGS comparés à des aliments riches en acides gras saturés ou en acide oléique (Herzberg et Janmohamed, 1980 ; Clarke et Hembree, 1990 ; Ide *et al.*, 2000 ; Kim *et al.*, 2004). De plus, l'huile de poisson, riche en EPA et DHA a un effet inhibiteur plus puissant sur l'activité des enzymes de la lipogenèse hépatique comparé à une source lipidique riche en acide linoléique (huile de tournesol) ou en acide linoléique (huile de lin ou de perilla) chez le rat (Ide *et al.*, 2000 ; Takeuchi *et al.*, 2001 ; Kim *et al.*, 2004).

Il a été montré *in vivo* chez la souris et *in vitro* sur des hépatocytes de rat que les AGPI (acide arachidonique, EPA, acide linoléique) inhibent l'expression du gène de la G6PDH selon un mécanisme exclusivement post-transcriptionnel (Stabile *et al.*, 1996, 1998). Le taux d'ARNm précurseur G6PDH diminue de manière coordonnée avec le taux d'ARNm mature G6PDH mais l'activité transcriptionnelle du gène reste inchangée. Il a été établi chez la souris que ce mécanisme de régulation fait intervenir un élément situé sur l'exon 12 de l'ARNm précurseur (Tao *et al.*, 2002). Salati *et al.* (2004) ont proposé un modèle pouvant expliquer ce mécanisme : lors de la consommation d'aliments riches en AGPI, la fixation de co-activateurs de l'épissage sur l'exon 12 est inhibée et l'épissage devient moins efficace. L'ARNm, qui conserve alors l'intron 11 dans sa séquence, est dégradé dans le noyau. L'addition d'huile de poisson, riche en EPA et DHA, ainsi que l'ajout d'huile de tournesol, riche en acide linoléique, dans l'alimentation des rats diminue le taux d'ARNm ainsi que le niveau de transcription du gène AGS comparés à du tripalmitate ou de la trioléine (Blake et Clarke, 1990 ; Clarke *et al.*, 1990b ; Jump *et al.*, 1994). Les AGPI diminuent l'expression du gène AGS par l'intermédiaire du facteur de transcription nucléaire "sterol regulatory element binding protein 1" (SREBP) (Clarke, 2001 ; Pégorier *et al.*, 2004 ; Sampath et Ntambi, 2005). En particulier, les AGPI suppriment le processus d'activation par protéolyse de SREBP-1 (Xu *et al.*, 1999 ; Yahagi *et al.*, 1999). De plus, ces acides gras inhibent l'induction de la transcription du gène SREBP-1 par le complexe LXR-RXR ("liver X receptor-retinoid X

receptor") en entrant en compétition avec les ligands de LXR ce qui empêche la formation du complexe (Yoshikawa *et al.*, 2002). Une étude récente menée chez la souris a montré que les AGPI régulent également l'expression des gènes des enzymes lipogéniques, dont l'AGS, par l'intermédiaire du facteur de transcription "carbohydre-responsive element-binding protein" (ChREBP) qui joue un rôle crucial dans l'induction des gènes de la lipogénèse par le glucose (Dentin *et al.*, 2005). Les AGPI agissent sur l'activité de ChREBP en diminuant le temps de demi-vie de son ARNm ainsi qu'en altérant le mécanisme de translocation de ChREBP du cytosol vers le noyau, ce qui entraîne une diminution de l'expression des gènes de la lipogénèse (Dentin *et al.*, 2005).

Les effets de la nature des acides gras sur la lipogénèse ont fait l'objet de peu de travaux chez les poissons. Chez la truite arc-en-ciel, il a été mis en évidence *in vitro* que les AGPI tels que l'EPA et le DHA, ainsi qu'une forte concentration en acide linoléique, diminuent les activités AGS et G6PDH des hépatocytes (Alvarez *et al.*, 2000). De fortes teneurs en AGPI n-3 dans l'aliment, avec principalement de l'EPA et du DHA, tendent également à inhiber les activités G6PDH et EM chez le saumon Atlantique (Menoyo *et al.*, 2003) et la carpe (Shikata et Shimeno, 1994). Par contre, l'activité des enzymes de la lipogénèse hépatique n'est pas modifiée lors d'un remplacement partiel ou total de l'huile de poisson de l'aliment par de l'huile de colza chez le saumon Atlantique (Torstensen *et al.*, 2004a), par de l'huile de soja ou de lin chez le turbot (Regost *et al.*, 2003). De même chez la daurade royale, l'huile de soja n'a pas d'effet sur la lipogénèse (Menoyo *et al.*, 2004).

## **I.2.2. Transport des lipides par les lipoprotéines plasmatiques**

Les lipides endogènes résultant de la lipogénèse ainsi que les lipides alimentaires sont véhiculés dans les capillaires sanguins et lymphatiques jusqu'aux tissus utilisateurs, sous forme de complexes hydrosolubles appelés lipoprotéines.

### ***I.2.2.1. Caractéristiques et composition des différentes classes de lipoprotéines***

Le transport des lipides chez les poissons, est réalisé comme chez les mammifères, par les lipoprotéines plasmatiques (Chapman, 1980 ; Babin et Vernier, 1989 ; Tocher, 2003).

Les lipoprotéines sont des particules sphériques de type pseudomicelles, formées d'un noyau central apolaire contenant des triglycérides et des esters de cholestérol, entouré d'une

enveloppe hydrophile composée de phospholipides, cholestérol et de protéines appelées apolipoprotéines.

Différentes classes de lipoprotéines sont distinguées, en fonction de leurs principales propriétés physiques, et notamment de leur densité, leur mobilité électrophorétique et leur diamètre particulaire : chylomicrons, VLDL (very low density lipoprotein), IDL (intermediate density lipoprotein), LDL (low density lipoprotein) et HDL (high density lipoprotein) (**Tableau I.1**). Ces différentes classes de lipoprotéines plasmatiques existent chez les poissons, comme chez les mammifères (Chapman, 1980 ; Babin et Vernier, 1989).

**Tableau I.1** : Propriétés physicochimiques et concentration plasmatique des différentes classes de lipoprotéines chez l’homme et la truite arc-en-ciel. (Données tirées de Chapman, 1980 et Babin et Vernier, 1989)

	CM	VLDL	IDL	LDL	HDL
<b>Mob. électrophorétique</b>					
Truite	nulle	pré- $\beta$	$\alpha$	$\alpha$	$\alpha$
Homme	nulle	pré- $\beta$	pré- $\beta$ lents	$\beta$	$\alpha$
<b>Limites de densité (g/ml)</b>					
Truite	<1,015	<1,015	1,015-1,040	1,040-1,085	1,085-1,210
Homme	<0,95	0,95-1,006	1,006-1,019	1,019-1,063	1,063-1,210
<b>Diamètre particulaire (nm)</b>					
Truite	80-800	20-50	12-21	12-21	6-11
Homme	75-1200	30-80	25-35	18-25	5-12
<b>Concentration plasmatique (g/l)</b>					
Truite		2,0-2,1		1,9-3,9	10,6-22,2
Homme		1,3		3,7	2,3

CM : chylomicrons ; VLDL : very low density lipoprotein ; LDL : low density lipoprotein ; HDL : high density lipoprotein

La mobilité électrophorétique des lipoprotéines des poissons peut être différente de celle observée chez l’homme. Par exemple, les VLDL migrent en position  $\beta$  et les LDL en position pré- $\beta$  chez le bar (Santulli *et al.*, 1989). Chez la truite, les LDL ont une mobilité

électrophorétique supérieure ( $\alpha$ ) (Chapman *et al.*, 1978 ; Skinner et Rogie, 1978 ; Frémont *et al.*, 1981 ; Babin, 1987a). La limite de densité de 1,063 g/ml qui permet la séparation des LDL et HDL chez l'homme n'est pas suffisante chez les poissons comme cela a été montré chez la truite (Babin, 1987a), la carpe (Fainaru *et al.*, 1988) ou la daurade royale (Park *et al.*, 1999). La taille des lipoprotéines des poissons (excepté les HDL) tend à être inférieure à celle observée chez l'homme, surtout pour les LDL, dont la majorité des particules chez la truite, mesure moins de 20 nm de diamètre (Skinner et Rogie, 1978 ; Chapman, 1980).

Chez les poissons, il existe également une autre classe de lipoprotéines, de très haute densité ( $d > 1,21$  g/ml) : la vitellogénine. Cette lipoprotéine est synthétisée par le foie, sous le contrôle des oestrogènes (Norberg et Haux, 1985 ; Wallaert et Babin, 1992). La vitellogénine est captée par les ovocytes après sa sécrétion, pour être le précurseur du vitellus de l'oeuf. Elle apparaît dans le plasma des femelles environ 1 mois avant l'ovulation puis disparaît progressivement (Babin, 1987b ; Wallaert et Babin, 1994b). Cette lipoprotéine est aussi présente chez tous les vertébrés ovipares.

Chez les poissons téléostéens, la classe des LDL est la classe dominante de lipoprotéines pendant le stade juvénile. Au cours de la maturation sexuelle, les teneurs en LDL et VLDL diminuent progressivement et chez les adultes, ce sont les HDL qui sont les plus abondantes, à la différence des mammifères (Chapman, 1980 ; Chapman et Forgez, 1985 ; Babin et Vernier, 1989). La classe des HDL domine le profil lipoprotéique chez la majorité des téléostéens, tels que le bar (Santulli *et al.*, 1989), la truite arc-en-ciel (Chapman *et al.*, 1978 ; Babin, 1987a), la carpe (Fainaru *et al.*, 1988 ; Iijima *et al.*, 1990) ou la daurade royale (Ando et Mori, 1993). La concentration en HDL plasmatique chez les poissons varie en général entre 10 et 25 g/l de plasma.

Les proportions relatives de lipides totaux et de protéines dans chaque classe de lipoprotéines sont similaires chez les poissons et l'homme (**Tableau I.2**). La composition des chylomicrons et VLDL est également similaire. Par contre chez les poissons, les LDL et HDL sont plus riches en triglycérides et plus pauvres en cholestérol estérifié, comme par exemple chez la truite (Chapman *et al.*, 1978 ; Frémont *et al.*, 1981) ou la carpe (Fainaru *et al.*, 1988 ; Iijima *et al.*, 1990). Chez l'homme, le cholestérol plasmatique est principalement transporté par les LDL. Chez les téléostéens, la teneur en cholestérol est également plus élevée dans les LDL que dans les HDL, mais les HDL étant la classe de lipoprotéines prédominante, ce sont les principaux véhicules du cholestérol plasmatique chez les poissons. La cholestérolémie est

plus élevée chez les poissons téléostéens, que chez les mammifères, avec des valeurs de 2 à 4 g/l chez le bar (Santulli *et al.*, 1988), le saumon Atlantique (Torstensen *et al.*, 2000), la carpe (Fainaru *et al.*, 1988) ou la daurade (Ando et Mori, 1993) et pouvant atteindre jusqu'à 10 g/l chez la truite arc-en-ciel (Babin et Vernier, 1989 ; Kaushik *et al.*, 1995).

**Tableau I.2** : Composition en lipides et protéines (% en poids) des différentes classes de lipoprotéines plasmatiques chez la truite et l'homme (Données tirées de Babin et Vernier, 1989)

	Chylomicrons		VLDL		LDL		HDL	
	Truite	Homme	Truite	Homme	Truite	Homme	Truite	Homme
TG	84	80-95	52	45-65	22,3	4-8	11,1	2-7
Chol. libre	1	1-3	5,7	4-8	6,3	6-8	3,4	3-5
Chol. estér.	2,2	2-4	11	16-22	14,9	45-50	9,1	15-20
PL	8,3	3-6	18,5	15-20	27	18-24	31,7	26-32
Protéines	4,5	1-2	12,8	6-10	29,5	18-22	44,7	45-55
Lipides tot.	95,5	98	87,2	92	70,5	79	55,3	45-55

VLDL : very low density lipoprotein ; LDL : low density lipoprotein ; HDL : high density lipoprotein ; TG: triglycérides ; Chol.: cholestérol ; Chol. estér. : cholestérol estérifié ; PL : phospholipides.

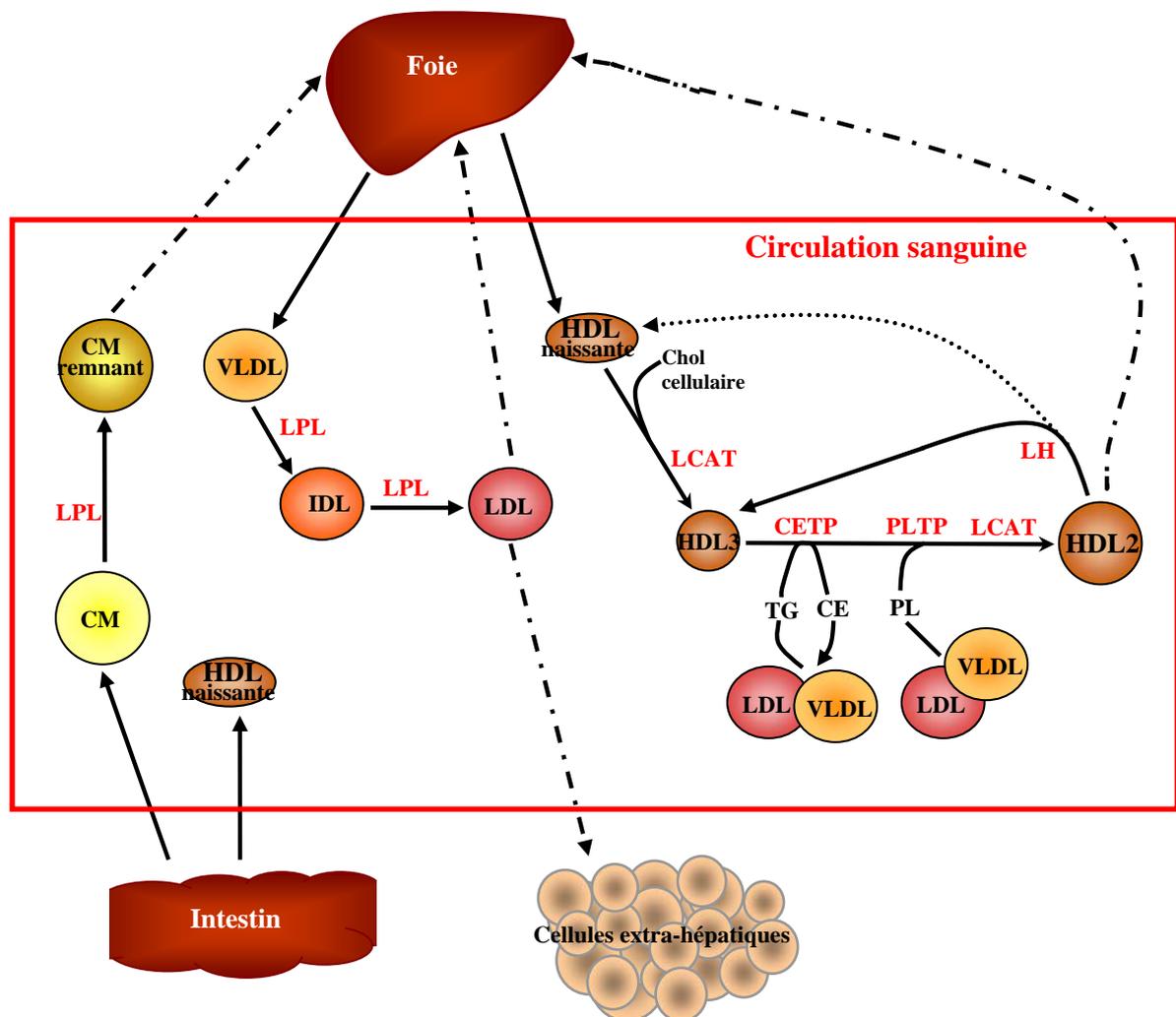
La composition en apolipoprotéines des différentes classes de lipoprotéines des poissons ressemble à celle des mammifères (Chapman, 1980 ; Babin et Vernier, 1989). Des apolipoprotéines similaires aux apo-B humaines sont majoritaires dans les VLDL et LDL alors que des apo-AI et apo-AII présumées sont les plus abondantes dans les HDL, comme cela a été montré chez la truite (Chapman *et al.*, 1978 ; Skinner et Rogie, 1978 ; Babin 1987a,b), le bar (Santulli *et al.*, 1996), la daurade (Iijima *et al.*, 1995) ou la carpe (Fainaru *et al.*, 1988 ; Amthauer *et al.*, 1989 ; Iijima *et al.*, 1990). L'apo-E, un des ligands du récepteur aux LDL, ne semble pas être présente dans la composition des lipoprotéines chez les poissons (Chapman *et al.*, 1978 ; Skinner et Rogie, 1978 ; Fainaru *et al.*, 1988 ; Arnold-Reed *et al.*, 1997), comme cela a également été montré chez les ruminants (Bauchart, 1993) ainsi que chez les oiseaux (Barakat et St Clair, 1985 ; Hermier *et al.*, 1985). Néanmoins des études sur les larves de poisson zèbre ont mis en évidence une forte expression du gène codant pour

l'apo-E au niveau des nageoires et des écailles lors de leur mise en place, ainsi que dans le syncythium vitellin pendant le développement embryonnaire du poisson zèbre et du turbot (Babin *et al.*, 1997 ; Monnot *et al.*, 1999 ; Poupard *et al.*, 2000)

### 1.2.2.2. Le métabolisme des lipoprotéines

Le métabolisme des lipoprotéines chez les poissons semble être analogue à celui des mammifères (Léger, 1985 ; Sheridan, 1988 ; Babin et Vernier, 1989 ; Tocher, 2003). Un schéma simplifié des différentes étapes de ce métabolisme est présenté sur la **Figure I.3**.

**Figure I.3** : Schéma simplifié du métabolisme des lipoprotéines plasmatiques



CM : chylomicron, VLDL : very low density lipoprotein, LDL : low density lipoprotein, HDL : high density lipoprotein, LPL : lipoprotéine lipase, LCAT : lécithine-cholestérol acyl-transférase, CETP : protéine de transfert des esters de cholestérol, PLTP : protéine de transfert des phospholipides, LH : lipase hépatique, TG : triglycérides, CE : cholestérol estérifié, PL : phospholipides

Les chylomicrons formés à partir des triglycérides alimentaires sont sécrétés par l'intestin dans la circulation générale (Gurr et Harwood, 1991). L'intestin synthétise et sécrète également des VLDL en petites quantités mais le principal site de synthèse est le foie (Gurr et Harwood, 1991). Après avoir rejoint la circulation générale, les chylomicrons et les VLDL pourront distribuer les acides gras de leurs triglycérides aux différents tissus grâce à la lipolyse catalysée par la lipoprotéine lipase (LPL) (Fielding et Fielding, 1996). L'action de la LPL sur les VLDL génère des IDL puis des LDL. Chez les poissons, la présence d'IDL a également été identifiée dans le plasma (Babin, 1987a). Après la lipolyse des chylomicrons par la LPL, les résidus de chylomicrons sont captés par le foie par les récepteurs aux LDL (R-LDL) ainsi que par les "LDL receptor-related protein" appartenant à la même famille de récepteurs (Havel, 1998). Les LDL sont captées par endocytose et sont catabolisées par le foie ainsi que par les tissus extrahépatiques par l'intermédiaire des R-LDL qui interagissent avec leur apo-B100 (Schneider, 1996). Des sites de fixation de haute affinité pour les LDL et dont les propriétés ressemblent au R-LDL des mammifères ont été mis en évidence sur les membranes d'hépatocytes de truite (Gjøen et Berg, 1993) et de carpe (Fainaru *et al.*, 1988). Les HDL naissantes, de forme discoïdale et constituées principalement d'apo-AI et de phospholipides, sont sécrétées par le foie et l'intestin (Gurr et Hardwood, 1991). Elles se chargent en cholestérol au contact des membranes cellulaires par l'intermédiaire de récepteurs spécifiques comme le scavenger-receptor BI et l'ATP binding cassette A1, qui reconnaissent l'apo-AI des particules (Rader, 2006). Une enzyme plasmatique, la lécithine-cholestérol acyl-transférase (LCAT), estérifie par la suite les molécules de cholestérol par transfert de chaînes d'acides gras appartenant aux phospholipides de la lipoprotéine (Fielding et Fielding, 1995). Le cholestérol, une fois estérifié, migre au centre de l'édifice et les HDL naissantes deviennent des HDL<sub>3</sub>, de forme sphérique. Les particules de HDL<sub>3</sub> acquièrent des molécules de triglycérides grâce à l'action d'une enzyme plasmatique, la "cholesteryl ester transfert protein" (CETP), qui catalyse le transfert de molécules d'esters de cholestérol des particules de HDL<sub>3</sub>, vers les VLDL et LDL, avec un échange réciproque de molécules de triglycérides (Fielding et Fielding, 1996). Une autre enzyme plasmatique, la "phospholipid transfer protein" (PLTP), catalyse le transfert de molécules de phospholipides des VLDL et LDL vers les particules HDL<sub>3</sub> (Fielding et Fielding, 1995). L'acquisition de ces molécules de phospholipides, substrats de la LCAT permet l'enrichissement des HDL<sub>3</sub> en esters de cholestérol qui deviennent des particules de HDL<sub>2</sub> ou HDL mature. Sous l'action de la lipase hépatique qui catalyse principalement l'hydrolyse des triglycérides mais également des phospholipides des HDL<sub>2</sub>, des particules composées d'apo-AI et contenant peu de lipides, se

détachent de la surface des lipoprotéines et peuvent servir à la synthèse de nouvelles HDL naissantes (Rader, 2006). Les molécules de cholestérol libre et estérifié contenues dans les particules de HDL matures peuvent être captées sélectivement par le foie par l'intermédiaire de récepteurs tels que le scavenger-receptor BI, qui interagissent avec l'apo-AI des particules (Rader, 2006). Le foie est également le principal lieu de catabolisme des HDL matures. Les particules de HDL y sont internalisées par endocytose après avoir été reconnues par des récepteurs apparentés au R-LDL grâce à leur apo-E (Rader, 2006). Un important rôle des HDL est donc le transport du cholestérol, des tissus périphériques vers le foie. Ce transport est appelé transport réverse.

Les enzymes LCAT, CETP, PLTP et LH, qui sont impliquées dans le métabolisme des HDL sont également présentes chez les poissons (Kayama *et al.*, 1979 ; Haa et Barter, 1982 ; Black *et al.*, 1983, 1985 ; Guyard-Dangremont *et al.*, 1998). Une étude comparative a montré chez la truite que les activités CETP et PLTP chez la truite, mesurées en présence de lipoprotéines endogènes marquées, sont respectivement 1,2 fois et 2,1 fois plus élevées comparées à celles mesurées dans le plasma humain (Guyard-Dangremont *et al.*, 1998). Cette activité plus importante des enzymes plasmatiques intervenant dans la maturation des HDL (CETP et PLTP), pourrait donc expliquer la domination du profil lipoprotéique par les HDL chez les poissons.

Chez les poissons, la plupart des études menées sur les lipoprotéines concernent leur caractérisation (Chapman *et al.*, 1978 ; Skinner et Rogie, 1978 ; Frémont *et al.*, 1981 ; Babin, 1987a ; Iijima *et al.*, 1990 ; Ando et Mori, 1993 ; Santulli *et al.*, 1996), leur métabolisme (Fainaru *et al.*, 1988 ; Gjøen et Berg, 1992a,b ; Yu *et al.*, 1992 ; Jibril *et al.*, 1995 ; Katoh *et al.*, 2001 ; Alam *et al.*, 2004), l'effet du jeûne et de la réalimentation (Santulli *et al.*, 1988, 1997 ; Iijima *et al.*, 1989) ou encore l'influence de la maturité sexuelle (Frémont et Marion, 1982 ; Wallaert et Babin, 1994b). Peu d'études ont porté sur l'effet des lipides alimentaires sur les lipoprotéines chez les poissons. Les paragraphes I.2.2.3, I.2.2.4 et I.2.2.5 rassemblent donc principalement des données obtenues chez les mammifères.

### ***I.2.2.3 Effets du cholestérol alimentaire sur la composition en lipides du plasma et des lipoprotéines plasmatiques***

De nombreuses études ont montré que l'augmentation de la teneur en cholestérol de l'aliment entraîne une augmentation de la concentration en cholestérol du plasma qui est

principalement dûe à une élévation de la teneur en cholestérol des LDL plasmatiques chez les vertébrés supérieurs tels que le hamster (Spady et Dietschy, 1988 ; Woollett *et al.*, 1989), le cobaye (Sun *et al.*, 1999), le singe (Sorci-Thomas *et al.*, 1989 ; Turley *et al.*, 1995), le porc (Mustad *et al.*, 1996) ou le poulet (Matsuyama *et al.*, 2005).

Cet effet hypercholestéroléminant du cholestérol alimentaire semble s'expliquer par une diminution du captage des LDL par le foie (diminution du taux d'ARNm et de l'activité du R-LDL hépatique) (Spady et Dietschy, 1985, 1988 ; Sorci-Thomas *et al.*, 1989 ; Woollett *et al.*, 1989 ; Srivastava *et al.*, 1991 ; Horton *et al.*, 1993 ; Mustad *et al.*, 1996 ; Matsuyama *et al.*, 2005). Une légère augmentation de la production de LDL est également observée dans certaines études (Spady et Dietschy, 1988 ; Woollett *et al.*, 1989). Spady *et al.* (1993) ont émis l'hypothèse que le cholestérol alimentaire influencerait sur le captage hépatique des LDL plasmatiques par l'intermédiaire du pool de cholestérol intracellulaire. Ainsi, lorsque l'apport de cholestérol au foie est élevé, le pool de cholestérol libre intracellulaire est augmenté et il y a inhibition de la transcription du R-LDL. Le cholestérol agirait sur le facteur de transcription SREBP-2 qui se fixe sur l'élément de réponse aux stérols 1 (SRE-1) présent dans le promoteur du gène R-LDL. Lorsque la cellule est appauvrie en cholestérol, SREBP-2 subit deux protéolyses qui libèrent sa partie N-terminale, désignée comme la forme nucléaire de SREBP-2 (Duncan *et al.*, 1997 ; Brown et Goldstein, 1999). SREBP-2 se lie alors au SRE, ce qui active la transcription du gène R-LDL. Au contraire, lorsque le pool de cholestérol libre s'accroît dans la cellule, le clivage de SREBP-2 est inhibé, la transcription du gène R-LDL est réduite et l'activité du récepteur est diminuée (Brown et Goldstein, 1997 ; Duncan *et al.*, 1997).

#### ***1.2.2.4. Effets de la teneur en lipides de l'aliment sur la composition en lipides du plasma et des lipoprotéines***

Une augmentation de la teneur en lipides de l'aliment associée à une diminution de la teneur en glucides entraîne une augmentation de la concentration en cholestérol plasmatique, cholestérol-LDL chez le cobaye (Fernandez *et al.*, 1996 ; Romero et Fernandez, 1996), le hamster (Bennet *et al.*, 1995 ; Salter *et al.*, 1998) et l'homme (Abbott *et al.*, 1990 ; Dreon *et al.*, 1998 ; Vidon *et al.*, 2001). Cependant, d'autres études ne rapportent pas de variations significatives de la cholestérolémie suite à une augmentation de l'apport lipidique chez le rat (Middleton et Schneeman, 1996) et l'homme (Nelson *et al.*, 1995). Pourtant dans ces études, la proportion des différentes classes d'acides gras reste semblable entre les aliments à faibles

teneurs en lipides et ceux riches en lipides. La concentration en cholestérol-HDL est augmentée suite à l'ingestion d'aliments riches en lipides chez le hamster (Bennet *et al.*, 1995 ; Salter *et al.*, 1998) ou l'homme (Abbott *et al.*, 1990 ; Parks *et al.*, 1999 ; Vidon *et al.*, 2001) mais n'est pas affectée chez le cobaye lors d'une augmentation de la teneur en lipides de l'aliment de 2,5 à 25% (Fernandez *et al.*, 1995). Chez le cobaye, l'augmentation de la teneur en lipides de l'aliment modifie la composition des lipoprotéines plasmatiques, en augmentant notamment la proportion d'esters de cholestérol dans les VLDL, LDL et HDL (Fernandez et Mc Namara, 1991 ; Fernandez *et al.*, 1995). Ces modifications de la composition des lipoprotéines sont associées à une augmentation des activités 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase hépatique (enzyme impliquée dans la synthèse du cholestérol), ACAT hépatique ainsi que LCAT plasmatique (Fernandez et McNamara, 1991 ; Fernandez *et al.*, 1995). Chez cette même espèce, une disparition plus lente des LDL plasmatiques est également observée ainsi qu'une diminution du nombre de R-LDL hépatique pouvant expliquer l'hypercholestérolémie induite par un aliment riche en lipides (Fernandez *et al.*, 1995, 1996). Chez l'homme, le taux d'ARNm R-LDL ne semble pas varier suite à une augmentation du taux de lipides dans l'aliment, mais une augmentation du taux de conversion des VLDL en LDL est rapportée (Abbott *et al.*, 1990 ; Salter *et al.*, 1998).

L'effet de l'augmentation de la teneur en lipides de l'aliment sur la concentration en triglycérides plasmatiques est controversée (Sacks et Katan, 2002). Certaines études menées chez l'homme rapportent une diminution de la concentration en triglycérides et VLDL plasmatiques lors de l'ingestion d'un aliment riche en lipides et à faible teneur en glucides (environ 45% lipides 40% glucides, en énergie) comparé à un aliment à faible taux de lipides et riche en glucides (environ 25% lipides 60% glucides) ( Nelson *et al.*, 1995 ; Jeppesen *et al.*, 1997 ; Dreon *et al.*, 1994, 1998 ). Cette variation de la concentration en triglycérides plasmatiques entre ces 2 types d'aliments serait principalement dûe à l'augmentation de la synthèse endogène des triglycérides et de la sécrétion des VLDL induite par un fort taux de glucides (Sacks et Katan, 2002 ; Schwarz *et al.*, 2003). Cependant dans certaines études, la concentration en triglycérides plasmatiques ne varie pas significativement lors d'une augmentation du taux de lipides dans l'aliment associée à une diminution du taux de glucides, lorsque la source glucidique de l'aliment, à la différence des études précédentes, est principalement composée de glucides complexes (Abbott *et al.*, 1990 ; Vidon *et al.*, 2001). Ces modifications de la teneur en triglycérides lors de l'ingestion d'un aliment riche en lipides et à faible teneur en glucides comparé à un aliment à faible teneur en lipides et riches en glucides semblent donc principalement dûes à la variation de l'apport glucidique. En effet la

teneur en triglycérides plasmatiques chez l'homme n'est pas modifiée par une alimentation riche en lipides (40% lipides, 45% glucides, en énergie) alors qu'elle est fortement augmentée par une alimentation riche en glucides (17% lipides, 68% glucides) (Schwarz *et al.*, 2003). La quantité de lipides de l'aliment semble donc ne pas avoir d'effet sur la concentration en triglycérides plasmatiques.

Les mécanismes moléculaires responsables de la régulation du profil lipoprotéique par la teneur en lipides de l'aliment restent encore à éclaircir.

Chez les poissons, on dispose de peu de données sur l'effet des lipides alimentaires sur les lipides plasmatiques. Il a été montré que l'augmentation du taux de lipides de l'aliment augmente la teneur en cholestérol plasmatique chez le turbot (Regost *et al.*, 2003), la truite Fario (Regost *et al.*, 2001a) et le saumon Atlantique (Torstensen *et al.*, 2001) alors que la concentration en triglycérides n'est pas affectée. Cette augmentation du cholestérol est dûe à une augmentation des concentrations en LDL et HDL (Torstensen *et al.*, 2001). Cependant dans une autre étude menée chez le saumon, avec un taux de lipides dans l'aliment variant de 31 à 47% MS, aucune modification des concentrations plasmatiques en cholestérol et triglycérides n'a été observée (Hemre et Sandnes, 1999). Chez la truite arc-en-ciel, la concentration en triglycérides plasmatiques mesurée 24 heures après le dernier repas est significativement plus élevée avec un aliment contenant 22% MS de lipides comparé à un aliment contenant 6% MS de lipides (3,5 g/l *versus* 1,2 g/l respectivement) (Corraze, données personnelles).

#### ***1.2.2.5. Effets de la nature des acides gras de l'aliment sur la composition en lipides du plasma et des lipoprotéines***

Chez les mammifères, l'impact de la nature des acides gras de l'aliment sur la composition en lipides du plasma et des lipoprotéines a été bien étudié. Plusieurs équations permettant d'estimer les variations de la concentration en cholestérol plasmatiques, du cholestérol-LDL et du cholestérol-HDL en fonction des modifications de la composition en acides gras de l'aliment ont été proposées pour l'homme ou les primates (Hegsted *et al.*, 1965 ; Keys *et al.*, 1965 ; Yu *et al.*, 1995)

Les acides gras saturés (AGsat) à chaîne moyenne (comportant 6 à 10 atomes de carbone) semblent avoir un effet neutre sur la concentration en cholestérol total et

cholestérol-LDL chez le hamster (Woollett *et al.*, 1989, 1992a) ou l'homme (Temme *et al.*, 1997). Les AGsat à longue chaîne, comparés aux AGMI et aux AGPI, élèvent le taux de cholestérol total et cholestérol-LDL mais ne modifient pas ou peu la concentration en cholestérol-HDL chez le hamster (Woollett *et al.*, 1992b), le cobaye (He et Fernandez, 1998), le rat (Ventura *et al.*, 1989) ou l'homme (Grundy et Denke, 1990 ; Denke et Grundy, 1991). Par contre ils ne modifient pas la concentration en triglycérides plasmatiques chez le cobaye (He et Fernandez, 1998) et le rat (Ventura *et al.*, 1989 ; Spady, 1993). Cependant, les AGsat à longue chaîne n'ont pas tous le même pouvoir hypercholestérolémiant. Comparé au 14:0, l'effet hypercholestérolémiant du 16:0 semble être équivalent (McGandy *et al.*, 1970 ; Tholstrup *et al.*, 1994) ou plus faible (Hayes *et al.*, 1991 ; Hayes et Khosla, 1992 ; Pronczuk *et al.*, 1994 ; Zock *et al.*, 1994). Comparé au 12:0, le 16:0 a un pouvoir hypercholestérolémiant plus élevé (Denke et Grundy, 1992). Le 18:0 est généralement considéré comme étant sans effet sur la concentration en cholestérol plasmatique (Woollett *et al.*, 1992a ; Derr *et al.*, 1993 ; Yu *et al.*, 1995 ; Salter *et al.*, 1998). Cependant il a été montré un effet hypocholestérolémiant du 18:0, pouvant être similaire à celui de l'acide oléique dans certaines études chez l'homme (Bonanome et Grundy, 1988 ; Denke et Grundy, 1991).

Le principal AGMI rencontré dans l'alimentation, l'acide oléique a pendant longtemps été considéré comme ayant un effet neutre sur la cholestérolémie (Ahrens *et al.*, 1957 ; Keys *et al.*, 1958 ; Hegsted *et al.*, 1965 ). Mattson et Grundy (1985) ont été les premiers à mettre en évidence l'effet hypocholestérolémiant de l'acide oléique, ce qui a été confirmé par la suite. Un aliment à forte teneur en acide oléique entraîne une diminution de la concentration en cholestérol total et cholestérol-LDL mais est sans effet sur les concentrations en cholestérol-HDL et triglycérides plasmatiques comparé à un aliment riche en AGsat chez l'homme (Bonanome et Grundy, 1988 ; Cater *et al.*, 1997), le singe (Khosla et Hayes, 1993), le hamster (Daumerie *et al.*, 1992) ou le cobaye (He et Fernandez, 1998). Certaines études rapportent que l'acide oléique diminue le taux de cholestérol plasmatique et de cholestérol-LDL aussi efficacement que l'acide linoléique (Chan *et al.*, 1991) ou l'acide linoléique (Mattson et Grundy, 1985 ; Wardlaw et Snook, 1990 ; Chan *et al.* 1991). Cependant, dans certaines études menées chez l'homme, aucune différence significative de la concentration en cholestérol total et cholestérol-LDL n'est observée entre l'ingestion d'huile d'olive (riche en acide oléique) et celle de palme (riche en 16:0) lorsque la teneur en cholestérol de l'aliment est faible (Ng *et al.*, 1992 ; Choudhury *et al.*, 1995).

Une étude menée chez le rat indique que les AGMI à longue chaîne (20:1 et 22:1), en abondance dans certaines huiles de poisson, ne modifient pas les teneurs en cholestérol et triglycérides plasmatiques (Halvorsen *et al.*, 1995)

Parmi les AGPI de la série n-6, l'acide linoléique est le principal acide gras présent dans l'alimentation, apporté surtout par les huiles végétales. Comparé à un aliment riche en AGsat (huiles de coprah ou de palme), un aliment riche en acide linoléique (huile de tournesol ou de maïs) entraîne une diminution du cholestérol total et du cholestérol-LDL chez le cobaye (He et Fernandez, 1998), le rat (Ventura *et al.*, 1989), le singe (Stucchi *et al.*, 1991), le hamster (Spady et Dietschy, 1985, 1988 ; Woollett *et al.*, 1992b ; Horton *et al.*, 1993), et l'homme (Mattson et Grundy, 1985 ; Reiser *et al.*, 1985).

Dans la série des AGPI n-3, l'acide linoléique a un effet hypocholestérolémiant plus fort que l'acide linoléique dans certaines études menées chez la souris (Ishihara *et al.*, 1995) ou le rat (Sakai *et al.*, 1992 ; Ihara *et al.*, 1998 ).

Les AGPI à longue chaîne de la série n-3, EPA et DHA, caractéristiques de l'huile de poisson, entraînent une diminution de la concentration en triglycérides plasmatiques chez l'homme (Lindsey *et al.*, 1992 ; Suzukawa *et al.*, 1995 ; Harris, 1997), le hamster (Surette *et al.*, 1992) ou le rat (Ventura *et al.*, 1989 ; Morgado *et al.*, 2005). Il semble que cette diminution de la teneur en triglycérides est dûe à une inhibition de la lipogenèse hépatique ainsi qu'à une augmentation de la  $\beta$ -oxydation des acides gras dans le foie, ce qui entraîne une diminution de la synthèse et de la sécrétion des VLDL par le foie (Nestel *et al.*, 1984 ; Surette *et al.*, 1992 ; Davidson, 2006). Certaines études suggèrent que le DHA a un pouvoir hypotriglycéridémiant plus important que l'EPA (Grimsgaard *et al.*, 1997 ; Mori *et al.*, 2000 ; Buckley *et al.*, 2004). Par contre, l'effet des AGPI n-3 à longue chaîne sur la cholestérolémie est variable selon les études (Harris, 1989, 1997). Généralement, la supplémentation en huile de poisson, en DHA ou en l'EPA a peu d'effet sur la concentration en cholestérol total, n'affecte pas ou tend à augmenter les concentrations en cholestérol-LDL et cholestérol-HDL chez l'homme (Sanders et Hinds, 1992 ; Leigh-Firbank *et al.*, 2002 ; Rivellese *et al.*, 2003 ; Buckley *et al.*, 2004). Par contre, comparé à un aliment riche en acides gras saturés (huile de coprah ou saindoux), l'huile de poisson entraîne une diminution des concentrations en cholestérol total, cholestérol-LDL et cholestérol-HDL chez le rat (Balasubramaniam *et al.*, 1985 ; Tripodi *et al.*, 1991 ; Morgado *et al.*, 2005), le hamster (Lin *et al.*, 1995) ou le porc (Groot *et al.*, 1989 ; Allan *et al.*, 2001). Chez l'homme, l'addition d'huile de poisson à un aliment riche en acides gras saturés induit une diminution des concentrations en cholestérol

total et cholestérol-HDL mais ne modifie pas significativement la concentration en LDL-cholestérol (Nordöy *et al.*, 1993).

Les acides gras de l'alimentation semblent moduler les concentrations en cholestérol et cholestérol-LDL du plasma en régulant l'activité du R-LDL (Dietschy, 1998 ; Fernandez et West, 2005). En effet, la diminution du taux de cholestérol plasmatique et cholestérol-LDL observée lors du remplacement des AGsat de l'aliment par des acides gras insaturés a notamment été associée à une augmentation du captage des LDL plasmatiques par le foie *via* le R-LDL chez le cobaye (Fernandez *et al.*, 1992) et le hamster (Daumerie *et al.*, 1992 ; Woollett *et al.*, 1992b ; Horton *et al.*, 1993). Cette augmentation du captage des LDL semble liée à une augmentation de la quantité de R-LDL dans le foie chez ces espèces (Fernandez *et al.*, 1992 ; Horton *et al.*, 1993 ; He et Fernandez, 1998). Chez le cobaye l'affinité du récepteur pour les LDL n'est pas affectée par la modification de la composition en acides gras de l'aliment (Fernandez *et al.*, 1992 ; He et Fernandez, 1998). Une augmentation du taux d'ARNm R-LDL est également observée suite à l'ingestion d'aliments riches en acides gras insaturés comparé à des aliments riches en acides gras saturés, indiquant une régulation moléculaire du R-LDL chez le hamster (Horton *et al.*, 1993), le porc (Mustad *et al.*, 1996) ou les primates (Hennessy *et al.*, 1992). Chez les rongeurs, Spady *et al.* (1993) ont émis l'hypothèse que les acides gras régulent l'activité du R-LDL hépatique selon un mécanisme faisant intervenir l'acyl-CoA cholestérol acyltransférase (ACAT). L'activité de l'ACAT influencerait sur la quantité de cholestérol libre intracellulaire qui module la transcription du gène R-LDL par l'intermédiaire de SREBP-2 (Spady *et al.*, 1993). Selon cette hypothèse, lorsque les cellules sont enrichies en acides gras saturés, qui sont des substrats peu favorables à l'ACAT, l'activité ACAT intracellulaire est partiellement inhibée, ce qui augmente le pool de cholestérol libre et inhibe l'activité du R-LDL alors que l'effet inverse est observé lorsque les cellules sont enrichies en acides gras insaturés.

Chez les poissons, la composition en acides gras des lipides contenus dans les lipoprotéines est modulée par la nature des acides gras de l'aliment (Lie *et al.*, 1993 ; Torstensen *et al.*, 2000, 2004a). Peu d'études ont porté sur les effets de la composition en acides gras de l'aliment sur la concentration des différentes classes de lipoprotéines et sur leur composition en lipides. Chez la truite arc-en-ciel ainsi que chez le bar, l'inclusion d'huile de soja dans l'aliment n'affecte pas les concentrations en cholestérol et triglycérides du plasma (Figueiredo-Silva *et al.*, 2005). Chez le saumon Atlantique, la substitution totale de l'huile de

poisson par de l'huile de colza, de palme ou de tournesol n'entraîne pas de modification des concentrations en cholestérol et triglycérides du plasma ni de la composition en lipides des lipoprotéines (Torstensen *et al.*, 2000, 2004a). Cependant, chez cette même espèce, la teneur en HDL est diminuée par l'utilisation de l'huile de palme comme seule source lipidique de l'aliment (Torstensen *et al.*, 2000).

### **I.2.3. La lipoprotéine lipase : régulateur du captage des triglycérides par les cellules**

#### ***I.2.3.1. La lipoprotéine lipase***

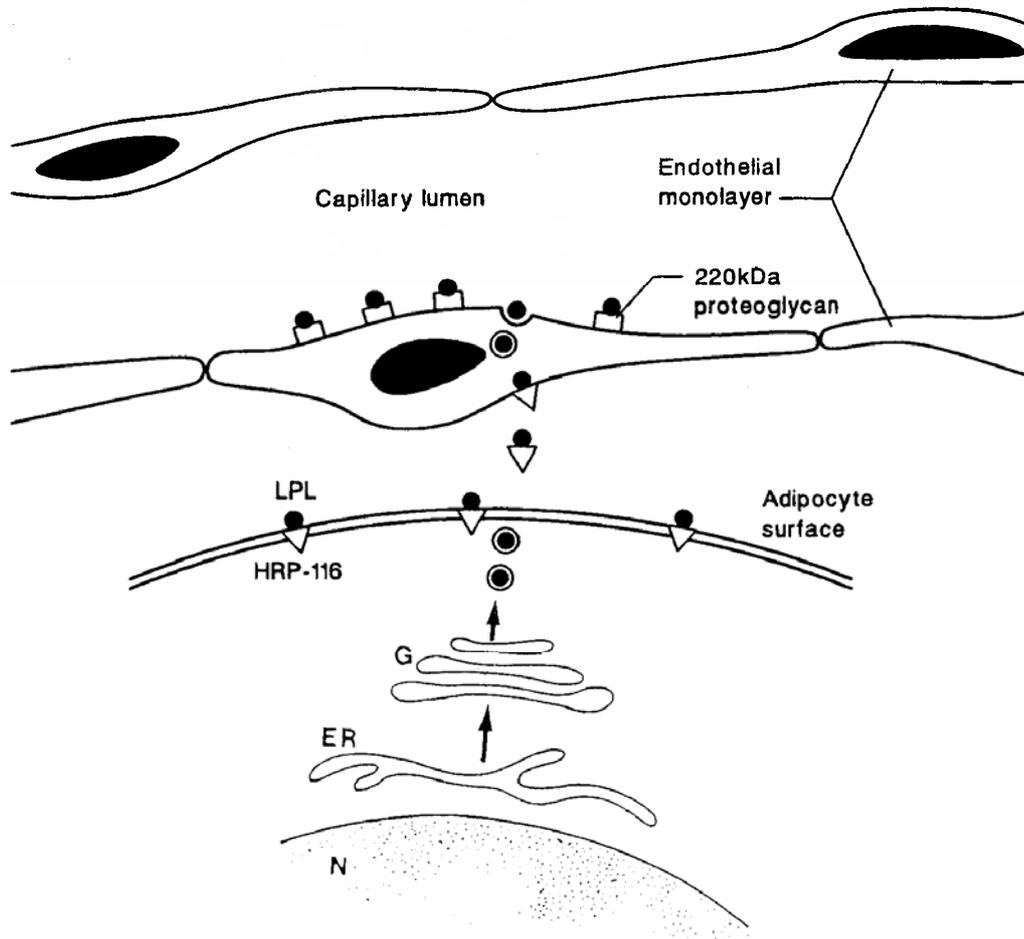
La LPL est une enzyme clé du métabolisme des lipoprotéines qui contrôle le captage des acides gras par les tissus. Elle appartient à la même famille de lipase que la lipase pancréatique (sécrétée dans le duodénum et agissant sur les triglycérides alimentaires) et la lipase hépatique (présente à la surface de l'endothélium des capillaires hépatiques, elle hydrolyse les triglycérides et phospholipides des lipoprotéines et a une forte affinité pour les HDL) (Kirchgessner *et al.*, 1989 ; Hide *et al.*, 1992).

Chez les poissons, Skinner *et al.* (1980) ont mis en évidence dans le plasma de truite, après une injection d'héparine, l'existence d'une activité LPL dont les propriétés sont similaires à celles de la LPL des mammifères. Cette enzyme a par la suite été caractérisée par Skinner et Youssef (1982) qui ont pu établir que les propriétés de la LPL de truite sont similaires à celles caractérisant la LPL des mammifères.

La LPL catalyse l'hydrolyse des liaisons esters des triglycérides présents dans les lipoprotéines riches en triglycérides (chylomicrons et VLDL principalement) en 2-monoacylglycérol et acides gras libres (Braun et Severson, 1992 ; Goldberg, 1996). Chez les mammifères, la LPL nécessite un cofacteur activateur présent à la surface des lipoprotéines : l'apo-CII (LaRosa *et al.*, 1970). Frémont *et al.* (1987) ont montré que la LPL de truite est activée par l'apo-CII humaine et plus faiblement par l'apo-CII de truite.

La LPL est synthétisée par les cellules parenchymateuses des tissus (Camps *et al.*, 1990). Un schéma de la voie de biosynthèse et de la translocation de la LPL jusqu'aux capillaires est présenté sur la **Figure I.4**.

**Figure I.4 :** Schéma de la synthèse, de la maturation et de la translocation de la lipoprotéine lipase (d'après Fielding et Fielding, 1996)



La LPL est synthétisée dans le réticulum endoplasmique des cellules parenchymateuses, adipocyte par exemple, sous forme d'un monomère inactif de 55,5 KDa (Vannier et Ailhaud, 1989). Ce précurseur inactif subit ensuite des modifications au niveau de l'appareil de golgi, qui consistent en des conversions, des ajouts de motifs oligosaccharidiques, des remodelages des chaînes glycosyls. La LPL se retrouve alors sous forme d'un dimère actif de 58 KDa, qui correspond à la forme sécrétable de l'enzyme (Vannier et Ailhaud, 1989). L'acquisition de l'activité LPL est donc un phénomène post-traductionnel intracellulaire nécessitant la glycosylation de l'enzyme. L'enzyme active est ensuite libérée par l'adipocyte et serait transportée dans l'espace intercellulaire, liée à une protéine (HRP-116), jusqu'aux cellules endothéliales des capillaires (Fielding et Fielding, 1996). La LPL est captée par les cellules endothéliales et est transportée par un mécanisme

encore inconnu jusqu'à la surface endothéliale des capillaires, où elle se fixe aux chaînes glycanes des protéoglycanes héparan-sulfate du glycocalix des cellules (Cisar *et al.*, 1989 ; Fielding et Fielding, 1996). Localisée dans la partie la plus externe du glycocalix elle peut alors interagir avec les lipoprotéines riches en triglycérides. La LPL est active à la surface endothéliale des capillaires des tissus chez les poissons (Skinner *et al.*, 1980) comme chez les mammifères.

La majorité des acides gras libérés par la LPL sont captés par les cellules parenchymateuses des tissus mais une partie peut être transportée dans la circulation générale, lié à l'albumine, vers d'autres sites pour être métabolisés (Samra *et al.*, 1996). Le devenir des acides gras dans les cellules dépend ensuite du tissu et de l'état nutritionnel. Dans le tissu adipeux par exemple, la plupart des acides gras sont réestérifiés en triglycérides pour être stockés, alors que dans le muscle squelettique, ils entrent dans un pool de triglycérides pour un stockage temporaire et leur sort final est la  $\beta$ -oxydation mitochondriale qui fournira de l'énergie. Le passage des acides gras à travers la membrane des cellules parenchymateuses n'est pas encore bien connu, mais il semble se faire grâce à un gradient de concentration créé par l'utilisation ou la réestérification de ces acides gras dans les cellules (Scow *et al.*, 1985).

Chez la truite, la plus forte activité LPL est mesurée dans le tissu adipeux, principal site de stockage des lipides, et une activité plus faible est mesurée dans le muscle rouge, le muscle blanc, le cœur ou le cerveau (Black *et al.*, 1983 ; Black et Skinner, 1986 ; Lindberg et Olivecrona, 1995). A la différence des mammifères, il existe également une activité LPL dans le foie des poissons, même chez l'adulte (Black *et al.*, 1983 ; Black et Skinner, 1986 ; Lindberg et Olivecrona 1995). Chez les mammifères, la LPL s'exprime dans le foie pendant le stade fœtal et juste après la naissance mais après la période de sevrage, l'ARNm LPL n'est plus détectable dans ce tissu (Vilaro *et al.*, 1988 ; Semenkovich *et al.*, 1989 ; Gimenez-Llort *et al.*, 1991 ; Peinado-Onsurbe *et al.*, 1992).

La plupart des études menées sur la LPL chez les poissons traitent de sa caractérisation (Skinner *et al.*, 1980 ; Skinner et Youssef, 1982 ; Black *et al.*, 1983 ; Frémont *et al.*, 1987 ; Lindberg et Olivecrona, 1995, 2002), de sa régulation par le jeûne et la réalimentation (Black et Skinner, 1986 ; Liang *et al.*, 2002a ; Albalat *et al.*, 2006), de la caractérisation du gène LPL (Arnault *et al.*, 1996 ; Lindberg et Olivecrona, 2002 ; Oku *et al.*, 2002) ou encore de la

régulation par l'insuline et TNF $\alpha$  (Albalat *et al.*, 2006). Peu d'études ont donc été réalisées chez les poissons concernant l'effet du taux et de la nature des lipides alimentaires sur la LPL.

### ***1.2.3.2. Effets de la teneur en lipides de l'aliment sur la lipoprotéine lipase***

Bien que l'insuline soit un des principaux régulateurs de l'activité LPL chez les mammifères, une étude réalisée chez l'homme a montré que la stimulation de l'activité LPL du tissu adipeux induite par l'insuline peut être modifiée par la présence des lipides dans l'aliment (Sadur *et al.*, 1984). La quantité de lipides ingérée a donc un impact sur l'activité LPL. En effet l'augmentation de la teneur en lipides de l'aliment entraîne une augmentation de l'activité LPL du plasma post-hépariné chez l'homme et le rat (Coiffier *et al.*, 1987 ; Campos *et al.*, 1995 ; Murphy *et al.*, 1995). Chez le rat, l'ingestion d'aliments riches en lipides induit une augmentation de l'activité LPL dans le tissu adipeux brun, le cœur, le diaphragme et une diminution dans le tissu adipeux blanc épидидymal et périrénal (Deshaies *et al.*, 1988 ; Erskine *et al.*, 1994). Chez cette même espèce, une alimentation riche en lipides augmente le taux d'ARNm LPL dans le tissu adipeux brun et le diminue dans le tissu adipeux blanc épидидymal, mais le taux d'ARNm n'est pas modifié dans le tissu adipeux blanc périrénal, le cœur et le diaphragme (Takahashi *et al.*, 2000 ; Takahashi et Ide, 1999 ; Erskine *et al.*, 1994 ; Takahashi et Ide, 2001). La régulation de la LPL par la teneur en lipides de l'aliment paraît donc variable selon les tissus chez les mammifères. Les mécanismes moléculaires impliqués dans cette régulation ne sont pas bien connus.

Chez les poissons, peu de données sont disponibles concernant la régulation de la LPL par la teneur en lipides de l'aliment. Néanmoins, chez la truite arc-en-ciel, l'activité LPL est augmentée dans le tissu adipeux périviscéral avec un aliment riche en lipides alors qu'elle n'est pas modifiée dans le muscle et le foie (Arantzamendi, 2002). Chez la daurade royale, une augmentation du taux de lipides dans l'alimentation entraîne une élévation du taux d'ARNm LPL dans le foie des animaux à jeûn, alors qu'il n'y a pas de modification du taux d'ARNm LPL dans le tissu adipeux périviscéral (Liang *et al.*, 2002b). Ces données semblent indiquer une régulation tissu spécifique de la LPL par la teneur en lipides de l'aliment, avec une augmentation des capacités de captage des acides gras dans les principaux tissus de stockage des lipides (tissu adipeux chez la truite et foie chez la daurade) lorsque l'apport de lipides alimentaire est élevé.

### ***1.2.3.3. Effets de la nature des acides gras de l'aliment sur la lipoprotéine lipase***

Il a été mis en évidence que la LPL peut être régulée par les acides gras chez les mammifères (Mead *et al.*, 2002 ; Merkel *et al.*, 2002). Chez l'homme, l'effet des AGPI n-3 sur l'activité LPL du plasma post-hépariné est variable selon les études. En effet, certaines études montrent une augmentation de l'activité LPL suite à l'ingestion d'aliments riches en AGPI n-3 (Zampelas *et al.*, 1994 ; Khan *et al.*, 2002 ; Harris *et al.*, 1997) alors que dans d'autres études, l'activité LPL ne varie pas (Harris *et al.*, 1988 ; Nozaki *et al.*, 1991 ; Murphy *et al.*, 1999 ; Park et Harris, 2003). Ces observations différentes selon les études pourraient être liées à la teneur en glucose des régimes et à l'insulinémie, l'insuline étant un régulateur majeur de l'activité LPL. Cependant dans l'étude de Zampelas *et al.* (1994), l'augmentation de l'activité LPL du plasma observée suite à l'ingestion d'un aliment riche en AGPI n-3 à longue chaîne, est indépendante de l'insulinémie. Chez le rat, l'utilisation d'huile de poisson comme principale source lipidique dans l'alimentation induit une augmentation de l'activité LPL dans le muscle soléus (Baltzell *et al.*, 1991). Chez cette même espèce, le taux d'ARNm LPL est diminué dans le tissu adipeux rétro-péritonéal, augmenté dans le tissu adipeux épидидymal et n'est pas modifié dans les tissus adipeux périrénal et sous-cutané (Coiffier *et al.*, 1987 ; Murphy *et al.*, 1993). Une étude *in vitro* a montré que le taux d'ARNm, la synthèse ainsi que la sécrétion de LPL par des adipocytes de poulet sont diminués par une administration chronique d'acides gras des séries n-3 et n-6 (EPA et acide linoléique) (Montalto et Bensadoun, 1993).

Une forte teneur en AGPI n-6 dans l'aliment (principalement acide linoléique) augmente l'activité LPL du plasma chez le rat, ainsi que le taux d'ARNm LPL dans le tissu adipeux périrénal mais n'a pas d'effet dans le tissu adipeux épидидymal (Coiffier *et al.*, 1987 ; Murphy *et al.*, 1993). Sur une lignée d'adipocytes en culture, Amri *et al.* (1996) observent une augmentation du taux d'ARNm LPL avec l'acide linoléique alors que l'activité LPL est diminuée et que la quantité de LPL reste stable.

Chez le poulet, dans les adipocytes en culture, l'acide oléique n'a pas d'effet sur le taux d'ARNm, la synthèse et la sécrétion de LPL (Montalto et Bensadoun, 1993). Par contre l'acide oléique diminue l'activité ainsi que le taux d'ARNm LPL sur des adipocytes de rat (Kirkland *et al.*, 1994). Un aliment riche en acides oléique et palmitique (contenant de l'huile de palme) diminue l'activité LPL du plasma post-hépariné du rat comparé à un aliment riche en acide linoléique (huile de tournesol) (Groot *et al.*, 1988). Cependant, ces deux types

d'huile n'entraînent pas de variation du taux d'ARNm LPL dans les tissus adipeux blancs épидидymal et périrénal ainsi que dans le tissu adipeux brun interscapulaire du rat (Takahashi et Ide, 1999).

L'ensemble de ces données indique que la régulation de la LPL par les acides gras diffère en fonction des espèces et des tissus et suggère un contrôle à un niveau post-traductionnel. Des travaux menés *in vitro* sur des macrophages de souris montrent que certains acides gras (acides linoléique et palmitique) régulent l'expression du gène LPL à un niveau transcriptionnel impliquant la voie des "peroxisome proliferator activated receptors" (PPARs), alors que d'autres acides gras agiraient à des niveaux à la fois post-transcriptionnel et traductionnel (EPA et acide arachidonique) ou à la fois post-transcriptionnel et post-traductionnel (acide stéarique) (Michaud et Renier, 2001). Les facteurs impliqués dans la régulation du gène LPL par les acides gras ne sont pas encore bien connus.

Chez les poissons, peu de travaux ont été consacrés à l'étude de la régulation de la LPL par la nature des acides gras de l'aliment. Chez la truite, le remplacement de l'huile de poisson de l'aliment par de l'huile de lin, riche en acide linoléique, n'induit pas de modification de l'activité LPL dans le tissu adipeux périviscéral, le muscle blanc et le foie (Arantzamendi, 2002). Des données indiquent une régulation tissu spécifique de l'expression du gène LPL chez la daurade royale. Des aliments supplémentés en acide oléique en combinaison avec l'acide linoléique ou des AGPI n-3 (EPA et DHA) conduisent à une augmentation du taux d'ARNm LPL dans le foie alors que dans le tissu adipeux périviscéral il est diminué (Liang *et al.*, 2002b).

### I.3. Objectifs du travail

L'objectif de ces travaux est d'étudier les effets de la nature des acides gras de l'aliment ainsi que de la teneur en lipides de l'aliment sur les voies d'apport des lipides aux tissus (synthèse endogène, transport et captage des lipides). Le but de ce travail est également d'améliorer les connaissances actuelles sur les mécanismes déterminant la teneur en lipides et la composition en acides gras de la chair des poissons.

Pour cela, deux espèces d'intérêt commercial ont été choisies, une espèce d'eau douce, la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) et une espèce marine, le bar Européen (*Dicentrarchus labrax*). Ces deux espèces se distinguent notamment par leur site préférentiel de stockage des lipides qui est le tissu adipeux périviscéral dans le cas de la truite arc-en-ciel et le foie pour le bar.

La première partie de ce travail a été consacré à l'étude de l'effet de la composition en acides gras des lipides alimentaires dans le contexte du remplacement des huiles de poisson par des huiles d'origine végétale dans les aliments aquacoles.

Nous avons évalué l'influence du remplacement partiel ou total de l'huile de poisson par des mélanges d'huiles végétales (huiles de colza, de palme, de lin) depuis les premières prises alimentaires des poissons et pendant une longue période d'élevage (supérieure à 1 an).

La seconde partie traite des effets de la teneur en lipides de l'aliment en interaction avec le génotype chez la truite arc-en-ciel (deux lignées présentant une répartition différente des dépôts lipidiques) et en interaction avec la température d'élevage chez le bar Européen.

Dans ces deux parties nous avons étudié :

- les performances de croissance des poissons
- la lipogenèse hépatique
- le transport des lipides par les lipoprotéines plasmatiques
- le captage tissulaire des lipides



## **Matériel et méthodes**



## II. MATERIEL ET METHODES

Quatre expériences ont été réalisées, deux concernant l'étude des effets de la nature des lipides alimentaires sur les mécanismes intervenant dans la constitution des dépôts lipidiques chez la truite et le bar (chapître 3, expériences 1 et 2) et deux expériences traitant des effets de la teneur en lipides de l'aliment sur ces mécanismes chez ces deux mêmes espèces (chapître 4, expériences 3 et 4) (**Tableau II.1**).

Ce chapître traite de l'ensemble des méthodes analytiques utilisées lors de la réalisation de ces expériences. Les conditions de réalisation propres à chaque expérience (matériel biologique, régimes alimentaires, échantillons prélevés) sont détaillées dans les chapîtres concernés.

**Tableau II.1** : Tableau récapitulatif des différentes expériences

<ul style="list-style-type: none"><li>◆ <b>Effets de la nature des lipides de l'aliment</b> (Chapître 3) :<ul style="list-style-type: none"><li>❖ <b>Chez la truite arc-en-ciel</b> (Expérience 1) :<ul style="list-style-type: none"><li>- PMI : 0,12 g</li><li>- Durée : 62 semaines</li><li>- Aliments : HP100 (100% huile de poisson), HV75 (75% huiles végétales), HV100 (100% huiles végétales)</li></ul></li><li>❖ <b>Chez le bar Européen</b> (Expérience 2) :<ul style="list-style-type: none"><li>- PMI : 5,2 g</li><li>- Durée : 64 semaines</li><li>- Aliments : HP (100% huile de poisson), HV1 et HV2 (60% huiles végétales)</li></ul></li></ul></li><li>◆ <b>Effets du taux de lipides de l'aliment</b> (Chapître 4) :<ul style="list-style-type: none"><li>❖ <b>Chez la truite arc-en-ciel</b> (Expérience 3) :<ul style="list-style-type: none"><li>- 2 lignées sélectionnées sur le contenu en lipides du muscle</li><li>- PMI : 0,16 g</li><li>- Alimentation précoce : - Durée : 6 mois<ul style="list-style-type: none"><li>- Aliments : M (10% lipides) et G (23% lipides)</li></ul></li><li>- Alimentation de finition : - Durée : 7 mois<ul style="list-style-type: none"><li>- Aliment commercial (28% lipides)</li></ul></li></ul></li><li>❖ <b>Chez le bar Européen</b> (Expérience 4) :<ul style="list-style-type: none"><li>- PMI : 50 g</li><li>- Température de l'eau : 16°C ou 22°C</li><li>- Durée : 17 semaines</li></ul></li></ul></li></ul>
---

PMI : poids moyen initial

## II.1. Prélèvements des échantillons

Les poissons sont prélevés et tués par un coup sur la tête puis sont pesés individuellement.

Un prélèvement de sang (expériences 1, 2 et 4) est effectué au niveau de la veine caudale à l'aide d'une seringue contenant de l'EDTA à 0,01%. Le plasma est obtenu par centrifugation du sang à 3000g pendant 10 minutes. De l'azide de sodium ( $\text{NaN}_3$ ) est ajouté au plasma (concentration finale en azide de sodium : 0,04%). Les aliquots de plasma destinés à la séparation des différentes classes de lipoprotéines sont conservés à 4°C jusqu'aux ultracentrifugations et ceux destinés aux dosages des lipides plasmatiques sont stockés à -20°C.

Les foies et les viscères des poissons sont pesés afin de calculer les indices hépatosomatiques (IHS) et viscérosomatiques (IVS) dont les formules sont les suivantes :

$$\text{IHS} = (\text{poids foie/poids corporel}) \times 100$$

$$\text{IVS} = (\text{poids viscères/poids corporel}) \times 100$$

Selon les expériences, après dissection, des échantillons des tissus suivants sont prélevés :

- échantillons de muscle blanc prélevés au niveau de la partie latéro-dorsale antérieure pour les mesures d'activité et d'expression de la LPL
- foie, après avoir retiré la vésicule biliaire sans la percer, pour les mesures d'activité et d'expression de la LPL ainsi que des enzymes de la lipogenèse hépatique (G6PDH, EM, AGS)
- échantillons de tissu adipeux périviscéral pour les mesures d'activité et d'expression de la LPL
- filet latéro-dorsal pour les analyses de la composition en lipides et en acides gras du muscle

Ces échantillons sont immédiatement congelés dans l'azote liquide puis stockés à -80°C.

## II.2. Analyse de la composition des aliments

❖ **Détermination de la matière sèche** : Le pourcentage d'eau contenue dans les échantillons est mesuré par différence de masse de la prise d'essai avant et après dessiccation dans une étuve à 105°C pendant 24 heures.

❖ **Détermination de l'énergie brute** : L'énergie brute est déterminée à partir de la quantité de chaleur dégagée par la combustion de l'échantillon, sous pression d'oxygène de 25 atmosphères dans un calorimètre adiabatique (IKA C4000).

❖ **Détermination de la teneur en protéines** : La teneur en protéines est déterminée par le dosage de l'azote total par la méthode de Kjeldahl à l'aide d'un appareil Kjeltex auto 2300 analyser, après minéralisation à chaud par de l'acide sulfurique concentré en présence d'un catalyseur.

❖ **Détermination de la teneur en amidon** : Le taux d'amidon est déterminé par la méthode enzymatique gluco-amylase/glucose oxydase de Thivend *et al.* (1972).

❖ **Quantification des lipides totaux** : La teneur en lipides totaux est déterminée selon la méthode décrite ci-dessous pour la chair des poissons.

### **II.3. Quantification des lipides totaux, neutres, polaires et analyse de la composition en acides gras de la chair des poissons**

#### **II.3.1. Quantification des lipides totaux**

Le dosage des lipides totaux dans le muscle des poissons est réalisé selon la méthode de Folch *et al.* (1957) en remplaçant le chloroforme par du dichlorométhane qui est moins toxique.

L'échantillon est broyé à l'aide d'un Ultraturrax IKA T 25 dans un mélange dichlorométhane/méthanol (2/1), contenant 0,01% de BHT (agent antioxydant) puis est filtré 3 fois sous vide (filtre Wathman GF/A55mm déposé sur membrane de filtration en acier inox, recouvert de silice). Le volume final du filtrat obtenu est ajusté à 150 ml avec le même mélange de solvants. Le filtrat est lavé avec 37,5 ml d'une solution de NaCl à 0,73% puis subit une décantation de 12 heures. Durant la décantation, les impuretés hydrosolubles passent dans la phase méthanol/eau tandis que les lipides restent dans le dichlorométhane. La phase inférieure organique est collectée et le solvant est éliminé à l'aide d'un évaporateur rotatif (rotavapor Büchi). A l'issue de l'évaporation, la quantité de lipides est déterminée par pesée après dessiccation.

### **II.3.2. Quantification des lipides neutres et polaires**

Les lipides neutres et polaires sont séparés selon la technique de Juaneda et Rocquelin (1985). Sur une mini-colonne de silice sont déposés 500 µl (60 à 80 mg) de lipides totaux extraits des échantillons par la technique de Folch et resolubilisés dans le mélange dichlorométhane/méthanol. Les lipides neutres sont élués par 30 ml de dichlorométhane puis les lipides polaires sont décrochés de la colonne par 30 ml de méthanol. Après évaporation et dessiccation les quantités de lipides neutres et polaires sont déterminées par gravimétrie.

### **II.3.3. Analyse de la composition en acides gras des lipides**

La composition en acides gras est déterminée sur les lipides totaux, neutres et polaires, extraits selon la méthode de Folch. Les esters méthyliques d'acides gras sont préparés selon la méthode décrite par Shantha et Ackman (1990). Les lipides extraits (100 mg) sont saponifiés par 6 ml de potasse méthanolique 0,5 M, à 100°C pendant 10 minutes. Après refroidissement, les acides gras sont méthylés avec 10 ml de trifluorure de bore-méthanol 14% à 100°C pendant 30-40 minutes. Après refroidissement, 10 ml d'eau déminéralisée et 10 ml d'hexane contenant 0,02% de BHT sont ajoutés. Les tubes sont ensuite centrifugés 5 minutes à 3000 rpm pour accélérer la séparation des phases et la phase organique est transférée dans une ampoule à décanter. La phase organique supérieure obtenue est récupérée puis filtrée sur du sulfate de sodium anhydre.

Les esters méthyliques obtenus sont analysés à l'aide d'un chromatographe Varian 3800, équipé d'une colonne DB Wax de haute polarité (polyéthylèneglycol) de 30 m × 0,25 mm de diamètre interne, avec une épaisseur de film de 0,25 µm (J&W Scientific, Folsom, CA, USA). L'hélium est utilisé comme gaz vecteur (1,4 ml/min). Le gradient thermique du four utilisé est de 100 à 180°C à 8°C/min, 180 à 220°C à 4°C/min et une température constante de 220°C pendant 20 minutes. L'injection est de type split/splitless avec un passeur automatique. Les températures de l'injecteur et du détecteur à ionisation de flamme sont fixées respectivement à 260 et 250°C. Les esters méthyliques d'acides gras sont identifiés par comparaison avec des standards (Sigma, St Louis, MO, USA) et quantifiés par le logiciel Star (Varian).

## II.4. Mesures des activités enzymatiques

### II.4.1 . Mesure de l'activité de la lipoprotéine lipase (LPL)

#### II.4.1.1. Principe

La mesure de l'activité de la LPL est réalisée selon la méthode de Bengtsson-Olivecrona et Olivecrona (1992), à l'aide d'une émulsion artificielle d'Intralipide marquée radioactivement par de la trioléine tritiée. Le dosage est basé sur la mesure de la radioactivité des acides gras libérés par l'action de la LPL sur la trioléine tritiée.

#### II.4.1.2. Dosage

Environ 1 gramme de tissu congelé à  $-80^{\circ}\text{C}$  est broyé à l'aide d'un potter équipé d'un moteur à vitesse rapide dans un tampon de broyage (25 mM d'ammoniaque 28%, EDTA 5 mM, Triton X-100 1%, SDS 0,1%, héparine 1250 UI, pepstatine A 1  $\mu\text{g/ml}$ , leupeptine 10  $\mu\text{g/ml}$ , aprotinine 4,25 IU, pH 8,2). Le volume de tampon utilisé pour chaque broyage est égal à 9 fois le poids de l'échantillon. Les broyats sont centrifugés à 20000g à  $4^{\circ}\text{C}$  pendant 20 minutes sans frein. Environ 2,5 ml du surnageant, représentant la phase cytosolique, sont prélevés et un aliquot est dilué 5 fois dans de l'eau déminéralisée. L'activité LPL est mesurée à partir de cette dilution 1/5, à l'aide d'une émulsion artificielle d'Intralipide marquée radioactivement (2,5 ml d'Intralipide 10%, 40  $\mu\text{l}$  de Trioléine tritiée à 5 mCi/ml). La trioléine tritiée est incorporée par sonication (10 minutes à  $4^{\circ}\text{C}$ , puissance 20, intervalle de temps 1,5 secondes). Trois essais sont réalisés par échantillon. Pour chaque essai, 10  $\mu\text{l}$  d'émulsion marquée sont mélangés à 165  $\mu\text{l}$  de mélange réactionnel (100  $\mu\text{l}$  de tampon d'incubation, 10  $\mu\text{l}$  de sérum de rat inactivé, 55  $\mu\text{l}$  d'eau déminéralisée). Le tampon d'incubation est composé de Tris-HCl 0,3 M pH 8,5, NaCl 0,2 M, Héparine std 0,02%, BSA free FA 12%. Les essais sont mis à incuber 5 minutes dans un bain marie à  $25^{\circ}\text{C}$  sous agitation et la réaction est déclenchée par ajout de 25  $\mu\text{l}$  d'homogénat dilué (1/5). Les blancs sont réalisés en remplaçant les 25  $\mu\text{l}$  d'homogénat dilué par 25  $\mu\text{l}$  d'eau déminéralisée. Après 120 minutes d'incubation sous agitation à  $25^{\circ}\text{C}$ , la réaction est stoppée par addition de 2 ml de mélange d'arrêt de la réaction (480 ml d'isopropanol, 483 ml d'heptane, 10 ml d' $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), et 0,5 ml d'eau déminéralisée. Les tubes sont centrifugés 3 minutes à 2000g à  $4^{\circ}\text{C}$ , et 800  $\mu\text{l}$  de la phase supérieure sont prélevés et transférés dans des tubes à hémolyse. Après addition de 1 ml

d'éthanol alcalin (500 ml d'éthanol 95%, 475 ml d'eau déminéralisée, 25 ml de NaOH 2 M) et de 3 ml d'heptane, les tubes sont de nouveau centrifugés 3 minutes à 2000g à 4°C. La phase heptanique supérieure contenant les triglycérides non hydrolysés est enlevée et la phase inférieure subit un nouveau rinçage avec 3 ml d'heptane puis est centrifugée 3 minutes à 2000g à 4°C. Après élimination de la phase heptanique supérieure, 800 µl de la phase inférieure alcaline éthanolique sont transférés dans une fiole à scintillation dans laquelle sont ajoutés 4 ml de liquide scintillant (Ultima Gold, Packard). La radioactivité est mesurée dans un compteur à scintillation liquide (Packard). La radioactivité mesurée correspond aux acides gras résultant de l'hydrolyse de la trioléine tritiée par la LPL présente dans le surnageant.

L'activité LPL de chaque échantillon est calculée à partir des résultats du comptage exprimés en désintégration par minute (dpm).

L'activité enzymatique totale de la LPL est exprimée en mUI/gramme de tissu, soit en nmoles d'acides gras libérés par minute et par gramme de tissu. Elle est calculée selon la formule suivante :

$$\text{Activité (mUI/g)} = \frac{(\text{dpm éch.} - \text{dpm blanc}) \times \text{eff. extraction} \times \text{dil.} \times \text{Vol. tampon broyage (ml)} \times 1000}{\text{As} \times \text{Vol. homogénat (}\mu\text{l)} \times \text{temps (min)} \times \text{poids échantillon (g)}}$$

L'efficacité d'extraction des acides gras a été déterminée en utilisant une solution d'acide laurique marquée au <sup>14</sup>C, elle est de 44%, ce qui correspond à un coefficient de 2,3 (Arantzamendi, 2002).

L'activité spécifique de l'émulsion (As), en dpm/nmoles, est calculée à partir du comptage d'un standard contenant 10 µl d'émulsion marquée et 4 ml de liquide scintillant.

$$\text{Activité (mUI/mg protéines)} = \frac{\text{Activité (mUI/g tissu)}}{\text{Concentration en protéines (mg/g tissu)}}$$

## **II.4.2. Mesure de l'activité de trois enzymes de la lipogenèse : glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PDH), enzyme malique (EM), acide gras synthase (AGS)**

### ***II.4.2.1. Préparation des homogénats hépatiques***

Les échantillons de foie sont broyés dans un volume de tampon de broyage (Tris HCl 0,02 M, saccharose 0,25 M, β-mercapto-éthanol 0,01 M, EDTA 2 mM, fluorure de sodium 0,1

M, phényl méthyl sulfonyl fluorure 0,5 mM, pH 7,4) égal à trois fois le poids du foie. Le broyage est réalisé dans la glace à l'aide d'un potter à vitesse rapide. Les homogénats sont ensuite centrifugés à 15000g pendant 20 minutes à 4°C sans frein. La phase cytosolique claire située au milieu du tube entre une couche blanchâtre supérieure (lipides) et le culot, est récupérée. Ce surnageant servira aux mesures de l'activité des 3 enzymes de la lipogenèse et au dosage des protéines.

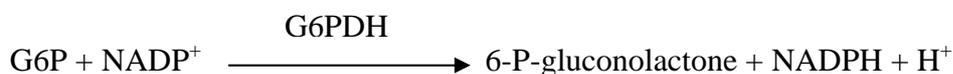
#### ***II.4.2.2. Mesure des activités G6PDH et EM***

##### ***❖ Mesure de l'activité G6PDH***

##### **Principe**

L'activité de la G6PDH (EC 1.1.1.49) est mesurée par une méthode spectrophotométrique (Bautista *et al.*, 1988). Le principe de ce dosage est basé sur la transformation du glucose-6-phosphate (G6P) en 6-phosphogluconolactone par la G6PDH. Pour une mole de substrat transformée, une mole de NADPH est formée. La cinétique d'apparition du NADPH permet de déterminer l'activité enzymatique de la G6PDH.

La réaction catalysée est la suivante :



##### **Dosage**

Les essais sont préparés dans des cuves spectrophotométriques thermostatées à 30°C par ajout de 540 µl de mélange réactionnel (Tris HCl 0,12 M pH 7,8, MgCl<sub>2</sub> 11,8 mM, NADP 0,23 mM), 290 µl d'eau distillée, 10 µl d'homogénat et 60 µl de G6P 20 mM. La réaction est déclenchée par l'ajout du substrat (G6P). La variation d'absorbance à 340 nm due à l'apparition de NADPH dans le milieu est suivie pendant 60 secondes. Les blancs sont réalisés en remplaçant les 60 µl de G6P par 60 µl d'eau déminéralisée.

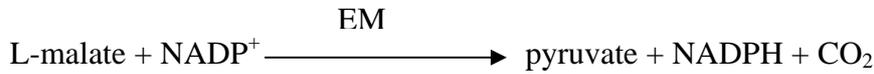
##### ***❖ Mesure de l'activité de l'EM***

##### **Principe**

L'activité de l'EM (EC 1.1.1.40) est mesurée selon une méthode spectrophotométrique (Ochoa, 1955). Le principe de ce dosage est basé sur la transformation du L-malate en

pyruvate par l'EM. Pour une mole de substrat transformée, une mole de NADPH est formée. La cinétique d'apparition du NADPH dans le milieu permet de déterminer l'activité enzymatique de l'EM.

La réaction catalysée est la suivante :



### Dosage

Les essais sont préparés dans des cuves spectrophotométriques thermostatées à 30°C par ajout de 600 µl de mélange réactionnel (glycyl glycine 37,5 mM pH 7,4, MnCl<sub>2</sub> 1,5 M, NADP 0,2 mM), 200 µl d'eau distillée, 50 µl de L-malate 15 mM et 50µl d'homogénat. La réaction est déclenchée par l'ajout de l'homogénat. La variation d'absorbance à 340 nm dûe à l'apparition de NADPH dans le milieu est suivie pendant 30 secondes. Les blancs sont réalisés en remplaçant les 50 µl de L-malate par 50 µl d'eau déminéralisée.

#### ❖ *Calculs des activités G6PDH et EM*

L'activité de la G6PDH et de l'EM sont exprimées en UI/g de foie, et UI/mg de protéines. Les formules permettant de calculer les activités sont les suivantes :

$$\text{Activité (UI/g)} = \frac{dA}{dt} \times \frac{1}{6.22} \times \frac{\text{Vol. essai (ml)}}{\text{Vol. extrait (}\mu\text{l)}} \times 1000 \times \frac{V \text{ tampon (ml)}}{\text{Poids foie (g)}}$$

Avec dA/dt = variation de l'absorbance en fonction du temps.

6,22 = coefficient d'extinction molaire du NADPH à 340nm, en mol/l.

$$\text{Activité (UI/mg de prot)} = \frac{\text{Activité (UI/g de foie)}}{\text{Concentration en protéines (mg/g de foie)}}$$

#### *II.4.2.3. Mesure de l'activité de l'AGS*

##### ❖ *Principe*

L'activité de l'AGS (EC 2.3.1.38) est mesurée selon une méthode isotopique (Hsu *et al.*, 1969). Le principe de ce dosage repose sur la synthèse des acides gras à partir d'acétyl-CoA marqué radioactivement selon la réaction suivante :



### ❖ Dosage

Le surnageant (140 µl) est préincubé avec 60 µl du mélange de préincubation (DTT 20 mM, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1 M pH 6,8) pendant 30 minutes minimum à 4°C. Le dithiothréitol préserve les groupements thiols nécessaires au fonctionnement de l'AGS, il doit rester à l'abri de la lumière. Pour chaque essai, 200 µl de mélange réactionnel (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,25 M pH 6,8, β-mercapto-éthanol 12,5 mM, EDTA 7,5 mM, malonyl-CoA 0,125 mM) sont mélangés à 7 µl de mélange marqué (acétyl-CoA <sup>14</sup>C 0,051 mM, acétyl-CoA 0,857 mM), 228 µl d'eau déminéralisée, 15 µl de NADPH 1 mM et 50 µl de surnageant préincubé. La réaction est déclenchée par l'ajout du surnageant. Pour chaque régime, deux blancs sont réalisés, l'un avec un extrait pris au hasard, sans NADPH (le NADPH est remplacé par de l'eau déminéralisée), et l'autre avec du NADPH, sans surnageant (le surnageant est remplacé par de l'eau déminéralisée). Les essais et les blancs sont incubés à 30°C pendant 10 minutes. La réaction est stoppée par addition de 15 µl d'acide perchlorique 60% et 500 µl d'éthanol absolu. Les acides gras synthétisés par l'enzyme sont extraits par ajout de 400 µl d'éther de pétrole et centrifugation afin de faciliter la séparation des phases. La phase éther supérieure est transférée dans une fiole à scintillation. L'extraction est répétée 3 fois. 5 ml de liquide scintillant (Ultima Gold, Packard) sont ajoutés dans la fiole à scintillation, et la radioactivité est mesurée dans un compteur à scintillation liquide (Packard). Deux standards sont réalisés, l'un contenant 1 µl du mélange marqué, 1,2 ml d'éther de pétrole et 5 ml de liquide scintillant et l'autre contenant 1 µl du mélange marqué, 1ml d'eau déminéralisée et 5 ml de liquide scintillant. A partir de la moyenne du comptage de ces standards et de la radioactivité spécifique de la solution d'acétyl-CoA <sup>14</sup>C, il est possible de calculer le nombre de nmoles incorporées dans les acides gras synthétisés.

L'activité de l'AGS en mUI/g et UI/mg de protéines est calculée d'après les formules :

$$\text{Activité AGS (mUI/g tissu)} = \frac{\text{nmoles incorporées} \times \text{Vol.essai (ml)} \times 1000 \times \text{Vol.tampon (ml)}}{\text{Dilution} \times \text{temps} \times \text{Vol.surnageant (ml)} \times \text{poids foie (g)}}$$

$$\text{Activité (UI/mg de prot)} = \frac{\text{Activité (UI/g de foie)}}{\text{Concentration en protéines (mg/g de foie)}}$$

### II.4.3. Dosage des protéines solubles

La concentration en protéines solubles est déterminée sur les surnageants afin de calculer les activités spécifiques des enzymes. Ce dosage est effectué selon la méthode de Bradford (1976) à l'aide du kit commercial Protein Assay (Biorad). La concentration en protéines des échantillons est calculée à partir d'une gamme étalon réalisée avec une solution mère d'albumine bovine sérique (BSA).

### II.5. Séparation des différentes classes de lipoprotéines plasmatiques (VLDL, LDL et HDL)

Les différentes classes de lipoprotéines plasmatiques ("very low density lipoprotein" (VLDL), "low density lipoprotein" (LDL) et "high density lipoprotein" (HDL)) sont séparées selon les techniques de Torstensen *et al.* (2000) et Babin (1986) par ultracentrifugation séquentielle de flottaison du plasma (5 ml) dans une ultracentrifugeuse Kontron T-2060 équipée d'un rotor TFT 65.13. Les VLDL ( $d < 1,015 \text{ g/ml}$ ) sont isolées par ultracentrifugation du plasma ( $d = 1,015 \text{ g/ml}$ ) à  $140000g$  pendant 20 heures à  $4^\circ\text{C}$  sans frein. Les fractions de LDL ( $1,015 \text{ g/ml} < d < 1,085 \text{ g/ml}$ ) et de HDL ( $1,085 \text{ g/ml} < d < 1,21 \text{ g/ml}$ ) sont isolées par ultracentrifugations successives à  $140000g$  à  $4^\circ\text{C}$  sans frein de 20 heures et 40 heures respectivement. Les fractions de lipoprotéines sont récupérées à la surface des tubes à l'aide d'une seringue, leur volume est mesuré puis elles sont stockées à  $-80^\circ\text{C}$ . La densité de la fraction de plasma restante après chaque récupération de fraction de lipoprotéines est portée à la densité appropriée par ajout d'une solution de KBr (densité  $1,37 \text{ g/ml}$ ) contenant  $0,04\%$  d'azide de sodium ( $\text{NaN}_3$ ) et  $0,01\%$  d'EDTA.

Le volume de la solution de KBr à ajouter aux fractions de plasmas pour ajuster leur densité est calculé grâce à la formule de Havel :

$$V_2 = \frac{(D_3 - D_1) \times V_1}{D_2 - D_3}$$

avec  $V_1$  : volume de la fraction de plasma (ml)

$D_1$  : densité de la fraction de plasma (g/ml)

$V_2$  : volume de solution de KBr à ajouter à la fraction de plasma (ml)

$D_2$  : densité de la solution de KBr (g/ml)

Les fractions de lipoprotéines sont dialysées contre une solution de NaCl 0,5M (pH=7,4) contenant 0,01% d'EDTA et 0,04% d'azide de sodium ( $\text{NaN}_3$ ) pendant 24 heures à 4°C.

La pureté des fractions de lipoprotéines est vérifiée par électrophorèse sur gel d'agarose à 0,7% dans un tampon Véronal (acide 5,5-diéthylbarbiturique 8,3 mM, acide 5,5-diéthylbarbiturique sodium 41,6 mM, pH 8,6) après coloration des fractions au noir Soudan.

## **II.6. Détermination des concentrations en cholestérol total, triglycérides, phospholipides, acides gras libres et protéines**

Les dosages de cholestérol total, triglycérides, phospholipides, acides gras libres sont réalisés sur des aliquots de plasma ainsi que sur les différentes fractions de lipoprotéines, selon des méthodes enzymatiques colorimétriques à l'aide de kits commerciaux. Les dosages sont réalisés en utilisant les séquences d'enzymes suivantes :

- pour le cholestérol total (Cholestérol RTU, Biomérieux, Marcy-l'étoile, France) : cholestérol estérase – cholestérol oxydase – peroxydase
- pour les triglycérides (Triglycérides PAP 150, Biomérieux) : lipase – glycérolipase – glycérol-3-phosphate oxydase – peroxydase
- pour les phospholipides (Phospholipides PAP 150, Biomérieux) : phospholipase D – choline oxydase – peroxydase
- pour les acides gras libres (Wako NEFA C, Wako Chemicals, Neuss, Allemagne) : acyl-CoA synthétase – acyl-CoA oxydase – peroxydase.

La concentration en cholestérol total mesurée dans les essais correspond donc à la somme du cholestérol libre et du cholestérol engagé dans une liaison ester. Afin de déterminer les concentrations en cholestérol total, triglycérides, phospholipides et acides gras libres dans les essais, des standards sont réalisés avec des calibrateurs (Calimat, Biomérieux, et calibrateurs des kits). La concentration en protéines du plasma et des différentes fractions de lipoprotéines est mesurée selon la méthode de Bradford (1976) comme décrit précédemment.

## **II.7. Analyse de l'expression des gènes par Northern blot et RT-PCR en temps réel**

### **II.7.1. Extraction des ARN totaux**

L'extraction des ARN totaux est réalisée à l'aide du kit TRIzol Reagent (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA). Les échantillons de tissus congelés à  $-80^{\circ}\text{C}$  sont pesés et plongés dans du TRIzol (1 ml de TRIzol pour 100 mg de tissu) et broyés à l'aide d'un UltraTurrax. Les échantillons sont ensuite centrifugés 15 minutes à 9000g à  $4^{\circ}\text{C}$  afin d'éliminer les débris cellulaires. Le surnageant est récupéré et du chloroforme est ajouté (0,2 ml de chloroforme pour 100 mg de tissu). Après homogénéisation, les tubes sont laissés 3 minutes à température ambiante puis sont centrifugés 20 minutes à 9000g à  $4^{\circ}\text{C}$ . Les ARN totaux sont alors présents dans la phase aqueuse supérieure, tandis que l'ADN se trouve dans la phase phénolique et les protéines à l'interface. Après récupération de la phase aqueuse, les ARN sont précipités par addition d'isopropanol (0,5 ml d'isopropanol pour 100 mg de tissu). Après homogénéisation, les tubes sont laissés 10 minutes à température ambiante puis centrifugés 15 minutes à 9000g à  $4^{\circ}\text{C}$ . Après élimination de l'isopropanol par aspiration sous vide, le culot d'ARN est ensuite lavé à l'éthanol 70% (1 ml d'éthanol 70% pour 100 mg de tissu), séché puis solubilisé dans de l'eau dépourvue de nucléases (Proméga, Madison, WI, USA). Les ARN sont conservés à  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Une électrophorèse sur gel d'agarose 1% permet de vérifier l'intégrité des ARN extraits à travers l'observation des bandes correspondant aux ARNr 18S et 28S. La contamination des ARN par des protéines est vérifiée par le rapport des densités optiques à 260 et 280 nm (le rapport doit être compris entre 1,6 et 2).

La concentration des ARN totaux est obtenue par la mesure de la densité optique à 260 nm (1 unité de densité optique correspondant à une concentration de 40  $\mu\text{g/ml}$ ).

### **II.7.2. Clonage d'ADNc partiels de la G6PDH, de l'AGS et de la LPL de truite**

La méthode est basée sur la technique de RT-PCR (Reverse Transcription – Polymerase Chain Reaction).

### II.7.2.1. Choix des amorces

Les amorces pour le clonage de l'ADNc partiel de la G6PDH ont été désignées sur la séquence de truite disponible (numéro d'accèsion TIGR : TC38722), aux positions 634-653 et 1236-1255 (**Tableau II.2**).

Pour cloner la séquence partielle d'ADNc de l'AGS, les amorces ont été choisies sur la séquence codante EST de truite tcaa 0001c.m.06\_5.1 de la banque SIGENAE (Système d'Information du projet d'Analyse des GENomes des Animaux d'Elevage, <http://www.sigenae.org>) (**Tableau II.2**).

Le couple d'amorces ayant servi au clonage de l'ADNc partiel de la LPL a été défini sur la séquence LPL de truite arc-en-ciel (numéro d'accèsion Genbank : AJ224693) et correspond aux positions 417-436 et 817-837 (**Tableau II.2**).

Les amorces choisies doivent contenir 20 nucléotides chacune et avoir un nombre très proche de bases A et T dans leur séquence pour avoir des températures d'hybridation les plus proches possible.

La température d'hybridation d'une amorce se calcule avec la formule :

$$T_{hyb} = (4GC + 2AT) - 5$$

Avec GC = nombre de G et de C dans la séquence.

AT = nombre de A et de T dans la séquence.

Ces amorces ont été synthétisées par Proligo.

**Tableau II.2 :** Séquences des amorces nucléotidiques utilisées pour le clonage des ADNc partiels de G6PDH, AGS et LPL de truite arc-en-ciel, température d'hybridation des couples d'amorces et taille de l'amplicon

Gènes	Amorce sens	Amorce antisens	T°C d'hybridation	amplicon (pb)
G6PDH	cactacctgggcaaggagat	ttgctcatcatcttggcgta	55	620
AGS	tacgccaatctgccatgga	tcttgttgatggtgagctgt	54	454
LPL	ggtgggcaaagacgtggcca	gtgaagtgtcccatgagcgc	57	421

### ***II.7.2.2. Transcription inverse des ARNm (RT) en ADNc***

Un kit commercial a été utilisé pour l'obtention d'ADNc à partir des ARNm (Reverse Transcription System, Promega, Madison, WI, USA). L'ADNc est généré en ajoutant 15 U de transcriptase inverse (AMV RT) à un mélange contenant 3 µl d'ARN totaux préalablement linéarisés, 0,5 µl d'amorces statistiques (random primers, 0,5 µg/µl), 4 µl de MgCl<sub>2</sub> 25 mM, 2 µl de dNTP 10 mM, 2 µl de tampon réactionnel (100 mM Tris-HCl pH 9, 500 mM KCl, 1% Triton X-100), 0,5 µl d'inhibiteur de RNases, complété par 7,25 µl d'eau dépourvue de nucléases. Le milieu est mis à incuber 10 minutes à 25°C (fixation des amorces), 60 minutes à 42°C (activation de la rétrotranscriptase), 5 minutes à 99°C (dénaturation de l'enzyme). Les random primers se fixant statistiquement sur l'ensemble des régions des différents ARN, tout le pool d'ADNc est obtenu. Les ADNc sont conservés à 4°C.

### ***II.7.2.3. Amplification des ADNc, purification et clonage.***

Une PCR est réalisée sur les ADNc obtenus après transcription inverse. Huit µl des ADNc formés sont amplifiés par PCR en utilisant 16 pmol de chaque amorce dans un mélange réactionnel comprenant 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl, 0,1% Triton X-100, 0,2 mM dNTP et 4 U de Taq DNA Polymérase (Promega) dans un volume final de 100 µl. La PCR est constituée d'une phase de dénaturation initiale de l'ADNc (1 minute 45 à 94°C), puis de 3 phases qui sont répétées 40 fois : dénaturation de l'ADNc (20 secondes à 94°C), hybridation des amorces (20 secondes à une température correspondant à la moyenne des températures d'hybridation des amorces du couple utilisé), élongation par la Taq polymérase (20 secondes à 72°C). Puis la PCR se termine par une étape d'élongation finale de 7 minutes à 72°C.

Les produits de la PCR sont mis à migrer dans un gel d'agarose à 1%. La bande correspondant aux fragments d'ADN de taille attendue (620 pb pour G6PDH, 421 pb pour LPL et 454 pb pour AGS) est découpée et les fragments sont purifiés (Amicon, Millipore Corporation, Beldford, MA, USA). Les fragments d'ADN purifiés sont liés au plasmide pCR<sup>®</sup>2.1-TOPO<sup>®</sup> et le produit de ligation est inséré dans des bactéries *E.Coli* compétentes TOP10 One Shot<sup>®</sup> (Invitrogen). Les bactéries sont mises en culture dans un milieu sélectif (ampicilline et X-Gal) et hautement nutritif. Seules les bactéries ayant incorporé le vecteur (contenant le gène de résistance à l'ampicilline) forment des colonies. Le vecteur possède un site d'insertion au niveau du gène lacZα qui code pour la β-galactosidase. Les colonies

possédant le vecteur avec l'insert se distinguent de celles n'ayant pas l'insert par leur couleur blanche alors que les autres prennent une couleur bleue. Après sélection et repiquage des colonies positives dans un milieu nutritif, les plasmides sont extraits à l'aide du kit Wisard Plus SV Minipreps DNA Purification System (Proméga) et digérés par EcoRI. La présence et la taille de l'insert sont contrôlées par électrophorèse sur gel d'agarose à 1%.

Les plasmides contenant l'insert de taille attendue sont séquencés (société Séquencia, Evry, France).

#### **II.7.2.4. Analyse des séquences**

Le programme de comparaison BLAST (Basic Local Alignment Search Tools) (Altschul *et al.*, 1990 ; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>) est utilisé pour rechercher dans la banque de données Genbank des séquences ou des régions fortement homologues à nos séquences nucléotidiques obtenues. L'alignement des séquences et l'estimation du pourcentage d'identité sont effectués par le biais du programme Clustal-W (Higgins et Sharp, 1989 ; [http://www.infobiogen.fr/services/analyseq/cgi-bin/clustalw\\_in.pl](http://www.infobiogen.fr/services/analyseq/cgi-bin/clustalw_in.pl)). Ces analyses de séquences permettent de déterminer la nature du gène cloné. Enfin, une analyse par BLASTp (séquence protéique déduite de la séquence nucléotidique) permet de déterminer si nous sommes en présence d'une séquence codante.

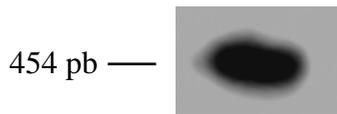
#### **II.7.3. Analyse de l'expression des gènes codant pour la G6PDH, l'AGS et la LPL par Northern blot**

Les ARN totaux extraits (20 µg) sont dénaturés et séparés par électrophorèse sur gel d'agarose 1% en milieu dénaturant (5% formaldéhyde) puis transférés sur une membrane de nylon (Hybond-N+, Amersham) par simple capillarité. Ce transfert est effectué pendant une nuit dans un milieu SSC 20X (NaCl 175 g/l, citrate de sodium 88,2 g/l, pH 7). Après le transfert la membrane est traitée par une solution d'acide acétique 5% puis une solution d'acétate de sodium (0,5 M, pH=5,2) contenant du bleu de méthylène (0,04%). Ceci permet de visualiser les ARNr majoritaires (18S et 28S) et donc de contrôler l'intégrité et le niveau des ARN transférés. La membrane est préhybridée pendant 2 heures à 42°C sous agitation dans une solution Na<sub>2</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,002 M (pH7), SSC 5X, Denhardt's 10X, 100 µg/ml d'ADN de placenta humain dénaturé et 50% de formamide. La membrane est ensuite hybridée pendant 17 heures à 42°C sous agitation avec une sonde qui reconnaît l'ADNc étudié (G6PDH, AGS

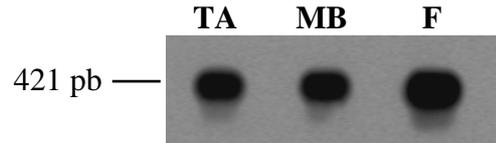
ou LPL), marquée au  $\alpha^{32}\text{P}$  à l'aide du kit Random-Priming (Stratagène, La Jolla, CA, USA). La membrane est ensuite lavée dans 4 solutions de stringence croissante (15 minutes à 23°C dans du SSC 2X ; 15 minutes à 23°C dans du SSC 0,5X/SDS 0,1% ; 15 minutes à 23°C dans du SSC 0,1X/SDS 0,1% ; 15 minutes à 50°C dans du SSC 0,1X/SDS 1%) puis autoradiographiée sur un film Kodak X-O Mat (Merck Eurolab). Le film est ensuite révélé puis soumis à une analyse densitométrique en utilisant le logiciel Visio-Mic II (Genomic, Lyon, France).

Seules les analyses par Northern blot réalisées avec la sonde G6PDH donnent des signaux exploitables. Dans le cas des Northern blot réalisés avec les sondes LPL et AGS, les signaux obtenus sont trop faibles ou non détectables. Nous avons donc vérifié la validité des sondes LPL et AGS par RT-PCR/Southern blot.

Les ARN totaux extraits des tissus de truite sont rétrotranscrits en ADNc. Les ADNc synthétisés sont amplifiés par PCR en utilisant les amorces spécifiques de l'ADNc étudié (AGS et LPL) (**Tableau II.2**). Les produits de PCR sont déposés sur un gel d'agarose 1% contenant du bromure d'éthidium puis le gel est traité pour dénaturer les ADNc (incubation de 2 fois 20 minutes dans une solution NaOH 0,4 N et NaCl 1 M). Les ADNc sont transférés sur une membrane de nylon (Hybond-N+, Amersham, Angleterre) par capillarité. Ce transfert est effectué pendant une nuit en utilisant la même solution que pour la dénaturation des ADNc. La membrane est traitée pour neutraliser les ADNc (incubation de 15 minutes dans une solution Tris-HCl 0,5 M, NaCl 1 M, pH 7,2). La membrane est exposée à une sonde d'ADN radioactive reconnaissant l'AGS ou la LPL de truite. Les conditions d'hybridation sont les mêmes que celles détaillées ci-dessus pour le Northern blot. Après lavage, la membrane est autoradiographiée sur un film Kodak X-O Mat (Merck Eurolab, Nogent-sur-Marne, France) et le film est révélé. Les résultats (**Figures II.1, II.2**) montrent que les sondes spécifiques de l'AGS et de la LPL de truite arc-en-ciel obtenues, s'hybrident parfaitement avec les produits PCR obtenus à partir d'ADNc de truite arc-en-ciel avec des amorces spécifiques de l'AGS et de la LPL respectivement. Cependant, n'ayant pas obtenus de signaux détectables avec les sonde AGS et LPL par Northern blot, l'analyse de l'expression des gènes AGS et LPL sera faite par PCR en temps réel.



**Figure II.1** : Hybridation par Southern blot de produits PCR obtenus avec les amorces AGS ayant servies au clonage de la sonde à partir d'ADNc de foie de truite arc-en-ciel avec la sonde spécifique AGS de truite arc-en-ciel.



**Figure II.2** : Hybridation par Southern blot de produits PCR obtenus avec les amorces LPL ayant servies au clonage de la sonde à partir d'ADNc de tissu adipeux périviscéral (TA), muscle blanc (MB) et foie (F) de truite arc-en-ciel avec la sonde spécifique LPL de truite arc-en-ciel.

#### II.7.4. Analyse de l'expression des gènes par PCR en temps réel

L'analyse du niveau d'expression des gènes AGS, LPL et R-LDL a été faite par PCR en temps réel.

##### II.7.4.1. Principe

La PCR en temps réel ne diffère pas fondamentalement d'une réaction de PCR classique. La réaction se déroule *in vitro* en présence de matrice (ADNc), d'amorces, de dNTP et d'une enzyme polymérase. A ce mélange réactionnel classique est ajouté un marqueur spécifique de l'ADN double brin, le SYBR® Green. Ce marqueur, en se liant à l'ADN double brin émet une quantité de fluorescence directement proportionnelle à la quantité d'ADN présent dans le tube. Ainsi, au cours des différents cycles de PCR, la fluorescence émise augmente parallèlement à la quantité d'ADN synthétisée. L'intensité de la fluorescence est enregistrée et quantifiée à chaque cycle, en « temps réel », et il est ainsi possible de visualiser la cinétique d'amplification de chaque PCR. On fixe ensuite un signal seuil (Threshold) commun à toutes les réactions de PCR qui doit se situer en début de phase exponentielle, lorsque le signal sort du bruit de fond, car c'est à ce moment que la variabilité de la réaction est la plus faible et que les quantités de réactifs ne sont pas limitantes. Le nombre de cycles de PCR pour atteindre ce seuil (Ct pour Cycle threshold) est alors déterminé. Le Ct correspond au nombre de cycles requis pour atteindre un point où le signal d'émission de fluorescence sera statistiquement et significativement plus élevé que le bruit de

fond. Ainsi, une valeur de Ct élevée signifie que la quantité de matrice au départ était faible. Les réactions d'amplification sont réalisées en dupliquât et l'écart entre deux valeurs de Ct est jugé acceptable lorsqu'il est inférieur à 0,4. Dans ce cas, la valeur de Ct utilisée pour les calculs est la moyenne des Ct des dupliquâts. Afin de s'affranchir des erreurs éventuelles (dépôt d'ARN, pipetage, efficacité de RT, etc...) pouvant affecter la quantification des ARNm, il est préférable de normaliser les valeurs en se référant à un gène exprimé de façon constante quelle que soit la situation nutritionnelle testée. Aucun consensus n'étant établi concernant le choix de ce gène de référence, nous utiliserons le gène codant pour le facteur d'élongation EF1 $\alpha$ , dont l'expression est généralement ubiquitaire (Stürzenbaum et Kille, 2001), comme cela a été vérifié chez la truite (Gabillard *et al.*, 2003).

#### **II.7.4.2. Choix des amorces**

Les amorces du gène d'intérêt doivent être sélectionnées pour contenir le minimum de structures secondaires, afin d'éviter la formation de dimères d'amorces susceptibles de gêner l'amplification. Un certain nombre de précautions doivent également être prises concernant leur composition en acides nucléiques (éviter les répétitions d'un même nucléotide), leur température d'hybridation (la plus proche possible entre les deux amorces et supérieure à 57°C) ou encore la taille de l'amplicon obtenu par PCR (75-200 pb). Un logiciel en ligne permet de fixer nos exigences par rapport à toutes ces caractéristiques (Primer3 : <http://www-genome.wi.mit.edu/cgi-bin/primer/primer3>). De plus, de manière à éviter toute amplification d'ADN génomique au cours de la PCR malgré le traitement à la DNase, on cherche dans la mesure du possible, à obtenir une première amorce chevauchant 2 exons et l'autre amorce au niveau de l'exon suivant. Pour l'AGS, les amorces ont été choisies dans la séquence de truite clonée au laboratoire (partie II.7.2) (**Tableau II.3**). Pour la LPL, les amorces ont été déterminées sur la séquence de truite disponible dans la banque Genbank (numéro d'accension AJ224693) aux positions 445-464 et 590-608 (**Tableau II.3**). Pour le R-LDL, les amorces ont été sélectionnées sur la séquence ADNc de truite (numéro d'accension de la banque Genbank : AF542091) aux positions 1118-1137 et 1284-1303. Le couple d'amorce pour EF1 $\alpha$  a été défini sur la séquence de truite arc-en-ciel disponible (numéro d'accension Genbank : AF498320), aux positions 1313-1332 et 1453-1471.

**Tableau II.3** : Séquences des amorces nucléotidiques utilisées pour les mesures d'expression en PCR temps réel

Gènes	Amorce sens	Amorce antisens	T°C d'hybridation	amplicon (pb)
AGS <sup>1</sup>	gtgatgtcgagcttcgtgct	ctccagtgtctgacgcacct	59	189
LPL <sup>2</sup>	taattggctgcagaaaacac	cgtcagcaaactcaaaggt	59	164
R-LDL <sup>3</sup>	aactgcggtcacaggtcaaa	acggggttgtaaagtggat	59	186
EF1 $\alpha$ <sup>4</sup>	tcctcttggtcgtttcgtg	acccgagggacatcctgtg	59	159

<sup>1</sup> : l'amorce sens est située sur l'exon 36 et l'amorce antisens sur l'exon 37.

<sup>2</sup> : l'amorce sens chevauche les exons 3 et 4, l'amorce antisens est située sur l'exon 5.

<sup>3</sup> : l'amorce sens est située sur l'exon 15 et l'amorce antisens sur l'exon 17.

<sup>4</sup> : l'amorce sens chevauche les exons 7 et 8, l'amorce antisens est située sur l'exon 9.

#### **II.7.4.3. Transcription inverse**

Afin d'éviter toute amplification d'ADN génomique lors de la PCR, les ARN totaux extraits sont préalablement traités à la DNase I (RQ1 RNase-Free DNase, Promega). Les ADNc sont générés à partir d'1  $\mu$ g d'ARN totaux (quantifiés spectrophotométriquement) avec le kit Superscript<sup>TM</sup> III RNase H- Reverse Transcriptase (Invitrogen). Les transcriptions inverses sont réalisées en dupliquât pour chaque échantillon.

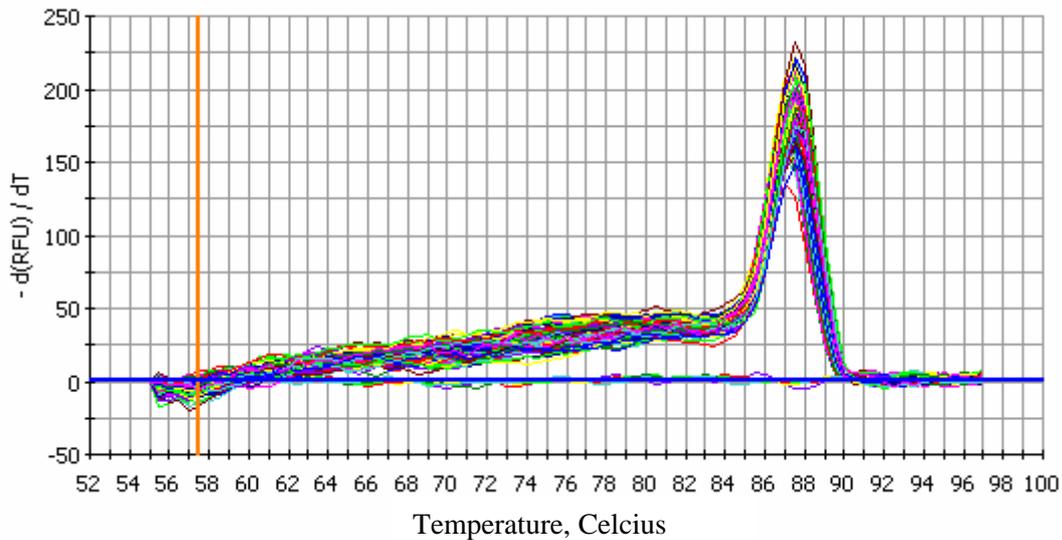
#### **II.7.4.4. Conditions de PCR**

Les PCR en temps réel sont réalisées grâce à un thermocycler : l'iCycler iQ<sup>TM</sup> (Bio-Rad, Hercules, CA,USA). Les analyses de PCR semi quantitatives des différents gènes étudiés, sont effectuées à partir de 10  $\mu$ l d'ADNc dilués (dilution spécifique à chaque gène étudié) à l'aide du kit SYBR<sup>®</sup> Green PCR Supermix (Bio-Rad). Le volume final de réaction de PCR est de 25  $\mu$ l, contenant 200 nM d'amorces. La séquence des amorces utilisées et leur température d'hybridation pour l'amplification de chaque gène d'intérêt sont listées dans le **tableau II.3**. Chaque PCR est réalisée en dupliquât. Les échantillons sont incubés à 95°C pendant 10 minutes pour activer l'ampliTaq Gold DNA polymérase, puis 35 cycles de PCR sont effectués. Chaque cycle de PCR consiste à chauffer à 95°C pendant 20 secondes pour

dénaturer l'ADN, puis à 59°C pendant 20 secondes pour l'hybridation des amorces et l'élongation de l'ADN. A la fin du dernier cycle de PCR, l'ADN double brin est dénaturé par un gradient de température croissant de 0,5°C/10sec de 55 à 94°C, pour obtenir une courbe de fusion spécifique de la séquence d'ADNc amplifiée (**Figure II.3**). Le pic de fusion est obtenu par la dérivée de la courbe de fusion et met en évidence le Tm spécifique de chaque amplicon. L'observation d'un pic unique par espèce amplifiée permet de s'assurer de l'absence de contamination.

Pour chaque gène étudié, lors de la première amplification, les produits PCR sont déposés sur un gel d'agarose 2% dans le but de vérifier la taille de l'amplicon et pour s'assurer que l'amplification n'a fourni qu'un seul fragment. De plus, le fragment obtenu est purifié (Microcon PCR, Millipore Corporation, USA) et séquencé (Sequentia, Evry) afin de confirmer l'identité de l'amplicon.

**Figure II.3** : Courbe de fusion obtenue par gradient croissant de température (0,5°C/10 secondes de 55°C à 94°C) après RT-PCR temps réel d'ARN totaux de muscle de truite arc-en-ciel avec les amorces EF1 $\alpha$ .

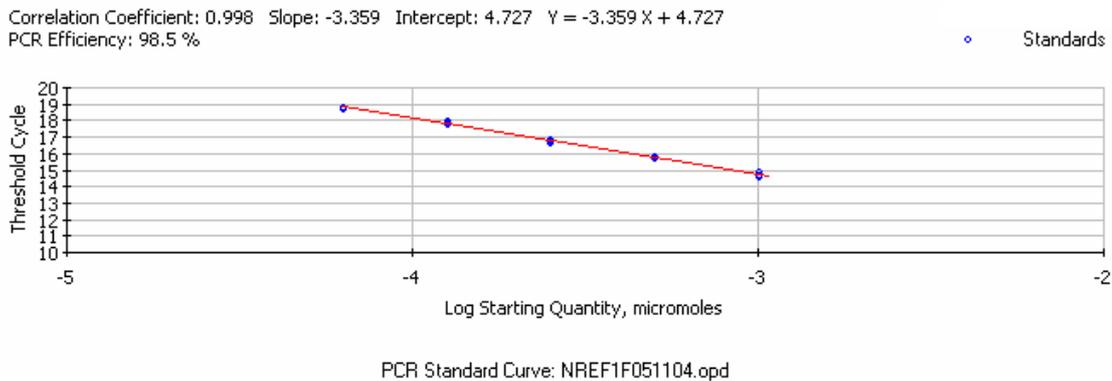


#### II.7.4.5. Efficacité de PCR

Une gamme de dilution réalisée, en triplicat à partir d'un pool de tous les échantillons et encadrant la dilution utilisée pour les échantillons du gène étudié, est amplifiée simultanément aux échantillons d'intérêts. La relation entre la valeur de Ct obtenue et le logarithme de la concentration initiale de la gamme étalon est une droite de type  $y = ax + b$

(Figure II.4). La pente (a) de cette droite permet de calculer l'efficacité de la PCR (E) selon la formule :  $E = 10^{-1/\text{pente}} - 1$ . Si l'efficacité de PCR est de 100%, la valeur de Ct sera directement corrélée à la quantité d'ADNc initiale. Dans ce cas, lorsque le Ct augmente de 1 Ct entre deux points de dilutions successives de la gamme (dilution de 1/2 en 1/2), cela représente une cible initialement deux fois plus concentrée. Plus l'efficacité de la PCR diverge des 100%, plus l'interprétation des quantités relatives est difficile. L'efficacité de PCR est acceptée lorsqu'elle est comprise entre 90% et 110%.

**Figure II.4** : Gamme étalon (dilutions successives de 1/2 en 1/2) obtenue après RT-PCR en temps réel d'ARN totaux de foie de truite arc-en-ciel avec les amorces EF1 $\alpha$ . Chaque point de dilution est réalisé en triplicat. Les résultats donnent une efficacité de PCR de 98,5%.



#### II.7.4.6. Quantification relative des PCR en temps réel et analyses statistiques

La quantification est réalisée en utilisant la méthode préconisée par Pfaffl utilisant le logiciel REST® (Relative Expression Software Tool) (Pfaffl, 2001 ; Pfaffl *et al.*, 2002). Cette méthode peut être utilisée même si les efficacités de PCR sont différentes entre le gène cible (AGS, LPL, ou R-LDL) et le gène de référence (EF1 $\alpha$ ). Nous obtenons un rapport permettant de répondre à la question : combien de fois le gène cible est-il plus ou moins fortement exprimé dans nos échantillons (truites nourries avec l'aliment HV75 ou l'aliment HV100) par rapport à une condition contrôle (truites nourries avec l'aliment HP100, par exemple) ?

$$R = \frac{(E_{\text{gène cible}})^{\Delta Ct_{\text{gène cible}} \text{ (condition contrôle - condition expérimentale)}}}{(E_{EF1\alpha})^{\Delta Ct_{EF1\alpha} \text{ (condition contrôle - condition expérimentale)}}$$

R : rapport d'expression relative

E : efficacité de PCR

$\Delta Ct$  : Ct condition contrôle – Ct condition expérimentale

Un test de randomisation est effectué par le logiciel REST® avec 10000 randomisations. Il permet de savoir si les différences d'expression entre le contrôle et la situation expérimentale sont significatives. Les différences d'expression sont considérées comme significatives pour  $P < 0,05$ .

## II.8. Tests statistiques

Les résultats sont présentés sous la forme moyenne  $\pm$  écart-type. L'effet des conditions testées dans les expériences 1 et 2 a été évalué par des analyses de variance à un facteur (ANOVA). L'effet des conditions testées dans les expériences 3 et 4 a été évalué par des analyses de variance à deux facteurs (MANOVA). La comparaison des moyennes et le regroupement des résultats significativement différents ont été effectués par le test de Duncan. Lorsqu'une interaction a été observée entre les deux facteurs, une analyse de variance à un facteur a été réalisée et les moyennes ont été comparées par le test de Duncan. L'ensemble des analyses a été réalisé au seuil de confiance 5% à l'aide du logiciel SAS (SAS, 1993).

**Effets de la nature des lipides alimentaires  
sur les mécanismes impliqués dans la  
constitution des dépôts lipidiques**



### **III. EFFETS DE LA NATURE DES LIPIDES ALIMENTAIRES SUR LES MECANISMES IMPLIQUES DANS LA CONSTITUTION DES DEPOTS LIPIDIQUES**

Comme nous l'avons déjà évoqué, face à l'essor de l'aquaculture ainsi qu'à l'épuisement des ressources halieutiques il est nécessaire de trouver des alternatives à l'utilisation de matières premières d'origine marine et notamment de l'huile de poisson, dans la formulation des aliments aquacoles. Les huiles végétales, de par leur grande disponibilité entre autre, sont de bons candidats pour remplacer l'huile de poisson des aliments. Cependant du fait de la concentration en acides gras très différente entre les huiles de poisson et les huiles végétales, ce remplacement peut avoir des répercussions sur le métabolisme lipidique et les dépôts lipidiques. La composition en acides gras de la chair des poissons reflètent en grande partie celle de l'aliment (Watanabe, 1982). Les AGPI de la série n-3 (surtout EPA et DHA) apportés par l'huile de poisson des aliments confèrent à la chair des poissons sa valeur nutritionnelle et son intérêt pour l'alimentation et la santé humaine. En effet ces acides gras jouent un rôle notamment dans la prévention des maladies cardiovasculaires (Simopoulos, 1999 ; Connor, 2000), inflammatoires (Simopoulos, 2002), neurodégénératives (Moyad, 2005) ainsi que dans la prévention du développement de certains cancers (Roynette *et al.*, 2004 ; Moyad, 2005 ; Judé *et al.*, 2006). La substitution de l'huile de poisson par des huiles végétales ne doit donc pas compromettre les qualités nutritionnelles de la chair de poisson.

De nombreuses études ont montré que le remplacement partiel de l'huile de poisson par des huiles végétales telles que l'huile de colza, de soja, de lin ou de palme dans les aliments pour poissons n'a pas d'impacts négatifs sur la survie et la croissance des salmonidés (Guillou *et al.*, 1995 ; Bell *et al.*, 2001, 2002 ; Rosenlund *et al.*, 2001 ; Caballero *et al.*, 2002 ; Bendiksen *et al.*, 2003 ; Torstensen *et al.*, 2004a). Chez les poissons marins, l'utilisation des huiles végétales comme source lipidique des aliments est plus limitée, de part la faible capacité de ces espèces à synthétiser les AGPI à longue chaîne (tels que l'acide arachidonique, l'EPA et le DHA) à partir des acides gras précurseurs en C18 (acides linoléique et linoléinique), abondants dans les huiles végétales (Sargent *et al.*, 2002). Le remplacement partiel de l'huile de poisson par des huiles végétales ne devrait donc être possible chez les poissons marins, que lorsque les AGPI à longue chaîne sont apportés en quantités suffisantes pour couvrir les besoins des animaux. De récentes études ont montré que

60% de l'huile de poisson peut être substituée par des huiles végétales chez le bar (Mourente et Dick, 2002 ; Izquierdo *et al.*, 2003 ; Figueiredo-Silva *et al.*, 2005 ; Mourente *et al.*, 2005) ou la daurade (Izquierdo *et al.*, 2003, 2005), sans compromettre la survie, la croissance et la santé des poissons. Cependant, à plus fort taux de substitution (80%), une diminution des performances de croissance est observée chez ces mêmes espèces (Montero *et al.*, 2003, 2005 ; Menoyo *et al.*, 2004 ; Izquierdo *et al.*, 2005) ainsi que chez le turbot avec une substitution totale de l'huile de poisson par de l'huile de lin ou de l'huile de soja (Regost *et al.*, 2003). Chez les poissons marins, un apport minimum en huile de poisson est donc nécessaire pour ne pas altérer la croissance des animaux. Des études ont également montré une incidence de ce remplacement sur le métabolisme des lipides. Notamment, l'activité des désaturases des acides gras est augmentée par les huiles végétales dans le foie chez la truite arc-en-ciel (Buzzi *et al.*, 1996), la truite Fario (Tocher *et al.*, 2001) ou le saumon Atlantique (Bell *et al.*, 2001, 2002). Dans les entérocytes de la daurade, le taux de réestérification des acides gras est diminué par l'huile de colza, alors que le taux de synthèse de la phosphatidylcholine est augmenté par l'huile de soja (Caballero *et al.*, 2006). Par ailleurs, la composition en acides gras de la chair des poissons est fortement influencée par l'incorporation d'huiles végétales dans les aliments (Bell *et al.*, 2003 ; Izquierdo *et al.*, 2003 ; Regost *et al.*, 2003 ; Mourente *et al.*, 2005).

Dans les travaux précédents, le remplacement de l'huile de poisson par des huiles végétales a toujours été testé sur des périodes d'élevage relativement courtes (quelques mois dans la plupart des études). De plus, dans ces études, les aliments ne contenaient qu'un seul type d'huiles végétales (huile de colza, soja, palme ou lin). Il nous a donc semblé intéressant de pouvoir tester la substitution de l'huile de poisson par un mélange de plusieurs huiles végétales, sur une longue période d'élevage (supérieure à 1 an).

Les deux expériences présentées dans cette partie ont pour but d'étudier les conséquences du remplacement à long terme, partiel ou total, de l'huile de poisson par des mélanges d'huiles végétales chez le bar Européen et la truite arc-en-ciel, sur les performances de croissance des poissons, la lipogenèse hépatique, le transport des lipides par les lipoprotéines ainsi que le captage des acides gras par les tissus. L'impact d'un tel remplacement sur le profil en acide gras de la chair a également été étudié. Pour cela, des mélanges de différentes huiles végétales (huile de colza, de lin, de palme) ont été élaborés dans le but d'obtenir des sources lipidiques dont les teneurs globales des différentes classes d'acides gras se rapprochent le plus possible de celles de l'huile de poisson utilisée dans ces

études (capelan chez la truite arc-en-ciel, anchois chez le bar). Ces expériences font partie du programme européen RAFOA (Researching Alternatives to Fish Oils in Aquaculture) dont l'objectif est d'étudier les possibilités de remplacement des huiles de poissons par des huiles végétales sans altérer les performances de croissance, la santé et le bien être des poissons ainsi que les critères d'acceptabilité des produits par les consommateurs et les transformateurs. De plus ce projet vise à accroître les connaissances actuelles sur la nutrition lipidique et le métabolisme lipidique chez 4 espèces d'intérêt aquacole (truite arc-en-ciel, bar Européen, saumon Atlantique, daurade).

### **III.1. Expérience 1 : Effets du remplacement de l'huile de poisson de l'aliment par un mélange d'huiles végétales sur la constitution des dépôts lipidiques chez la truite arc-en-ciel**

#### **III.1.1. Conditions expérimentales**

##### ***III.1.1.1 Matériel biologique et régimes alimentaires***

Des alevins triploïdes femelles de truites arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) ont été élevés à la pisciculture expérimentale INRA de Donzacq (Landes) alimentée en eau à température constante de  $17 \pm 1^\circ\text{C}$ . Les alevins avaient un poids initial de 0,12 g et étaient répartis aléatoirement en 12 bacs de 300 poissons (4 bacs par régime alimentaire testé). Des dédoublements de bacs ont été réalisés aux stades 7 g, 76 g et 450 g afin de maintenir une biomasse compatible avec la taille des bacs. Au stade 76 g, les truites ont été réparties en 9 bacs de deux mètres de diamètre à raison de 100 poissons par bac, avec 3 bacs par régime alimentaire afin de prendre en compte un éventuel effet bassin. Les truites ont été nourries à la main à satiété visuelle, six jours sur sept. Les poissons ont été pesés et comptés toutes les 3 semaines afin de suivre les performances de croissance. La quantité d'aliment ingéré a également été mesurée toutes les 3 semaines. Les mortalités ont été relevées tout au long de l'expérience.

Les 3 régimes alimentaires fabriqués par Nutreco Aquaculture Research Centre (Norvège) et testés depuis la première alimentation des truites sont isolipidiques, isoprotéiques et isoénergétiques (**Tableau III.1**). La taille des granulés distribués a été adaptée à la taille des poissons (0,5 à 2,2 mm pour les aliments de démarrage puis 3 à 7 mm). Les aliments de démarrage contiennent 52% de protéines et 23% de lipides, et les aliments destinés aux stades ultérieurs contiennent 50% de protéines et 30% de lipides. Ces aliments sont à base de farine de poisson et ne diffèrent que par la nature des huiles incorporées qui est la suivante (**Tableau III.1**) :

- 100% huile de capelan (aliment HP100 pour "huile de poisson 100%")
- 25% huile de capelan-75% mélange d'huiles végétales (aliment HV75 pour "huiles végétales 75%")
- 100% mélange d'huiles végétales (aliment HV100 pour "huiles végétales 100%")

La composition du mélange d'huiles végétales (55% huile de colza, 30% huile de palme, 15% huile de lin) a été élaborée de façon à obtenir des teneurs globales pour les différentes classes d'acides gras proches de celle de l'huile de capelan.

**Tableau III.1** : Composition des aliments (7 mm) testés dans l'expérience 1 avec les truites.

	<b>Aliment HP100</b>	<b>Aliment HV75</b>	<b>Aliment HV100</b>
<b>Ingrédients (g/kg d'aliment)</b>			
Farine de poisson <sup>1</sup>	466,9	466,9	466,9
Gluten de maïs <sup>2</sup>	135,2	135,2	135,2
Farine de soja <sup>3</sup>	100,0	100,0	100,0
Blé <sup>4</sup>	46,1	46,1	46,1
Huile de capelan <sup>5</sup>	226,8	56,7	/
Huile de colza <sup>6</sup>	/	93,6	124,7
Huile de palme <sup>7</sup>	/	51,0	68,1
Huile de lin <sup>8</sup>	/	25,5	34,0
Premixes <sup>9</sup>	25,0	25,0	25,0
<b>Composition analytique</b>			
Matière sèche (MS) (g/kg)	921,6	924,4	924,9
Protéines (%MS)	50,9	50,9	51,3
Lipides (%MS)	29,7	28,7	29,5
Energie (MJ/kg MS)	263,7	261,4	261,5

<sup>1</sup> Scandinavian LT-fish meal (Norsildmel, Norvège).

<sup>2</sup> Cargill, Staley, USA.

<sup>3</sup> Denofa, Fredrikstad, Norvège.

<sup>4</sup> Statkorn, Oslo, Norvège.

<sup>5</sup> Norsildmel, Norvège.

<sup>6</sup> Oelmühle, Hamburg, Allemagne.

<sup>7</sup> Denofa, Fredrikstad, Norvège.

<sup>8</sup> Oliefabriek, Lictervelde, Belgique.

<sup>9</sup> selon les besoins indiqués par le NRC, 1993.

La composition en acides gras des régimes est indiquée dans le **Tableau III.2**. L'aliment HP100 contient les plus fortes teneurs en acides gras hautement polyinsaturés, notamment en acide eicosapentaénoïque (EPA, 20:5 n-3) et acide docosahexaénoïque (DHA, 22:6 n-3), qui sont les acides gras caractéristiques de l'huile de poisson. Une plus forte

proportion de l'acide gras saturé 14:0 est également observée dans ce régime ainsi qu'une plus grande proportion en acides gras monoinsaturés (50%) avec principalement du 16:1, 20:1, 22:1 par rapport aux deux autres régimes. L'aliment HV100 se caractérise principalement par une grande richesse en acide oleïque (18:1 n-9), caractéristique de l'huile de colza et de l'huile de palme et contient également une plus forte proportion d'acides palmitique (16:0), linoléique (18:2 n-6) et linoléique (18:3 n-3) apportés respectivement par l'huile de palme, l'huile de colza et l'huile de lin. Le régime HV75 présente des proportions en acides gras qui sont intermédiaires entre les régimes HP100 et HV100.

**Tableau III.2 :** Proportions des principaux acides gras des aliments (7 mm) (% des acides gras totaux).

AG	Aliment HP100	Aliment HV75	Aliment HV100
<b>14:0</b>	9,94	5,45	1,98
<b>16:0</b>	13,43	20,94	19,51
<b>18:0</b>	1,55	2,35	2,75
<b>Saturés</b>	<b>26,05</b>	<b>29,70</b>	<b>25,37</b>
<b>16:1</b>	10,04	4,55	1,60
<b>18:1</b>	14,44	31,61	39,86
<b>20:1</b>	16,57	5,21	2,05
<b>22:1</b>	10,93	3,00	1,62
<b>AGMI</b>	<b>52,54</b>	<b>44,53</b>	<b>45,21</b>
<b>18:2 n-6</b>	3,61	10,39	13,69
<b>20:2</b>	0,17	0,07	0,06
<b>20:4</b>	0,19	0,08	0,06
<b>AGPI n-6</b>	<b>6,50</b>	<b>11,79</b>	<b>14,39</b>
<b>18:3 n-3</b>	0,79	7,14	9,99
<b>18:4</b>	2,28	1,20	0,73
<b>20:4</b>	0,29	0,12	0,08
<b>20:5</b>	4,49	2,06	1,49
<b>22:5</b>	0,28	0,13	0,09
<b>22:6 n-3</b>	3,88	1,55	1,56
<b>AGPI n-3</b>	<b>12,20</b>	<b>12,29</b>	<b>14,01</b>
<b>Sat/AGPI</b>	<b>1,40</b>	<b>1,23</b>	<b>0,89</b>
<b>n-3/n-6</b>	<b>1,93</b>	<b>1,04</b>	<b>0,97</b>

### **III.1.1.2. Prélèvements et analyses réalisées**

Des prélèvements ont eu lieu lorsque les truites ont atteint les tailles commercialisables de 450 g et 1 kg (correspondant à 44 et 62 semaines d'alimentation respectivement).

Les poissons sont prélevés comme indiqué dans la partie Matériel et Méthodes, 16 heures après leur dernière prise alimentaire.

Les analyses suivantes sont réalisées comme décrit dans la partie Matériel et Méthodes :

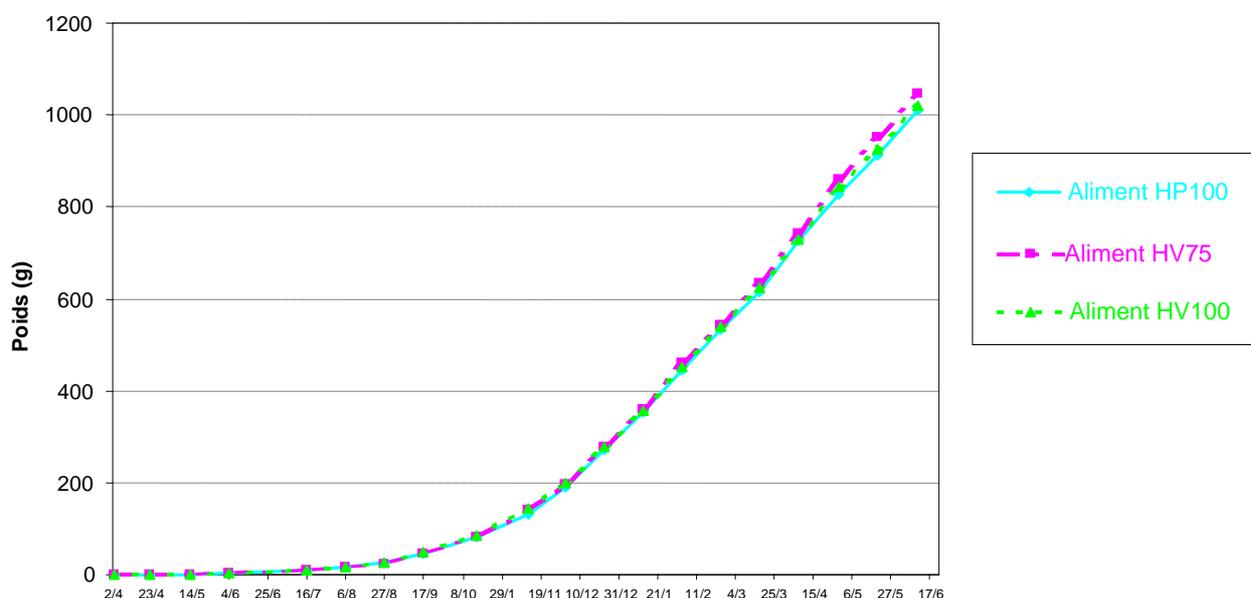
- **Activité de la LPL** dans le tissu adipeux périviscéral, le muscle blanc et le foie, à 44 et 62 semaines (9 échantillons par aliment et par tissu)
- **Expression du gène codant pour la LPL** par RT-PCR temps réel dans le tissu adipeux périviscéral, le muscle blanc et le foie à 44 semaines (6 échantillons par aliment et par tissu)
- **Activité des enzymes de la lipogenèse (G6PDH, EM, AGS)** dans le foie à 44 et 62 semaines (6 échantillons par aliment)
- **Expression du gène codant pour la G6PDH** par Northern blot dans le foie à 44 semaines (9 échantillons par aliment)
- **Expression du gène codant pour l'AGS** par RT-PCR temps réel dans le foie à 44 semaines (6 échantillons par aliments)
- **Expression du gène codant pour le R-LDL** par RT-PCR temps réel dans le tissu adipeux périviscéral, le muscle blanc et le foie, à 62 semaines (6 échantillons par aliment et par tissu)
- **Composition en lipides totaux, neutres, polaires et composition en acides gras** de chaque fraction lipidique des filets à 44 et 62 semaines (6 filets par aliment)
- **Composition en lipides du plasma** à 44 semaines (18 échantillons par aliment)
- **Composition en lipides du plasma et des lipoprotéines plasmatiques (VLDL, LDL et HDL)** à 62 semaines (4 pools par aliment)

### III.1.2. Résultats

#### III.1.2.1. Croissance et paramètres morphométriques des truites

Tout au long de l'expérience, les performances de croissance des truites sont similaires (**Figure III.1**) quel que soit l'aliment reçu et les 3 groupes de poissons atteignent un poids d'environ 1 kg en fin d'expérience.

**Figure III.1** : Courbe de croissance des truites de l'expérience 1 en fonction de l'aliment testé



L'efficacité alimentaire (gain de poids (g) / quantité d'aliment sec ingéré (g)) ne varie pas significativement en fonction de l'aliment reçu (entre les semaines 44 et 62 : groupe HP100 :  $0,95 \pm 0,04$  ; groupe HV75 :  $1,00 \pm 0,04$  ; groupe HV100 :  $0,95 \pm 0,08$ ).

L'indice hépatosomatique est sensiblement le même à 44 et 62 semaines (**Tableau III.3**). Cet indice est plus faible pour les truites du groupe HV100 que pour celles des deux autres groupes à 44 semaines mais cette différence n'est plus significative à 62 semaines.

L'indice viscérosomatique des truites est plus élevé à 62 semaines qu'à 44 semaines et il apparaît à 62 semaines une diminution de cet indice avec l'aliment HV100 par rapport aux aliments HP100 et HV75 (**Tableau III.3**).

**Tableau III.3** : Paramètres morphométriques des truites en fonction de l'aliment testé après 44 et 62 semaines d'alimentation.

	<b>Aliment HP100</b>	<b>Aliment HV75</b>	<b>Aliment HV100</b>
<b>44 semaines</b>			
PMF (g)	459 ± 21	468 ± 13	463 ± 8
IHS	1,0 ± 0,1 <b>a</b>	1,0 ± 0,2 <b>a</b>	0,9 ± 0,1 <b>b</b>
IVS	9,2 ± 1,4	8,9 ± 1,2	8,7 ± 1,3
<b>62 semaines</b>			
PMF (g)	1011 ± 40	1047 ± 44	1019 ± 63
IHS	1,0 ± 0,1	1,0 ± 0,2	0,9 ± 0,1
IVS	10,2 ± 1,5 <b>ab</b>	10,6 ± 1,9 <b>a</b>	9,2 ± 1,6 <b>b</b>

Les résultats sont présentés sous la forme moyenne ± écart type (n=18 pour 44 semaines et n=15 pour 62 semaines). Les moyennes affectées d'une lettre différente dans une même ligne indiquent un effet significatif de l'aliment ( $P < 0,05$ ).

PMF = poids moyen final des poissons prélevés.

IHS = indice hépatosomatique = (poids du foie(g)/poids corporel (g)) × 100.

IVS = indice viscérosomatique = (poids des viscères (g)/poids corporel (g)) × 100.

### **III.1.2.2. Composition en lipides et acides gras du muscle des truites**

La composition en lipides (totaux, neutres, polaires) a été déterminée dans le muscle des truites à 44 et 62 semaines (**Tableau III.4**). Le muscle de truite renferme environ 11% de son poids en lipides dont environ 90% de lipides neutres et 10% de lipides polaires. La teneur en lipides totaux du muscle augmente légèrement entre les 2 temps de prélèvements avec des valeurs entre 8,9-10,6% de lipides à 44 semaines et 11,0-12,5% à 62 semaines. Cette augmentation est principalement due à une augmentation de la proportion de lipides neutres. La quantité de lipides totaux du muscle ne diffère pas significativement entre les 3 groupes de truites aux deux temps de prélèvements mais tend à être légèrement plus faible pour le groupe HV100 à 62 semaines. On observe une diminution de la proportion de lipides neutres (% lipides totaux) et une augmentation de la proportion de lipides polaires (% lipides totaux) avec l'aliment HV100 par rapport à l'aliment HP100 qui n'est significative qu'à 62 semaines.

**Tableau III.4** : Teneur en lipides totaux, lipides neutres et lipides polaires du muscle chez la truite après 44 et 62 semaines d'alimentation.

	<b>Aliment HP100</b>	<b>Aliment HV75</b>	<b>Aliment HV100</b>
<b>44 semaines</b>			
Matière sèche (%)	28,7 ± 1,0	30,0 ± 1,8	28,0 ± 1,5
Lipides totaux (% frais)	10,3 ± 1,2	11,8 ± 2,1	9,9 ± 0,8
Lipides neutres (% frais)	9,4 ± 1,2	10,6 ± 2,0	8,9 ± 0,9
Lipides polaires (% frais)	0,9 ± 0,0 <b>c</b>	1,1 ± 0,1 <b>a</b>	1,0 ± 0,1 <b>b</b>
Lipides neutres (% lip.tot.)	91,4 ± 1,2	90,3 ± 1,0	90,2 ± 1,3
Lipides polaires (% lip.tot.)	8,5 ± 1,2	9,6 ± 1,0	9,8 ± 1,3
<b>62 semaines</b>			
Matière sèche (%)	32,4 ± 2,6	31,6 ± 1,8	31,0 ± 0,6
Lipides totaux (% frais)	12,5 ± 3,1	11,7 ± 1,8	11,0 ± 0,7
Lipides neutres (% frais)	11,6 ± 3,0	10,7 ± 1,6	9,9 ± 0,6
Lipides polaires (% frais)	0,9 ± 0,1	0,9 ± 0,2	1,0 ± 0,1
Lipides neutres (% lip.tot.)	92,3 ± 1,1 <b>a</b>	92,1 ± 0,9 <b>a</b>	90,5 ± 0,8 <b>b</b>
Lipides polaires (% lip.tot.)	7,7 ± 1,1 <b>b</b>	7,9 ± 0,9 <b>b</b>	9,5 ± 0,8 <b>a</b>

Les résultats sont présentés sous la forme moyenne ± écart type (n=6). Les moyennes affectées d'une lettre différente dans une même ligne indiquent un effet significatif de l'aliment ( $P < 0,05$ ).

La composition en acides gras des fractions de lipides neutres et de lipides polaires des filets de truite a été analysée à 44 semaines et 62 semaines (**Tableaux III.5 et III.6**).

Après 44 semaines d'alimentation, chez les poissons du groupe HP100, les lipides neutres des filets se caractérisent par une grande proportion d'AGMI à longue chaîne comme le 20:1 (14,2%) et le 22:1 (7%) ainsi que par une forte teneur en 14:0 (7,6%) comparé aux 2 autres groupes de poissons. Chez ces poissons on note également les plus fortes teneurs en 20:5n-3 (2,1%) et 22:6n-3 (4,3%). Chez les poissons nourris avec les aliments contenant le mélange d'huiles végétales (HV75 et HV100), les lipides neutres du muscle contiennent de plus fortes teneurs en 18:1, 18:2n-6 et 18:3n-3 comparé aux poissons du groupe HP100. Les plus fortes proportions de ces acides gras sont retrouvées chez les truites du groupe HV100. La composition en acides gras des lipides neutres du muscle des truites reflète donc en grande

partie la composition en acides gras des aliments reçus. Le rapport saturés/AGPI de la fraction lipides neutres diminue avec le remplacement de l'huile de poisson par le mélange d'huiles végétales et le rapport n-3/n-6 est plus élevé avec l'aliment HP100 comparé aux aliments à base d'huiles végétales.

Quel que soit l'aliment reçu, les lipides polaires du muscle des truites renferment une forte proportion de 20:5n-3 (5,1 à 7,5%) et 22:6n-3 (17,3 à 19,3%) comparé à la fraction de lipides neutres. Comparé aux lipides neutres, la proportion d'acides gras saturés est plus élevée dans la fraction de lipides polaires, ce qui est dû à une plus forte teneur en 16:0 (33,1 à 34,4%) et la proportion d'acides gras monoinsaturés est plus faible. Le rapport n-3/n-6 est plus élevé dans la fraction lipides polaires (3,5 à 7) que dans la fraction lipides neutres. Les variations de la concentration en acides gras vont dans le même sens que celles observées pour la fraction lipides neutres mais elles sont beaucoup moins marquées.

A 62 semaines, la composition en acides gras des lipides neutres et polaires est comparable à celle observée à 44 semaines. Cependant dans la fraction lipides neutres des poissons du groupe HP100, on note une augmentation de la teneur en AGMI à longue chaîne (20:1 et 22:1), ainsi qu'en DHA par rapport à 44 semaines. On constate également que dans la fraction de lipides polaires des 3 groupes de poisson, les proportions d'EPA et DHA sont plus faibles à 62 semaines qu'à 44 semaines.

**Tableau III.5** : Pourcentages des principaux acides gras dans les fractions lipides neutres et lipides polaires du muscle chez la truite après 44 semaines d'alimentation (% des acides gras totaux).

Acides gras	Lipides neutres			Lipides polaires		
	HP100	HV75	HV100	HP100	HV75	HV100
<b>14:0</b>	7,60	3,23	2,22	6,48	2,81	1,34
<b>16:0</b>	15,74	17,72	17,46	33,11	34,38	34,01
<b>18:0</b>	2,03	2,77	2,72	3,63	3,86	4,63
<b>Saturés</b>	<b>26,56 a</b>	<b>24,62 b</b>	<b>23,22 c</b>	<b>44,32 a</b>	<b>41,67 b</b>	<b>40,54 b</b>
<b>16:1</b>	8,92	4,02	2,58	4,18	2,29	1,37
<b>18:1</b>	22,04	36,84	39,37	10,51	14,16	14,98
<b>20:1</b>	14,19	6,00	4,01	2,58	1,07	0,69
<b>22:1</b>	6,98	3,06	1,92	0,57	0,48	0,25
<b>AGMI</b>	<b>52,35 a</b>	<b>50,04 b</b>	<b>47,97 c</b>	<b>19,35</b>	<b>19,36</b>	<b>18,83 ns</b>
<b>18:2 n-6</b>	4,86	10,64	12,49	2,24	5,59	6,38
<b>18:3</b>	0,11	0,14	0,18	0,27	/	/
<b>20:2</b>	0,33	0,53	0,57	/	0,48	0,43
<b>20:4</b>	0,18	0,12	0,14	0,85	0,77	0,94
<b>AGPI n-6</b>	<b>7,05 c</b>	<b>12,31 b</b>	<b>14,19 a</b>	<b>4,26 c</b>	<b>7,73 b</b>	<b>8,86 a</b>
<b>18:3 n-3</b>	1,41	5,44	7,00	0,87	3,86	4,97
<b>18:4</b>	1,10	0,72	0,82	0,50	0,47	0,53
<b>20:4</b>	0,63	0,52	0,53	0,75	0,80	0,86
<b>20:5</b>	2,13	1,03	0,98	7,48	5,21	5,08
<b>22:5</b>	0,53	0,32	0,28	0,81	0,60	0,61
<b>22:6 n-3</b>	4,30	2,92	2,82	19,28	17,31	18,34
<b>AGPI n-3</b>	<b>10,38 c</b>	<b>11,36 b</b>	<b>12,89 a</b>	<b>30,09 ab</b>	<b>28,98 b</b>	<b>30,84 a</b>
<b>Sat/AGPI</b>	<b>1,52 a</b>	<b>1,04 b</b>	<b>0,86 c</b>	<b>1,29 a</b>	<b>1,14 b</b>	<b>1,02 c</b>
<b>n-3/n-6</b>	<b>1,47 a</b>	<b>0,92 b</b>	<b>0,91 b</b>	<b>7,06 a</b>	<b>3,75 b</b>	<b>3,48 b</b>

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne (n=6). Les moyennes affectées d'une lettre différente dans une même ligne indiquent un effet significatif de l'aliment ( $P < 0,05$ ).

**Tableau III.6** : Pourcentages des principaux acides gras dans les fractions lipides neutres et lipides polaires du muscle chez la truite après 62 semaines d'alimentation (% des acides gras totaux).

Acides gras	Lipides neutres			Lipides polaires		
	HP100	HV75	HV100	HP100	HV75	HV100
<b>14:0</b>	6,25	3,25	1,73	4,09	2,41	1,62
<b>16:0</b>	14,03	17,03	17,73	35,79	34,48	38,39
<b>18:0</b>	2,05	2,80	3,05	4,21	4,36	4,70
<b>Saturés</b>	<b>23,16</b>	<b>23,93</b>	<b>23,18</b>	<b>44,75</b>	<b>41,94</b>	<b>45,15</b>
<b>16:1</b>	8,66	4,30	2,45	3,15	2,24	1,44
<b>18:1</b>	21,38	35,81	40,38	11,72	13,57	12,90
<b>20:1</b>	15,88	6,30	3,65	1,82	1,29	0,56
<b>22:1</b>	8,90	3,59	1,93	0,71	0,63	0,23
<b>AGMI</b>	<b>55,03 a</b>	<b>50,12 b</b>	<b>48,47 c</b>	<b>18,75 a</b>	<b>19,28 a</b>	<b>16,83 b</b>
<b>18:2 n-6</b>	4,35	10,34	12,18	3,34	4,87	5,51
<b>18:3</b>	0,11	0,16	0,17	0,13	0,07	/
<b>20:2</b>	0,36	0,52	0,64	0,45	0,39	0,37
<b>20:4</b>	0,21	0,14	0,15	0,81	0,83	0,84
<b>AGPI n-6</b>	<b>6,43 c</b>	<b>12,01 b</b>	<b>13,89 a</b>	<b>5,44 b</b>	<b>7,10 a</b>	<b>7,75 a</b>
<b>18:3 n-3</b>	0,99	5,26	6,68	2,25	3,48	4,42
<b>18:4</b>	1,08	0,84	0,73	0,48	0,46	0,44
<b>20:4</b>	0,69	0,54	0,54	0,66	0,72	0,76
<b>20:5</b>	2,37	1,15	0,94	5,88	5,19	4,86
<b>22:5</b>	0,76	0,41	0,35	0,68	0,61	0,48
<b>22:6 n-3</b>	5,58	3,47	3,20	17,22	16,61	16,32
<b>AGPI n-3</b>	<b>11,79 b</b>	<b>12,04 b</b>	<b>12,89 a</b>	<b>27,17</b>	<b>27,23</b>	<b>27,50</b>
<b>Sat/AGPI</b>	<b>1,27 a</b>	<b>0,99 b</b>	<b>0,87 c</b>	<b>1,38 a</b>	<b>1,22 b</b>	<b>1,28 b</b>
<b>n-3/n-6</b>	<b>1,83 a</b>	<b>1,00 b</b>	<b>0,93 b</b>	<b>5,18 a</b>	<b>3,84 b</b>	<b>3,60 b</b>

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne (n=6). Les moyennes affectées d'une lettre différente dans une même ligne indiquent un effet significatif de l'aliment ( $P < 0,05$ ).

**III.1.2.3. Activité et expression des enzymes de la lipogenèse hépatique (G6PDH, EM, AGS)**

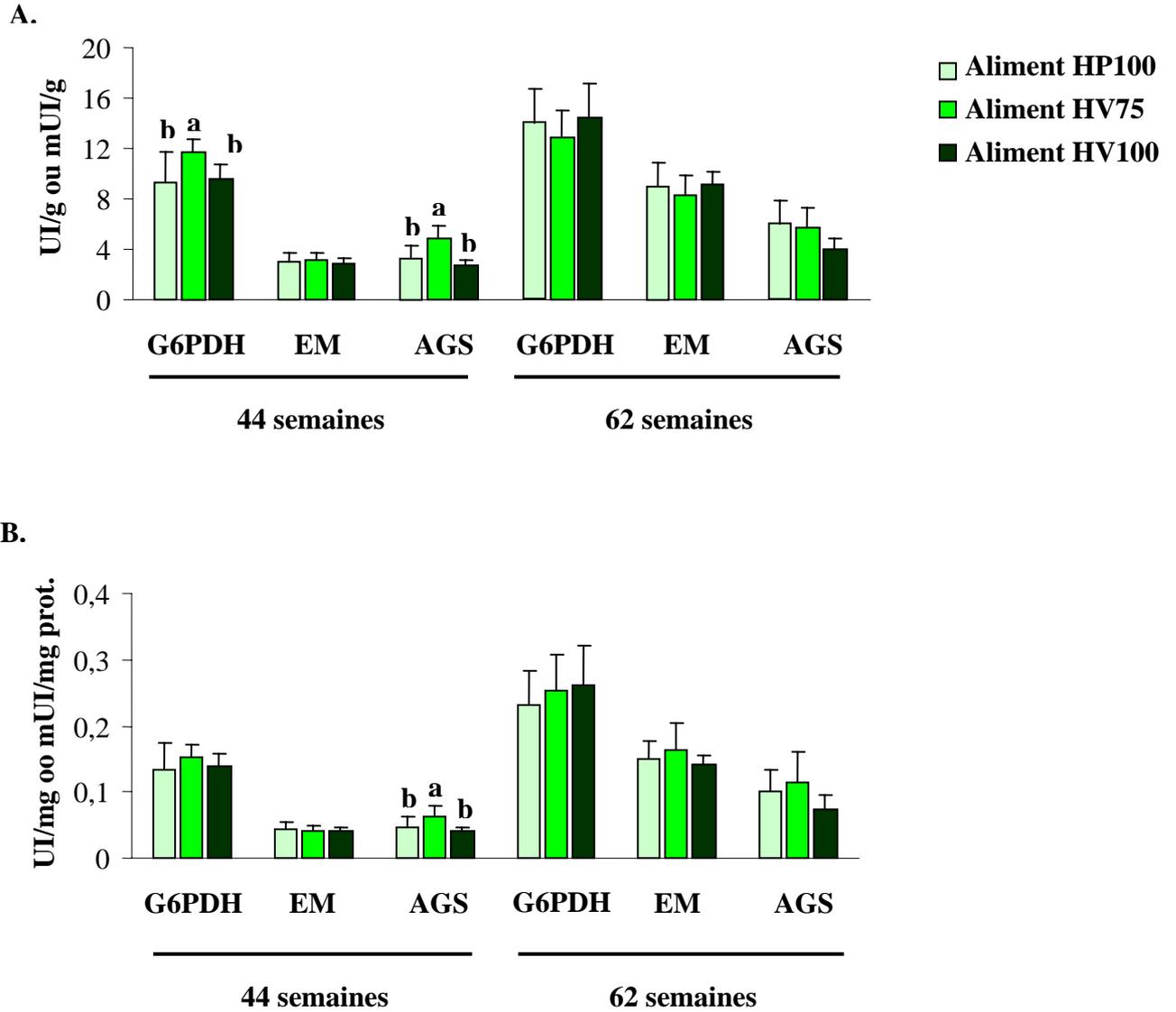
L'activité des 3 principales enzymes de la lipogenèse hépatique (G6PDH, EM et AGS) après 44 et 62 semaines d'alimentation est présentée dans la **Figure III.2**. Lorsque des différences significatives des activités G6PDH et AGS sont apparues entre les groupes de truites (à 44 semaines), nous avons analysé l'expression de ces deux gènes. L'expression du gène G6PDH a été analysée par Northern blot (**Figure III.3**). Pour l'étude de l'expression du gène AGS, la technique du Northern blot n'ayant pas donné de signaux détectables, l'analyse a été faite par RT-PCR en temps réel (**Figure III.4**).

Aux deux temps de prélèvement, l'activité G6PDH est supérieure à celle de l'EM (environ 3,3 fois à 44 semaines et environ 1,5 fois à 62 semaines) et l'activité AGS est la plus faible des 3 activités enzymatiques.

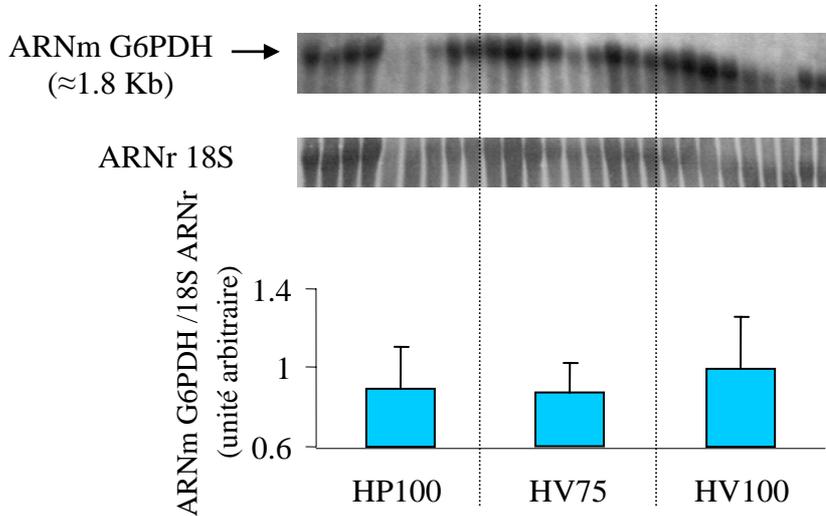
Après 44 semaines d'alimentation, les activités G6PDH et AGS, exprimées en UI/g, ainsi que l'expression du gène AGS, sont plus élevées avec l'aliment HV75 qu'avec les 2 autres aliments mais il n'y a pas de différences significatives entre les aliments HP100 et HV100. Si on exprime les activités en UI/mg de protéines, cette différence d'activité n'apparaît plus pour la G6PDH. L'expression du gène G6PDH est comparable entre les 3 groupes de truite. L'activité EM est identique entre les 3 groupes, quel que soit le mode d'expression.

Après 62 semaines d'alimentation, les activités G6PDH, EM et AGS sont plus élevées comparé à 44 semaines et l'activité de ces 3 enzymes ne varie pas significativement en fonction du régime testé.

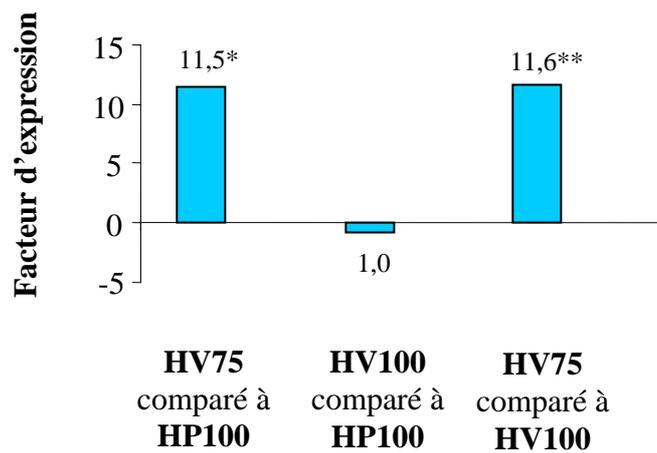
**Figure III.2 :** Activités G6PDH, EM et AGS dans le foie chez la truite après 44 et 62 semaines d'alimentation [(A) UI ou mUI/g tissu et (B) UI ou  $\mu$ UI/mg protéines pour G6PDH, EM et AGS respectivement]. Les valeurs représentent la moyenne + écart-type ( $n = 6$ ) et des lettres différentes indiquent un effet significatif de l'aliment ( $P < 0,05$ ).



**Figure III.3 :** Expression du gène G6PDH dans le foie chez la truite à 44 semaines par Northern blot. Les ARN 18S servent de contrôle interne de dépôt. Les valeurs représentent la moyenne + écart-type (44 semaines : n=9). Les résultats ne sont pas significativement différents ( $P>0,05$ )



**Figure III.4 :** Comparaison de l'expression du gène AGS dans le foie entre les 3 aliments testés à 44 semaines (n=6) (Analyse REST©). L'expression du gène AGS a été normalisée par l'expression du gène EF1 $\alpha$ . Les nombres indiquent le ratio relatif de l'expression du gène. Les astérisques indiquent les différences significatives ( $P<0,05$ , \* ;  $P<0,01$ , \*\*).



**III.1.2.4. Teneur en lipides du plasma et des différentes classes de lipoprotéines, et expression du récepteur aux LDL dans différents tissus**

Le taux de triglycérides plasmatiques augmente d'un facteur 3 entre 44 et 62 semaines, avec des valeurs de 3,5-4,1 g/l et 9,9-10,3 g/l (**Tableau III.7**). Les teneurs en cholestérol, phospholipides, acides gras libres et protéines sont sensiblement les mêmes aux 2 temps de prélèvement.

**Tableau III.7** : Teneurs en triglycérides, cholestérol total, phospholipides, acides gras libres et protéines plasmatiques (g/l) chez la truite après 44 et 62 semaines.

	<b>Aliment HP100</b>	<b>Aliment HV75</b>	<b>Aliment HV100</b>
<b>44 semaines :</b>			
Triglycérides (g/l)	4,1 ± 1,4	3,7 ± 1,2	3,5 ± 0,9
Cholestérol total (g/l)	7,9 ± 1,9 <b>a</b>	4,7 ± 0,7 <b>b</b>	4,5 ± 0,6 <b>b</b>
Phospholipides (g/l)	12,0 ± 2,1 <b>a</b>	9,7 ± 1,3 <b>b</b>	8,9 ± 1,4 <b>b</b>
Acides gras libres (g/l)	0,25 ± 0,04 <b>a</b>	0,16 ± 0,02 <b>b</b>	0,16 ± 0,02 <b>b</b>
Protéines (g/l)	38,0 ± 5,0	41,4 ± 6,1	39,2 ± 4,9
<b>62 semaines :</b>			
Triglycérides (g/l)	10,3 ± 1,5	11,7 ± 4,3	9,9 ± 1,2
Cholestérol total (g/l)	6,4 ± 1,1 <b>a</b>	5,3 ± 0,5 <b>b</b>	4,0 ± 0,2 <b>c</b>
Phospholipides (g/l)	13,2 ± 1,4 <b>a</b>	12,8 ± 1,5 <b>a</b>	10,4 ± 1,0 <b>b</b>
Acides gras libres (g/l)	0,38 ± 0,05	0,35 ± 0,04	0,33 ± 0,08
Protéines (g/l)	43,0 ± 5,0	43,0 ± 1,4	41,0 ± 2,5

Les résultats sont présentés sous la forme moyenne ± écart type (n=18 pour 44 semaines et n=4 pour 62 semaines). Les moyennes affectées d'une lettre différente dans une même ligne indiquent un effet significatif de l'aliment ( $P < 0,05$ ).

Le remplacement partiel (aliment HV75) ou total (aliment HV100) de l'huile de poisson par le mélange d'huiles végétales entraîne une diminution des teneurs en cholestérol et phospholipides plasmatiques à 44 semaines et ces effets sont retrouvés à 62 semaines. Le taux d'acides gras libres dans le plasma est plus faible chez les truites nourries avec les

aliments contenant le mélange d'huiles végétales (HV75 et HV100) par rapport à l'aliment HP100 à 44 semaines mais cette diminution ne s'observe plus à 62 semaines. Les teneurs en triglycérides et protéines plasmatiques ne varient pas significativement entre les régimes quel que soit le temps de prélèvement.

Les différentes classes de lipoprotéines plasmatiques (VLDL, LDL et HDL) ont été séparées après 62 semaines d'alimentation et leur composition en lipides a été analysée. La teneur de chaque composant des lipoprotéines est exprimée en g/l de plasma dans le **Tableau III.8** ainsi qu'en pourcentage de chaque fraction de lipoprotéines dans le **Tableau III.9**.

Les HDL sont la classe de lipoprotéines la plus abondante dans le plasma des truites. Elles représentent respectivement 41 et 47% des lipoprotéines plasmatiques dans les groupes HP100 et HV100. Les HDL sont principalement composées de protéines (48%) et de phospholipides (32%). Les teneurs en VLDL et LDL sont plus faibles et ces deux classes représentent respectivement 24,5 à 26% et 27 à 34,5% des lipoprotéines dans ces 2 groupes. Les VLDL sont la fraction la plus riche en triglycérides (48-58%) alors que les LDL contiennent une plus grande proportion de protéines (environ 32%), de phospholipides (27%) et de cholestérol (16-18%).

Les teneurs en VLDL et HDL plasmatiques ne sont pas affectées par les régimes alimentaires. Par contre, la teneur en LDL est diminuée d'environ 40% avec l'aliment HV100 comparé à l'aliment HP100. Une diminution du taux de cholestérol est observée dans les trois classes de lipoprotéines avec l'aliment HV100 comparé à l'aliment HP100 (**Tableau III.8**).

Lorsque les résultats sont exprimés en pourcentage des fractions lipoprotéiques (**Tableau III.9**) il n'y a pas de différences significatives dans la composition relative des fractions LDL et HDL entre les différents groupes. Pour la fraction VLDL, la proportion de triglycérides diminue chez les truites nourries avec l'aliment HP100 comparé aux aliments HV75 et HV100 alors que les proportions en cholestérol, phospholipides et protéines sont plus faibles chez les truites ayant reçu les aliments contenant le mélange d'huiles végétales (HV75 et HV100).

**Tableau III.8** : Teneurs en triglycérides, cholestérol total, phospholipides, acides gras libres et protéines des VLDL, LDL et HDL plasmatiques chez la truite (g/l plasma) et taux des différentes classes de lipoprotéines (g/l plasma) après 62 semaines d'alimentation.

	Aliment HP100	Aliment HV75	Aliment HV100
<b>VLDL</b>			
Triglycérides	4,2 ± 0,5	5,1 ± 1,9	4,2 ± 1,4
Cholestérol total	1,5 ± 0,2 <b>a</b>	1,1 ± 0,5 <b>ab</b>	0,8 ± 0,3 <b>b</b>
Phospholipides	2,0 ± 0,3	1,9 ± 0,8	1,4 ± 0,5
Acides gras libres	0,02 ± 0,00 <b>b</b>	0,03 ± 0,01 <b>ab</b>	0,03 ± 0,00 <b>a</b>
Protéines	1,0 ± 0,2	1,0 ± 0,3	0,7 ± 0,2
Taux VLDL	8,7 ± 1,1	9,1 ± 3,5	7,2 ± 2,4
<b>LDL</b>			
Triglycérides	2,7 ± 0,4 <b>a</b>	2,6 ± 0,6 <b>ab</b>	1,8 ± 0,3 <b>b</b>
Cholestérol total	2,2 ± 0,5 <b>a</b>	1,6 ± 0,1 <b>b</b>	1,2 ± 0,1 <b>b</b>
Phospholipides	3,4 ± 0,6 <b>a</b>	2,8 ± 0,1 <b>b</b>	2,0 ± 0,1 <b>c</b>
Acides gras libres	0,02 ± 0,01 <b>a</b>	0,02 ± 0,00 <b>ab</b>	0,01 ± 0,00 <b>b</b>
Protéines	4,0 ± 0,7 <b>a</b>	3,4 ± 0,4 <b>a</b>	2,3 ± 0,1 <b>b</b>
Taux LDL	12,2 ± 2,0 <b>a</b>	10,4 ± 1,0 <b>a</b>	7,4 ± 0,3 <b>b</b>
<b>HDL</b>			
Triglycérides	1,4 ± 0,2	1,7 ± 0,6	1,3 ± 0,2
Cholestérol total	1,4 ± 0,1 <b>a</b>	1,2 ± 0,1 <b>ab</b>	1,1 ± 0,1 <b>b</b>
Phospholipides	4,7 ± 0,3	4,7 ± 0,6	4,3 ± 0,3
Acides gras libres	0,07 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,06 ± 0,01
Protéines	6,9 ± 0,5	7,1 ± 1,0	6,1 ± 0,5
Taux HDL	14,4 ± 1,0	14,8 ± 2,3	12,9 ± 0,9

Les résultats sont présentés sous la forme moyenne ± écart type (n= 4). Les moyennes affectées d'une lettre différente dans une même ligne indiquent un effet significatif de l'aliment ( $P < 0,05$ ).

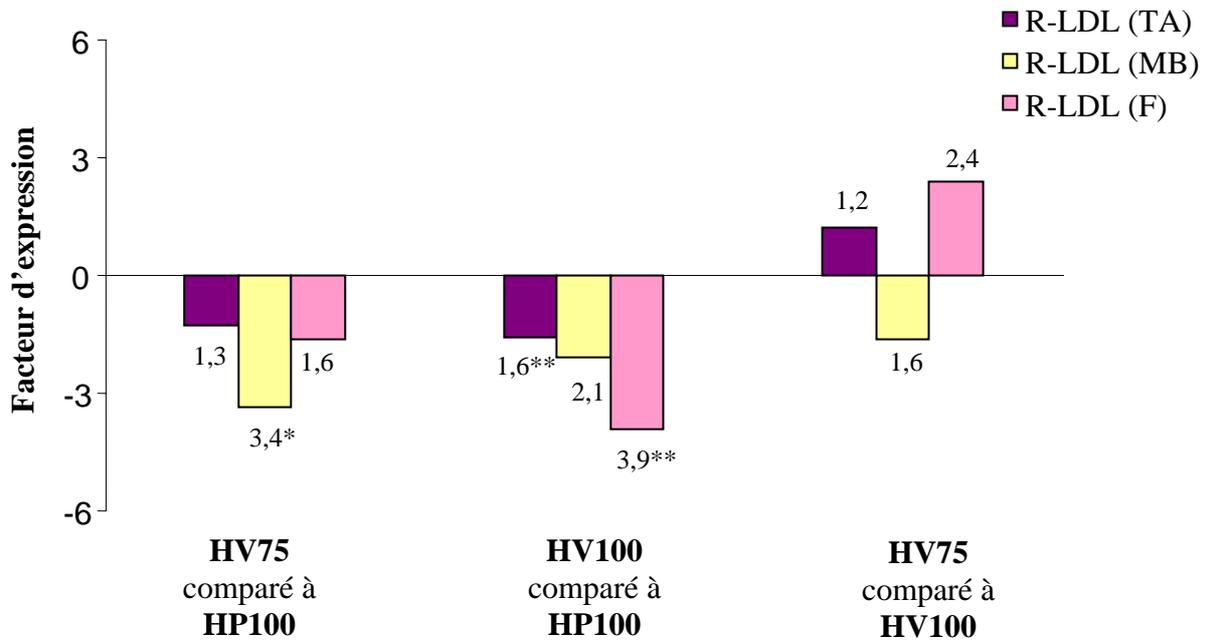
**Tableau III.9** : Proportion en triglycérides, cholestérol total, phospholipides, acides gras libres et protéines dans les VLDL, LDL et HDL plasmatiques (% de la fraction) chez la truite après 62 semaines d'alimentation.

	Aliment HP100	Aliment HV75	Aliment HV100
<b>VLDL</b>			
Triglycérides (%)	47,9 ± 1,9 <b>b</b>	55,8 ± 1,5 <b>a</b>	58,1 ± 0,4 <b>a</b>
Cholestérol total (%)	17,0 ± 1,1 <b>a</b>	12,2 ± 0,8 <b>b</b>	10,9 ± 0,9 <b>b</b>
Phospholipides (%)	22,9 ± 0,9 <b>a</b>	21,0 ± 0,7 <b>b</b>	20,3 ± 0,3 <b>b</b>
Acides gras libres (%)	0,24 ± 0,08	0,35 ± 0,18	0,47 ± 0,14
Protéines (%)	11,9 ± 0,5 <b>a</b>	10,6 ± 0,5 <b>b</b>	10,2 ± 0,6 <b>b</b>
<b>LDL</b>			
Triglycérides (%)	22,0 ± 1,3	24,7 ± 3,6	24,9 ± 3,5
Cholestérol total (%)	18,0 ± 1,5	15,5 ± 1,5	16,8 ± 1,7
Phospholipides (%)	27,5 ± 0,7	27,0 ± 1,4	27,3 ± 0,7
Acides gras libres (%)	0,17 ± 0,05	0,15 ± 0,02	0,14 ± 0,06
Protéines (%)	32,2 ± 1,0	32,6 ± 1,2	30,9 ± 1,8
<b>HDL</b>			
Triglycérides (%)	9,9 ± 1,5	11,2 ± 2,4	10,1 ± 1,4
Cholestérol total (%)	9,5 ± 0,1	8,2 ± 1,0	8,6 ± 0,7
Phospholipides (%)	32,4 ± 1,1	32,0 ± 1,7	33,2 ± 0,7
Acides gras libres (%)	0,50 ± 0,03	0,44 ± 0,01	0,48 ± 0,07
Protéines (%)	47,7 ± 0,5	48,1 ± 1,7	47,7 ± 1,3

Les résultats sont présentés sous la forme moyenne ± écart type (n= 4). Les moyennes affectées d'une lettre différente dans une même ligne indiquent un effet significatif de l'aliment ( $P < 0,05$ ).

L'expression du gène codant pour le R-LDL a été étudiée dans le tissu adipeux périviscéral, le muscle blanc et le foie des truites après 62 semaines d'alimentation (**Figure III.5**). Chez les poissons nourris avec l'aliment HV100 comparés à ceux ayant reçu l'aliment HP100, le gène R-LDL est sous-exprimé d'un facteur 1,6 dans le tissu adipeux ( $P = 0,001$ ) et d'un facteur 3,9 dans le foie ( $P = 0,002$ ) mais son expression ne diffère pas significativement dans le muscle blanc. Entre les groupes HV75 et HV100, l'expression du gène R-LDL n'est pas significativement différente dans les 3 tissus étudiés. Cependant dans le muscle, le gène R-LDL est sous-exprimé d'un facteur 3,4 dans le groupe HV75 comparé au groupe HP100.

**Figure III.5 :** Comparaison de l'expression du gène R-LDL dans le tissu adipeux périviscéral (TA), le muscle blanc (MB) et le foie (F) chez la truite après 62 semaines d'alimentation (n=6) (Analyse REST©). L'expression du R-LDL a été normalisée pour chaque tissu par l'expression du gène EF1 $\alpha$ . Les nombres indiquent le ratio relatif de l'expression des gènes. Les astérisques indiquent les différences significatives ( $P < 0,05$ , \* ;  $P < 0,01$ , \*\*).



#### III.1.2.5. Activité et expression de la lipoprotéine lipase dans différents tissus (tissu adipeux périviscéral, muscle blanc, foie)

L'activité LPL a été mesurée dans le tissu adipeux périviscéral, le muscle blanc et le foie des truites à 44 et 62 semaines (**Figure III.6**). Quel que soit le temps de prélèvement et le régime, c'est dans le tissu adipeux que l'activité LPL est la plus élevée : elle est 4 fois supérieure à celle du muscle blanc et 8 fois plus importante que celle du foie.

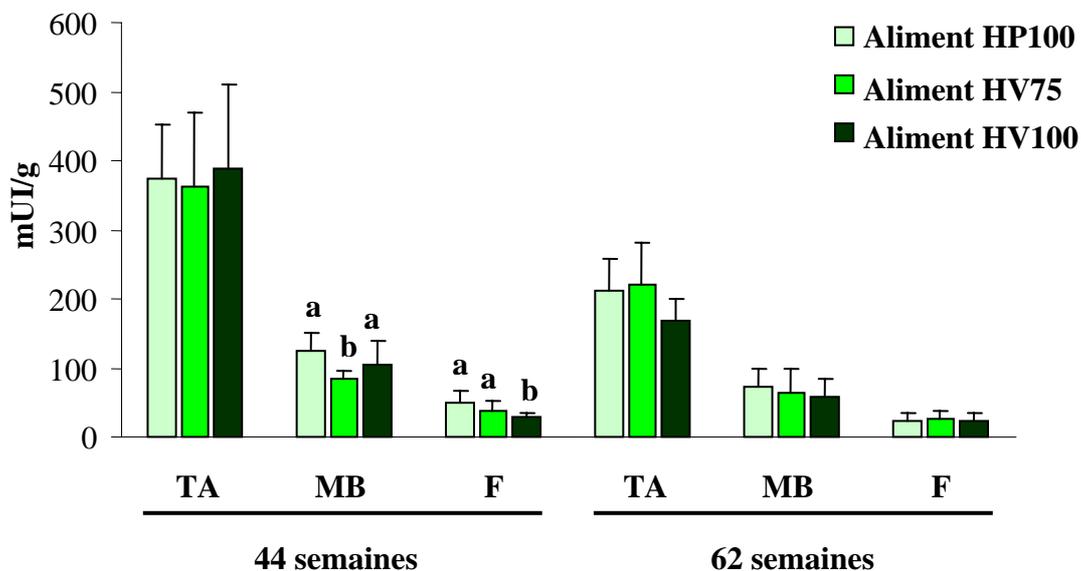
Après 44 semaines d'alimentation, l'activité LPL du tissu adipeux ne diffère pas significativement entre les 3 groupes. Dans le foie, l'activité LPL diminue avec l'aliment HV100 comparé à l'aliment HP100, alors que dans le muscle blanc, il n'y a pas de différence d'activité entre ces 2 aliments. Chez les truites nourries avec l'aliment HV75, l'activité LPL du muscle est plus faible comparée à celle des deux autres groupes. Des différences d'activité LPL ayant été observées entre les groupes à ce temps de prélèvement, nous avons également étudié l'expression du gène LPL dans les 3 tissus. Nous avons tout d'abord tenté d'analyser

l'expression du gène LPL par la technique du Northern blot mais n'ayant pas obtenu de signaux détectables, nous avons utilisé la technique de RT-PCR en temps réel (**Figure III.7**). Le gène LPL est légèrement sous-exprimé dans le foie (d'un facteur 2,1,  $P=0,023$ ) et dans le tissu adipeux (1,5 fois ;  $P=0,046$ ) des truites nourries avec l'aliment HV100 comparées à celles nourries avec l'aliment HP100. Pour ces 2 tissus, il n'y a pas de différences significatives d'expression du gène entre les groupes HP100 et HV75 d'une part et les groupes HV75 et HV100 d'autre part. Dans le muscle blanc, on n'observe pas de variation d'expression du gène LPL entre les 3 groupes.

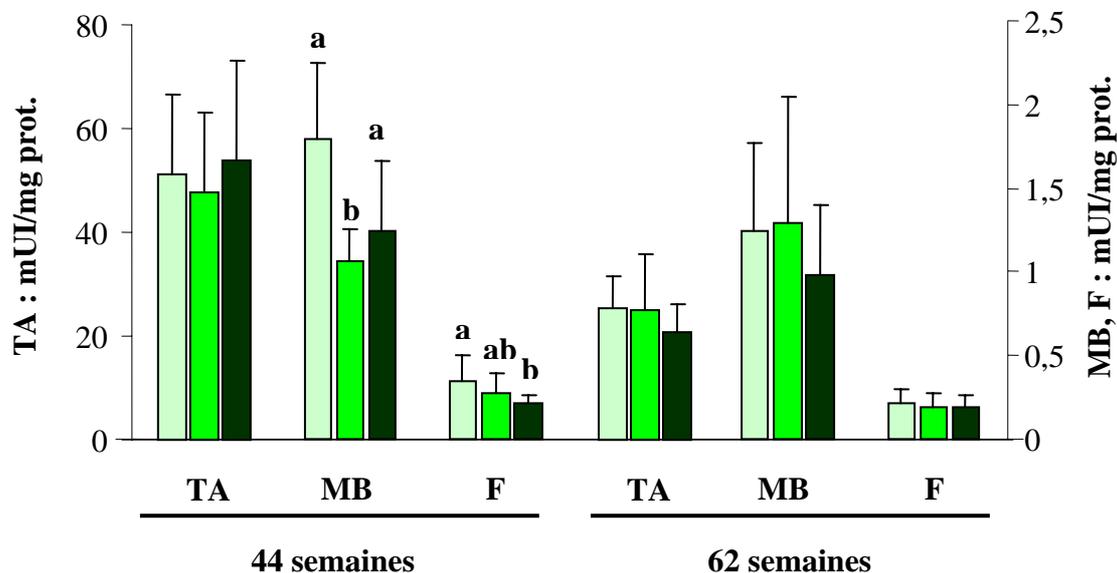
En fin d'expérience (62 semaines), l'activité LPL est plus faible qu'à 44 semaines, pour les 3 tissus étudiés et aucune différence significative d'activité n'est observée entre les 3 groupes quel que soit le tissu.

**Figure III.6 :** Activité LPL dans le tissu adipeux périviscéral (TA), le muscle blanc (MB) et le foie (F) chez la truite après 44 et 62 semaines d'alimentation [(A) mUI/g tissu et (B) mUI/mg protéines]. Les valeurs représentent la moyenne + écart-type (n=9) et des lettres différentes indiquent un effet significatif de l'aliment ( $P < 0,05$ ).

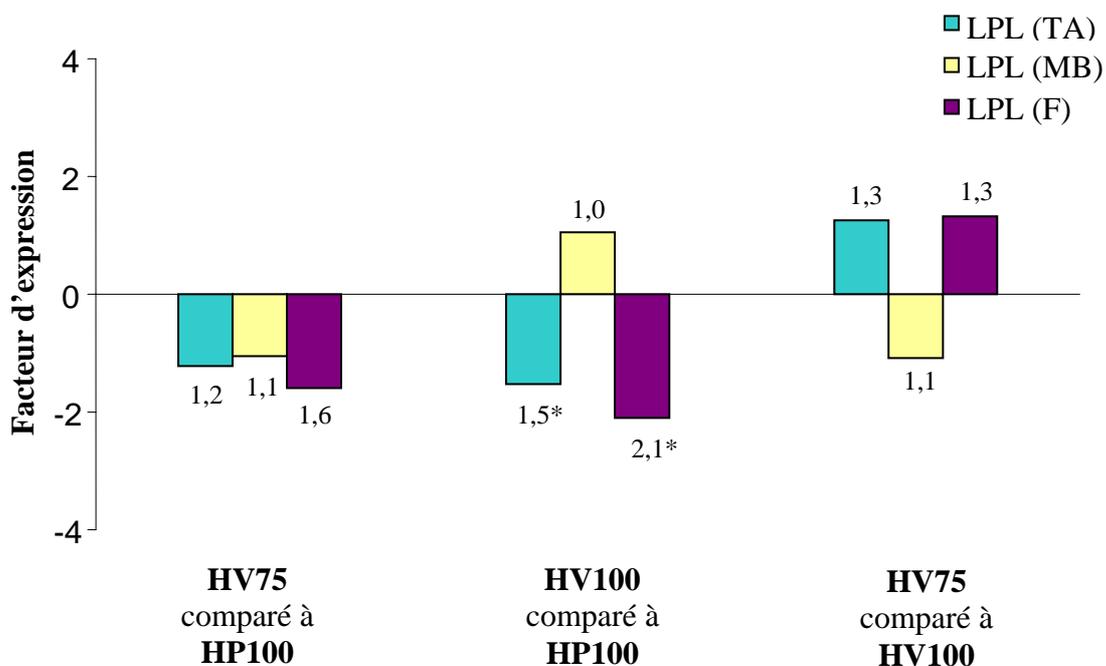
A.



B.



**Figure III.7 :** Comparaison de l'expression du gène LPL dans le tissu adipeux périviscéral (TA), le muscle blanc (MB) et le foie (F) chez la truite, à 44 semaines (n=6) (Analyse REST©). L'expression du gène LPL a été normalisée pour chaque tissu par l'expression du gène EF1 $\alpha$ . Les nombres indiquent le ratio relatif de l'expression des gènes. Les astérisques indiquent les différences significatives ( $P < 0,05$ , \*).



## III.2. Expérience 2 : Effet du remplacement de l'huile de poisson de l'aliment par des mélanges d'huiles végétales sur la constitution des dépôts lipidiques chez le bar

### III.2.1. Conditions expérimentales

#### III.2.1.1. Matériel biologique et régimes alimentaires

Des larves de bar Européen (*Dicentrarchus labrax*) fournies par MARESA (Huelva SW, Espagne), d'un poids moyen initial de  $5,2 \pm 1,0$  g ont été élevées dans les installations expérimentales de l'université de Cádiz (Espagne). Les larves sont réparties dans 6 bacs de 5000 litres à raison de 600 larves par bac et avec 2 bacs par régime alimentaire. Les bacs sont alimentés en eau de mer à la salinité de 39‰, saturée en oxygène et la température est maintenue constante à  $20 \pm 2^\circ\text{C}$ . Après 2 semaines d'acclimatation, les larves sont nourries *ad libitum* grâce à un système automatisé de tapis roulant. Toutes les 4 semaines, les poissons sont pesés afin de suivre les performances de croissance et la quantité d'aliment ingéré est mesurée.

Les 3 régimes alimentaires testés ont été fabriqués par Nutreco, Aquaculture Research Centre (Norvège). Ces aliments à base de farine de poisson sont isolipidiques, isoprotéiques et isoénergétiques, ils ne diffèrent que par la nature des huiles incorporées qui est la suivante (**Tableau III.10**) :

- 100% huile d'anchois (aliment HP pour "huile de poisson")
- 40% huile d'anchois - 60% mélange d'huiles végétales (35% huile de lin, 15% huile de palme, 10% huile de colza) (aliment HV1 pour "mélange d'huiles végétales 1")
- 40% huile d'anchois - 60% mélange d'huiles végétales (24% huile de lin, 12% huile de palme, 24% huile de colza) (aliment HV2 pour "mélange d'huiles végétales 2")

La composition des mélanges d'huiles végétales a été élaborée dans le but d'obtenir des teneurs globales pour les différentes classes d'acides gras proches de celle de l'huile d'anchois.

**Tableau III.10** : Composition des aliments (5 mm) testés dans l'expérience 2 avec les bars.

	<b>Aliment HP</b>	<b>Aliment HV1</b>	<b>Aliment HV2</b>
<b>Ingrédients (g/kg d'aliment)</b>			
Farine de poisson <sup>1</sup>	400,0	400,0	400,0
Gluten de maïs <sup>2</sup>	262,7	262,7	262,7
Blé <sup>3</sup>	152,3	152,3	152,3
Premixes <sup>4</sup>	25,0	25,0	25,0
Huile d'anchois <sup>5</sup>	160,0	64,0	64,0
Huile de colza <sup>6</sup>	/	16,0	38,4
Huile de lin <sup>7</sup>	/	56,0	38,4
Huile de palme <sup>8</sup>	/	24,0	19,2
<b>Composition analytique</b>			
Matière sèche (MS), %	89,8	89,1	90,6
Protéines (%MS)	53,2	51,8	52,8
Lipides (%MS)	22,2	20,8	25,8
Glucides (%MS)	17,1	20,3	14,6
Cendres (%MS)	7,5	7,1	6,8

<sup>1</sup> Scandinavian LT-fish meal (Nordsildmel, Norvège).

<sup>2</sup> Cargill, Staley, USA.

<sup>3</sup> Statkorn, Oslo, Norvège.

<sup>4</sup> selon les besoins indiqués par le NRC, 1993.

<sup>5</sup> Denofa, Fredrikstad, Norvège.

<sup>6</sup> Oelmühle Hamburg, Allemagne.

<sup>7</sup> N.V. Oliefabriek Lictervelde, Belgique.

<sup>8</sup> Denofa, Fredrikstad, Norvège.

La composition en acides gras des régimes est indiquée dans le **Tableau III.11**. L'aliment HP (100% huile de poisson) contient les plus fortes teneurs en acides gras saturés, notamment en acide palmitique (16:0), ainsi que les plus forts pourcentages en EPA (20:5n-3) et DHA (22:6n-3), qui sont les acides gras caractéristiques de l'huile de poisson. Les aliments HV1 et HV2 contiennent quant à eux des quantités équivalentes en 20:5n-3 et 22:6n-3. L'aliment HV1 renferme le taux le plus élevé en acide linoléique (18:3n-3), acide gras caractéristique de l'huile de lin. L'aliment HV2 est le plus riche en acides gras monoinsaturés,

avec principalement de l'acide oléique (18:1n-9) et il contient également la plus forte teneur en acide linoléique (18:2n-6), ces deux acides gras étant caractéristiques de l'huile de colza.

**Tableau III.11** : Pourcentage des principaux acides gras des aliments (5 mm) de l'expérience 2 (% des acides gras totaux)

AG	Aliment HP	Aliment HV1	Aliment HV2
<b>14:0</b>	4,3	1,9	1,9
<b>16:0</b>	14,0	13,3	12,5
<b>18:0</b>	3,0	3,1	2,7
<b>Saturés</b>	<b>22,9</b>	<b>19,5</b>	<b>18,6</b>
<b>16:1</b>	13,6	10,4	10,2
<b>18:1</b>	11,6	16,9	23,6
<b>20:1</b>	2,3	1,9	2,0
<b>22:1</b>	2,0	1,7	1,7
<b>AGMI</b>	<b>30,7</b>	<b>34,6</b>	<b>38,1</b>
<b>18:2n-6</b>	4,9	9,0	10,4
<b>20:4n-6</b>	0,6	0,3	0,3
<b>AGPI n-6</b>	<b>8,4</b>	<b>11,0</b>	<b>12,3</b>
<b>18:3n-3</b>	1,5	12,3	10,3
<b>18:4</b>	2,0	1,1	1,0
<b>20:4</b>	0,5	0,3	0,3
<b>20:5</b>	9,8	5,3	5,2
<b>22:5</b>	1,2	0,7	0,6
<b>22:6</b>	11,0	6,3	6,2
<b>AGPI n-3</b>	<b>26,0</b>	<b>26,0</b>	<b>23,6</b>
<b>Sat/AGPI</b>	<b>0,67</b>	<b>0,52</b>	<b>0,52</b>
<b>n-3/n-6</b>	<b>3,09</b>	<b>2,36</b>	<b>1,92</b>

### *III.1.2.2. Prélèvements et analyses réalisées*

Des prélèvements ont eu lieu après 64 semaines d'alimentation, lorsque les bars ont atteint le poids de 160 g. Les poissons sont prélevés comme indiqué dans la partie Matériel et Méthodes, 16 heures après leur dernière prise alimentaire.

Les analyses suivantes ont été réalisées comme décrit dans la partie Matériel et Méthodes :

- **Activité de la LPL** dans le tissu adipeux périviscéral, le muscle blanc, le foie (9 échantillons par aliment et par tissu)
- **Activité des enzymes de la lipogenèse (G6PDH, EM, AGS)** dans le foie (6 échantillons par aliment)
- **Composition en lipides du plasma et des fractions VLDL, LDL et HDL** plasmatiques (3 pools de 3 poissons par aliment)
- **Teneur en lipides du foie et du muscle** (30 échantillons par aliment)

L'analyse de la teneur en lipides du foie et du muscle des bars ainsi que l'analyse de la composition en acides gras des aliments et des filets ont été réalisées par l'équipe du Dr G. Mourente (Departamento de Biología, Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales, Universidad de Cádiz, Espagne).

Le dosage des lipides totaux du foie et du muscle a été réalisé selon la technique de Folch (Folch *et al.*, 1957). La composition en acides gras des aliments a été déterminée sur les lipides totaux extraits selon la méthode de Folch. Les esters méthyliques d'acides gras ont été préparés par transméthylation acide des lipides totaux à 50°C pendant 16 heures, avec l'acide tricosanoïc (23:0) comme standard interne (Christie, 1989). Les esters méthyliques d'acides gras ont été extraits et purifiés (Tocher et Harvie, 1988) et ont été analysés à l'aide d'un chromatographe gazeux Hewlett-Packard 5890A Series II équipé d'une colonne capillaire de silice Supelcowax-10 de haute polarité (polyéthylèneglycol) de 30 m × 0,32 mm de diamètre interne (Supelco Inc., Bellefonte, PA, USA), en utilisant une injection directe ("on column") et une détection d'ionisation à flamme. L'hydrogène a été utilisé comme gaz vecteur. Le gradient thermique du four utilisé était de 50 à 180°C à 25°C/min, 180 à 235°C à 3°C/min et une température constante de 235°C pendant 10 minutes. Les esters méthyliques d'acides gras ont été identifiés par comparaison avec des standards connus et ont été quantifiés par le logiciel Hewlett-Packard ChemStation.

### III.2.2. Résultats

#### *III.2.2.1. Croissance, paramètres morphométriques, teneur en lipides totaux du muscle et du foie et composition en acides gras des muscles des bars*

Les performances de croissance ainsi que les paramètres morphométriques des bars, après 64 semaines d'alimentation sont présentés dans le **Tableau III.12**. Les performances de croissance des 3 groupes de poissons ont été similaires tout au long de l'expérience et les bars atteignent un poids moyen final d'environ 160 g. Le taux de croissance spécifique, l'efficacité alimentaire ainsi que l'indice hépatosomatique ne varient pas significativement entre les 3 aliments. Quel que soit le régime reçu, la teneur en lipides totaux est très élevée (27 à 31%) dans le foie alors que dans le muscle elle n'est que de 2 à 3%. Chez les animaux ayant reçu l'aliment HV1, le poids moyen final ainsi que la teneur en lipides du foie tendent à être plus faibles comparés aux animaux des deux autres groupes, bien que ces différences ne soient pas significatives.

**Tableau III.12** : Paramètres morphométriques des bars et teneur en lipides du muscle et du foie après 64 semaines d'alimentation.

	<b>Aliment HP</b>	<b>Aliment HV1</b>	<b>Aliment HV2</b>
PMF (g)	176 ± 33	143 ± 29	160 ± 34
TCS (%)	0,8 ± 0,1	0,7 ± 0,1	0,8 ± 0,1
EA	1,2 ± 0,3	1,6 ± 0,4	1,3 ± 0,3
IHS	2,0 ± 0,3	1,9 ± 0,2	2,1 ± 0,3
Lipides muscle (%frais)	2,9 ± 1,7	2,0 ± 0,3	2,5 ± 1,0
Lipides foie (%frais)	30,7 ± 4,3	26,9 ± 0,5	31,6 ± 3,4

Les résultats sont présentés sous la forme moyenne ± écart type (n=30). Les résultats ne sont pas significativement différents ( $P > 0,05$ ).

PMF = poids moyen final

TCS = taux de croissance spécifique =  $100 \times [\ln(\text{PMF}) - \ln(\text{PMI})] / \text{jours}$

PMI = poids moyen initial

EA = efficacité alimentaire = poids (g) / quantité d'aliment sec ingéré (g)

IHS = indice hépatosomatique = (poids du foie(g)/poids corporel (g)) × 100

IVS = indice viscérosomatique = (poids des viscères (g)/poids corporel (g)) × 100

La composition en acides gras des filets des bars est rapportée dans le **Tableau III.13**. La composition en acides gras du muscle des poissons reflète en grande partie celle des aliments distribués.

**Tableau III.13** : Pourcentage des principaux acides gras des lipides totaux du muscle chez le bar après 64 semaines d'alimentation (% des acides gras totaux)

Acides gras	Aliment HP	Aliment HV1	Aliment HV2
<b>14:0</b>	2,5	1,1	1,2
<b>16:0</b>	15,8	14,0	13,8
<b>18:0</b>	3,6	3,8	3,5
<b>Saturés</b>	<b>23,0 a</b>	<b>20,6 ab</b>	<b>18,5 b</b>
<b>16:1</b>	8,5	8,7	7,5
<b>18:1</b>	13,9	19,4	20,8
<b>20:1</b>	1,9	1,8	1,8
<b>22:1</b>	0,9	0,8	0,8
<b>AGMI</b>	<b>33,0</b>	<b>35,9</b>	<b>36,5</b>
<b>18:2n-6</b>	3,5	7,8	7,2
<b>20:4n-6</b>	0,8	0,5	0,5
<b>AGPI n-6</b>	<b>6,4 b</b>	<b>10,0 a</b>	<b>9,9 a</b>
<b>18:3n-3</b>	1,0	10,1	7,0
<b>18:4</b>	1,2	0,7	0,7
<b>20:4</b>	0,4	0,2	0,3
<b>20:5</b>	8,8	5,2	5,2
<b>22:5</b>	1,4	0,8	0,8
<b>22:6n-3</b>	16,3	10,7	10,4
<b>AGPI n-3</b>	<b>29,9</b>	<b>28,6</b>	<b>25,3</b>
<b>n-3/n-6</b>	<b>4,7 a</b>	<b>2,9 b</b>	<b>2,6 b</b>

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne (n=3). Les moyennes affectées d'une lettre différente dans une même ligne indiquent un effet significatif de l'aliment ( $P < 0,05$ ).

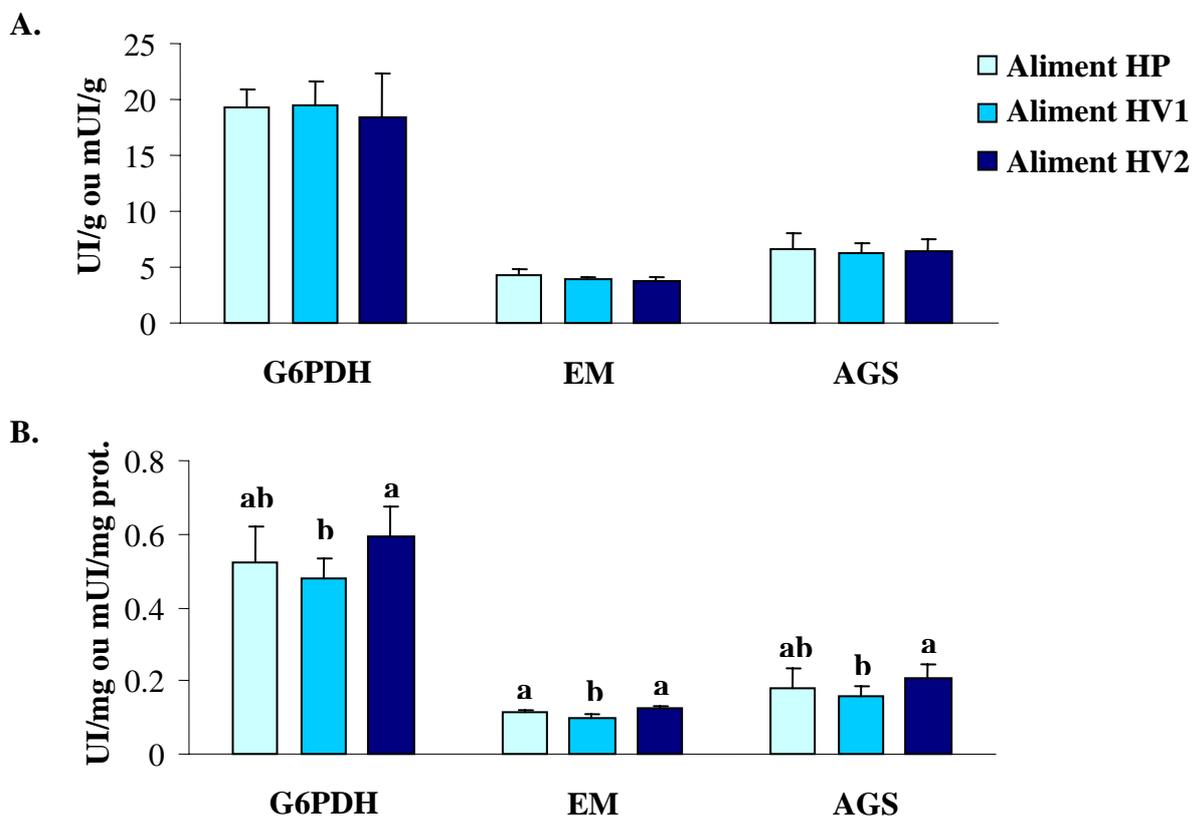
Les lipides du muscle des bars du groupe HP se caractérisent par une très forte teneur en DHA (16,3%) ainsi que par des proportions plus élevées en 14:0, 16:0 et EPA comparés aux animaux des deux autres groupes. Chez les animaux ayant reçu les aliments à bases

d'huiles végétales (HV1 et HV2) on observe une plus grande proportion de 18:1n-9, 18:2n-6 et 18:3n-3 dans les lipides totaux du muscle. La teneur en 18:3n-3 est plus élevée dans le groupe HV1 (10%), alors que les teneurs en 18:1n-9 et 18:2n-6 ainsi que celles en EPA et DHA sont similaires entre les deux groupes HV1 et HV2.

### III.2.2.2. Activité des enzymes de la lipogenèse hépatique ( G6PDH, EM, AGS )

Les activités G6PDH, EM et AGS ont été mesurées dans le foie des bars à 64 semaines (**Figure III.8**). L'activité G6PDH est environ 4 fois plus élevée que celle de l'EM. Les activités G6PDH, EM et AGS, exprimées en UI/g de foie, ne sont pas modifiées significativement par les aliments testés. Lorsqu'on exprime les activités en UI/mg de protéines, l'activité des 3 enzymes est plus faible chez les animaux nourris avec l'aliment HV1 comparé à ceux nourris avec l'aliment HV2.

**Figure III.8 :** Activités G6PDH, EM et AGS dans le foie chez le bar après 64 semaines d'alimentation [(A) UI ou mUI/g tissu et (B) UI ou mUI/mg protéines pour G6PDH, EM et AGS respectivement]. Les valeurs représentent la moyenne + écart-type (n=6) et des lettres différentes indiquent un effet significatif de l'aliment ( $P < 0,05$ ).



### III.2.2.3. Teneur en lipides du plasma et des différentes classes de lipoprotéines

Les concentrations en triglycérides, cholestérol total, phospholipides, acides gras libres et protéines ont été mesurées dans le plasma des bars à 64 semaines (**Tableau III.14**). Les teneurs en cholestérol plasmatique sont plus faibles chez les poissons nourris avec les aliments contenant les mélanges d'huiles végétales (HV1 et HV2). Avec l'aliment HV2 on note également une diminution de la teneur en phospholipides du plasma par rapport aux deux autres aliments. Par contre, on n'observe pas de différences dans les teneurs en triglycérides, acides gras libres et protéines plasmatiques entre les 3 groupes.

**Tableau III.14** : Teneurs en triglycérides, cholestérol total, phospholipides, acides gras libres et protéines plasmatiques (g/l) des bars après 64 semaines d'alimentation.

	Aliment HP	Aliment HV1	Aliment HV2
Triglycérides	19,9 ± 1,1	21,8 ± 1,0	20,8 ± 1,5
Cholestérol total	3,2 ± 0,1 <b>a</b>	2,6 ± 0,1 <b>b</b>	2,6 ± 0,3 <b>b</b>
Phospholipides	8,6 ± 0,3 <b>a</b>	8,4 ± 0,3 <b>a</b>	7,2 ± 0,2 <b>b</b>
Acides gras libres	0,25 ± 0,04	0,20 ± 0,05	0,17 ± 0,05
Protéines	33,9 ± 1,4	36,0 ± 3,8	36,7 ± 5,3

Les résultats sont présentés sous la forme moyenne ± écart type (n=3). Les moyennes affectées d'une lettre différente dans une même ligne indiquent un effet significatif de l'aliment ( $P < 0,05$ ).

Les différentes classes de lipoprotéines plasmatiques (VLDL, LDL et HDL) ont été séparées et leur composition en triglycérides, cholestérol total, phospholipides, acides gras libres et protéines a été analysée. Les résultats sont exprimés en g/l de plasma (**Tableau III.15**) ainsi qu'en pourcentage relatif des différents constituants de chaque fraction de lipoprotéine (**Tableau III.16**).

Les classes de VLDL et HDL dominent le profil lipoprotéique des bars et représentent respectivement 44% et 37% des lipoprotéines. La classe des VLDL renferme principalement des triglycérides (70,1 à 73,2%). Les LDL contiennent moins de triglycérides que les VLDL (57,3 à 61,6%) et plus de protéines (13,4-14,4%). La classe des HDL se caractérise par une forte proportion de protéines (45,8-49%) et de phospholipides (29,7-31,8%).

Les teneurs en VLDL, LDL et HDL plasmatiques des bars ne varient pas significativement en fonction de l'aliment reçu. Lorsque les résultats sont exprimés en g/l de

plasma, chez les poissons nourris avec les aliments contenant le mélange d'huiles végétales (HV1 et HV2), une plus faible teneur en cholestérol est observée dans les fractions VLDL et LDL. Avec l'aliment HV2, la teneur en phospholipides est également plus faible dans la fraction VLDL comparée à celle des animaux ayant reçu l'aliment HP. La composition en lipides et protéines des HDL ne diffère pas significativement entre les 3 groupes de poissons.

**Tableau III.15** : Teneurs en triglycérides, cholestérol total, phospholipides, acides gras libres et protéines des VLDL, LDL et HDL plasmatiques des bars (g/l plasma) et taux des différentes classes de lipoprotéines (g/l plasma) après 64 semaines d'alimentation.

	<b>Aliment HP</b>	<b>Aliment HV1</b>	<b>Aliment HV2</b>
<b>VLDL</b>			
Triglycérides	10,3 ± 1,5	9,4 ± 1,3	10,2 ± 0,8
Cholestérol total	1,0 ± 0,1 <b>a</b>	0,8 ± 0,0 <b>b</b>	0,8 ± 0,1 <b>b</b>
Phospholipides	2,2 ± 0,1 <b>a</b>	2,0 ± 0,1 <b>ab</b>	1,9 ± 0,1 <b>b</b>
Acides gras libres	0,07 ± 0,04	0,08 ± 0,03	0,06 ± 0,03
Protéines	1,0 ± 0,1	1,0 ± 0,0	1,0 ± 0,1
Taux VLDL	14,5 ± 1,8	13,3 ± 1,2	13,9 ± 0,9
<b>LDL</b>			
Triglycérides	3,6 ± 0,5	3,6 ± 0,9	3,7 ± 0,7
Cholestérol total	0,5 ± 0,0 <b>a</b>	0,4 ± 0,1 <b>b</b>	0,4 ± 0,0 <b>b</b>
Phospholipides	1,2 ± 0,2	1,0 ± 0,2	1,0 ± 0,1
Acides gras libres	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,01 ± 0,00
Protéines	0,8 ± 0,1	0,8 ± 0,1	0,9 ± 0,1
Taux LDL	6,1 ± 0,7	5,9 ± 1,2	6,0 ± 0,7
<b>HDL</b>			
Triglycérides	1,9 ± 0,2	1,9 ± 0,1	1,8 ± 0,4
Cholestérol total	0,7 ± 0,1	0,6 ± 0,0	0,6 ± 0,2
Phospholipides	4,0 ± 0,5	3,4 ± 0,3	3,4 ± 0,8
Acides gras libres	0,12 ± 0,03	0,10 ± 0,02	0,09 ± 0,04
Protéines	5,8 ± 0,6	5,1 ± 0,1	5,5 ± 0,6
Taux HDL	12,7 ± 1,4	11,1 ± 0,4	11,3 ± 1,9

Les résultats sont présentés sous la forme moyenne ± écart type (n=3). Les moyennes affectées d'une lettre différente dans une même ligne indiquent un effet significatif de l'aliment ( $P < 0,05$ ).

La composition relative des VLDL ne varie pas entre les 3 groupes de poissons (**Tableau III.16**). Dans la fraction LDL, les proportions de cholestérol, phospholipides et acides gras libres sont plus faibles chez les poissons nourris avec les aliments HV1 et HV2 comparés aux animaux ayant reçu l'aliment HP. Dans la fraction HDL, le pourcentage de triglycérides est plus élevé chez les poissons nourris avec l'aliment HV1 comparé à ceux ayant reçu les aliments HP et HV2 mais la proportion des autres composants de la fraction ne varient pas significativement.

**Tableau III.16** : Proportion en triglycérides, cholestérol total, phospholipides, acides gras libres et protéines dans les VLDL, LDL et HDL plasmatiques des bars (% de la fraction) après 64 semaines d'alimentation.

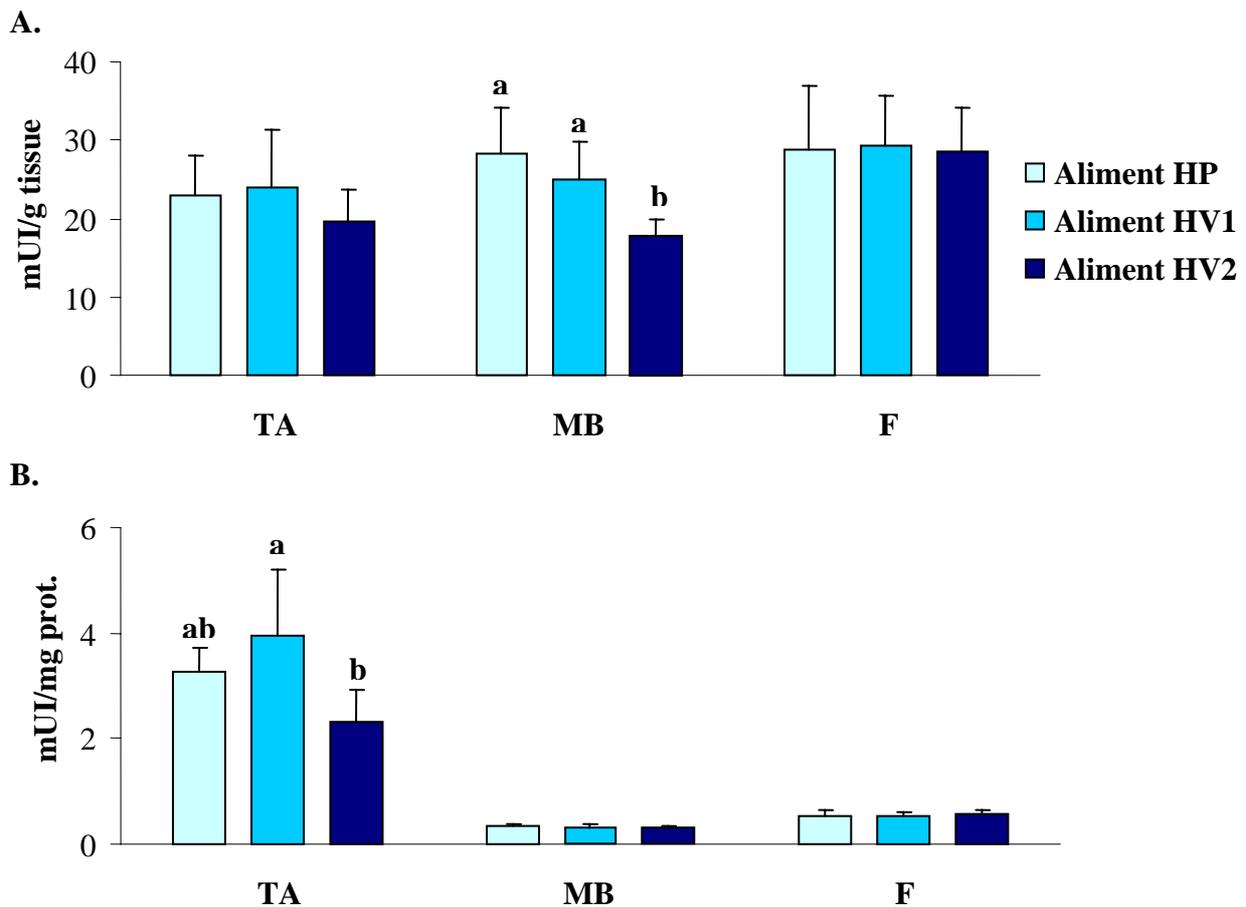
	<b>Aliment HP</b>	<b>Aliment HV1</b>	<b>Aliment HV2</b>
<b>VLDL</b>			
Triglycérides (%)	70,6 ± 1,8	70,1 ± 3,9	73,2 ± 1,1
Cholestérol total (%)	7,0 ± 0,5	6,3 ± 0,8	5,9 ± 0,4
Phospholipides (%)	14,9 ± 0,9	15,5 ± 2,0	13,7 ± 0,5
Acides gras libres (%)	0,5 ± 0,2	0,6 ± 0,3	0,4 ± 0,2
Protéines (%)	7,0 ± 0,7	7,5 ± 0,9	6,8 ± 0,1
<b>LDL</b>			
Triglycérides (%)	57,3 ± 2,2	60,3 ± 3,2	61,6 ± 4,4
Cholestérol total (%)	10,2 ± 0,9 <b>a</b>	8,2 ± 0,6 <b>b</b>	8,1 ± 1,2 <b>b</b>
Phospholipides (%)	18,7 ± 0,8 <b>a</b>	16,8 ± 0,5 <b>b</b>	15,9 ± 1,2 <b>b</b>
Acides gras libres (%)	0,3 ± 0,1 <b>a</b>	0,2 ± 0,0 <b>ab</b>	0,2 ± 0,0 <b>b</b>
Protéines (%)	13,4 ± 0,9	14,4 ± 2,3	14,1 ± 2,0
<b>HDL</b>			
Triglycérides (%)	15,3 ± 0,1 <b>b</b>	17,4 ± 0,1 <b>a</b>	15,5 ± 1,2 <b>b</b>
Cholestérol total (%)	5,9 ± 0,2	5,3 ± 0,4	5,0 ± 0,6
Phospholipides (%)	31,8 ± 0,7	30,5 ± 1,5	29,7 ± 3,1
Acides gras libres (%)	0,9 ± 0,1	0,9 ± 0,2	0,8 ± 0,2
Protéines (%)	46,1 ± 0,5	45,8 ± 1,3	49,0 ± 4,9

Les résultats sont présentés sous la forme moyenne ± écart type (n= 3). Les moyennes affectées d'une lettre différente dans une même ligne indiquent un effet significatif de l'aliment ( $P < 0,05$ ).

**III.2.2.4. Activité de la lipoprotéine lipase dans différents tissus (tissu adipeux périviscéral, muscle blanc, foie)**

L'activité LPL mesurée dans le tissu adipeux périviscéral, le foie et le muscle blanc des bars après 64 semaines d'alimentation est représentée sur la **Figure III.9**. L'activité LPL, exprimée en mUI/g de tissu, est légèrement plus élevée dans le foie que dans le tissu adipeux périviscéral et le muscle blanc.

**Figure III.9 :** Activité LPL dans le tissu adipeux périviscéral (TA), le muscle blanc (MB) et le foie des bars après 64 semaines d'alimentation [(A) mUI/g tissu et (B) mUI/mg protéines]. Les valeurs représentent la moyenne + écart-type (n = 9) et des lettres différentes indiquent un effet significatif de l'aliment ( $P < 0,05$ ).



Dans le muscle blanc, l'activité LPL est plus faible avec l'aliment HV2 comparé aux aliments HP et HV1 mais aucune différence significative n'est observée entre les 3 aliments lorsqu'elle est exprimée en activité spécifique (mUI/mg protéines). L'activité LPL ne diffère

pas significativement entre les 3 groupes de poissons dans le foie, quel que soit son mode d'expression, ainsi que dans le tissu adipeux lorsqu'elle est exprimée par g de tissu. Cependant, dans ce dernier tissu, l'activité spécifique de la LPL est plus faible chez les bars nourris avec l'aliment HV2 comparé à ceux ayant reçu l'aliment HV1. Néanmoins il n'y a pas de différence significative entre les 2 groupes ayant reçu les aliments à base d'huiles végétales (HV1 et HV2) et ceux ayant reçu l'aliment HP.

### **III.3. Discussion**

#### **III.3.1. Performances de croissance**

Des études précédentes, menées sur la truite arc-en-ciel ont montré que le remplacement partiel (de 50 à 80%) de l'huile de poisson par différentes huiles végétales (soja, colza, mélange d'huile de palme et d'huile d'olive, ou mélange d'huile de colza et d'huile de palme) (Caballero *et al.*, 2002) ainsi que le remplacement total de l'huile de poisson par de l'huile de soja ou de l'huile de lin ne compromet pas la croissance des poissons (Greene et Selivonchick, 1990). Dans ces études, les truites arc-en-ciel avaient un poids moyen initial de 250 g (Caballero *et al.*, 2002) et 80 g (Greene et Selivonchick, 1990) et ont reçu les aliments expérimentaux pendant une durée de 64 jours et 20 semaines respectivement. Notre étude met en évidence pour la première fois qu'il est possible chez la truite arc-en-ciel de substituer totalement l'huile de poisson par un mélange d'huiles végétales depuis la première alimentation des poissons et jusqu'à ce qu'ils atteignent un poids de 1 kg (64 semaines), sans qu'il n'y ait d'impacts négatifs sur leur croissance. Ces données sont en accord avec celles obtenues chez d'autres espèces. Chez le saumon Atlantique, le remplacement total de l'huile de poisson par des huiles de palme, tournesol, colza ou par un mélange d'huiles (colza et lin) n'affecte pas non plus la croissance des poissons (Torstensen *et al.*, 2000 ; Bell *et al.*, 2001, 2002 ; Bendiksen *et al.*, 2003). Il en est de même chez l'omble de fontaine avec des aliments à base d'huile de soja ou de colza (Guillou *et al.*, 1995).

Chez les poissons marins, l'utilisation d'huiles végétales comme seule source lipidique de l'aliment est limitée à cause de la plus faible capacité de ces espèces à convertir l'acide linoléique en EPA et DHA, comparé aux salmonidés. Le remplacement partiel de l'huile de poisson par des huiles végétales n'est donc possible que dans le cas où les acides gras essentiels sont apportés en quantité suffisante par l'aliment. Différentes études ont montré

qu'il est possible de remplacer jusqu'à 60% de l'huile de poisson par des huiles végétales telles que l'huile de soja, de lin ou d'olive sur des durées comprises entre 15 et 30 semaines sans altérer la croissance chez le bar Européen (Mourente et Dick, 2002 ; Izquierdo *et al.*, 2003 ; Figueiredo-Silva *et al.*, 2005 ; Montero *et al.*, 2005 ; Mourente *et al.*, 2005) et la daurade royale (Izquierdo *et al.*, 2003, 2005). L'huile de colza peut également être incorporée à un taux de 60% dans l'alimentation des bars sans affecter leur croissance sur de courtes périodes d'élevage (environ 13 semaines) (Izquierdo *et al.*, 2003). Cependant, sur une plus longue période d'élevage (32 semaines), un ralentissement de la croissance a été observé chez cette espèce (Montero *et al.*, 2005). Notre étude menée chez le bar montre que 60% de l'huile de poisson peut être substituée par des mélanges d'huiles végétales (colza, lin et palme) sans altérer la croissance des animaux sur une très longue période d'élevage, supérieure à un an (64 semaines). Par contre lorsque la part d'huiles végétales dans l'aliment (huile de soja ou huile de lin) est supérieure à 60%, une réduction des performances de croissance des poissons marins est observée (turbot, bar, daurade) (Regost *et al.*, 2003 ; Izquierdo *et al.*, 2005 ; Montero *et al.*, 2005). Un minimum de 40% d'huile de poisson semble donc nécessaire dans l'alimentation de ces poissons pour ne pas altérer leur croissance.

### **III.3.2. Lipogenèse hépatique**

Chez la truite arc-en-ciel, l'activité des enzymes de la lipogenèse hépatique augmente entre les 2 temps de prélèvement, ce qui est en accord avec les observations de Walzem *et al.* (1991) qui indiquent une forte corrélation entre les activités G6PDH et EM hépatique et l'augmentation du poids des poissons.

Chez la truite arc-en-ciel et le bar, l'activité de la G6PDH est plus élevée que celle de l'EM (1,5 fois chez la truite et 4 fois chez le bar), ce qui confirme que la G6PDH est la principale voie de production d'équivalents réducteurs NADPH nécessaires à l'activité de l'AGS chez ces 2 espèces (Walzem *et al.*, 1991 ; Alvarez *et al.*, 1998 ; Dias *et al.*, 1999 ; Gélinau *et al.*, 2001 ; Boujard *et al.*, 2004), comme c'est également le cas chez de nombreuses espèces de poissons (turbot, sole, perche, saumon Coho, daurade royale) (Lin *et al.*, 1977c ; Shimeno *et al.*, 1997 ; Gomez-Requeni *et al.*, 2003 ; Regost *et al.*, 2003 ; Dias *et al.*, 2004). Cependant, il a été rapporté que chez le saumon Atlantique et l'esturgeon blanc, l'activité G6PDH hépatique est plus faible que celle de l'EM (Fynn-Aikins *et al.*, 1992 ; Torstensen *et al.*, 2004a). Chez les rongeurs, le cycle des pentoses phosphates fournit la majeure partie du NADPH utilisé lors de la synthèse des acides gras et il a été montré qu'un des métabolites de

ce cycle, le xylulose-5-phosphate, est un important régulateur de la phosphorylation du facteur de transcription ChREBP qui est impliqué entre autre dans le mécanisme d'induction de la lipogenèse par le glucose (Rognstad et Katz, 1979 ; Gondret *et al.*, 1997 ; Kabashima *et al.*, 2003).

Dans notre étude, les activités des enzymes de la lipogenèse chez le bar (en UI/g) sont du même ordre de grandeur que celles mesurées chez la truite, excepté l'activité G6PDH qui est plus élevée chez le bar. Nos valeurs sont en accord avec celles obtenues précédemment chez ces 2 espèces (Arantzamendi, 2002 ; Boujard *et al.*, 2004). La capacité de synthèse endogène des lipides dans le foie est donc similaire pour ces 2 espèces. Si l'on compare les capacités lipogéniques de différentes espèces (activités mesurées par les mêmes méthodes que dans nos études) (**Tableau III.17**) on peut constater que l'activité AGS est beaucoup plus élevée chez la sole et le turbot (environ 20 fois et 100 fois respectivement) que chez la daurade, la truite Fario, la truite arc-en-ciel ou le bar, chez qui l'activité est très proche (0,06-0,18 mUI/g). Cependant, il est important de prendre en compte la teneur en lipides des aliments utilisés dans ces études. Dans le cas du turbot, dont l'activité AGS est très élevée comparé aux autres espèces, la teneur en lipides de l'aliment est également plus faible que dans les autres études. L'activité des enzymes génératrices de NADPH varie moins entre les espèces que l'activité AGS. Cependant l'activité de l'EM est très supérieure chez le saumon Atlantique et plus faible chez la sole comparé aux autres espèces. L'activité de la G6PDH est plus élevée chez le bar et le saumon que chez la daurade, le turbot, la sole ou la truite arc-en-ciel. Ces données indiquent donc des différences entre espèces dans les capacités de synthèse endogène des lipides.

**Tableau III.17 : Activité des enzymes de la lipogenèse hépatique chez différentes espèces de poissons**

Espèces	Activités enzymatiques	Poids	Source lipidique de l'aliment	Teneur en lipides et glucides de l'aliment	Référence
<b>Saumon Atlantique</b>	G6PDH = $0,44 \pm 0,05$ UI/mg prot. EM = $0,65 \pm 0,06$ UI/mg	1460 g	Huile de poisson	Lip. : 30% Gluc. : 12%	Torstensen <i>et al.</i> 2004a
<b>Daurade royale</b>	G6PDH = $0,23 \pm 0,03$ UI/mg AGS = $0,08 \pm 0,00$ mUI/mg	460 g	Huile de poisson	Lip. : 22% Gluc. : 21%	Menoyo <i>et al.</i> 2004
<b>Turbot</b>	G6PDH = $0,25 \pm 0,01$ UI/mg EM = $0,06 \pm 0,00$ UI/mg AGS = $9,16 \pm 2,00$ mUI/mg	960 g	Huile de poisson	Lip. : 16,6% MS Gluc. : 16,8% MS	Regost <i>et al.</i> 2003
<b>Truite Fario</b>	G6PDH = $0,37 \pm 0,01$ UI/mg AGS = $0,06 \pm 0,01$ mUI/mg	2720 g	Huile de poisson	Lip. : 26% MS Gluc. : 8% MS	Regost <i>et al.</i> 2001a
<b>Sole sénégalèse</b>	G6PDH ~ 0,25 UI/mg EM ~ 0,01 UI/mg AGS ~ 2 mUI/mg	40 g	Huile de poisson	Lip. : 21% MS Gluc. : 11% MS	Dias <i>et al.</i> 2004
<b>Truite arc-en-ciel</b>	G6PDH = $0,23 \pm 0,05$ UI/mg EM = $0,15 \pm 0,03$ UI/mg AGS = $0,10 \pm 0,03$ mUI/mg	1110 g	Huile de poisson	Lip. : 30% MS	Expérience 1
<b>Bar Européen</b>	G6PDH = $0,52 \pm 0,10$ UI/mg EM = $0,11 \pm 0,01$ UI/mg AGS = $0,18 \pm 0,05$ mUI/mg	180 g	Huile de poisson	Lip. : 22% MS Gluc. : 17,1% MS	Expérience 2

Chez le saumon Atlantique, les activités G6PDH et EM diminuent lorsque le contenu en AGPI n-3 de l'aliment augmente (15% *versus* 29% des acides gras totaux) (Menoyo *et al.*, 2003). Alvarez *et al.* (2000) observent également *in vitro* un effet inhibiteur de l'EPA, du DHA et de l'acide linoléique sur les activités G6PDH et AGS sur des hépatocytes de truite arc-en-ciel. Chez la daurade royale, le remplacement de 80% de l'huile de poisson par de l'huile de lin, très riche en acide linoléique (36,7% d'acide linoléique contre 0,6% dans l'aliment ne contenant que de l'huile de poisson) induit une diminution de la lipogenèse hépatique (Menoyo *et al.*, 2004). Par contre, chez le turbot, le remplacement total de l'huile de poisson par de l'huile de lin (33,3% d'acide linoléique dans l'aliment contenant l'huile de lin *versus* 1,3% dans l'aliment contenant l'huile de poisson) ne modifie pas les activités G6PDH, EM et AGS (Regost *et al.*, 2003), ce qui semble indiquer une différence de sensibilité des enzymes de la lipogenèse entre ces 2 espèces. Dans notre étude, le remplacement partiel de l'huile de poisson par un mélange d'huiles végétales ne modifie pas l'activité des enzymes de la lipogenèse hépatique chez le bar. Chez la truite, le remplacement total de l'huile de poisson n'a pas non plus d'effet sur la lipogenèse hépatique, que ce soit au niveau enzymatique ou au niveau moléculaire. Des résultats similaires ont été observés avec la substitution de l'huile de poisson par de l'huile de soja chez le turbot et la daurade royale (Regost *et al.*, 2003 ; Menoyo *et al.*, 2004) ainsi que par de l'huile de colza chez le saumon Atlantique (Torstensen *et al.*, 2004a). Cette absence d'effet peut s'expliquer par le fait que dans tous ces régimes, l'augmentation de la teneur en acide linoléique et la diminution du contenu en EPA et DHA ne sont pas assez importantes pour induire des modifications significatives de la lipogenèse.

Dans notre étude chez la truite, on observe à 44 semaines avec l'aliment HV75 une augmentation des activités G6PDH et AGS ainsi que du taux d'ARNm AGS comparé aux deux autres aliments, alors que le taux d'ARNm G6PDH n'est pas modifié. Ces résultats suggèrent l'existence d'une régulation post-transcriptionnelle du gène G6PDH et d'une régulation transcriptionnelle pour le gène AGS avec l'aliment HV75. Chez les mammifères, les gènes G6PDH et AGS sont également régulés à un niveau post-transcriptionnel et transcriptionnel respectivement (Blake et Clarke, 1990 ; Stabile *et al.*, 1998). Cependant cette augmentation de la lipogenèse ne peut s'expliquer par la composition en acides gras du régime, l'aliment ayant une composition intermédiaire entre les aliments HP100 et HV100 et aucune différence significative d'activité et d'expression de la G6PDH et de l'AGS n'étant observée entre les régimes HP100 et HV100.

### **III.3.3. Transport des lipides**

Nos données sur la composition des différentes classes de lipoprotéines sont similaires à celles obtenues précédemment par Chapman *et al.* (1978) et Babin et Vernier (1989) pour la truite arc-en-ciel ainsi qu'à celles de Santulli *et al.* (1996) pour le bar. La forte teneur en triglycérides dans la fraction des VLDL (environ 54% de la fraction chez la truite et 71% chez le bar) reflète bien le rôle important de ces lipoprotéines dans le transport et la distribution des triglycérides aux différents tissus. Une proportion plus faible de triglycérides est retrouvée dans les LDL (24% chez la truite et 59% chez le bar) qui résultent de l'hydrolyse des VLDL. Les VLDL et LDL du bar contiennent une plus grande proportion de triglycérides que chez la truite mais sont moins riches en cholestérol, phospholipides et protéines. La composition des HDL est similaire entre les 2 espèces mais on observe une plus forte proportion de cholestérol et moins de triglycérides chez le bar que chez la truite. Dans les HDL, les triglycérides représentent moins de 20% des composants de la fraction chez les 2 espèces et se caractérisent par une forte proportion de protéines (environ 47%) et de phospholipides (environ 31%). Les LDL sont la classe la plus riche en cholestérol (avec 17% de cholestérol chez la truite et 9% chez le bar), mais les HDL étant en plus grande quantité dans le plasma des poissons, ce sont donc ces dernières qui transportent la majeure partie du cholestérol plasmatique. La concentration en HDL plasmatique des truites de notre étude (environ 14 g/l) est analogue à celle rapportée chez la même espèce par Chapman *et al.* (1978). Par contre les concentrations plasmatiques en VLDL et LDL des truites sont plus faibles dans cette étude (6,7 et 4,7 g/l respectivement) (Chapman *et al.*, 1978) comparé aux données obtenues dans notre expérience. Cependant, les prélèvements de sang ont été réalisés 8 heures après la dernière prise alimentaire dans l'étude de Chapman *et al.* et 18 heures après le dernier repas dans la notre. Ceci peut donc expliquer les différences de teneurs en VLDL et LDL entre ces deux études puisque chez la truite, le pic d'absorption des lipides est maximal entre 18 et 24 heures après la prise alimentaire (Babin et Vernier, 1989).

Dans nos études, la substitution de l'huile de poisson par les mélanges d'huiles végétales entraîne une diminution de la concentration en cholestérol plasmatique chez la truite comme chez le bar. Cette diminution semble être principalement due à une diminution des concentrations en cholestérol dans les VLDL et les LDL chez les 2 espèces ainsi qu'à une baisse de la teneur en LDL plasmatique chez la truite. Plusieurs facteurs peuvent influencer la

cholestérolémie : la teneur en cholestérol de l'aliment, la composition en acides gras de l'aliment, son contenu en phytostérols.

Beaucoup d'études ont montré que chez les vertébrés supérieurs, une augmentation de la teneur en cholestérol dans l'aliment entraîne une augmentation des concentrations en cholestérol total et cholestérol-LDL plasmatique (Spady et Dietschy, 1988 ; Sorci-Thomas *et al.*, 1989 ; Fielding *et al.*, 1995 ; Turley *et al.*, 1995 ; Mustad *et al.*, 1996 ; Stucchi *et al.*, 1998). La teneur en cholestérol des aliments utilisés chez la truite est de 2,1% pour l'aliment HP100, 1,5% et 1,3% pour les aliments HV75 et HV100 respectivement. Cette différence semble trop faible pour expliquer l'effet hypocholestérolémiant des aliments à base d'huiles végétales. Chez le bar, la teneur en cholestérol des aliments n'a pas été mesurée mais les huiles utilisées sont les mêmes que dans les aliments des truites.

La composition en acides gras de l'aliment affecte les concentrations en cholestérol total et cholestérol-LDL du plasma chez les mammifères (Grundy et Denke, 1990 ; Hegsted *et al.*, 1993 ; Hayes *et al.*, 1995 ; Khosla et Sundram 1996). Les acides gras saturés ont un effet hypercholestérolémiant en augmentant la concentration en cholestérol-LDL alors que les AGPI et l'acide oléique ont un effet inverse chez le cobaye (Fernandez *et al.*, 1992 ; He et Fernandez 1998), le hamster (Spady et Dietschy 1988 ; Daumerie *et al.*, 1992 ; Woollett *et al.*, 1992b ; Salter *et al.*, 1998) ou l'homme (Reiser *et al.*, 1985 ; Mattson et Grundy, 1985 ; Wardlaw et Snook, 1990 ; Cater *et al.*, 1997). Dans notre étude, la diminution de la concentration en cholestérol chez les truites et les bars nourris avec les aliments à base d'huiles végétales peut être dûe aux forts taux d'acide oléique et d'acide linoléique contenus dans ces aliments. Plusieurs études ont montré que les acides gras de l'aliment régulent la concentration en cholestérol-LDL plasmatique en affectant le captage des LDL par le R-LDL. Chez le hamster, le cobaye ou le rat, la diminution du cholestérol-LDL induite par les acides gras insaturés comparés aux acides gras saturés, s'accompagne d'une augmentation de l'activité du R-LDL hépatique (Spady et Dietschy, 1985 ; Daumerie *et al.*, 1992 ; Fernandez *et al.*, 1992 ; Woollett *et al.*, 1992b ; Horton *et al.*, 1993 ; Spady, 1993 ; Kurushima *et al.*, 1995). Dans certaines études, les variations d'activité du R-LDL hépatique en réponse à la modification de la composition en acides gras de l'aliment, sont accompagnées par des changements en parallèle de la quantité de R-LDL et du taux d'ARNm R-LDL (Horton *et al.*, 1993 ; Spady *et al.*, 1995 ; Mustad *et al.*, 1996), suggérant une régulation moléculaire du R-LDL par les acides gras. Cependant, dans notre étude réalisée sur la truite arc-en-ciel, une diminution du taux d'ARNm du R-LDL est observée avec l'aliment HV100 dans le tissu adipeux (d'un facteur 1,6) et le foie (d'un facteur 3,9) comparé à l'aliment HP100 alors que la

concentration en cholestérol et cholestérol-LDL est également diminuée. Plusieurs études conduites chez les primates et le rat ont également montré qu'il n'existait aucune relation apparente entre les variations de la teneur en ARNm du R-LDL hépatique et les modifications de la concentration en cholestérol total ou cholestérol-LDL en réponse au changement de la composition en acides gras de l'aliment (Fox *et al.*, 1987 ; Sorci-Thomas *et al.*, 1989 ; Ihara *et al.*, 1998). Les acides gras peuvent également affecter le captage des LDL par le R-LDL en modifiant les propriétés physiques des membranes cellulaires et notamment la fluidité membranaire. Des études indiquent que l'augmentation de la fluidité membranaire des hépatocytes et des cellules mononucléaires suite à un enrichissement en acides gras insaturés (oléate, linoléate) induit une augmentation du captage et de la dégradation des LDL par les cellules (Loscalzo *et al.*, 1987 ; Kuo *et al.*, 1990). Des études complémentaires portant sur l'activité et l'affinité du R-LDL chez la truite seraient nécessaires pour pouvoir confirmer si les variations d'expression du gène R-LDL observées lors du remplacement de l'huile de poisson par des huiles végétales sont propres à cette espèce.

Les huiles végétales peuvent contenir des quantités importantes de phytostérols, qui sont des analogues structuraux du cholestérol (Phillips *et al.*, 2002). De nombreuses études ont montré que les phytostérols induisent une diminution du cholestérol plasmatique et du cholestérol-LDL sans affecter la concentration en cholestérol-HDL chez l'homme (Moghadasian et Frohlich, 1999 ; Vanstone *et al.*, 2002 ; Matvienko *et al.*, 2002) ou le hamster (Yokoyama, 2004) ainsi que chez la truite arc-en-ciel (Tremblay et Van der Kraak, 1998) et l'omble de fontaine (Gilman *et al.*, 2003). Cet effet des phytostérols serait lié à une diminution de l'efficacité de l'absorption intestinale du cholestérol alimentaire (Normén *et al.*, 2000 ; Vanstone *et al.*, 2002). Les phytostérols ont une plus grande affinité que le cholestérol pour les acides biliaires contenus dans les micelles du lumen intestinal et déplaceraient le cholestérol des micelles, ce qui réduirait l'absorption du cholestérol (Armstrong et Carey, 1987). La concentration en phytostérols des aliments utilisés dans nos expériences n'a pas été mesurée mais l'huile de colza et l'huile de palme contiennent respectivement de l'ordre de 7,2 g/kg et 0,5 g/kg de phytostérols (principalement sitostérol, campestérol et brassicastérol pour l'huile de colza et sitostérol, campestérol et stigmastérol pour l'huile de palme) (Phillips *et al.*, 2002). L'aliment HV100 utilisé chez la truite contiendrait donc de l'ordre de 0,9 g/kg de phytostérols apportés par l'huile de colza et les aliments HV1 et HV2 distribués aux bars contiendraient respectivement de l'ordre de 0,1 et 0,3 g/kg de phytostérols provenant de cette même huile. Le contenu en phytostérols des aliments à base d'huiles végétales de nos expériences pourrait expliquer l'effet hypocholestérolémiant observé chez les 2 espèces.

Cependant il semble exister des différences entre espèces de poissons ainsi qu'en fonction des huiles végétales utilisées dans la formulation des aliments. En effet, chez le saumon Atlantique, la teneur en cholestérol du plasma et des lipoprotéines n'est pas affectée par le remplacement de l'huile de poisson par de l'huile de tournesol ou de l'huile de palme (Torstensen *et al.*, 2000). Ceci est peut être lié à la plus faible teneur en phytostérols dans ces huiles végétales (environ 2,6 g/kg dans l'huile de tournesol et 0,5 g/kg dans l'huile de palme) (Phillips *et al.*, 2002) comparé à nos aliments.

### **III.3.4. Captage des lipides**

Le captage par les tissus des lipides circulants a été évalué en mesurant l'activité de la LPL dans différents tissus (foie, muscle blanc, tissu adipeux) chez la truite et le bar.

Les valeurs de l'activité LPL mesurée dans le foie et le tissu adipeux chez la truite sont analogues à celles obtenues par Lindberg et Olivecrona (1995) alors que l'activité LPL du muscle blanc est 7 fois plus élevée dans notre cas. Par contre les valeurs de l'activité LPL des trois tissus sont du même ordre que celles obtenues par Arantzamendi (2002). L'activité LPL dans le tissu adipeux des truites est respectivement 4 et 8 fois plus élevée que dans le muscle et le foie, ce qui est en accord avec le fait que le tissu adipeux périsvical et dans une moindre mesure le muscle blanc, sont les principaux sites de stockage des lipides chez la truite arc-en-ciel (Corraze et Kaushik, 1999). En ce qui concerne le bar, la plus forte activité LPL est mesurée dans le foie, qui est un important site de stockage des lipides chez cette espèce (Corraze et Kaushik, 1999). L'activité LPL dans le tissu adipeux et le muscle blanc de la truite est respectivement de l'ordre de 200 et 100 mUI/g de tissu alors que chez le bar, elle est de l'ordre de 20 mUI/g dans les 2 tissus. Cela indique un captage plus important dans ces tissus chez la truite que chez le bar. Dans le muscle, le stockage des lipides est plus important chez la truite que chez le bar avec respectivement des teneurs en lipides de 11% et 2%.

Nos données indiquent également que la LPL est active dans le foie de la truite et du bar et que le gène s'exprime dans ce tissu chez la truite, comme cela a déjà été observé chez la daurade (Lindberg et Olivecrona, 1995 ; Liang *et al.*, 2002a).

Chez la truite, après 44 semaines d'alimentation, l'activité et l'expression de la LPL dans le foie sont plus élevées chez les poissons nourris avec l'aliment HP100. Ces résultats sont en accord avec les données de Liang *et al.* (2002b) qui rapportent une augmentation du taux d'ARNm LPL dans le foie chez la daurade lorsque la teneur en AGPI à longue chaîne de

la série n-3 augmente. Ces résultats suggèrent une régulation moléculaire de la LPL par les acides gras chez ces espèces. Chez les mammifères, les acides gras semblent réguler l'expression du gène LPL à un niveau transcriptionnel (Michaud et Renier, 2001) ainsi qu'à un niveau post-transcriptionnel (Amri *et al.*, 1996 ; Michaud et Renier, 2001). Cependant dans notre étude aucune différence significative de l'activité LPL du foie n'est observée entre les régimes alimentaires chez la truite comme chez le bar. De plus la teneur en lipides du foie des bars ne varie pas significativement entre les aliments.

La substitution totale de l'huile de poisson par le mélange d'huiles végétales diminue légèrement l'expression du gène LPL (facteur 1,5,  $P=0.046$ ) dans le tissu adipeux périviscéral chez la truite à 44 semaines. La forte teneur en acide oléique dans l'aliment HV100 pourrait expliquer ce résultat. En effet, une diminution du taux d'ARNm LPL dans le tissu adipeux de la daurade a été observée suite à une supplémentation de l'aliment par de l'acide oléique (Liang *et al.*, 2002b). Cependant la diminution de l'expression du gène LPL ne semble pas suffisante pour induire une diminution du captage des acides gras par le tissu adipeux chez la truite comme en témoignent les mesures d'activité LPL ainsi que les indices viscérosomatiques. Chez le bar, l'activité LPL du tissu adipeux n'est pas non plus affectée par la substitution partielle de l'huile de poisson par les deux mélanges d'huiles végétales.

Dans le muscle blanc de la truite, l'expression du gène LPL n'est pas modifiée par les aliments à 44 semaines, alors que l'activité LPL est diminuée par l'aliment HV75 comparé aux aliments HP100 et HV100, ce qui suggérerait une régulation au niveau post-transcriptionnel du gène LPL par l'aliment HV75. Cependant, tous les acides gras de l'aliment HV75 sont en quantités intermédiaires entre les aliments HP100 et HV100 et cette différence d'activité n'est pas retrouvée en fin d'expérience. De plus la teneur en lipides du muscle des truites n'est pas modifiée par les aliments.

Chez le bar, l'activité LPL du muscle blanc, exprimée par gramme de tissu, est diminuée par l'aliment HV2 ce qui peut être dû à la plus forte teneur en acide oléique de cet aliment. Cependant, la teneur en lipides du muscle des bars n'est pas modifiée. Une diminution de l'activité ainsi que du taux d'ARNm LPL a été observée sur des adipocytes de rat en culture suite à l'ajout d'acide oléique dans le milieu (Kirkland *et al.*, 1994) alors que ce même acide gras n'a pas d'effet sur le taux d'ARNm et la synthèse de la LPL dans des adipocytes de poulet en culture (Montalto et Bensadoun, 1993). Ces résultats suggèrent que la LPL est régulée de manière différente par les acides gras, en fonction des espèces.

Le remplacement de l'huile de poisson par les mélanges d'huiles végétales n'a donc pas d'effet marqué sur le captage des acides gras du tissu adipeux, du muscle blanc et du foie

chez la truite arc-en-ciel et le bar. Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par Arantzamendi (2002) sur des truites arc-en-ciel avec un remplacement total de l'huile de poisson par de l'huile de lin dans l'aliment.

### **III.3.5. Profil en acides gras du muscle**

La composition en acides gras du muscle chez la truite et le bar est nettement affectée par la composition en acides gras des aliments, ce qui est en accord avec les données précédentes obtenues chez différentes espèces : l'omble de fontaine (Guillou *et al.*, 1995), la truite arc-en-ciel (Greene et Selivonchick, 1990 ; Caballero *et al.*, 2002), le saumon Atlantique (Torstensen *et al.*, 2000 ; Bell *et al.*, 2003), la daurade (Izquierdo *et al.*, 2003, 2005) ou le bar (Izquierdo *et al.*, 2003 ; Montero *et al.*, 2005 ; Mourente *et al.*, 2005). Chez la truite, cet effet est particulièrement marqué dans la fraction de lipides neutres. Ainsi dans la fraction de lipides neutres on observe une augmentation des teneurs en acides oléique (21 à 40%), linoléique (4 à 12%) et linoléique (1 à 7%) chez les truites nourries pendant 62 semaines avec l'aliment HV100 comparées à celles ayant reçu l'aliment HP100. Le profil en acides gras des lipides polaires des truites est beaucoup moins influencé par le régime comme cela a déjà été observé chez la morue (Lie *et al.*, 1986), l'omble chevalier (Olsen et Henderson, 1997) ou le turbot (Regost *et al.*, 2003). Les phospholipides étant les principaux composants des membranes cellulaires, leur composition en acides gras, qui détermine en partie la fluidité membranaire, est en général plus stable que celle des lipides neutres qui représentent une forme de stockage. En effet, dans notre étude, la proportion d'AGPI à longue chaîne de la série n-3, EPA et DHA, reste élevée dans la fraction de lipides polaires chez les truites nourries avec les aliments à base d'huiles végétales (5 et 17% respectivement).

Lorsque l'on compare les proportions des acides gras dans les lipides musculaires chez la truite et le bar et celles dans les aliments (**Tableau III.18**), on constate que parmi les AGPI, le DHA est le seul acide gras à être toujours en plus grande concentration dans le muscle des poissons que dans l'aliment. Il semble donc que le DHA soit préférentiellement déposé dans le muscle des poissons comme cela a été précédemment observé chez le saumon Atlantique (Bell *et al.*, 2002), le poisson chat (Ng *et al.*, 2003), la truite arc-en-ciel (Caballero *et al.*, 2002), le turbot (Regost *et al.*, 2003) ou la daurade (Izquierdo *et al.*, 2003). Cette rétention du DHA dans le muscle pourrait être liée à une forte affinité des acyltransférases impliquées dans la synthèse des triglycérides et phospholipides pour cet acide gras. Chez le bar, le taux de DHA mesuré dans le muscle provient en grande partie de l'aliment et non de la désaturation et

de l'élongation du 18:3n-3 puisque le bar a une faible capacité de bioconversion des acides gras (Mourente et Dick, 2002).

**Tableau III.18** : Différences entre la proportion en acides gras des lipides totaux du muscle et celle dans les aliments chez la truite arc-en-ciel (à 62 semaines) et le bar (à 64 semaines).

Acides gras	Truite arc-en-ciel			Bar Européen		
	HP100	HV75	HV100	HP	HV1	HV2
saturés	-1,2	-4,3	-0,1	+0,1	+1,1	-0,1
18:1n-9	+6,2	+2,4	-2,1	+7	+4,4	+1,3
20:1	-1,8	+0,7	+1,3	-0,4	-0,1	-0,2
22:1	-2,7	+0,4	+0,2	-1,1	-0,9	-0,9
AGMI	-0,3	+3,1	+0,2	2,3	1,3	-1,6
18:2n-6	+0,7	-0,5	-2,1	-1,4	-1,2	-3,2
AGPI n-6	-0,1	-0,2	-1,1	-2	-1	-2,4
18:3n-3	+0,3	-2,0	-3,5	-0,5	-2,2	-3,3
20:5n-3	-1,9	-0,6	-0,2	-1	-0,1	0
22:6n-3	+2,6	+3,0	+2,9	+5,3	+4,4	+4,2
AGPI n-3	+0,8	+0,9	+0,3	+3,9	+2,6	+1,7

Comparé au DHA, la teneur en EPA des lipides du muscle de la truite et du bar est toujours inférieure ou proche de celle des aliments. Cela indique que l'EPA est préférentiellement catabolisé par rapport au DHA chez les poissons. Chez le rat, il a été montré que l'EPA est préférentiellement  $\beta$ -oxydé comparé au DHA (Madsen *et al.*, 1998). Dans le muscle de la truite arc-en-ciel, la capacité de  $\beta$ -oxydation de l'EPA est également supérieure à celle du DHA et le potentiel de  $\beta$ -oxydation de ces acides gras n'est pas affecté par le remplacement de l'huile de poisson par des huiles végétales (Médale *et al.*, 2005). Cependant, on constate que lorsque l'aliment contient une plus faible teneur en EPA (aliments contenant les mélanges d'huiles végétales), l'EPA est retenu en plus grande quantité dans le muscle des 2 espèces. Donc il semblerait que plus la quantité d'EPA apportée par l'alimentation augmente, plus l'EPA est dirigé vers le catabolisme. Il en est de même pour le 18:1n-9, le 18:2n-6 et le 18:3n-3 puisque lorsque la quantité de ces acides gras augmente dans les aliments (par l'inclusion d'huiles végétales), la différence entre la proportion de ces acides

gras dans les lipides musculaires du bar et de la truite et celle dans les aliments diminue. Par exemple, pour le 18:3n-3, la teneur dans la chair est plus élevée que dans celle de l'aliment (+0,3%) chez les truites nourries avec l'aliment HP100 (qui contient 0,8% de 18:3n-3) alors qu'elle est plus faible (-3,5%) chez celles nourries avec l'aliment HV100 (10% de 18:3n-3). Par contre nous ne pouvons pas conclure si cette différence négative est due à une plus forte oxydation de l'acide gras ou à une transformation plus importante en DHA.

Il est bien établi que l'augmentation de la consommation d'AGPI à longue chaîne, EPA et DHA est bénéfique pour la santé de l'homme (Simopoulos, 1999 ; De Deckere *et al.*, 1998 ; Horrocks et Yeo, 1999). La quantité journalière d'EPA et DHA recommandée en prévention des maladies cardiovasculaires est de 500 mg (soit 3,5 g par semaine) (Gebauer *et al.*, 2006). Dans notre étude, une portion de 100 g de truite apporte 1,04 g d'EPA et DHA lorsqu'elle a été élevée avec l'aliment ne contenant que de l'huile de poisson. Le muscle de bar étant moins gras que celui de la truite, comparé à la truite, la quantité d'EPA et DHA apportée par 100g de filet de bar nourri avec l'aliment HP est donc plus faible (0,61 g). Le remplacement de l'huile de poisson par des huiles végétales chez la truite et le bar entraîne une diminution des teneurs en EPA et DHA de la chair. Une portion de 100 g de poisson ne contient plus que 0,54 g d'EPA et DHA pour les truites du groupe HV100 et 0,25 g et 0,36 g pour les bars nourris respectivement avec les aliments HV1 et HV2. Une consommation de 650 g par semaine de truite élevée avec l'aliment HV100 est donc nécessaire pour couvrir la quantité d'EPA et DHA recommandée alors que 340 g de truite nourrie avec l'aliment ne contenant que de l'huile de poisson est suffisant. Cependant même si l'inclusion d'huiles végétales dans les aliments entraîne une diminution des teneurs en EPA et DHA de la chair chez la truite et le bar, les quantités d'EPA et DHA restent tout de même très supérieures à celles apportées par la viande de porc (15 mg pour 100 g) ou de bœuf (12 mg pour 100 g) (Enser *et al.*, 1996).

De plus, chez les poissons, des études récentes ont montré l'intérêt d'une alimentation de finition à base d'huile de poisson pour maintenir la valeur nutritionnelle de la chair des animaux. Ainsi chez le saumon Atlantique ayant reçu pendant 50 semaines des aliments contenant 100% d'huile de lin ou de colza, une période d'alimentation de finition de 50 semaines permet d'obtenir des teneurs en EPA et DHA équivalentes à 80% de celles de saumons ayant reçu un aliment à base d'huile de poisson pendant tout le cycle d'élevage (Bell *et al.*, 2003). Dans une autre étude menée sur cette même espèce, une période d'alimentation de finition de 25 semaines permet de restaurer totalement les teneurs en EPA et DHA de la

chair des poissons précédemment nourris avec un aliment contenant 100% d'huile de colza pendant 42 semaines (Torstensen *et al.*, 2004b). De même, chez la truite il a été montré qu'après 6 mois d'alimentation de finition les teneurs en EPA + DHA dans le filet sont de 1,3 g pour 100 g chez les animaux du groupe HP100 et de l'ordre de 1 g pour 100g chez les animaux des groupes HV75 et HV100 (Corraze *et al.*, 2006). Chez le bar, la teneur en DHA de la chair des poissons élevés avec des aliments contenant 60% d'huiles végétales (huile de colza ou de soja ou de lin) est totalement restaurée après une période d'alimentation de finition de 22 semaines, alors que celle de l'EPA ne l'est qu'à 65-87% (Montero *et al.*, 2005).

Une période d'alimentation de finition avec un aliment à base d'huile de poisson quelques mois avant l'abattage est donc une alternative qui permet l'utilisation d'aliments contenant 100% d'huiles végétales pendant la majeure partie de l'élevage sans que la qualité nutritionnelle finale du produit pour l'alimentation humaine ne soit compromise.



**Effets du taux de lipides de l'aliment en interaction  
avec - le génotype chez la truite arc-en-ciel  
- la température chez le bar Européen  
sur les mécanismes impliqués dans la constitution  
des dépôts lipidiques**



**IV. EFFETS DU TAUX DE LIPIDES DE L'ALIMENT EN INTERACTION  
AVEC - LE GENOTYPE CHEZ LA TRUITE ARC-EN-CIEL  
- LA TEMPERATURE CHEZ LE BAR EUROPEEN  
SUR LES MECANISMES IMPLIQUES DANS LA CONSTITUTION DES  
DEPOTS LIPIDIQUES**

L'utilisation d'aliments à forte teneur en lipides est devenue une pratique courante en aquaculture, et notamment dans l'élevage des salmonidés. L'emploi de tels aliments permet d'améliorer les performances de croissance, d'augmenter l'efficacité alimentaire et de réaliser une épargne des protéines (Lee et Putnam, 1973 ; Cho et Kaushik, 1990 ; Arzel *et al.*, 1994 ; Dias *et al.*, 1999 ; Hillestad *et al.*, 1998). Cependant une augmentation du contenu en lipides de l'aliment conduit à des modifications de la composition corporelle des poissons avec un accroissement des quantités de lipides corporels. Plusieurs études ont montré que la proportion de lipides corporels des poissons est positivement corrélée avec le pourcentage de lipides de l'aliment (Arzel *et al.*, 1994 ; Hemre et Sandnes, 1999 ; Peres et Oliva-Teles, 1999a). Les principaux sites de stockage des lipides étant différents selon les espèces de poissons, les différents compartiments corporels ne sont pas affectés de la même façon par une augmentation du taux de lipides alimentaires. La quantité de lipides viscéraux augmente fortement chez la truite arc-en-ciel en réponse à une augmentation de l'apport lipidique, la teneur en lipides du muscle augmente modérément et celle du foie varie peu (Takeuchi *et al.*, 1978 ; Corraze et Kaushik, 1999 ; Gélinau *et al.*, 2001). Chez le bar, ce sont principalement les quantités de lipides stockés au niveau du foie et des viscères qui augmentent et la teneur en lipides du muscle est peu affectée (Dias *et al.*, 1998 ; Peres et Oliva-Teles, 1999a ; Boujard *et al.*, 2004). La teneur et la répartition des lipides dans les différents compartiments corporels du poisson déterminent de nombreux critères impliqués dans la qualité du produit final et par conséquent son acceptabilité par les consommateurs et sa valeur marchande. La quantité de lipides intramusculaires affecte les qualités organoleptiques des filets (odeur, couleur, flaveur, texture...) et conditionne leur aptitude à la transformation (fumage, séchage, conservation...) (Robb *et al.*, 2002). Les lipides de la chair constituent également un critère important en terme de qualité nutritionnelle, du fait de leur richesse en AGPI n-3, aux vertus bénéfiques sur la santé humaine, notamment vis à vis des maladies cardiovasculaires (Ackman, 1995 ; Steffens, 1997). D'autre part, l'accumulation des lipides au niveau des parties non consommables du

poisson, comme les viscères, qui peuvent représenter 7 à 22% du poids des salmonidés, diminue le rendement en carcasse et constitue une perte préjudiciable pour le producteur.

Un des enjeux actuels de la production aquacole est donc la maîtrise de la répartition des lipides entre les différents compartiments corporels des poissons et en particulier les parties consommables et non consommables. Ceci est d'autant plus important avec l'utilisation d'aliments très riches en lipides (>25%). De telles améliorations ne pourront être obtenues qu'avec une meilleure connaissance des mécanismes qui contrôlent la dynamique des dépôts lipidiques, mais aussi en prenant en compte les interactions entre l'alimentation et les facteurs d'élevage (température, génétique).

La génétique est un facteur important intervenant dans le contrôle de la répartition des lipides corporels. Des estimations de l'héritabilité de différents indicateurs de l'état d'adiposité chez les salmonidés ont fourni des valeurs allant de 0,22 à 0,28 pour le tissu adipeux périvercéral (Gjerde et Schaeffer, 1989 ; Kause *et al.*, 2002) et de 0,2 à 0,47 pour la teneur en lipides des filets (Kinghorn, 1981 ; Gjerde et Schaeffer, 1989 ; Iwamoto *et al.*, 1990 ; Rye et Gjerde, 1996). Cela suggère donc un déterminisme génétique important de l'adiposité chez les poissons. Néanmoins, les mécanismes génétiques contrôlant la répartition des lipides corporels sont encore largement méconnus chez le poisson. Récemment, deux lignées de truite arc-en-ciel divergentes pour leur teneur en lipides musculaires ont été sélectionnées par l'INRA (Quillet *et al.*, 2005). Nous avons utilisé ces deux lignées expérimentales de truites pour étudier l'interaction entre le déterminisme génétique et la teneur en lipides de l'aliment sur la synthèse et le captage tissulaire des lipides. Cette expérience a été menée dans le cadre du projet "Bases moléculaires pour la maîtrise par voies génétique et nutritionnelle de l'adiposité chez la truite" du programme AGENAE (Analyse de GENome des Animaux d'Elevage).

La température est également un facteur important qui détermine les potentialités de croissance des poissons *via* ses effets sur la prise alimentaire et le métabolisme. C'est pourquoi nous avons étudié, chez le bar, l'impact de la teneur en lipides de l'aliment en interaction avec la température d'élevage sur la constitution des dépôts lipidiques. Les effets de la température sur la croissance chez le bar sont encore mal connus. Quelques données indiquent que la croissance de juvéniles de bar semble être la plus rapide entre 22 et 25°C alors qu'elle est très ralentie entre 11 et 15°C (Barnabé, 1991 ; Person-Le Ruyet *et al.*, 2004). Cependant il semble exister des différences interspécifiques en fonction de l'origine géographique des animaux (Barnabé, 1991 ; Person-Le Ruyet *et al.*, 2004). Le bar d'origine

méditerranéenne est capable de s'adapter à une température de 29°C mais sa croissance est maximale à 25°C (Person-Le Ruyet *et al.*, 2004). Par ailleurs, de nombreuses études ont montré que la température induisait des modifications du métabolisme des lipides. La composition en lipides et en acides gras des tissus est modifiée lors de l'adaptation des poissons à de faibles ou de fortes températures (Hazel, 1979 ; Farkas *et al.*, 1980 ; Ingemansson *et al.*, 1993 ; Grisdale-Helland *et al.*, 2002 ; Jobling et Bendiksen, 2003 ; Khériji *et al.*, 2003 ; Tocher *et al.*, 2004). En effet il a été rapporté par exemple que l'activité des désaturases et élongases augmente lorsque la température diminue chez la truite arc-en-ciel et la carpe (Sellner et Hazel, 1982 ; Hagar et Hazel, 1985 ; Tiku *et al.*, 1996 ; Trueman *et al.*, 2000 ; Tocher *et al.*, 2004). Les capacités de  $\beta$ -oxydation sont également plus élevées à faible qu'à forte température dans le foie et le muscle chez ces espèces (Johnston *et al.*, 1985 ; Guderley et Gawlicka, 1992 ; St-Pierre *et al.*, 1998 ; Tocher *et al.*, 2004). Cependant l'effet de la température d'élevage sur la lipogénèse est sujet à controverses. Certaines études indiquent que chez la truite, la néosynthèse des lipides est plus élevée lorsque la température diminue (Yamauchi *et al.*, 1975 ; Hazel et Sellner, 1979) alors que l'effet inverse est observé dans d'autres études menées sur la même espèce (Corraze *et al.*, 1999) ainsi que chez la carpe (Farkas et Gsengeri, 1976). L'influence de la température d'élevage sur le transport des lipides par les lipoprotéines plasmatiques a fait l'objet de peu de travaux. Des variations transitoires des teneurs en VLDL et LDL en réponse à un changement rapide de la température ont été rapportées chez la truite arc-en-ciel (Perrier *et al.*, 1979 ; Wallaert et Babin, 1994a). Chez le bar, une étude sur l'évolution post-prandiale du profil lipoprotéique en fonction de la température d'élevage montre que la proportion de VLDL dans le plasma atteint son maximum plus rapidement à 15°C qu'à 20 ou 25°C et qu'elle reste stable plus longtemps (Santulli *et al.*, 1993). Dans ce contexte, nous avons étudié chez le bar l'effet de la teneur en lipides de l'aliment en interaction avec la température d'élevage sur la lipogénèse, le transport des lipides par les lipoprotéines et le captage des lipides par les tissus. Cette expérience faisait partie du projet MULTIBAR (approche multifactorielle des effets des facteurs environnementaux sur les performances zootechniques et la qualité de la chair du bar) (AIP INRA/IFREMER).

## IV.1. Expérience 3 : Effets de la teneur en lipides de l'aliment sur la lipogenèse hépatique et le captage tissulaire des lipides chez deux lignées de truites arc-en-ciel

### IV.1.1. Conditions expérimentales

#### IV.1.1.1. Matériel biologique et régimes alimentaires

Des alevins diploïdes de truites arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) de deux lignées, issues de la 3<sup>ème</sup> génération de sélection sur la teneur en lipides intramusculaires (lignée maigre M et lignée grasse G) ont été élevés à la PEIMA (Pisciculture Expérimentale INRA des Monts d'Arrée, Sizun, Finistère) alimentée en eau à température constante de  $11 \pm 1^\circ\text{C}$ . Pour chaque lignée, 6 lots de 500 alevins d'un poids moyen initial de 0,16 g ont été constitués (3 lots par régime alimentaire).

Les alevins ont reçu depuis leur première alimentation 2 aliments contenant 10% ou 23% MS de lipides (aliment M pour "maigre" et aliment G pour "gras" respectivement) (Biomar) (**Tableau IV.1**). L'aliment M a été retiré de la chaîne de fabrication avant l'adjonction d'huile. Les lipides qu'il contient (10%) proviennent donc de la farine de poisson. L'aliment G correspond à l'aliment M additionné d'huile de poisson. Ces aliments ont été distribués à satiété visuelle pendant 6 mois (alimentation précoce). Ensuite les poissons ont tous reçu un aliment commercial contenant 28% de lipides pendant 7 mois (alimentation de finition) (**Tableau IV.1**).

**Tableau IV.1** : Composition analytique des aliments de l'expérience 3 menée sur les lignées de truites.

---

	Aliments précoces		Aliment de finition
	Aliment M	Aliment G	
Matière sèche (MS), %	93,0	93,3	93,7
Protéines (%MS)	57,6	51,1	43,7
Lipides (%MS)	9,8	23,1	28,0
Energie (kJ/g MS)	21,0	23,8	25,4

---

Afin de suivre les performances de croissance, les poissons ont été pesés tous les 15 jours pendant les 6 premiers mois de l'expérience puis toutes les 3 semaines. La quantité d'aliment ingérée a été mesurée tous les jours du 4<sup>ème</sup> au 6<sup>ème</sup> mois puis tous les 3 jours jusqu'à la fin de l'expérience.

#### ***IV.1.1.2. Prélèvements et analyses réalisées***

Après 6 et 13 mois d'alimentation (fin de l'alimentation précoce et fin de l'alimentation de finition respectivement), des prélèvements ont eu lieu.

Les poissons ont été prélevés comme indiqué dans la partie Matériel et Méthodes après 48 heures de jeûne.

Les analyses suivantes ont été réalisées comme décrit dans la partie Matériel et Méthodes :

- **Activité de la LPL** dans le tissu adipeux périviscéral et le muscle blanc (9 échantillons par condition et par tissu) à 6 et 13 mois
- **Expression du gène codant pour la LPL** par RT-PCR temps réel dans le tissu adipeux périviscéral et le muscle blanc (6 échantillons par condition et par tissu) à 13 mois
- **Activité des enzymes de la lipogénèse (G6PDH, EM, AGS)** dans le foie (6 échantillons par conditions) à 6 et 13 mois
- **Expression du gène codant pour la G6PDH** par Northern blot dans le foie à 6 mois (6 échantillons par condition)
- **Expression du gène codant pour l'AGS** par RT-PCR temps réel dans le foie à 6 mois (6 échantillons par condition)
- **Teneur en lipides totaux des filets** à 6 et 13 mois (30 échantillons par condition à 6 mois et 45 à 13 mois)
- **Teneur en lipides corporels** à 6 mois (12 échantillons par condition)

La teneur en lipides corporels et des filets a été analysée selon la méthode de Folch pour les prélèvements réalisés à 6 mois. A 13 mois, la teneur en lipides des filets a été analysée par RMN (Toussaint *et al.*, 2002).

## **IV.1.2. Résultats**

### ***IV.1.2.1. Croissance, paramètres morphométriques et teneur en lipides corporels et musculaires des truites***

Les performances de croissance, ainsi que les paramètres morphométriques, la teneur en lipides corporels et musculaires en fin d'alimentation précoce et d'alimentation de finition sont présentés dans le **Tableau IV.2**.

Pendant la phase d'alimentation précoce, l'indice de croissance journalier ainsi que le poids moyen des truites sont plus élevés pour la lignée M comparée à la lignée G. Quel que soit la lignée, les truites nourries avec l'aliment riche en lipides (Alt G) ont une croissance journalière qui tend à être plus élevée ( $P = 0,053$ ). En fin d'alimentation précoce leur poids moyen final est supérieur à celui des truites ayant reçu l'aliment M. Pendant cette phase d'alimentation, l'ingéré a été semblable entre les deux lignées et n'a pas varié en fonction de l'aliment reçu (M-AltM :  $16,5 \pm 0,1$  g MS/kg ; M-AltG :  $16,3 \pm 0,9$  ; G-AltM :  $16,6 \pm 0,2$  ; G-AltG :  $15,8 \pm 0,3$ ).

Pendant la période d'alimentation de finition, l'indice de croissance journalier des truites est semblable entre les deux lignées mais le poids final des truites de la lignée M reste significativement supérieur à celui des truites de la lignée G. Lors de cette phase d'alimentation, les truites nourries avec l'aliment précoce M ont une croissance journalière plus élevée que celles ayant reçu l'aliment précoce G. En fin d'expérience, pour chaque lignée, le poids moyen des animaux est comparable quel que soit l'aliment précoce reçu.

Les deux lignées de truites ont une teneur en lipides corporels identique (environ 10% avec l'aliment M et 15% avec l'aliment G). Cependant la lignée G a une teneur en lipides musculaires plus élevée alors que la lignée M a davantage de dépôts lipidiques périviscéraux comme l'indique l'indice viscérosomatique plus important.

En fin d'alimentation précoce, les deux lignées de truites nourries avec l'aliment G ont des teneurs en lipides corporels et musculaires ainsi qu'un indice viscérosomatique plus élevés comparé à celles ayant reçu l'aliment M. L'indice hépatosomatique ne varie pas quels que soient la lignée et l'aliment reçu.

**Tableau IV.2 :** Paramètres morphométriques, performances de croissance et teneur en lipides corporels et musculaires des lignées de truites en fin d'alimentation précoce (6 mois) et fin d'alimentation de finition (13 mois)

Aliment	Lignée M		Lignée G		Effet Lignée	Effet Aliment	Interaction
	Alt M	Alt G	Alt M	Alt G			
<b>6 mois</b>							
PMF (g)	72,5 ± 6,1	85,3 ± 4,5	56,9 ± 6,1	75,6 ± 3,1	***	***	ns
ICJ (%)	2,57 ± 0,08	2,67 ± 0,09	2,37 ± 0,14	2,52 ± 0,05	*	ns (0,053)	ns
IHS (%)	1,3 ± 0,2	1,2 ± 0,2	1,3 ± 0,2	1,3 ± 0,3	ns	ns	ns
IVS (%)	8,3 ± 0,8 <b>c</b>	12,4 ± 1,3 <b>a</b>	7,7 ± 0,9 <b>c</b>	11,0 ± 1,9 <b>b</b>	****	****	**
Lipides corporels (% frais)	9,5 ± 0,2	15,3 ± 1,1	10,8 ± 0,5	15,2 ± 1,0	ns	****	ns
Lipides muscles (% frais)	4,3 ± 0,8	6,4 ± 1,2	6,3 ± 1,2	10,1 ± 2,3	****	****	ns
<b>13 mois</b>							
PMF (g)	632 ± 157	625 ± 166	520 ± 154	547 ± 186	****	ns	ns
ICJ (%)	1,01 ± 0,01	0,96 ± 0,03	1,05 ± 0,03	0,96 ± 0,00	ns	***	ns
IHS (%)	1,14 ± 0,18	1,21 ± 0,17	1,05 ± 0,15	1,08 ± 0,14	****	*	ns
IVS (%)	9,6 ± 1,3	11,4 ± 1,6	8,7 ± 1,4	9,8 ± 1,5	****	****	ns
Lipides muscles (% frais)	7,4 ± 0,8	7,2 ± 1,4	10,2 ± 1,5	9,6 ± 0,6	***	ns (0,08)	ns

Les valeurs représentent la moyenne ± ET (IHS et IVS : n=57 à 6 mois et n=45 à 13 mois ; lipides corporels : n=12 ; lipides musculaires : n=30 à 6 mois et n=45 à 13 mois). Les astérisques indiquent les différences significatives ( $P < 0,05$ , \* ;  $P < 0,01$ , \*\* ;  $P < 0,001$ , \*\*\* ;  $P < 0,0001$ , \*\*\*\*). ns : non significatif ( $P > 0,05$ ). PMF = poids moyen final ; ICJ = indice de croissance journalier =  $((PMF^{1/3} - PMI^{1/3}) / \text{jours}) \times 100$  ; PMI = poids moyen initial ; IHS = indice hépatosomatique =  $(\text{poids du foie(g)} / \text{poids corporel (g)}) \times 100$  ; IVS = indice viscérosomatique =  $(\text{poids des viscères (g)} / \text{poids corporel (g)}) \times 100$ . Lorsqu'il y a une interaction, les lettres indiquent une différence significative.

En fin d'alimentation de finition, l'indice viscérosomatique reste toujours plus élevé chez les truites qui ont été nourries précédemment avec l'aliment G alors que la teneur en lipides du muscle ne diffère plus significativement quel que soit l'aliment reçu auparavant. L'indice hépatosomatique est plus élevé chez la lignée M comparé à la lignée G ainsi que chez les poissons des deux lignées qui ont reçu l'aliment G pendant les 6 premiers mois.

#### ***IV.1.2.2. Activité et expression des enzymes de la lipogenèse hépatique (G6PDH, EM, AGS)***

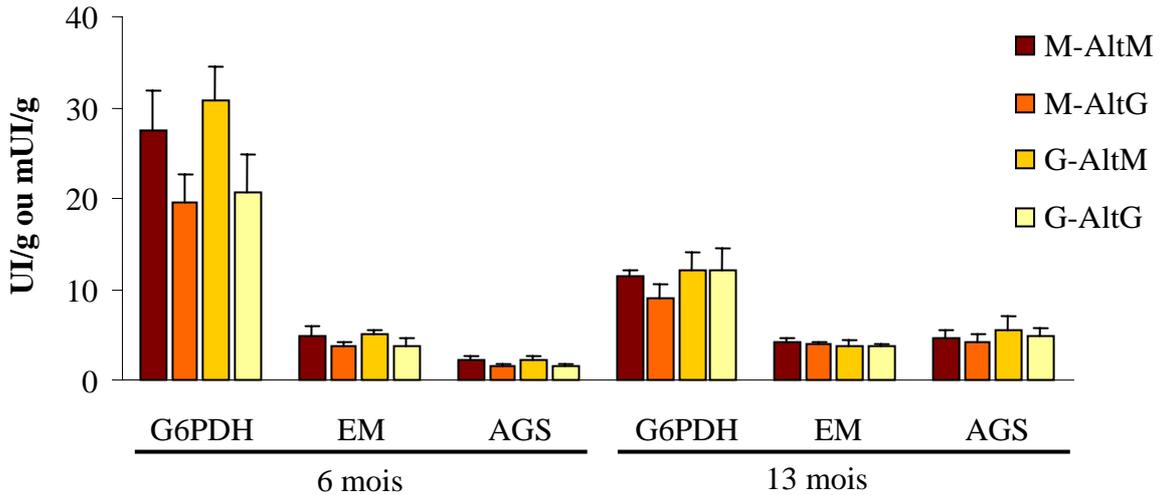
Les activités G6PDH, EM et AGS hépatiques ont été mesurées dans le foie des truites à la fin des périodes d'alimentation précoce et d'alimentation de finition (**Figure IV.1**). Une analyse de l'expression des gènes G6PDH (par Northern blot) (**Figure IV.2**) et AGS (par RT-PCR en temps réel) (**Figure IV.3**) a également été réalisée lorsque des différences significatives d'activité enzymatique ont été observées entre les lots de poissons (en fin d'alimentation précoce) .

L'activité G6PDH est plus faible à 13 mois qu'à 6 mois, à l'inverse de l'activité AGS qui est plus élevée. L'activité EM est semblable entre les 2 temps de prélèvements. Quel que soit le temps de prélèvement, l'activité G6PDH est supérieure à celle de l'EM (environ 5,5 fois à 6 mois et environ 3 fois à 13 mois) et l'activité AGS est la plus faible des 3 activités enzymatiques.

A la fin de la période d'alimentation précoce, les activités G6PDH, EM et AGS ne diffèrent pas significativement entre les lignées. Entre les deux lignées, le taux d'ARNm AGS ne diffère pas significativement alors que le gène codant pour la G6PDH s'exprime plus fortement chez les poissons de la lignée G. Chez les deux lignées, l'activité des 3 enzymes est plus faible avec l'aliment G (23% de lipides) comparé à l'aliment M. Le gène codant pour l'AGS est également plus faiblement exprimé (d'un facteur 2,7 ;  $P=0,047$ ) avec l'aliment G comparé à l'aliment M, mais cet effet de la teneur en lipides de l'aliment est observée seulement chez les poissons de la lignée G. Une interaction entre la lignée et l'aliment est observée pour l'expression du gène G6PDH, qui est plus élevée avec l'aliment à fort taux de lipides (AltG) seulement chez les poissons de la lignée G. Chez les poissons de la lignée M, le niveau d'expression du gène G6PDH est semblable entre les 2 aliments.

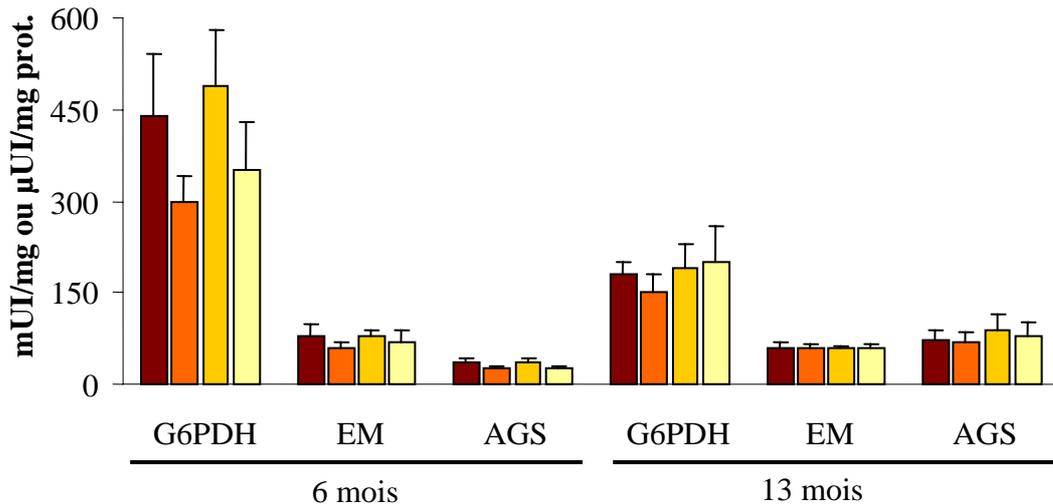
**Figure IV.1 :** Activités G6PDH, EM et AGS dans le foie des deux lignées de truites en fin d'alimentation précoce (6 mois) et d'alimentation de finition (13 mois) [(A) UI ou mUI/g tissu et (B) mUI ou  $\mu$ UI/mg protéines pour G6PDH, EM et AGS respectivement]. Les valeurs représentent la moyenne + écart-type (n = 6). Les astérisques indiquent les différences significatives ( $P < 0,05$ , \* ;  $P < 0,01$ , \*\* ;  $P < 0,001$ , \*\*\* ;  $P < 0,0001$ , \*\*\*\*). ns : non significatif ( $P > 0,05$ ).

A.



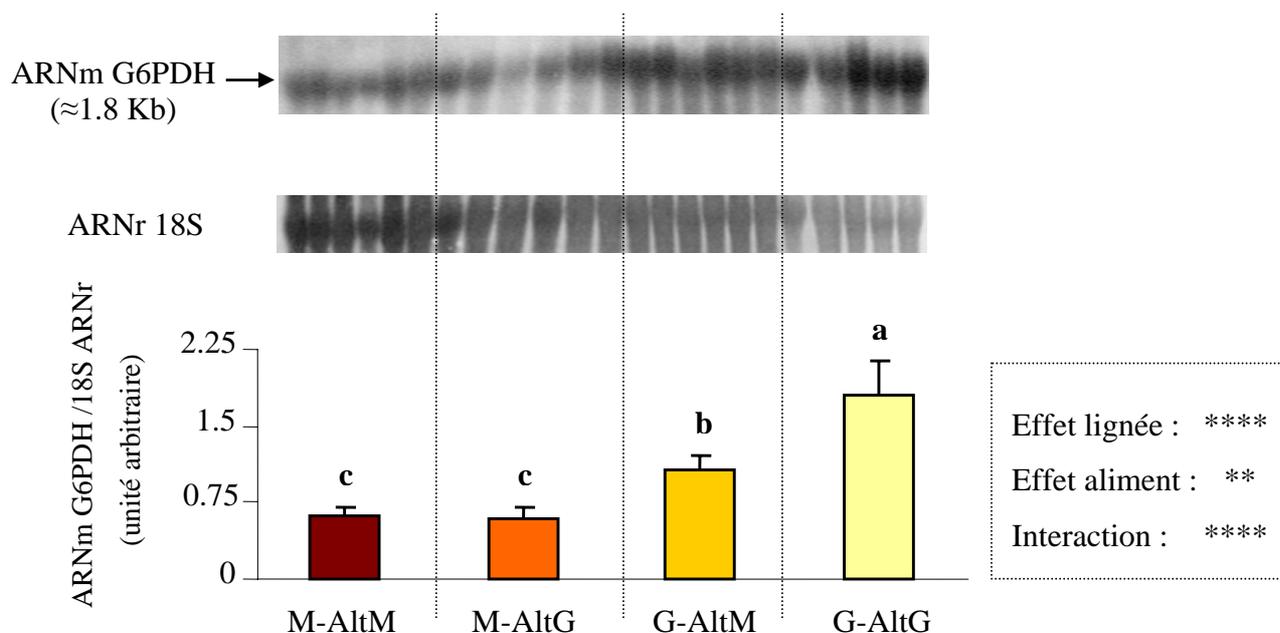
	6 mois			13 mois		
Effet lignée	ns	ns	ns	*(0.027)	ns	ns
Effet aliment	****	**	***	ns	ns	ns
Interaction	ns	ns	ns	ns	ns	ns

B.

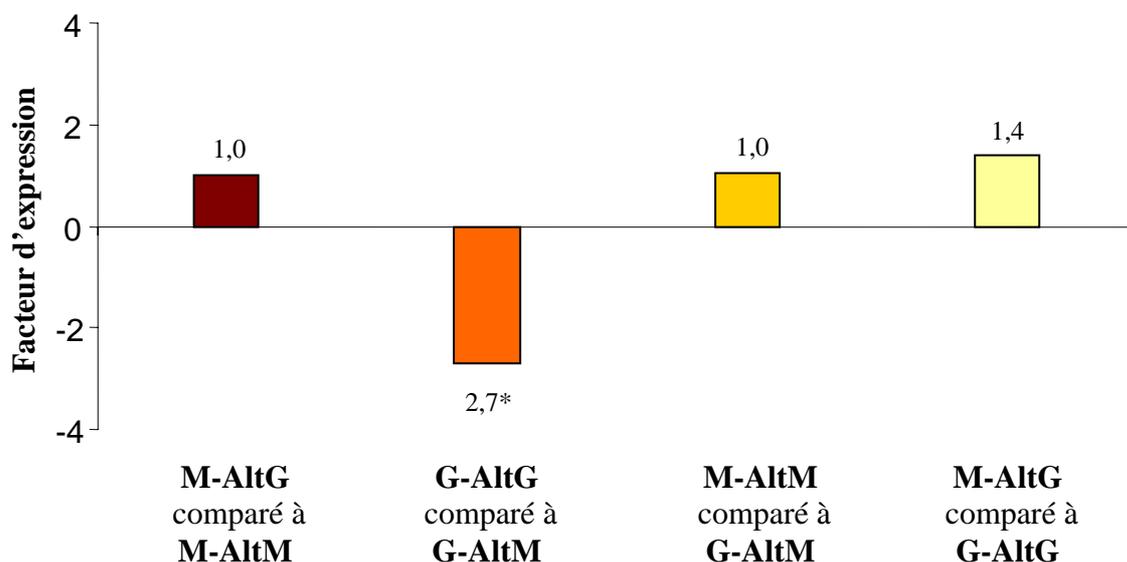


	6 mois			13 mois		
Effet lignée	ns	ns	ns	ns (0,0501)	ns	ns
Effet aliment	***	*	**	ns	ns	ns
Interaction	ns	ns	ns	ns	ns	ns

**Figure IV.2 :** Expression du gène G6PDH dans le foie des deux lignées de truites en fonction de l'aliment précoce reçu (à 6 mois) par Northern blot. Les ARN 18S servent de contrôle interne de dépôt. Les valeurs représentent la moyenne + écart-type ( M-AltM, M-AltG, G-AltM : n=6 et G-AltG : n=5). Les astérisques indiquent les différences significatives ( $P < 0,01$ , \*\* ;  $P < 0,0001$ , \*\*\*\*). Lorsqu'il y a une interaction, les lettres indiquent une différence significative.



**Figure IV.3 :** Comparaison de l'expression du gène AGS dans le foie des deux lignées de truites en fonction de l'aliment précoce reçu (à 6 mois) (Analyse REST©). L'expression du gène AGS a été normalisée par l'expression du gène EF1 $\alpha$ . Les nombres indiquent le ratio relatif de l'expression des gènes. Les astérisques indiquent les différences significatives ( $P < 0,05$ , \* ).



En fin d'alimentation de finition, l'effet de l'aliment précoce sur l'activité des 3 enzymes n'est plus observé. Les activités EM et AGS sont comparables entre les poissons des deux lignées. Par contre l'activité G6PDH (en UI/g) est plus élevée chez les truites de la lignée G ( $P=0,027$ ). Cependant, cet effet n'est plus significatif lorsque l'activité est exprimée en UI/mg de protéine.

#### ***IV.1.2.3. Activité et expression de la lipoprotéine lipase dans le tissu adipeux périviscéral et le muscle blanc***

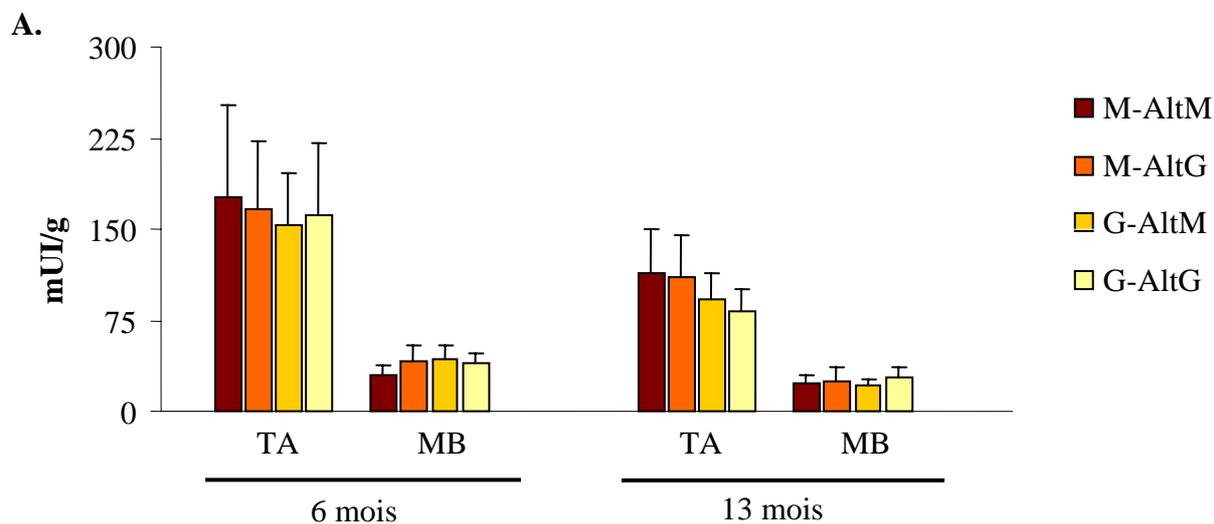
L'activité LPL a été mesurée dans les deux principaux sites de stockage des lipides chez la truite (tissu adipeux périviscéral et muscle blanc) en fin d'alimentation précoce ainsi qu'en fin d'alimentation de finition (**Figure IV.4**). L'analyse de l'expression du gène LPL a été réalisée par RT-PCR en temps réel dans ces tissus lorsque des différences d'activités enzymatiques sont apparues entre les lots (à 13 mois) (**Figure IV.5**).

L'activité LPL est plus élevée dans le tissu adipeux périviscéral que dans le muscle blanc (environ 5 fois aux 2 temps de prélèvements).

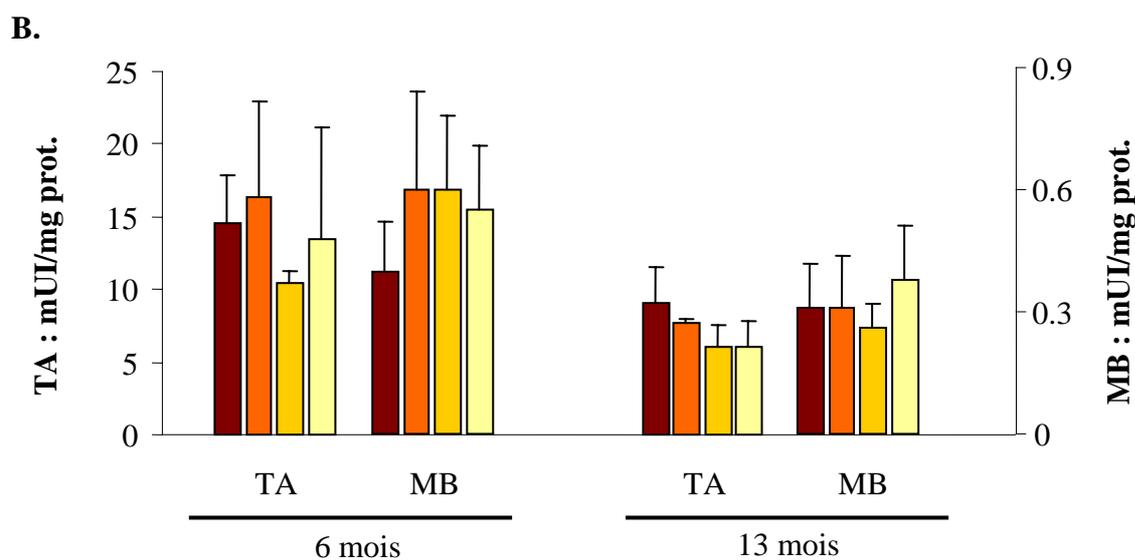
En fin d'alimentation précoce, dans le tissu adipeux et le muscle blanc, l'activité LPL ne diffère pas significativement en fonction de la lignée de truites ni en fonction de l'aliment précoce reçu. Cependant, dans le tissu adipeux, les valeurs obtenues tendent à être plus élevées pour la lignée M comparée à la lignée G et dans le muscle blanc, une interaction entre l'effet aliment et l'effet lignée tend à apparaître ( $P=0,07$ ). En effet, dans le muscle blanc, l'activité LPL tend à être plus faible chez les truites de la lignée M nourries avec l'aliment M.

A la fin de la période d'alimentation de finition, dans le muscle blanc, on n'observe pas d'effets significatifs de la lignée sur l'activité LPL mais dans le tissu adipeux, la différence d'activité LPL entre les deux lignées de truites devient significative. Dans ces deux tissus, la teneur en lipides de l'aliment ne modifie pas l'activité LPL. Aucune variation significative de l'expression du gène LPL n'est détectée dans le tissu adipeux et le muscle blanc en fonction de la lignée des truites et de la teneur en lipides de l'aliment.

**Figure IV.4** : Activité LPL dans le tissu adipeux périviscéral (TA) et le muscle blanc (MB) des deux lignées de truites en fin d'alimentation précoce (6 mois) et d'alimentation de finition (13 mois) [(A) mUI/g tissu et (B) mUI/mg protéines]. Les valeurs représentent la moyenne + écart-type (n = 9). Les astérisques indiquent les différences significatives ( $P < 0,05$ , \* ;  $P < 0,01$ , \*\*). ns : non significatif ( $P > 0,05$ ).

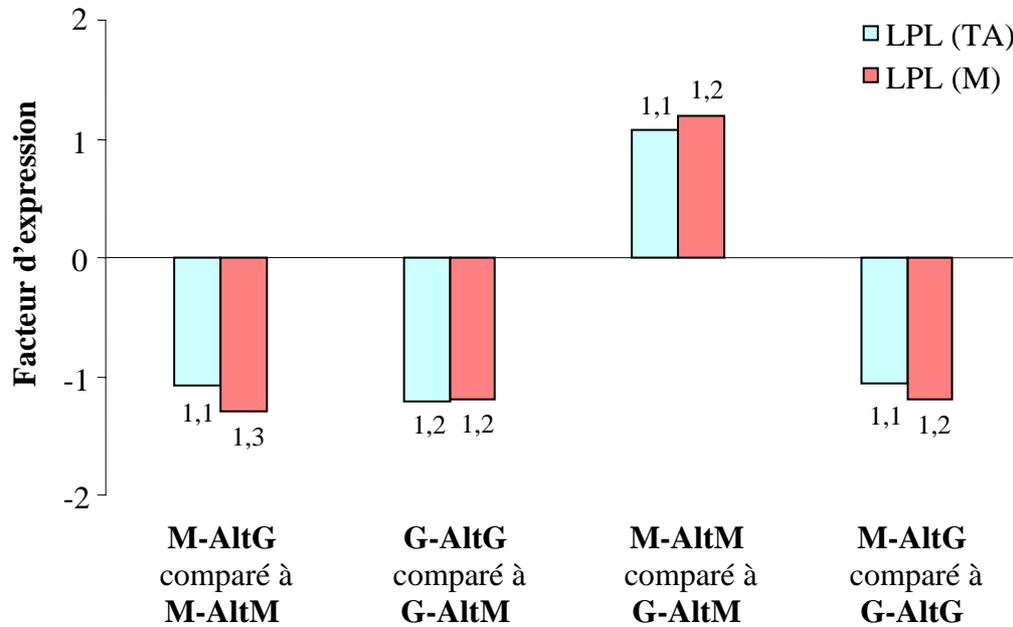


Effet lignée	ns	ns	*	ns
Effet aliment	ns	ns	ns	ns
Interaction	ns	ns (0,07)	ns	ns



Effet lignée	ns	ns	**	ns
Effet aliment	ns	ns	ns	ns
Interaction	ns	ns (0,08)	ns	ns

**Figure IV.5** : Comparaison de l'expression du gène LPL dans le tissu adipeux périviscéral (TA) et le muscle blanc (MB) des deux lignées de truites en fonction de l'aliment précoce reçu à 13 mois (n=6) (Analyse REST©). L'expression du gène LPL a été normalisée pour chaque tissu par l'expression du gène EF1 $\alpha$ . Les nombres indiquent le ratio relatif de l'expression des gènes. Les résultats ne sont pas significativement différents ( $P>0,05$ ).



## IV.2. **Expérience 4** : Effets de la teneur en lipides de l'aliment et de la température d'élevage sur la constitution des dépôts lipidiques chez le bar (*Dicentrarchus labrax*)

### IV.2.1. Conditions expérimentales

#### IV.2.1.1. Matériel biologique et régimes alimentaires

Quatre lots de 100 bars Européen (*Dicentrarchus labrax*) d'un poids moyen initial de 50 g, ont été élevés dans les structures expérimentales de l'IFREMER (29280 Plouzané) dans des bassins de 100 litres, dans une eau à la salinité de 35‰ et saturée en oxygène. La température de l'eau a été maintenue à 16°C ou 22°C.

Les bars ont été nourris manuellement deux fois par jour avec un taux de rationnement de 80% pendant 17 semaines. Les aliments commerciaux distribués contenaient 11% (Bar-Daurade finition label 3,5 mm, le Gouessant) ou 20% (Neo grower extra marin 4 mm, le Gouessant) de lipides (**Tableau IV.3**).

Les poissons ont été pesés toutes les 3 semaines pour suivre leurs performances de croissance. La quantité d'aliment ingéré a également été mesurée toutes les 3 semaines.

**Tableau IV.3** : Composition des aliments commerciaux des bars de l'expérience 4.

---

	<b>Aliment 11% lip.</b>	<b>Aliment 20% lip.</b>
Protéines (%)	50	45
Lipides (%)	11	20
Humidité (%)	10	10
Cellulose (%)	2	2,2
Phosphore (%)	1,6	1
Cendres (%)	13	7,5
Energie digestible (kJ/g)	16,0	19,2

---

#### IV.2.1.2. Prélèvements et analyses réalisées

Après 17 semaines d'alimentation, les poissons ont été prélevés comme indiqué dans la partie Matériel et Méthodes, 18 heures après la dernière prise alimentaire.

Les analyses suivantes ont été réalisées comme décrit dans la partie Matériel et Méthodes :

- **Activité de la LPL** dans le tissu adipeux périviscéral, le muscle blanc, le foie (9 échantillons par condition)
- **Activité des enzymes de la lipogénèse (G6PDH, EM, AGS)** dans le foie (6 échantillons par conditions)
- **Composition en lipides du plasma** et des **fractions VLDL, LDL et HDL** plasmatiques (3 pools par condition)
- **Teneur en lipides du muscle** (3 échantillons par condition)

Suite à un problème technique, nous n'avons obtenu qu'un seul pool de plasma pour la condition 22°C-11%. Les analyses statistiques concernant la composition en lipides et protéines du plasma et des différentes classes de lipoprotéines de cette expérience ont été réalisées avec la procédure GLM sous SAS (SAS, 1993).

## **IV.2.2. Résultats**

### ***IV.2.2.1. Croissance et paramètres morphométriques des bars***

L'évolution du poids des bars au cours de l'expérience est présentée sur la **Figure IV.6**. Les paramètres morphométriques ainsi que la teneur en lipides du muscle des bars sont rapportés dans le **Tableau IV.4**.

La quantité d'aliment ingéré est supérieure chez les bars élevés à 22°C comparé à 16°C ainsi que chez les animaux ayant reçu l'aliment à 11% de lipides comparé à l'aliment à 20% de lipides (1,2 et 0,9 gMS/kg/j à 22°C contre 1 et 0,7 à 16°C pour les aliments à 11 et 22% de lipides respectivement). Les bars élevés à 22°C ont une croissance supérieure à ceux élevés à 16°C quel que soit l'aliment reçu. Cette différence s'accroît tout au long de l'expérience et à 17 semaines les groupes de bars élevés à 22°C atteignent un poids moyen de 127,5 et 140,6 g alors que les deux autres groupes de poissons élevés à plus faible température ont un poids de 81,5 et 88,7 g. La teneur en lipides de l'aliment n'a pas d'effet significatif sur la croissance des bars. Cependant il existe une interaction entre les effets de la température d'élevage et la teneur en lipides de l'aliment ; ainsi à 22°C, le poids moyen des bars nourris avec l'aliment à 20% de lipides est supérieur à celui des bars ayant reçu l'aliment à 11% de lipides.

Figure IV.6 : Courbe de croissance des 4 lots de bars en fonction des conditions testées.

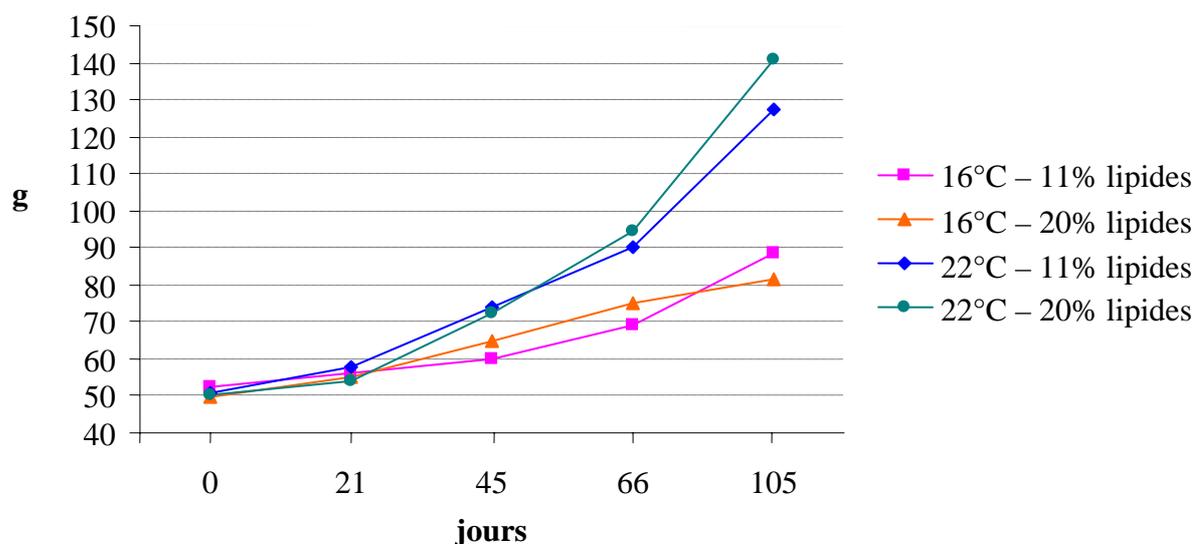


Tableau IV.4 : Paramètres morphométriques et teneur en lipides du muscle des bars après 17 semaines d'alimentation

	Température 16°C		Température 22°C		Effet Temp.	Effet Alim.	Inter.
	11% lip	20% lip	11% lip	20% lip			
PMF (g)	88,7 ± 18,1 <b>c</b>	81,5 ± 18,7 <b>c</b>	127,5 ± 29,8 <b>b</b>	140,6 ± 28,4 <b>a</b>	***	ns	***
IHS (%)	2,0 ± 0,3	2,2 ± 0,5	1,8 ± 0,5	1,9 ± 0,4	*	ns	ns
IVS (%)	6,6 ± 0,8	7,7 ± 1,2	6,8 ± 1,2	7,5 ± 1,0	ns	**	ns
Lip. muscle (% frais)	3,8 ± 0,1 <b>b</b>	4,6 ± 0,1 <b>a</b>	3,3 ± 0,1 <b>d</b>	3,6 ± 0,1 <b>c</b>	****	****	***

Les résultats sont présentés sous la forme moyenne ± écart type (n=15). Les astérisques indiquent les différences significatives ( $P < 0,05$ , \* ;  $P < 0,01$ , \*\* ;  $P < 0,001$ , \*\*\* ;  $P < 0,0001$ , \*\*\*\*). ns = non significatif ( $P > 0,05$ ). PMF = poids moyen final des poissons ; IHS = indice hépatosomatique = (poids du foie(g)/poids corporel (g)) × 100 ; IVS = indice viscérosomatique = (poids des viscères (g)/poids corporel (g)) × 100. Lorsqu'il y a une interaction, les lettres indiquent une différence significative.

L'indice hépatosomatique des poissons élevés à 16°C est légèrement supérieur à celui des poissons élevés à 22°C mais n'est pas modifié significativement par la teneur en lipides de l'aliment. L'indice viscérosomatique ne varie pas en fonction de la température d'élevage mais est plus élevé avec l'aliment à forte teneur en lipides. La teneur en lipides du muscle des bars est faible (3,3 à 4,6%). Le taux de lipides musculaires est plus faible chez les bars élevés à 22°C comparé à 16°C ainsi que chez les poissons nourris avec l'aliment à 11% de lipides comparé à ceux ayant reçu l'aliment à 22% de lipides. Cependant il existe une interaction

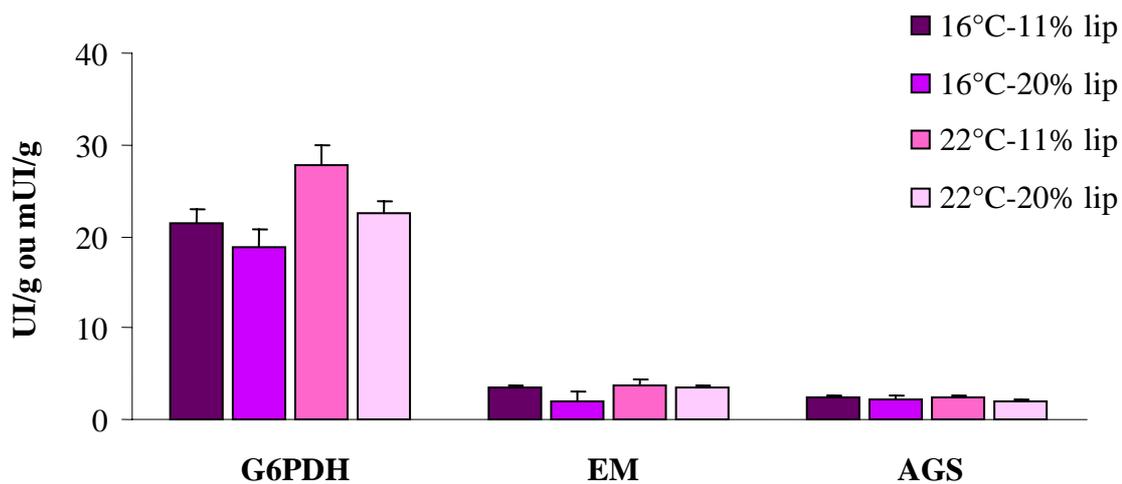
entre la température et le taux de lipides alimentaire : la teneur en lipides du muscle est la plus élevée (4,6%) chez les bars élevés à 16°C avec l'aliment à 22% de lipides et la plus faible (3,3%) chez les bars élevés à 22°C avec l'aliment à 11% de lipides. Dans les deux autres groupes (16°C-11% et 22°C-22%) la teneur en lipides dans le muscle est comparable et intermédiaire (3,8 et 3,6% respectivement).

#### ***IV.2.2.2. Activité des enzymes de la lipogenèse hépatique (G6PDH, EM, AGS)***

Les activités G6PDH, EM et AGS hépatiques des bars après 17 semaines d'alimentation sont présentées sur la **Figure IV.7**. L'activité G6PDH est 6 à 9 fois supérieure à celle de l'EM. Les activités G6PDH et EM exprimés en UI/g de foie sont plus faibles lorsque le taux de lipides de l'aliment est élevé mais cet effet n'est plus significatif lorsque les activités sont exprimées en activité spécifique. L'activité AGS ne varie pas significativement avec la teneur en lipides de l'aliment cependant elle tend à être plus faible avec l'aliment à 20% de lipides ( $P=0,06$ ). L'augmentation de la température d'élevage entraîne une diminution des activités G6PDH et EM quel que soit leur mode d'expression mais n'a pas d'effet significatif sur l'activité AGS.

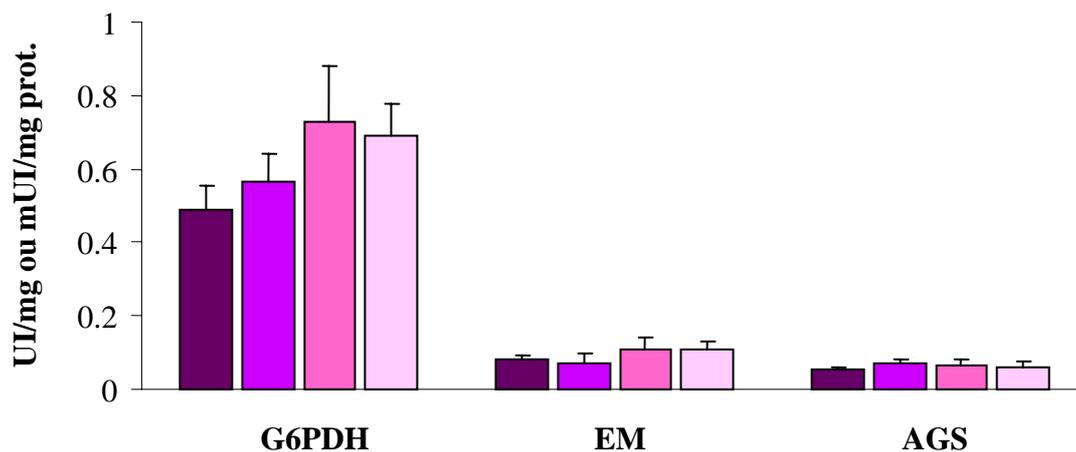
**Figure IV.7 :** Activités G6PDH, EM et AGS dans le foie des bars élevés à 16 ou 22°C avec un aliment à 11 ou 20% de lipides, après 17 semaines d'alimentation [(A) UI ou mUI/g tissu et (B) UI ou mUI/mg protéines pour G6PDH, EM et AGS respectivement]. Les valeurs représentent la moyenne + écart-type (n = 6). Les astérisques indiquent les différences significatives ( $P < 0,05$ , \* ;  $P < 0,01$ , \*\* ;  $P < 0,001$ , \*\*\* ;  $P < 0,0001$ , \*\*\*\*). ns : non significatif ( $P > 0,05$ ).

**A.**



Effet Température	****	**	ns
Effet aliment	***	**	ns
Interaction	ns	ns	ns

**B.**



Effet Température	***	**	ns
Effet aliment	ns	ns	ns
Interaction	ns	ns	ns

**IV.2.2.3. Teneur en lipides du plasma et des différentes classes de lipoprotéines plasmatiques**

Les taux de triglycérides, cholestérol, phospholipides, acides gras libres et protéines ont été mesurés dans le plasma des bars après 17 semaines d'alimentation (**Tableau IV.5**). La concentration en cholestérol est plus élevée chez les bars du groupe 22°C-11% (2,7 g/l) mais est similaire entre les 3 autres groupes de poissons (2,2 à 2,4 g/l). La teneur en acides gras libres plasmatiques diminue avec la température mais ne varie pas significativement en fonction de l'aliment reçu. Les concentrations en triglycérides, phospholipides et protéines plasmatiques ne sont pas modifiées par la teneur en lipides de l'aliment, ni par la température d'élevage.

**Tableau IV.5** : Teneurs en triglycérides, cholestérol total, phospholipides, acides gras libres et protéines plasmatiques (g/l) des bars, après 17 semaines d'alimentation.

	Température 16°C		Température 22°C		Effet Temp.	Effet Alim.	Inter.
	11% lip	20% lip	11% lip	20% lip			
Triglycérides	11,8 ± 1,9	10,5 ± 1,7	11,8	15,3 ± 3,0	ns	ns	ns
Cholestérol total	2,4 ± 0,1	2,2 ± 0,1	2,7	2,3 ± 0,2	ns	*	ns
Phospholipides	8,3 ± 0,5	8,5 ± 0,2	8,3	8,0 ± 0,6	ns	ns	ns
Acides gras libres	0,14 ± 0,02	0,13 ± 0,01	0,18	0,17 ± 0,02	*	ns	ns
Protéines	31,5 ± 4,0	28,7 ± 2,3	36,7	31,3 ± 1,5	ns	ns	ns

Les résultats sont présentés sous la forme moyenne ± écart type (n=3 sauf pour le groupe 22°C-11%, n=1). Les astérisques indiquent les différences significatives ( $P < 0,05$ , \*). ns = non significatif ( $P > 0,05$ )

Les différentes classes de lipoprotéines plasmatiques (VLDL, LDL et HDL) ont été séparées et leur composition en lipides a été analysée. Les résultats sont exprimés en g/l dans le **Tableau IV.6** ainsi qu'en proportion relative pour chaque classe de lipoprotéines dans le **Tableau IV.7**.

Les HDL et les VLDL sont les deux classes les plus abondantes dans le plasma des bars et représentent respectivement 49% et 36% des lipoprotéines pour le groupe 22°C-20% par exemple. Les VLDL sont principalement constituées de triglycérides (62,5-68%). Les LDL contiennent également une forte proportion de triglycérides (50,5-58,8%) et renferment

plus de cholestérol (8,2-10%), phospholipides (19,1-23,1%) et protéines (13,7-16,2%) comparés aux VLDL. Les HDL représentent la classe de lipoprotéines la plus riche en protéines (45-50,6%) et elles contiennent beaucoup moins de triglycérides (16,1-19,2%) que les VLDL et LDL.

L'augmentation de la température d'élevage entraîne une augmentation des teneurs en VLDL et LDL plasmatiques (**Tableau IV.6**). La teneur acides gras libres des VLDL et LDL ainsi que la teneur en triglycérides dans les LDL sont également plus élevées à 22°C comparé à 16°C. Lorsque la teneur en lipides de l'aliment diminue, on observe une augmentation du taux de VLDL plasmatiques ainsi que de la concentration de chacun de leurs constituants, excepté les acides gras libres. Dans la fraction LDL, seule la concentration en acides gras libres est plus élevée avec l'aliment à 11% de lipides comparé à l'aliment à 20% mais le taux de LDL ne varie pas significativement. Aucun effet de la température ou de l'aliment n'est observé sur la teneur et la composition des HDL plasmatiques.

A 22°C, les proportions de triglycérides et acides gras libres sont plus élevées dans les VLDL et LDL comparé à 16°C alors que celles de phospholipides et protéines sont plus faibles (**Tableau IV.7**). La teneur en lipides alimentaires ne modifie pas significativement les proportions relatives des différents constituants dans les trois classes de lipoprotéines, à l'exception de variations mineures des acides gras libres.

**Tableau IV.6 :** Teneurs en triglycérides, cholestérol total, phospholipides, acides gras libres et protéines des VLDL, LDL et HDL plasmatiques des bars (g/l plasma) et taux des différentes classes de lipoprotéines (g/l plasma) après 17 semaines d'alimentation.

	Température 16°C		Température 22°C		Effet Temp.	Effet Alim.	Inter.
	11% lip	20% lip	11% lip	20% lip			
<b>VLDL</b>							
Triglycérides	7,4 ± 0,6	4,8 ± 1,0	7,6	7,4 ± 0,8	ns	*	ns
Cholestérol total	0,8 ± 0,0	0,6 ± 0,1	0,9	0,7 ± 0,0	*	**	ns
Phospholipides	2,1 ± 0,2	1,5 ± 0,2	2,1	1,8 ± 0,2	ns	*	ns
AG libres	0,009 ± 0,002	0,006 ± 0,003	0,012	0,026 ± 0,002	****	ns	**
Protéines	1,2 ± 0,1	0,8 ± 0,2	1,1	1,0 ± 0,1	ns	*	ns
Taux VLDL	11,5 ± 0,8	7,6 ± 1,5	12,7	11,1 ± 1,4	*	*	ns
<b>LDL</b>							
Triglycérides	1,9 ± 0,3	1,8 ± 0,1	3,2	2,8 ± 0,7	*	ns	ns
Cholestérol total	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,0	0,5	0,4 ± 0,1	ns	ns	ns
Phospholipides	0,9 ± 0,2	0,8 ± 0,1	1,2	0,9 ± 0,2	ns	ns	ns
AG libres	0,013 ± 0,009	0,04 ± 0,001	0,033	0,017 ± 0,006	*	*	ns
Protéines	0,6 ± 0,1	0,6 ± 0,0	0,8	0,6 ± 0,1	ns	ns	ns
Taux LDL	3,8 ± 0,7	3,6 ± 0,2	5,8	4,7 ± 1,1	*	ns	ns
<b>HDL</b>							
Triglycérides	2,1 ± 0,6	2,7 ± 0,3	2,9	2,8 ± 0,3	ns	ns	ns
Cholestérol total	0,6 ± 0,1	0,7 ± 0,0	0,7	0,7 ± 0,0	ns	ns	ns
Phospholipides	3,6 ± 0,6	4,8 ± 0,5	4,7	4,5 ± 0,4	ns	ns	ns
AG libres	0,06 ± 0,03	0,07 ± 0,00	0,06	0,10 ± 0,00	ns	ns	ns
Protéines	6,8 ± 2,5	7,2 ± 0,3	6,8	6,9 ± 0,8	ns	ns	ns
Taux HDL	13,2 ± 3,8	15,5 ± 1,1	15,1	15,1 ± 0,0	ns	ns	ns

Les résultats sont présentés sous la forme moyenne ± écart type (n=3 sauf pour le groupe 22°C-11%, n=1). Les astérisques indiquent les différences significatives ( $P < 0,05$ , \* ;  $P < 0,01$ , \*\* ;  $P < 0,001$ , \*\*\* ). ns = non significatif ( $P > 0,05$ )

AG libres : acides gras libres

**Tableau IV.7** : Proportion en triglycérides, cholestérol total, phospholipides, acides gras libres et protéines dans les VLDL, LDL et HDL plasmatiques des bars (% des fractions) après 17 semaines d'alimentation.

	Température 16°C		Température 22°C		Effet Temp.	Effet Alim.	Inter.
	11% lip	20% lip	11% lip	20% lip			
<b>VLDL</b>							
Triglycérides	64,5 ± 1,2	62,4 ± 2,2	68,0	67,8 ± 1,4	**	ns	ns
Cholestérol total	6,8 ± 0,4	7,5 ± 1,4	6,8	6,6 ± 0,6	ns	ns	ns
Phospholipides	18,3 ± 0,7	19,6 ± 0,7	16,4	16,0 ± 0,3	***	ns	ns
AG libres	0,07 ± 0,01	0,07 ± 0,02	0,09	0,23 ± 0,01	****	**	***
Protéines	10,3 ± 0,9	10,5 ± 0,5	8,7	9,4 ± 0,8	*	ns	ns
<b>LDL</b>							
Triglycérides	50,5 ± 0,8	51,0 ± 1,1	55,5	58,8 ± 3,0	***	ns	ns
Cholestérol total	10,0 ± 0,2	10,1 ± 1,0	9,2	8,2 ± 0,8	*	ns	ns
Phospholipides	23,1 ± 1,1	22,6 ± 0,7	21,1	19,1 ± 1,2	**	ns	ns
AG libres	0,32 ± 0,17	0,11 ± 0,02	0,56	0,35 ± 0,06	*	*	ns
Protéines	16,1 ± 1,0	16,2 ± 0,2	13,7	13,6 ± 1,2	**	ns	ns
<b>HDL</b>							
Triglycérides	16,1 ± 0,4	17,2 ± 0,8	19,2	18,6 ± 2,0	ns	ns	ns
Cholestérol total	4,7 ± 0,6	4,7 ± 0,2	4,5	4,7 ± 0,1	ns	ns	ns
Phospholipides	28,0 ± 3,2	31,1 ± 0,8	30,8	30,1 ± 3,0	ns	ns	ns
AG libres	0,52 ± 0,40	0,44 ± 0,02	0,42	0,66 ± 0,00	ns	ns	ns
Protéines	50,6 ± 4,6	46,5 ± 1,4	45,0	45,9 ± 5,1	ns	ns	ns

Les résultats sont présentés sous la forme moyenne ± écart type (n=3 sauf pour le groupe 22°C-11%, n=1). Les astérisques indiquent les différences significatives ( $P < 0,05$ , \* ;  $P < 0,01$ , \*\* ;  $P < 0,001$ , \*\*\* ;  $P < 0,0001$ , \*\*\*\*). ns = non significatif ( $P > 0,05$ )

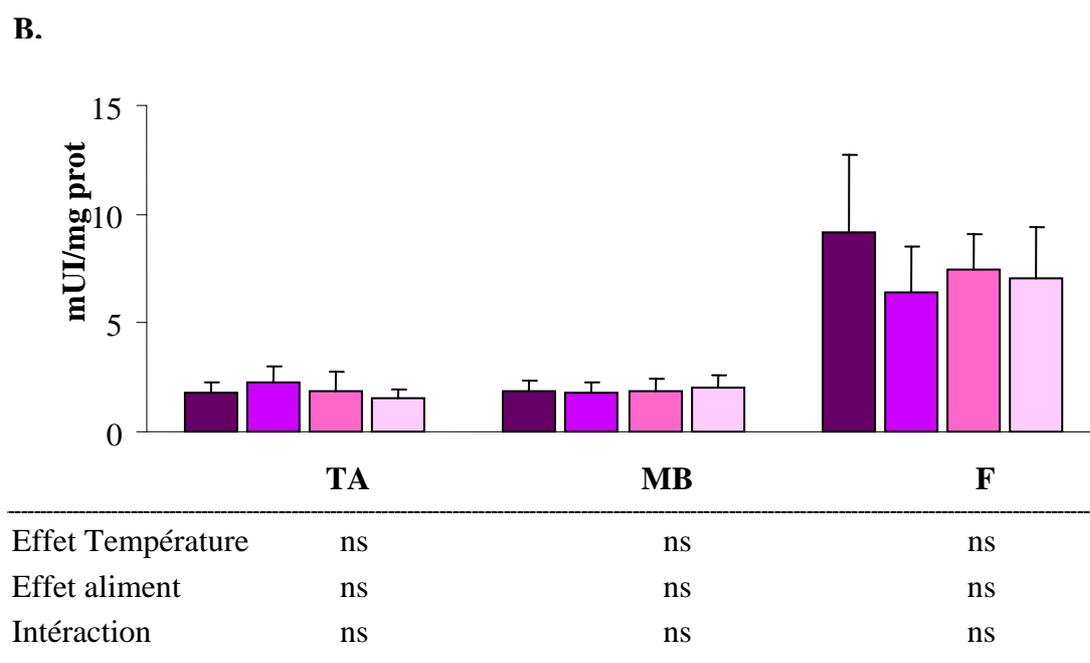
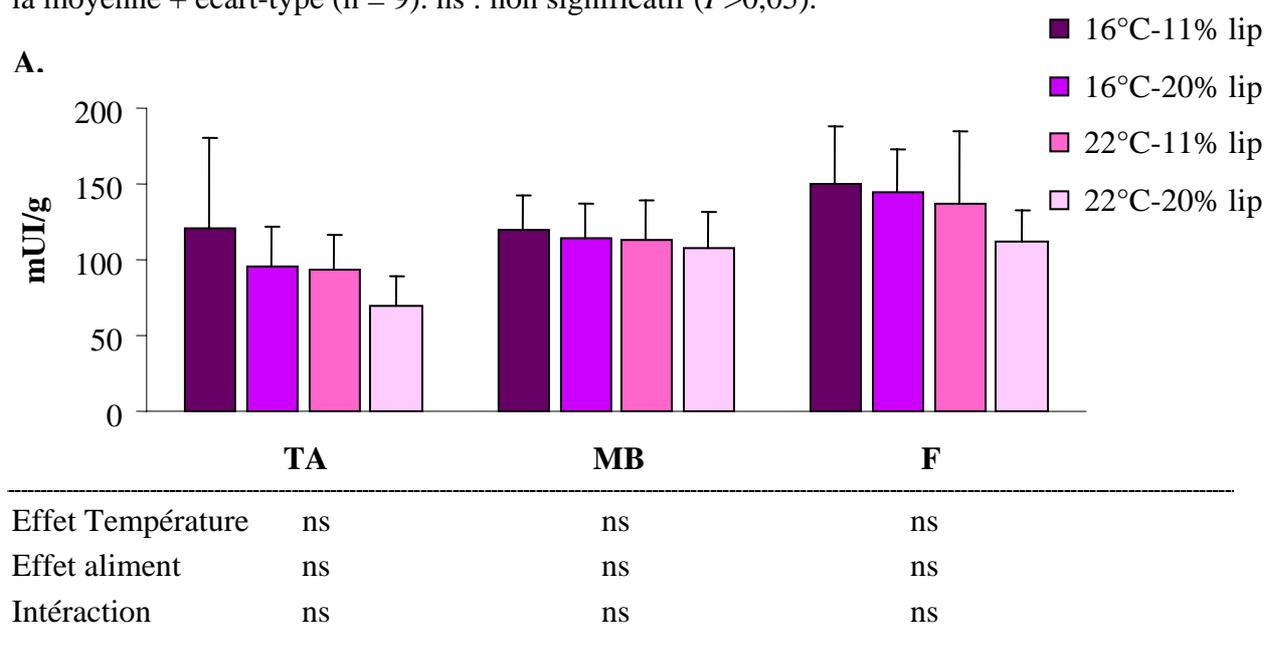
AG libres : acides gras libres

#### IV.2.2.4. Activité de la lipoprotéine lipase dans différents tissus (tissu adipeux périviscéral, muscle blanc, foie)

L'activité LPL mesurée dans le tissu adipeux périviscéral, le muscle blanc et le foie des bars est présentée sur la **Figure IV.8**. L'activité LPL (UI/g) est plus élevée dans le foie des bars que dans le tissu adipeux (environ 1,4 fois) et dans le muscle (1,2 fois). Par contre

l'activité LPL exprimée UI/mg protéines est nettement plus élevée dans le foie comparé aux 2 autres tissus. Quel que soit le tissu étudié, on n'observe pas d'influence de la température d'élevage ni de la teneur en lipides de l'aliment sur l'activité LPL.

**Figure IV.8 :** Activité LPL dans le tissu adipeux périviscéral (TA), le muscle blanc (MB) et le foie des bars, élevés à 16 ou 22°C avec un aliment à 11 ou 20% de lipides, après 17 semaines d'alimentation [(A) mUI/g tissu et (B) mUI/mg protéines]. Les valeurs représentent la moyenne + écart-type (n = 9). ns : non significatif ( $P>0,05$ ).



### **IV.3. Discussion**

#### **IV.3.1. Performances de croissance**

Les performances de croissance des deux lignées de truites nourries avec l'aliment riche en lipides sont supérieures à celles des truites ayant reçu l'aliment à faible teneur en lipides. Ceci confirme l'effet positif du taux de lipides dans l'aliment sur la croissance des poissons, mis en évidence chez différentes espèces comme la truite arc-en-ciel (Lee et Putman, 1973 ; Azevedo *et al.*, 1998 ; Gélinau *et al.*, 2001), la truite Fario (Arzel *et al.*, 1994), le saumon Atlantique (Hemre et Sandnes, 1999 ; Torstensen *et al.*, 2001 ; Bendiksen *et al.*, 2003). Par contre, dans notre expérience sur le bar, l'augmentation de la teneur en lipides de l'aliment (11 à 20%) n'a pas d'effet significatif sur la croissance des poissons mais il existe une interaction entre l'effet de la teneur en lipide de l'aliment et celui de la température d'élevage. Ainsi, lorsque les bars sont élevés à 22°C, la croissance des animaux tend à être plus élevée avec l'aliment à 20% de lipides comparé à l'aliment à 11%. De même, Lanari *et al.* (1999) observent des performances de croissance plus élevées avec un aliment à 19% de lipides comparé à des aliments contenant 11 et 15% de lipides chez des bars élevés à 22°C.

Indépendamment du taux de lipides dans l'aliment, les performances de croissance des bars de notre étude, sont meilleures lorsque les poissons sont élevés à 22°C comparé à 16°C. Chez le bar juvénile, Barnabé (1991) indique une croissance optimale entre 22 et 26°C, ce qui a été confirmé chez des bars issus d'une population méditerranéenne par Person-Le Ruyet *et al.* (2004). Cependant, au delà de cette gamme de température, à 29°C, une réduction de la croissance des bars est observée, avec une diminution concomitante de l'efficacité alimentaire (Person-Le Ruyet *et al.*, 2004). Cet effet positif de la température d'élevage sur la croissance des bars a également été observé dans plusieurs études menées sur cette même espèce (Hidalgo *et al.*, 1987 ; Russell *et al.*, 1996 ; Peres et Oliva-Teles, 1999b ; Person-Le Ruyet *et al.*, 2004) ainsi que sur d'autres espèces telles que le saumon Atlantique (Bendiksen *et al.*, 2003), la truite arc-en-ciel (Alanara, 1994), le turbot (Burel *et al.*, 1996 ; Imsland *et al.*, 2001), la morue (Pedersen et Jobling, 1989) ou la carpe (Goolish et Adelman, 1984 ; Fine *et al.*, 1996). Ces meilleures performances de croissance sont généralement reliées à une augmentation de la prise alimentaire ainsi qu'à une meilleure efficacité alimentaire. Dans

notre étude, l'ingéré alimentaire est effectivement plus important chez les bars élevés à 22°C comparé à ceux élevés à 16°C.

En ce qui concerne les performances de croissance des deux lignées de truites arc-en-ciel, les truites de la lignée M ont une croissance supérieure à celles de la lignée G tout au long de l'expérience. Cette différence de croissance n'est pas due à l'ingéré alimentaire, qui ne varie pas significativement entre les deux lignées, mais à une meilleure efficacité alimentaire chez les truites de la lignée M par rapport à celles de la lignée G. Généralement, une plus forte croissance des poissons est associée à un état d'engraissement également plus important (Kinghorn, 1983). Ce n'est pas le cas dans notre étude puisque la teneur en lipides corporels des truites de la lignée M ne diffère pas significativement de celle des truites de la lignée G. La croissance plus rapide des truites de la lignée M fait donc de cette lignée un matériel biologique particulièrement intéressant.

#### **IV.3.2. Lipogenèse hépatique**

Les aliments à forte teneur en lipides (22%) diminuent l'activité des enzymes de la lipogenèse hépatique chez les deux lignées de truites arc-en-ciel, et l'activité de la G6PDH et de l'EM chez le bar. Ces résultats sont en accord avec de nombreuses études qui rapportent également une inhibition de la lipogenèse hépatique suite à une augmentation de la teneur en lipides de l'aliment chez la truite arc-en-ciel (Walton, 1986 ; Alvarez *et al.*, 1998 ; Corraze *et al.*, 1999), la truite Fario (Regost *et al.*, 2001a), le bar (Alvarez *et al.*, 1998 ; Dias *et al.*, 1998, 1999), la carpe (Shimeno *et al.*, 1995), le poisson chat (Likimani et Wilson, 1982), la sole (Dias *et al.*, 2004) ou le saumon Atlantique (Arnesen *et al.*, 1993). Cependant chez le bar, la diminution de l'activité AGS n'est pas significative ( $P=0,06$ ). Ces données semblent indiquer que l'AGS est moins sensible à la variation du taux de lipides dans l'aliment que les 2 enzymes génératrices de NADPH. Ceci a également été observé dans une étude menée chez la truite Fario, où une augmentation de la teneur en lipides de 11 à 26% diminue l'activité G6PDH mais est sans effet sur l'activité AGS (Regost *et al.*, 2001a). De même, des études chez le bar et la truite arc-en-ciel indiquent que l'activité AGS est moins bien corrélée à la quantité de lipides ingérée comparée à l'activité G6PDH (Gélineau *et al.*, 2001 ; Boujard *et al.*, 2004).

Ce phénomène d'inhibition de la lipogenèse par l'augmentation de la teneur en lipides de l'aliment est également connu chez les mammifères (Kelley *et al.*, 1987 ; Hillgartner *et al.*, 1995) mais semble plus sévèrement contrôlé que chez les poissons. En effet, chez les poissons, comme chez la truite par exemple, la diminution de la synthèse *de novo* des acides gras n'est effective que pour des variations du taux de lipides supérieures à 10% (Henderson et Sargent, 1981 ; Brauge *et al.*, 1995) alors que chez les mammifères, comme le rat ou le mouton, le seuil d'inhibition des enzymes lipogéniques est d'environ 3% (Iritani *et al.*, 1984 ; Kelley *et al.*, 1987 ; Chilliard, 1993).

L'augmentation des activités G6PDH et AGS observée avec l'aliment riche en lipides dans notre expérience menée sur les lignées de truites s'accompagne d'une augmentation du taux d'ARNm G6PDH et d'une diminution de celui de l'AGS chez la lignée G. Ces résultats sont en accord avec les modes de régulation par la teneur en lipides alimentaires de ces 2 enzymes chez les mammifères, à savoir post-transcriptionnel pour la G6PDH et transcriptionnel dans le cas de l'AGS (Clarke *et al.*, 1990a ; Middleton et Schneeman, 1996 ; Stabile *et al.*, 1998).

L'élévation de la température d'élevage a un effet positif sur les activités G6PDH et EM chez le bar. Des résultats analogues ont été obtenus chez l'anguille (Hansen et Abraham, 1983) et la carpe (Farkas et Csengeri, 1976) avec une augmentation de la néosynthèse des acides gras avec l'élévation de la température. De même, chez la truite arc-en-ciel, la synthèse d'acides gras évaluée *in vivo* à partir de glucose marqué ainsi que l'activité AGS sont plus élevées à 18 °C qu'à 8°C (Corraze *et al.*, 1999). Cependant, dans certaines études, aucune différence d'activité des enzymes génératrices de NADPH ainsi que du taux de synthèse des acides gras n'est observé entre des truites élevées entre 4 et 20°C (Baldwin et Reed, 1976 ; Hazel et Prosser, 1979 ; Voss *et al.*, 1986). Par contre, d'autres études menées sur la même espèce indiquent que la synthèse des acides gras et l'activité des enzymes du cycle des pentoses phosphates sont plus élevées à basse qu'à haute température (Yamauchi *et al.*, 1975 ; Hazel et Sellner, 1979). Les effets de la température du milieu sur la lipogenèse hépatique demeurent donc controversés chez les poissons.

Concernant notre étude menée sur les deux lignées de truites arc-en-ciel, nos résultats indiquent que la capacité de néosynthèse hépatique des acides gras n'est pas un facteur permettant de différencier ces deux lignées. En effet, l'activité de l'AGS ainsi son taux d'ARNm ne varient pas significativement entre les 2 génotypes. Par contre, chez le poulet,

des études réalisées sur des lignées grasse et maigre, sélectionnées sur leur quantité de graisse abdominale indiquent que la lipogenèse hépatique, mesurée par incorporation d'eau tritiée, est plus importante chez les poulets gras que maigres (Saadoun et Leclercq, 1983, 1987). Ceci est également observé chez des lignées de poulets obtenues par sélection divergente sur la concentration en VLDL plasmatique, qui est fortement corrélée à la masse grasse des poulets (Griffin *et al.*, 1992). Cependant, les résultats concernant l'étude de l'expression de l'AGS chez ces lignées grasses et maigres de poulets sont controversés. Dans certaines études une augmentation du taux d'ARNm AGS est rapportée dans le foie des poulets gras comparés aux poulets maigres (Dridi *et al.*, 2005) alors que dans d'autres études le taux de transcription du gène AGS ainsi que le taux d'ARNm AGS ne diffèrent pas significativement entre les deux lignées (Alleman *et al.*, 1999 ; Daval *et al.*, 2000 ; Assaf *et al.*, 2004). En ce qui concerne les enzymes génératrices de NADPH, dans notre étude, l'activité et l'expression de la G6PDH, principal pourvoyeur d'équivalents réducteurs, sont supérieures chez la lignée grasse comparée à la lignée maigre. Des résultats analogues ont été observés chez le poulet. En effet, l'activité et l'expression de l'EM, qui est l'enzyme fournissant la majorité du NADPH chez cette espèce, sont également plus élevées chez la lignée grasse comparée à la lignée maigre (Alleman *et al.*, 1999 ; Daval *et al.*, 2000 ; Assaf *et al.*, 2004).

#### **IV.3.3. Transport des lipides**

Chez le bar, nous avons évalué l'effet de la température et de la teneur en lipides de l'aliment sur le transport des lipides par les lipoprotéines plasmatiques. La composition en lipides du plasma des bars est analogue à celle des bars de l'expérience 2. Cependant la concentration en triglycérides plasmatiques est plus élevée chez les bars de l'expérience 2, ce qui peut être lié à la différence de poids des animaux. Les proportions des différents constituants de chaque classe de lipoprotéines chez les bars élevés à 22°C sont similaires à celles des bars de l'expérience 2 ainsi qu'aux données précédemment obtenues par Santulli *et al.* (1996).

La concentration en triglycérides plasmatiques des bars n'est pas affectée par l'augmentation de la teneur en lipides de l'aliment comme cela a également été précédemment observé chez le turbot (Regost *et al.*, 2001b), le saumon Atlantique (Hemre et Sandnes, 1999 ; Torstensen *et al.*, 2001 ; Nordgarden *et al.*, 2002), ainsi que chez la truite Fario (Regost *et al.*, 2001a). La concentration en cholestérol du plasma est plus élevée chez les bars ayant reçu

l'aliment à 11% de lipides à 22°C comparé aux 3 autres groupes de poissons mais elle reste similaire entre les poissons nourris avec les aliments à 11 et 20% de lipides à 16°C (2,4 et 2,2 g/l respectivement). Chez le saumon Atlantique nourri avec des aliments contenant différentes teneurs en lipides, le taux de cholestérol plasmatique ne varie pas (Hemre et Sandnes, 1999 ; Torstensen *et al.*, 2001 ; Nordgarden *et al.*, 2002) alors que chez le turbot (Regost *et al.*, 2001b), la carpe (Shimeno *et al.*, 1995) et la truite Fario (Regost *et al.*, 2001a), il augmente lorsque le taux de lipides de l'aliment augmente. Ceci semble indiquer des différences entre espèces de poissons.

Dans notre étude, la concentration en VLDL plasmatiques chez les bars est plus élevée avec l'aliment à 11% de lipides comparé à l'aliment à 20% de lipides et cette différence est plus marquée chez les poissons élevés à 16°C. Contrairement à ce que nous observons dans notre étude, chez les mammifères, la diminution de la teneur en lipides de l'aliment entraîne une diminution de la sécrétion des VLDL (Kalopissis *et al.*, 1982 ; Muurling *et al.*, 2002). Cette diminution ne semble pas être due à une diminution de la synthèse de l'apo-B par le foie et l'intestin (Middleton et Schneeman, 1996). Par contre, le taux d'ARNm de la "microsomal triglyceride transfer protein", enzyme intervenant dans l'assemblage des VLDL, est diminué dans le foie et l'intestin des rongeurs suite à une diminution du taux de lipides dans l'aliment (Kalopissis *et al.*, 1982 ; Lin *et al.*, 1994). Cette augmentation de la concentration en VLDL pourrait être liée à une absorption des lipides et/ou à une synthèse des VLDL plus efficace chez le bar lorsque l'aliment contient peu de lipides. Mais des études complémentaires sont nécessaires pour valider ces hypothèses. Par ailleurs, la teneur en LDL plasmatique des bars ne varie pas significativement en fonction de l'aliment reçu. Le taux de conversion des VLDL en LDL pourrait donc être ralenti et/ou le captage des LDL par les tissus augmenté lorsque l'aliment a une faible teneur en lipides. A l'inverse chez le saumon Atlantique, Torstensen *et al.* (2001) rapporte une augmentation des teneurs en LDL et HDL plasmatiques avec un aliment à 29% de lipides comparé à un aliment à 11%. Ces données semblent indiquer que les mécanismes de régulation du transport des lipides par le taux de lipides de l'aliment sont différents entre le saumon et le bar. Cependant, l'analyse des lipoprotéines plasmatiques a été réalisée après 48 heures de jeûne dans l'étude de Torstensen *et al.* et après 18 heures de jeûne dans la notre, ce qui peut expliquer que leurs observations diffèrent des nôtres.

La température d'élevage ne modifie pas les concentrations en cholestérol et triglycérides plasmatiques des bars. Nos résultats confirment ceux de Santulli *et al.* (1993). En effet, dans cette étude, les concentrations en triglycérides et cholestérol plasmatiques

mesurées 12 et 24 heures après le dernier repas ne diffèrent pas significativement entre des bars élevés à 15, 20 et 25°C (Santulli *et al.*, 1993). Des résultats similaires ont également été observés chez des carpes élevées à 10 ou 30°C (Teichert et Wodtke, 1992).

Cependant, dans notre étude les teneurs en VLDL et LDL sont modifiées par la température : elles sont plus élevées à 22°C comparé à 16°C. Chez les poissons, la température d'élevage a une influence marquée sur l'efficacité de la digestion, le temps de transit intestinal et par conséquent sur le pic d'absorption des lipides alimentaires (Smith, 1989). Le temps de passage des aliments dans l'estomac diminue lorsque la température augmente chez le bar (Santulli *et al.*, 1993). Le pic d'absorption des lipides alimentaires est également atteint plus rapidement lorsque la température est élevée. Chez la truite, il est maximal 10 heures après la prise alimentaire à 22°C et 22 heures après le dernier repas à 14°C (Wallaert et Babin, 1994a). Dans notre expérience, les prélèvements sanguins ont été réalisés 18 heures après le dernier repas. La digestion et l'absorption des lipides plus rapides à 16°C pourraient donc expliquer les teneurs plus importantes en VLDL et LDL à 22°C.

Dans notre étude, la composition relative des VLDL et LDL des bars est modifiée par la température d'élevage. La proportion de cholestérol contenue dans les VLDL et LDL est un peu plus faible à 22°C comparé 16°C et cette différence n'est significative que pour les LDL. Chez la truite, des études ont montré que le taux de synthèse des stérols à partir de précurseurs marqués dans les hépatocytes est plus faible chez des poissons acclimatés à 20°C comparé à 5°C (Hazel et Prosser, 1979 ; Hazel et Sellner, 1979). L'activité 3-hydroxy-3-méthylglutaryl coenzyme A réductase, enzyme limitante de la synthèse du cholestérol, mesurée dans le foie de carpes élevées à 30°C est également plus faible comparé à 10°C (Teichert et Wodtke, 1992). Ces études indiquent donc une diminution de la synthèse du cholestérol dans le foie lorsque la température du milieu augmente. Chez la carpe, parallèlement à la diminution de la synthèse du cholestérol dans le foie à forte température, une augmentation de la concentration en cholestérol total hépatique est observée (Teichert et Wodtke, 1992). Ceci pourrait être dû à une diminution de l'exportation du cholestérol à partir du foie, ce qui serait en accord avec les modifications du contenu en cholestérol observées dans les LDL plasmatiques dans notre étude. Les VLDL et les LDL des bars élevés à 22°C sont également plus riches en triglycérides et contiennent une plus faible proportion de phospholipides comparé aux animaux élevés à 16°C. Cependant chez la truite arc-en-ciel, une augmentation de la synthèse *de novo* des phospholipides est observée dans les hépatocytes des poissons acclimatés à 20°C comparé à 5°C (Hazel, 1990). La diminution du pourcentage de phospholipides dans les VLDL et LDL des bars élevés à 22°C dans notre expérience ne semble donc pas provenir

d'une diminution de la synthèse des phospholipides dans le foie mais plutôt d'une augmentation de la synthèse et de l'incorporation des triglycérides dans les lipoprotéines.

#### **IV.4.4. Captage des lipides**

Dans nos études, l'augmentation du taux de lipides alimentaires ne modifie pas significativement l'activité LPL du tissu adipeux et du muscle blanc chez les deux lignées de truites. Il en est de même chez le bar, dans les trois tissus étudiés. Par contre, une étude antérieure menée chez la truite arc-en-ciel montre qu'une élévation du taux de lipides de l'aliment de 12 à 25% augmente l'activité LPL dans le tissu adipeux périviscéral et que la même tendance est observée dans le muscle blanc (Arantzamendi, 2002). De même, chez la daurade royale, la teneur en lipides de l'aliment modifie le taux d'ARNm LPL, de manière tissu spécifique (Liang *et al.*, 2002a). Un aliment contenant 25% de lipides entraîne une diminution du taux d'ARNm LPL dans le foie des daurades, qui est un important site de stockage des lipides chez cette espèce, mais n'a pas d'effet dans le tissu adipeux, comparé à un aliment à 15% de lipides (Liang *et al.*, 2002a). Ces données indiquent que la LPL est régulée de manière tissu spécifique chez cette espèce, ce qui a été récemment confirmé (Saera-Vila *et al.*, 2005). Ces résultats semblent indiquer qu'une augmentation de la teneur en lipides des aliments affecte le captage au niveau des principaux sites de stockage. Dans nos études, les grandes variations individuelles de l'activité LPL mesurée dans les différents tissus ont pu masquer l'effet du taux de lipides de l'aliment. Par ailleurs, un effet de la taille des animaux n'est pas à exclure. En effet, dans l'étude d'Arantzamendi (2002), les animaux avaient un poids final de l'ordre de 350 g alors que nos expériences ont été conduites sur des juvéniles (poids moyen final : 80-100 g).

Bien que l'activité LPL ne soit pas modifiée dans les trois tissus étudiés, une alimentation à forte teneur en lipides pendant plusieurs mois conduit à une augmentation du stockage des lipides dans les tissus. Chez la truite et le bar, la teneur en lipides du muscle ainsi que l'indice viscérosomatique sont plus élevés avec l'aliment riche en lipides, indiquant un stockage des lipides plus important dans ces tissus. De nombreuses études ont montré que l'accroissement de la teneur en lipides corporels induite par l'augmentation de l'apport lipidique de l'aliment est principalement dûe à une augmentation des dépôts lipidiques au niveau des viscères et du muscle chez les salmonidés (Corraze *et al.*, 1999 ; Dias *et al.*, 1999 ; Gélinau *et al.*, 2001 ; Regost *et al.*, 2001a ; Jobling et Bendiksen, 2003). Chez le bar, ce sont

les teneurs en lipides des viscères et du foie qui subissent une influence plus marquée lorsque l'apport en lipides augmente (Dias *et al.*, 1998 ; Lanari *et al.*, 1999 ; Peres et Oliva-Teles, 1999a ; Boujard *et al.*, 2004).

Notre étude chez le bar montre que la température d'élevage ne modifie pas le captage des acides gras par le muscle blanc, évalué par les mesures d'activité LPL. Cependant la teneur en lipides du muscle des bars diminue lorsque la température d'élevage augmente et cette diminution est plus marquée avec l'aliment à 20% de lipides. Cette diminution de la teneur en lipides musculaires lorsque la température augmente a également été observée chez le saumon Atlantique avec des aliments à forte teneur en lipides (34%) (Jobling et Bendiksen, 2003). Dans notre étude, les bars présentant les plus faibles teneurs en lipides musculaires (groupes élevés à 22°C), sont également ceux qui ont la meilleure croissance. Ceci semble indiquer une meilleure utilisation des lipides chez les bars élevés à haute température, en particulier pour la fourniture d'énergie ( $\beta$ -oxydation), puisque le captage des acides gras par le muscle n'est pas significativement modifié. Cependant, plusieurs études rapportent une augmentation des capacités de  $\beta$ -oxydation lorsque la température de l'eau diminue. Ainsi, les activités  $\beta$ -hydroxyacyl-CoA déshydrogénase et carnitine palmitoyltransférase sont plus élevées dans le muscle à faible température chez la truite arc-en-ciel (Guderley et Gawlicka, 1992 ; St-Pierre *et al.*, 1998 ; Bouchard et Guderley, 2003) et la carpe (Johnston *et al.*, 1985). De même, Tocher *et al.* (2004) indiquent une capacité de  $\beta$ -oxydation plus élevée dans les hépatocytes et entérocytes de truites arc-en-ciel élevées à 7 et 11°C comparé à 15°C.

Dans notre étude, l'indice hépatosomatique des bars élevés à 16°C est supérieur à celui des animaux élevés à 22°C mais le captage des acides gras par le foie n'est pas significativement modifié par la température d'élevage. Cet effet de la température sur l'indice hépatosomatique a également été observé chez la truite arc-en-ciel (Hazel, 1979 ; Jürss, 1979 ; Ingemansson *et al.*, 1993), la carpe (Fine *et al.*, 1996) ou le saumon Atlantique (Grisdale-Helland *et al.*, 2002). Chez la truite arc-en-ciel, cette augmentation de l'indice hépatosomatique à basse température n'est pas liée à une augmentation de la quantité de lipides dans le foie (Hazel, 1979 ; Tocher *et al.*, 2004). La teneur en lipides du foie chez la carpe est même diminuée à 17°C comparé à 26°C mais par contre la quantité de glycogène hépatique est plus importante à 17°C (Fine *et al.*, 1996). L'augmentation de l'indice hépatosomatique observée dans notre étude à faible température pourrait donc être liée à un stockage plus important du glycogène dans le foie des poissons.

Aucun effet significatif de la température de l'eau n'est observé sur l'activité LPL mesurée dans le tissu adipeux périviscéral des bars, ce qui est en accord avec les indices

viscérosomatiques des poissons. Chez le saumon Atlantique une augmentation de la température de l'eau (de 2 à 8°C) n'entraîne pas non plus de variations significatives de la quantité de lipides déposés dans les viscères (Jobling et Bendiksen, 2003).

Des études complémentaires sont nécessaires afin de préciser l'effet de la température d'élevage sur le métabolisme des lipides.

La plus grande quantité de lipides déposés dans le muscle chez la lignée G, qui sont principalement des lipides intermyofibrillaires, n'est pas dûe à un captage accru des lipides. En effet, l'activité LPL dans le muscle ne diffère pas significativement entre les deux lignées. Cependant, une interaction entre les effets du taux de lipides de l'aliment et de la lignée tend à apparaître ( $P=0,07$ ). Ainsi, avec l'aliment à faible teneur en lipides, l'activité LPL du muscle tend à être plus élevée chez la lignée G que chez la lignée M. La plus grande quantité de lipides musculaires chez la lignée G pourrait résulter d'un catabolisme des acides gras plus faible chez cette lignée comparée à la lignée M.

Au niveau du tissu adipeux, on n'observe pas de différences de captage entre les lignées de truites après 6 mois (alimentation précoce). Par contre, le captage des lipides est significativement plus élevé chez la lignée M que chez la lignée G à 13 mois, ce qui est en accord avec les mesures d'indice viscérosomatique des deux lignées. Cependant le gène LPL ne s'exprime pas différenciellement entre les deux lignées dans ce tissu.

Les données d'activité LPL à 13 mois sont donc en accord avec l'importance relative des sites de dépôts lipidiques chez ces deux lignées, à savoir le muscle pour la lignée G et le tissu adipeux périviscéral pour la lignée M, mais le captage tissulaire des lipides n'est pas le facteur prépondérant qui différencie ces deux lignées de truite arc-en-ciel. Chez des lignées divergentes de poulets, sélectionnées sur leur quantité de graisse abdominale, la LPL semble avoir un rôle mineur dans la régulation de l'engraissement chez ces lignées. Au niveau du tissu adipeux, l'activité LPL est similaire entre les deux lignées, voire légèrement plus faible chez les poulets de la lignée grasse à partir de la 7<sup>ème</sup> génération de sélection (Griffin *et al.*, 1989). De même dans une autre étude il a été montré que l'activité LPL des adipocytes du tissu adipeux ne diffère pas entre deux lignées de poulets (maigre ou grasse) (Hermier *et al.*, 1989).

## **Conclusions générales et perspectives**



## **V. CONCLUSIONS GENERALES ET PERSPECTIVES**

L'objectif de ce travail de thèse était d'étudier les effets du taux de lipides ainsi que de la nature de la source lipidique de l'aliment sur la synthèse endogène, le transport et le captage tissulaire des lipides chez la truite arc-en-ciel et le bar Européen. L'effet du taux de lipides alimentaires a été étudié en interaction avec le génotype chez la truite arc-en-ciel ou avec un facteur environnemental : la température chez le bar.

Les résultats de ce travail indiquent que le remplacement total dans les aliments de l'huile de poisson par un mélange d'huiles végétales est possible depuis la première alimentation chez la truite arc-en-ciel et sur une longue période d'élevage (62 semaines), sans altérer les performances de croissance. Il en est de même chez le bar nourri avec des aliments dont l'huile de poisson a été partiellement (60%) substituée par des mélanges d'huiles végétales depuis le stade précoce (5,2 g). Cette substitution ne modifie pas les capacités de synthèse endogène des lipides par le foie chez les deux espèces et n'a pas d'effet marqué sur le captage des lipides par les tissus (tissu adipeux périviscéral, muscle blanc et foie). La quantité de lipides déposée dans le muscle chez la truite et le bar n'est pas affectée par le remplacement de l'huile de poisson par les mélanges d'huiles végétales mais la composition en acides gras de la chair est modifiée et reflète celle de la source lipidique utilisée dans l'aliment. Les aliments à base d'huiles végétales affectent le transport des lipides plasmatiques en entraînant une forte diminution de la concentration en cholestérol chez les deux espèces étudiées (diminution de 40% et 20% chez la truite et le bar respectivement), ainsi que de la teneur en LDL plasmatiques chez la truite (diminution de 40%). La plus forte teneur en acides gras insaturés des huiles végétales (principalement acide oléique et acide linoléique) comparé aux huiles de poissons pourrait expliquer l'effet hypocholestérolémiant des aliments à base d'huiles végétales (Dietschy, 1998 ; Fernandez et West, 2005). Par ailleurs, les phytostérols, abondants dans les huiles végétales et surtout dans l'huile de colza (environ 7,2 g/kg) (Phillips *et al.*, 2002) qui représentait 55% de la source lipidique de l'aliment HV100 chez la truite, pourraient également être en partie responsables de l'effet hypocholestérolémiant des aliments d'origine végétale. Afin de vérifier l'implication potentielle des phytostérols dans l'effet hypocholestérolémiant de nos aliments à base d'huiles végétales, il serait intéressant de comparer les concentrations en lipides et lipoprotéines plasmatiques chez des poissons nourris avec un aliment contenant 100% d'huiles végétales et

un aliment contenant 100% d'huile de poisson supplémenté avec une quantité de phytostérols équivalente à celle contenue dans les huiles végétales. De plus, il serait pertinent d'étudier la digestibilité et les mécanismes d'absorption du cholestérol puisque les phytostérols semblent agir essentiellement à ce niveau. Chez la truite, la diminution de la teneur en LDL plasmatiques observée avec les aliments d'origine végétale, ne semble pas être liée à une augmentation des capacités de captage des LDL par les tissus. En effet nos résultats indiquent que le R-LDL est sous exprimé dans le foie et le tissu adipeux périviscéral des truites nourries avec l'aliment contenant 100% d'huiles végétales comparées à celles ayant reçu l'aliment à base d'huile de poisson. Cependant, il a été montré chez le saumon Atlantique que la composition en acides gras des lipoprotéines plasmatiques subit des modifications en fonction de la composition en acides gras de la source lipidique de l'aliment (Torstensen *et al.*, 2000, 2004a). En fonction de la nature des huiles ingérées, les modifications de la composition en acides gras des LDL ainsi que des membranes plasmatiques tissulaires pourraient avoir une incidence sur l'affinité du R-LDL pour les LDL. Pour vérifier cela, il serait nécessaire de compléter ces études par des études de "binding" qui nous permettraient de mettre en évidence si le nombre de R-LDL présents à la surface des hépatocytes, adipocytes et myocytes est affecté par les aliments à base d'huiles végétales et si l'affinité du R-LDL pour les LDL est modifiée. Nous pourrions également réaliser des études de "binding" croisées à partir de membranes plasmiques tissulaires isolées à partir de truites nourries avec un aliment contenant 100% d'huile de poisson et des LDL issues de truites nourries avec un aliment contenant 100% d'huiles végétales et *vice versa* afin de mettre en évidence si les variations d'affinité éventuelles sont liées à la modification de la composition des LDL ou à la modification de la composition des membranes tissulaires.

Par ailleurs, dans le but de s'affranchir totalement de l'emploi de matières premières (farines et huiles) d'origine halieutique dans la formulation des aliments, l'enjeu actuel en aquaculture est d'étudier les possibilités d'un remplacement conjoint de l'huile et de la farine de poisson par des produits d'origine végétale. Des études menées sur le remplacement partiel et total de la farine de poisson par des matières premières d'origine végétale (farine de soja ou mélange de farines de maïs, blé, pois, colza) ont rapporté une diminution de la concentration en cholestérol plasmatique chez la truite arc-en-ciel (Kaushik *et al.*, 1995) et la daurade (Gómez-Requeni *et al.*, 2004). Il sera donc pertinent d'étudier l'effet d'une substitution conjointe de l'huile et de la farine de poisson des aliments par des produits d'origine végétale sur le métabolisme des lipides et notamment sur la synthèse du cholestérol et le profil lipoprotéique du plasma.

Dans la deuxième partie de ce travail de thèse, nous avons étudié l'effet de la teneur en lipides de l'aliment en interaction avec le génotype chez la truite arc-en-ciel et en interaction avec la température d'élevage chez le bar.

Nos données confirment l'effet inhibiteur de l'augmentation de l'apport lipidique alimentaire sur la lipogenèse hépatique chez la truite arc-en-ciel ainsi que chez le bar. Concernant le mode de régulation de l'AGS et de la G6PDH par la teneur en lipides de l'aliment, nos résultats semblent indiquer qu'il est semblable à celui mis en évidence chez les mammifères : transcriptionnel pour l'AGS et post-transcriptionnel pour la G6PDH (Clarke *et al.*, 1990b ; Stabile *et al.*, 1998). La teneur en lipides de l'aliment ne modifie pas le captage des lipides par le tissu adipeux périviscéral, le muscle blanc et le foie chez la truite et le bar mais conditionne la quantité de lipides stockée dans le muscle ainsi que la proportion de viscères chez les deux espèces.

Chez la truite arc-en-ciel, la combinaison de la sélection génétique divergente pour l'indice d'adiposité musculaire et de l'apport en lipides différent a permis d'obtenir des truites présentant des écarts importants de teneurs en lipides du muscle (de 4,2% pour la lignée M nourrie avec l'aliment à faible teneur en lipides à 10,1% pour la lignée G nourrie avec l'aliment riche en lipides). Ceci peut présenter un intérêt certain pour les producteurs afin d'adapter les pratiques d'élevage en fonction de la destination finale des produits. Pour une teneur en lipides alimentaires donnée, ces deux lignées ont une teneur en lipides corporels identique mais elles se différencient par l'importance relative des sites de dépôts : la lignée G a un taux de lipides plus élevé dans le muscle alors que la lignée M a davantage de dépôts lipidiques périviscéraux. Nos résultats indiquent que l'activité des principales enzymes de la lipogenèse hépatique ne diffère pas entre ces deux lignées de truites, ce qui suggère une capacité de néosynthèse des acides gras semblable. Cependant l'activité des principaux acteurs de la lipogenèse ayant été évaluée *in vitro*, il serait intéressant d'évaluer l'importance métabolique de cette voie car d'autres facteurs, comme la disponibilité en substrats, pourraient modifier la lipogenèse *in vivo*. Nos résultats indiquent que ces deux lignées de truites ont des capacités de néosynthèse des acides gras dans le foie qui sont semblables. L'accroissement de la teneur en lipides du muscle de la lignée G n'est donc pas dû à une lipogenèse hépatique plus importante. Le captage des lipides, qui a été évalué en mesurant l'activité de la LPL, est plus important dans le tissu adipeux périviscéral chez la lignée M comparée à la lignée G mais le captage des lipides par le muscle ne permet pas d'expliquer la plus forte teneur en lipides musculaires de la lignée G. Cependant, des mesures directes du

taux de captage des acides gras par l'emploi de traceurs radioactifs *in vivo* chez l'animal permettraient de comparer plus précisément la capacité de ces tissus à capter les acides gras entre les deux lignées de truites. La différence de teneur en lipides du muscle entre les deux lignées de truites pourrait être due à une capacité de  $\beta$ -oxydation des acides gras plus importante dans le muscle de la lignée M comparée à la lignée G. L'utilisation des autres substrats énergétiques pourrait également interagir avec les lipides dans le stockage des réserves énergétiques. En effet les capacités à utiliser le glucose et/ou les acides aminés comme substrat pour la production d'énergie pourraient être plus élevées chez les truites de la lignée G comparée à la lignée M, ce qui permettrait ainsi une "épargne" des lipides et conduirait à une plus grande disponibilité des lipides pour le stockage sous forme de réserves énergétiques chez la lignée G. Pour vérifier ces hypothèses des études complémentaires sur le catabolisme des acides gras ( $\beta$ -oxydation), la glycolyse et le catabolisme des acides aminés sont nécessaires. Des analyses sans a priori du transcriptome et du protéome du muscle, du tissu adipeux et du foie pourraient aussi permettre d'identifier d'autres gènes et/ou protéines qui seraient susceptibles d'expliquer les différences de localisation des dépôts lipidiques corporels entre ces deux lignées. Par la suite, dans le contexte du remplacement de l'huile de poisson dans les aliments aquacoles, étudier l'effet des huiles végétales en interaction avec le génotype sur la qualité nutritionnelle de la chair pourrait peut être conduire à la sélection de lignées de truites ayant la capacité de retenir sélectivement les AGPI n-3 au niveau du muscle, ce qui serait très intéressant d'un point de vue nutritionnel.

Concernant notre étude menée sur l'effet de la teneur en lipides de l'aliment en interaction avec la température d'élevage chez le bar, nos résultats montrent que la température d'élevage a des effets plus importants sur la croissance des poissons ainsi que sur le métabolisme des lipides que la teneur en lipides des aliments. Nos données confirment l'effet positif de l'élévation de la température sur l'ingestion alimentaire et les performances de croissance des poissons. L'augmentation de la température d'élevage (de 16 à 22°C) diminue le contenu en lipides du muscle mais n'a pas d'effet sur l'activité LPL du muscle et des autres tissus étudiés (tissu adipeux et foie). Cette diminution de la quantité de lipides musculaire pourrait donc être liée à une  $\beta$ -oxydation plus élevée chez les bars élevés à plus forte température. Afin de vérifier cette hypothèse il serait nécessaire d'étudier l'effet de la température d'élevage sur les activités carnitine palmitoyltransférase 1 et hydroxyacétyl-CoA déshydrogénase dans le muscle des bars. L'augmentation de la température accroît les capacités de lipogénèse hépatique du bar et augmente les concentrations en VLDL et LDL plasmatiques. La composition de ces deux classes de lipoprotéines subit également des

modifications avec un appauvrissement de leurs composants de surface (protéines et phospholipides) et une augmentation de la proportion de triglycérides. Il serait donc intéressant de rechercher par quels mécanismes la température régule la formation et la sécrétion des lipoprotéines plasmatiques en mesurant par exemple la sécrétion des VLDL sur des explants de foie en survie incubés en présence de traceurs marquant leurs constituants protéiques et/ou lipidiques. Des études de l'expression de l'apo-B100 (principale apolipoprotéine contenu dans les VLDL), de la "microsomal triglyceride transfer protein" (enzyme intervenant dans l'assemblage des VLDL) ainsi que des enzymes intervenant dans les voies de biosynthèse des phospholipides et triglycérides dans le foie des poissons en fonction de la température d'élevage pourraient également être envisagées.



## **Références bibliographiques**



## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abbott, W.G., Swinburn, B., Ruotolo, G., Hara, H., Patti, L., Harper, I., Grundy, S.M. & Howard, B.V., 1990.** Effect of a high-carbohydrate, low-saturated-fat diet on apolipoprotein B and triglyceride metabolism in Pima Indians. *J. Clin. Invest.* 86 : 642-650.
- Ackman, R.G., 1995.** Composition and nutritional value of fish and shellfish lipids. In: Fish and Fisheries Products. Composition, Nutritive properties and stability, (ed : Ruitter, A.), CAB International, Wallingford, Oxon., UK., pp. 117-156.
- Ahrens, E.H., Jr., Insull, W., Jr., Blomstrand, R., Hirsch, J., Tsaltas, T.T. & Peterson, M.L., 1957.** The influence of dietary fats on serum-lipid levels in man. *Lancet* 272 : 943-953.
- Alam, N., Nakamura, K. & Hayashi, S., 2004.** Lipoprotein metabolism in a coculture system with eel skeletal muscle cells and hepatocytes. *Fish. Sci.* 70 : 326-335.
- Alanara, A., 1994.** The effect of temperature, dietary energy content and reward level on the demand feeding activity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 126 : 349-359.
- Albalat, A., Sánchez-Gurmaches, J., Gutiérrez, J. & Navarro, I., 2006.** Regulation of lipoprotein lipase activity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) tissues. *Gen. Comp. Endocrinol.* 146 : 226-235.
- Allan, F.J., Thompson, K.G., James, K.A.C., Manktelow, B.W., Koolaard, J.P., Johnson, R.N. & McNutt, P.V., 2001.** Serum lipoprotein cholesterol and triglyceride concentrations in pigs fed diets containing fish oil, milkfat, olive oil and coconut oil. *Nutr. Res.* 21 : 785-795.
- Allee, G.L., Baker, D.H. & Leveille, G.A., 1971.** Fat utilization and lipogenesis in the young pig. *J. Nutr.* 101 : 1415-1421.
- Alleman, F., Bordas, A., Caffin, J.P., Daval, S., Diot, C., Douaire, M., Frasnin, J.M., Lagarrigue, S. & Leclercq, B., 1999.** L'engraissement chez le poulet : aspects métaboliques et génétiques. *INRA Prod. Anim.* 12 : 257-264.
- Altschul, S.F., Gish, W., Miller, W., Myers, E.W. & Lipman, D.J., 1990.** Basic local alignment search tool. *J. Mol. Biol.* 215 : 403-410.
- Alvarez, M.J., Lopez-Bote, C.J., Diez, A., Corraze, G., Arzel, J., Dias, J., Kaushik, S.J. & Bautista, J.M., 1998.** Dietary fish oil and digestible protein modify susceptibility to lipid peroxidation in the muscle of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Br. J. Nutr.* 80 : 281-289.
- Alvarez, M.J., Diez, A., Lopez-Bote, C., Gallego, M. & Bautista, J.M., 2000.** Short-term modulation of lipogenesis by macronutrients in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocytes. *Br. J. Nutr.* 84 : 619-628.
- Amri, E.Z., Teboul, L., Vannier, C., Grimaldi, P.A. & Ailhaud, G., 1996.** Fatty acids regulate the expression of lipoprotein lipase gene and activity in preadipose and adipose cells. *Biochem. J.* 314 : 541-546.
- Amthauer, R., Villanueva, J., Ines Vera, M., Concha, M. & Krauskopf, M., 1989.** Characterization of the major plasma apolipoproteins of the high density lipoprotein in the carp (*Cyprinus carpio*). *Comp. Biochem. Phys.* 92B : 787-793.

- Ando, S. & Mori, Y., 1993.** Characteristics of serum lipoprotein features associated with lipid levels of muscle and liver from five species of fish. *Nippon Suisan Gakkaishi* 59 : 1565-1571.
- Arantzamendi, L., 2002.** Effect of dietary lipids on production, composition and lipolytic activity in commercial fish. Thèse de l'Université de Las Palmas de Gran Canaria, Espagne.
- Armstrong, M.J. & Carey, M.C., 1987.** Thermodynamic and molecular determinants of sterol solubilities in bile salt micelles. *J. Lipid Res.* 28 : 1144-1155.
- Arnault, F., Etienne, J., Noé, L., Raisonnier, A., Brault, D., Harney, J.W., Berry, M.J., Tse, C., Fromental-Ramain, C., Hamelis, J. & Galibert, F., 1996.** Human lipoprotein lipase last exon is not translated, in contrast to lower vertebrates. *J. Mol. Evol.* 43 : 109-115.
- Arnesen, P., Krogdahl, Å. & Kristiansen, I.Ø., 1993.** Lipogenic enzyme activities in liver of Atlantic salmon (*Salmo salar*, L). *Comp. Biochem. Physiol.* 105B : 541-546.
- Arnold-Reed, D.E., Bentley, P.J., Phan, C.T. & Redgrave, T.G., 1997.** The clearance of lipids from the plasma of a teleost fish, the black bream (*Acanthopagrus butcheri*). *Comp. Biochem. Physiol.* 116A : 167-172.
- Arzel, J., Lopez, F.X.M., Métailler, R., Stéphan, G., Viau, M., Gandemer, G. & Guillaume, J., 1994.** Effect of dietary lipid on growth performance and body composition of brown trout (*Salmo trutta*) reared in seawater. *Aquaculture* 123 : 361-375.
- Assaf, S., Lagarrigue, S., Daval, S., Sansom, M., Leclercq, B., Michel, J., Pitel, F., Alizadeh, M., Vignal, A. & Douaire, M., 2004.** Genetic linkage and expression analysis of *SREBP* and lipogenic genes in fat and lean chicken. *Comp. Biochem. Physiol.* 137B : 433-441.
- Aster, P.L. & Moon, T.W., 1981.** Influence of fasting and diet on lipogenic enzymes in the american eel, *Anguilla rostrata* LeSueur. *J. Nutr.* 111 : 346-354.
- Azevedo, P.A., Cho, C.Y., Leeson, S. & Bureau, D.P., 1998.** Effects of feeding level and water temperature on growth, nutrient and energy utilization and waste outputs of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquat. Living Resour.* 11 : 227-238.
- Babin, P.J., 1986.** Effect of plasma lipoproteins in gonadotropin stimulation of  $17\beta$ -estradiol production in the ovarian follicle of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Gen. Comp. Endocrinol.* 64 (3) : 456-467.
- Babin, P.J., 1987a.** Plasma lipoprotein and apolipoprotein distribution as a function of density in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Biochem. J.* 246 : 425-429.
- Babin, P.J., 1987b.** Apolipoproteins and the association of egg yolk proteins with plasma high density lipoproteins after ovulation and follicular atresia in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *J. Biol. Chem.* 262 : 4290-4296.
- Babin, P.J. & Vernier, J.M., 1989.** Plasma lipoproteins in fish. *J. Lipid Res.* 30 : 467-489.
- Babin, P.J., Thisse, C., Durliat, M., Andre, M., Akimenko, M.A. & Thisse, B., 1997.** Both apolipoprotein E and A-I genes are present in a nonmammalian vertebrate and are highly expressed during embryonic development. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 94 : 8622-8627.
- Baker, N., Learn, D.B. & Bruckdorfer, K.R., 1978.** Re-evaluation of lipogenesis from dietary glucose carbon in liver and carcass of mice. *J. Lipid Res.* 19 : 879-893.

- Balasubramaniam, S., Simons, L.A., Chang, S. & Hickie, J.B., 1985.** Reduction in plasma cholesterol and increase in biliary cholesterol by a diet rich in n-3 fatty acids in the rat. *J. Lipid Res.* 26:684-689.
- Baldner, G.L., Flatt, R.E., Shaw, R.N. & Beitz, D.C., 1985.** Fatty acid biosynthesis in liver and adipose tissue from dogs. *Comp. Biochem. Physiol.* 82B : 153-156.
- Baldwin, J. & Reed, K.C., 1976.** Cytoplasmic sources of NADPH for fat synthesis in rainbow trout liver: effect of thermal acclimation on enzyme activities. *Comp. Biochem. Physiol.* 54B : 527-529.
- Baltzell, J.K., Wooten, J.T. & Otto, D.A., 1991.** Lipoprotein lipase in rats fed fish oil: apparent relationship to plasma insulin levels. *Lipids* 26 : 289-294.
- Barakat, H.A. & St. Clair, R.W., 1985.** Characterization of plasma lipoproteins of grain- and cholesterol-fed White Carneau and Show Racer pigeons. *J. Lipid Res.* 26 : 1252-1268.
- Barnabé G., 1991.** Grossissement des poissons en élevage intensif. In : Bases biologiques et écologiques de l'aquaculture. (ed. : Barnabé G.), Lavoisier Tec & Doc, Paris, pp. 422-451.
- Barroso, J.B., Peragón, J., Contreras-Jurado, C., García-Salguero, L., Corpas, F.J., Esteban, F.J., Peinado, M.A., de la Higuera, M. & Lupiáñez, J.A., 1998.** Impact of starvation-refeeding on kinetics and protein expression of trout liver NADPH-production systems. *Am. J. Physiol.* 274 : R1578-1587.
- Bauchart, D., 1993.** Lipid absorption and transport in ruminants. *J. Dairy Sci.* 76 : 3864-3881.
- Bautista, J.M., Garrido-Pertierra, A. & Soler, G., 1988.** Glucose-6-phosphate dehydrogenase from *Dicentrarchus labrax* liver: kinetic mechanism and kinetics of NADPH inhibition. *Biochim. Biophys. Acta* 967: 354-363.
- Bell, J.G., McEvoy, J., Tocher, D.R., McGhee, F., Campbell, P.J. & Sargent, J.R., 2001.** Replacement of fish oil with rapeseed oil in diets of Atlantic salmon (*Salmo salar*) affects tissue lipid compositions and hepatocyte fatty acid metabolism. *J. Nutr.* 131 : 1535-1543.
- Bell, J.G., Henderson, R.J., Tocher, D.R., McGhee, F., Dick, J.R., Porter, A., Smullen, R.P. & Sargent, J.R., 2002.** Substituting fish oil with crude palm oil in the diet of Atlantic salmon (*Salmo salar*) affects muscle fatty acid composition and hepatic fatty acid metabolism. *J. Nutr.* 132 : 222-230.
- Bell, J.G., Tocher, D.R., Henderson, R.J., Dick, J.R. & Crampton, V.O., 2003.** Altered fatty acid compositions in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets containing linseed and rapeseed oils can be partially restored by a subsequent fish oil finishing diet. *J. Nutr.* 133 : 2793-2801.
- Bendiksen, E.Å., Berg, O.K., Jobling, M., Arnesen, A.M. & Måsøval, K., 2003.** Digestibility, growth and nutrient utilisation of Atlantic salmon parr (*Salmo salar* L.) in relation to temperature, feed fat content and oil source. *Aquaculture* 224 : 283-299.
- Bengtsson-Olivecrona, G., & Olivecrona, T., 1992.** Assay of lipoprotein lipase and hepatic lipase. In : Converse C., Skinner, E.R., editors. Lipoprotein analysis. Oxford : Oxford University Press, pp. 169-185.

- Bennett, A.J., Billett, M.A., Salter, A.M. & White, D.A., 1995.** Regulation of hamster microsomal triglyceride transfer protein mRNA levels by dietary fats. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 212 : 473-478.
- Binukumar, B. & Mathew, A., 2005.** Dietary fat and risk of breast cancer. *World J. Surg. Oncol.* 3 : 45-51.
- Black, D. & Skinner, E.R., 1986.** Features of the lipid transport system of fish as demonstrated by studies on starvation in the rainbow trout. *J. Comp. Physiol.* 156B : 497-502.
- Black, D., Youssef, A.M. & Skinner, E.R., 1983.** The mechanism of lipid uptake by tissues in the rainbow trout, *Salmo gairdneri* R. *Biochem. Soc. Trans.* 11: 93-94.
- Black, D., Mackie, S.G. & Skinner, E.R., 1985.** A lecithin:cholesterol acyltransferase-like activity in the plasma of rainbow trout. *Biochem. Soc. Trans.* 13 : 143-144.
- Blake, W.L. & Clarke, S.D., 1990.** Suppression of rat hepatic fatty acid synthase and S14 gene transcription by dietary polyunsaturated fat. *J. Nutr.* 120 : 1727-1729.
- Bonanome, A. & Grundy, S.M., 1988.** Effect of dietary stearic acid on plasma cholesterol and lipoprotein levels. *N. Engl. J. Med.* 318 : 1244-1248.
- Borrebaek, B. & Christophersen, B., 2001.** Activities of glucose phosphorylation, glucose-6-phosphatase and lipogenic enzymes in the liver of perch, *Perca fluviatilis*, after different dietary treatments. *Aquac. Res.* 32 : 221-224.
- Bouchard, P. & Guderley, H., 2003.** Time course of the response of mitochondria from oxidative muscle during thermal acclimation of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *J. Exp. Biol.* 206 : 3455-3465.
- Boujard, T., Gélineau, A., Covès, D., Corraze, G., Dutto, G., Gasset, E. & Kaushik, S., 2004.** Regulation of feed intake, growth, nutrient and energy utilisation in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed high fat diets. *Aquaculture* 231 : 529-545.
- Bradford, M.M., 1976.** A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72 : 248-254.
- Brauge, C., Corraze, G. & Médale, F., 1995.** Effects of dietary levels of carbohydrate and lipid on glucose oxidation and lipogenesis from glucose in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, reared in freshwater or in seawater. *Comp. Biochem. Physiol.* 111A : 117-124.
- Braun, J.E. & Severson, D.L., 1992.** Regulation of the synthesis, processing and translocation of lipoprotein lipase. *Biochem. J.* 287 : 337-347.
- Brooks, S.P.J. & Lampi, B.J., 1999.** Effect of dietary fat on whole body fatty acid synthesis in weanling rats. *J. Nutr. Biochem.* 10 : 291-298.
- Brown, M.S. & Goldstein, J.L., 1997.** The SREBP pathway: regulation of cholesterol metabolism by proteolysis of a membrane-bound transcription factor. *Cell* 89 : 331-340.
- Brown, M.S. & Goldstein, J.L., 1999.** A proteolytic pathway that controls the cholesterol content of membranes, cells and blood. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96 : 11041-11048.
- Buckley, R., Shewring, B., Turner, R., Yaqoob, P. & Minihane, A.M., 2004.** Circulating triacylglycerol and apoE levels in response to EPA and docosahexaenoic acid supplementation in adult human subjects. *Br. J. Nutr.* 92 : 477-483.

- Burel, C., Person-Le Ruyet, J., Gaumet, F., Roux, A.I., Sévère, A. & Boeuf, G., 1996.** Effects of temperature on growth and metabolism in juvenile turbot. *J. Fish Biol.* 49 : 678-692.
- Buzzi, M., Henderson, R.J. & Sargent, J.R., 1996.** The desaturation and elongation of linolenic acid and eicosapentaenoic acid by hepatocytes and liver microsomes from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diets containing fish oil or olive oil. *Biochim. Biophys. Acta* 1299 : 235-244.
- Caballero, M.J., Obach, A., Rosenlund, G., Montero, D., Gisvold, M. & Izquierdo, M.S., 2002.** Impact of different dietary lipid sources on growth, lipid digestibility, tissue fatty acid composition and histology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 214 : 253-271.
- Caballero, M.J., Gallardo, G., Robaina, L., Montero, D., Fernandez, A. & Izquierdo, M., 2006.** Vegetable lipid sources affect in vitro biosynthesis of triacylglycerols and phospholipids in the intestine of sea bream (*Sparus aurata*). *Br. J. Nutr.* 95 : 448-454.
- Campos, H., Dreon, D.M. & Krauss, R.M., 1995.** Associations of hepatic and lipoprotein lipase activities with changes in dietary composition and low density lipoprotein subclasses. *J. Lipid Res.* 36 : 462-472.
- Camps, L., Reina, M., Llobera, M., Vilario, S. & Olivecrona, T., 1990.** Lipoprotein Lipase Cellular Origin and Functional Distribution. *Am. J. Physiol.* 258 : C673-C681.
- Carbó, N., López-Soriano, F.J. & Argilès J.M., 1991.** Effects of starvation on the tissular lipogenic rate in the obese zucker rat. *Biochem. Int.* 24 : 1043-1049.
- Cater, N.B., Heller, H.J. & Denke, M.A., 1997.** Comparison of the effects of medium-chain triacylglycerols, palm oil, and high oleic acid sunflower oil on plasma triacylglycerol fatty acids and lipid and lipoprotein concentrations in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 65 : 41-45.
- Chan, J.K., Bruce, V.M. & McDonald, B.E., 1991.** Dietary  $\alpha$ -linolenic acid is as effective as oleic acid and linoleic acid in lowering blood cholesterol in normolipidemic men. *Am. J. Clin. Nutr.* 53 : 1230-1234.
- Chapman, M.J., 1980.** Animal lipoproteins: chemistry, structure, and comparative aspects. *J. Lipid Res.* 21 : 789-853.
- Chapman, M.J. & Forgez, P., 1985.** Lipid transport systems: some recent aspects in swine, cattle and trout during development. *Reprod. Nutr. Dev.* 25 : 217-226.
- Chapman, M.J., Goldstein, S., Mills, G.L. & Leger, C., 1978.** Distribution and characterization of the serum lipoproteins and their apoproteins in the rainbow trout (*Salmo gairdnerii*). *Biochemistry* 17 : 4455-4464.
- Chilliard, Y., 1993.** Dietary fat and adipose tissue metabolism in ruminants, pigs, and rodents: a review. *J. Dairy Sci.* 76 : 3897-3931.
- Cho, C.Y. & Kaushik, S.J., 1990.** Nutritional energetics in fish: Protein and energy utilization in rainbow trout. In: Aspects of food production, consumption and energy values (ed. : Bourne, G.H.) *World Rev. Anim. Nutr.* 61 : 132-172.
- Choudhury, N., Tan, L. & Truswell, A.S., 1995.** Comparison of palmolein and olive oil: effects on plasma lipids and vitamin E in young adults. *Am. J. Clin. Nutr.* 61 : 1043-1051.
- Christie, W.W., 1989.** Gas Chromatography and Lipids: a Practical Guide, 1<sup>st</sup> ed. The Oily Press, Ayr, Scotland.

- Cisar, L.A., Hoogewerf, A.J., Cupp, M., Rapport, C.A. & Bensadoun, A., 1989.** Secretion and degradation of lipoprotein lipase in cultured adipocytes. Binding of lipoprotein lipase to membrane heparan sulfate proteoglycans is necessary for degradation. *J. Biol. Chem.* 264 : 1767-1774.
- Clarke, S.D., 2001.** Polyunsaturated fatty acid regulation of gene transcription: a molecular mechanism to improve the metabolic syndrome. *J. Nutr.* 131 : 1129-1132.
- Clarke, S.D. & Hembree, J., 1990.** Inhibition of triiodothyronine's induction of rat liver lipogenic enzymes by dietary fat. *J. Nutr.* 120 : 625-630.
- Clarke, S.D. & Jump, D.B., 1996.** Polyunsaturated fatty acid regulation of hepatic gene transcription. *J. Nutr.* 126 : 1105S-1109S.
- Clarke, S.D., Romsos, D.R. & Leveille, G.A., 1977.** Influence of dietary fatty acids on liver and adipose tissue lipogenesis and on liver metabolites in meal-fed rats. *J. Nutr.* 107 : 1277-1287.
- Clarke, S.D., Armstrong, M.K. & Jump, D.B., 1990a.** Nutritional control of rat liver fatty acid synthase and S14 mRNA abundance. *J. Nutr.* 120 : 218-224.
- Clarke, S.D., Armstrong, M.K. & Jump, D.B., 1990b.** Dietary polyunsaturated fats uniquely suppress rat liver fatty acid synthase and S14 mRNA content. *J. Nutr.* 120 : 225-231.
- Coiffier, E., Paris, R. & Lecerf, J., 1987.** Effects of dietary saturated and polyunsaturated fat on lipoprotein lipase and hepatic triglyceride lipase activity. *Comp. Biochem. Physiol.* 88B : 187-192.
- Connor, W.E., 2000.** Importance of n-3 fatty acids in health and disease. *Am. J. Clin. Nutr.* 71 : 171S-175S.
- Corraze, G. & Kaushik, S., 1999.** Lipids from marine and freshwater fish. *Ocl-Oleagineux Corps Gras Lipides* 6 : 111-115.
- Corraze, G., Larroquet, L. & Medale, F., 1999.** Nutritional control of lipid deposition in rainbow trout: effect of rearing temperature. *INRA Prod. Anim.* 12 : 249-256.
- Corraze, G., Larroquet, L., Richard, N., Kaushik, S., 2006.** Use of fish oil finishing diet to tailor fatty acid composition of the flesh of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) previously fed with vegetable oil diets over a full cycle. XII International Symposium on Nutrition and Feeding in Fish, 28 mai-1<sup>er</sup> juin, Biarritz, France, p.307.
- Cowey, C.B. & Sargent, J.R., 1979.** Nutrition. In : Fish Physiology, vol.VIII (eds : Hoar, W.S., Randall, D.J. et Brett, D.R.), Academic press, New York, USA, pp. 1-69.
- Cowley, D.J. & Sheridan, M.A., 1993.** Insulin stimulates hepatic lipogenesis in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Fish Physiol. Biochem.* 11 : 421-428.
- Daumerie, C.M., Woollett, L.A. & Dietschy, J.M., 1992.** Fatty acids regulate hepatic low density lipoprotein receptor activity through redistribution of intracellular cholesterol pools. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 89 : 10797-10801.
- Daval, S., Lagarrigue, S. & Douaire, M., 2000.** Messenger RNA levels and transcription rates of hepatic lipogenesis genes in genetically lean and fat chickens. *Genet. Sel Evol.* 32 : 521-531.
- Davidson, M.H., 2006.** Mechanisms for the hypotriglyceridemic effect of marine omega-3 fatty acids. *Am. J. Cardiol.* 98:27-33.

- De Deckere, E.A.M., Kloots, W.J. & van Bommel, C.J., 1993.** Hepatic de novo fatty acid synthesis in the rat. *Ann. Nutr. Metab.* 37 : 192-198.
- De Deckere, E.A., Korver, O., Verschuren, P.M. & Katan, M.B., 1998.** Health aspects of fish and n-3 polyunsaturated fatty acids from plant and marine origin. *Eur. J. Clin. Nutr.* 52 : 749-753.
- Denke, M.A. & Grundy, S.M., 1991.** Effects of fats high in stearic acid on lipid and lipoprotein concentrations in men. *Am. J. Clin. Nutr.* 54 : 1036-1040.
- Denke, M.A. & Grundy, S.M., 1992.** Comparison of effects of lauric acid and palmitic acid on plasma lipids and lipoproteins. *Am. J. Clin. Nutr.* 56 : 895-898.
- Dentin, R., Benhamed, F., Pégurier, J.P., Foufelle, F., Viollet, B., Vaulont, S., Girard, J. & Postic, C., 2005.** Polyunsaturated fatty acids suppress glycolytic and lipogenic genes through the inhibition of ChREBP nuclear protein translocation. *J. Clin Invest.* 115 : 2843-2854.
- Derr, J., Kris-Etherton, P.M., Pearson, T.A. & Seligson, F.H., 1993.** The role of fatty acid saturation on plasma lipids, lipoproteins, and apolipoproteins: II. The plasma total and low-density lipoprotein cholesterol response of individual fatty acids. *Metabolism* 42 : 130-134.
- Deshaies, Y., Arnold, J., Lalonde, J. & Richard, D., 1988.** Lipoprotein lipase in white and brown adipose tissues of exercised rats fed a high-fat diet. *Am. J. Physiol.* 255 : R226-231.
- Dias, J., Alvarez, M.J., Diez, A., Arzel, J., Corraze, G., Bautista, J.M. & Kaushik, S.J., 1998.** Regulation of hepatic lipogenesis by dietary protein/energy in juvenile European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture* 161 : 169-186.
- Dias, J., Corraze, G., Arzel, J., Alvarez, M.J., Bautista, J.M., Lopez-Bote, C. & Kaushik, S.J., 1999.** Nutritional control of lipid deposition in rainbow trout and European seabass: Effect of dietary protein/energy ratio. *Cybium* 23 : 127-137.
- Dias, J., Rueda-Jasso, R., Panserat, S., Conceição, L.E.C.d., Gomes, E.F. & Dinis, M.T., 2004.** Effect of dietary carbohydrate-to-lipid ratios on growth, lipid deposition and metabolic hepatic enzymes in juvenile Senegalese sole (*Solea senegalensis*, Kaup). *Aquac. Res.* 35 : 1122-1130.
- Dietschy, J.M., 1998.** Dietary fatty acids and the regulation of plasma low density lipoprotein cholesterol concentrations. *J. Nutr.* 128 : 444S-448S.
- Dreon, D.M., Fernstrom, H.A., Miller, B. & Krauss, R.M., 1994.** Low-density lipoprotein subclass patterns and lipoprotein response to a reduced-fat diet in men. *FASEB J.* 8 : 121-126.
- Dreon, D.M., Fernstrom, H.A., Campos, H., Blanche, P., Williams, P.T. & Krauss, R.M., 1998.** Change in dietary saturated fat intake is correlated with change in mass of large low-density-lipoprotein particles in men. *Am. J. Clin. Nutr.* 67 : 828-836
- Dridi, S., Buyse, J., Decuyper, E. & Mohammed, T., 2005.** Potential role of leptin in increase of fatty acid synthase gene expression in chicken liver. *Domest. Anim. Endocrinol.* 29 : 646-660.
- Duncan, E.A., Brown, M.S., Goldstein, J.L. & Sakai, J., 1997.** Cleavage site for sterol-regulated protease localized to a leu-Ser bond in the luminal loop of sterol regulatory element-binding protein-2. *J. Biol. Chem.* 272 : 12778-12785.

- Eberhagen, D., Mrosek, H., Pranzelt, N. & Seitz, W., 1969.** On the synthesis product of fatty acid synthetase from the livers of different vertebrates. *Hoppe Seylers Z Physiol Chem* 350 : 407-410.
- Einen, O. & Roem, A.J., 1997.** Dietary protein/energy ratios for Atlantic salmon in relation to fish size: growth, feed utilization and slaughter quality. *Aquacult. Nutr.* 3 : 115-126.
- Enser, M., Hallet, K., Hewitt, B., Fursey, G.A.J. & Wood, J.D., 1996.** Fatty acid content and composition of English beef, lamb and pork at retail. *Meat Sci.* 42 : 443-456.
- Erskine, J.M., Jensen, D.R. & Eckel, R.H., 1994.** Macronutrient regulation of lipoprotein lipase is posttranslational. *J. Nutr.* 124 : 500-507.
- Fainaru, M., Schafer, Z., Gavish, D., Harel, A. & Schwartz, M., 1988.** Interactions between human and carp (*Cyprinus carpio*) low density lipoproteins (LDL) and LDL receptors. *Comp. Biochem. Physiol.* 91B : 331-338.
- FAO, 2004.** The State of World Fisheries and Aquaculture (SOFIA) 2004.
- Farkas, T. & Csengeri, I., 1976.** Biosynthesis of fatty acids by the carp, *Cyprinus carpio* L., in relation to environmental temperature. *Lipids* 11 : 401-407.
- Farkas, T., Csengeri, I., Majoros, F. & Oláh, J., 1980.** Metabolism of fatty acids in fish. III. Combined effect of environmental temperature and diet on formation and deposition of fatty acids in the carp, *Cyprinus carpio* Linnaeus 1758. *Aquaculture* 20 : 29-40.
- Fernandez, M.L. & McNamara, D.J., 1991.** Regulation of cholesterol and lipoprotein metabolism in guinea pigs mediated by dietary fat quality and quantity. *J. Nutr.* 121 : 934-943.
- Fernandez M.L. & West, K.L., 2005.** Mechanisms by which dietary fatty acids modulate plasma lipids. *J. Nutr.* 135 : 2075-2078.
- Fernandez, M.L., Lin, E.C.K. & McNamara, D.J., 1992.** Regulation of guinea pig plasma low density lipoprotein kinetics by dietary fat saturation. *J. Lipid Res.* 33 : 97-109.
- Fernandez, M.L., Sun, D.M., Montano, C. & McNamara, D.J., 1995.** Carbohydrate-fat exchange and regulation of hepatic cholesterol and plasma lipoprotein metabolism in the guinea pig. *Metabolism* 44 : 855-864.
- Fernandez, M.L., Vergara-Jimenez, M., Conde, K. & Abdel-Fattah, G., 1996.** Dietary carbohydrate type and fat amount alter VLDL and LDL metabolism in guinea pigs. *J. Nutr.* 126 : 2494-2504.
- Fidge, 1999.** High density lipoprotein receptors, binding proteins, and ligands. *J. Lipid Res.* 40 : 187-201.
- Fielding C.J. & Fielding, P.E., 1995.** Molecular physiology of reverse cholesterol transport. *J. Lipid Res.* 36 : 211-228.
- Fielding, P.E. & Fielding, C.J., 1996.** Dynamics of lipoprotein transport in human circulatory system. In : Biochemistry of lipids, lipoproteins and membranes. (ed.: Vance, D.E. & Vance, J.E.). Elsevier Science B.V., Amsterdam, pp. 495-505.
- Fielding, C.J., Havel, R.J., Todd, K.M., Yeo, K.E., Schloetter, M.C. & Weinberg, V., 1995.** Effects of dietary cholesterol and fat saturation on plasma lipoproteins in an ethnically diverse population of healthy young men. *J. Clin. Invest.* 95 : 611-618.
- Figueiredo-Silva, A., Rocha, E., Dias, J., Silva, P., Rema, P., Gomes, E & Valente, L.M.P., 2005.** Partial replacement of fish oil by soybean oil on lipid distribution and liver

- histology in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles. *Aquac. Nutr.* 11 : 147-155.
- Fine, M., Zilberg, D., Cohen, Z., Degani, G., Moav, B. & Gertler, A., 1996.** The effect of dietary protein level, water temperature and growth hormone administration on growth and metabolism in the common carp (*Cyprinus carpio*). *Comp. Biochem. Physiol.* 114A : 35-42.
- Flatt, J.P. & Ball, E.G., 1966.** Studies on the metabolism of adipose tissue. XIX. An evaluation of the major pathways of glucose catabolism as influenced by acetate in the presence of insulin. *J. Biol. Chem.* 241 : 2862-2869.
- Folch, J., Lees, M. & Sloane Stanley, G.H., 1957.** A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 34 : 27-39.
- Fox, J.C., McGill, H.C., Jr., Carey, K.D. & Getz, G.S., 1987.** *In vivo* regulation of hepatic LDL receptor mRNA in the baboon. Differential effects of saturated and unsaturated fat. *J. Biol. Chem.* 262 : 7014-7020.
- Frémont, L. & Marion, D., 1982.** A comparison of the lipoprotein profiles in male trout (*Salmo gairdneri*) before maturity and during spermiation. *Comp. Biochem. Physiol.* 73B : 849-855.
- Frémont, L., Léger, C. & Boudon, M., 1981.** Fatty acid composition of lipids in the trout II. Fractionation and analysis of plasma lipoproteins. *Comp. Biochem. Physiol.* 69B : 107-113.
- Frémont, L., Duranthon, V., Gozzelino, M.T. & Mahe, S., 1987.** Activation of trout adipose tissue lipoprotein lipase by trout apoproteins. *Biochimie* 69 : 773-779.
- Fynn-Aikins, K., Hung, S.S.O., Liu, W. & Li, H., 1992.** Growth, lipogenesis and liver composition of juvenile white sturgeon fed different levels of D-glucose. *Aquaculture* 105 : 61-72.
- Gabillard, J.C., Duval, H., Cauty, C., Rescan, P.Y., Weil, C. & Le Bail, P.Y., 2003.** Differential expression of the two GH genes during embryonic development of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* in relation with the IGFs system. *Mol. Reprod. Dev.* 64 : 32-40.
- Gebauer, S.K., Psota, T.L., Harris, W.S. & Kris-Etherton, P.M., 2006.** N-3 fatty acid dietary recommendations and food sources to achieve essentiality and cardiovascular benefits. *Am. J. Clin. Nutr.* 83 : 1536S-1535S.
- Gélineau, A., Corraze, G., Boujard, T., Larroquet, L. & Kaushik, S., 2001.** Relation between dietary lipid level and voluntary feed intake, growth, nutrient gain, lipid deposition and hepatic lipogenesis in rainbow trout. *Reprod. Nutr. Dev.* 41 : 487-503.
- Gilman, C.I., Leusch, F.D.L., Breckenridge, W.C. & MacLatchy, D.L., 2003.** Effects of a phytosterol mixture on male fish plasma lipoprotein fractions and testis P450scc activity. *Gen. Comp. Endocrinol.* 130 : 172-184.
- Gimenez-Llort, L., Vilanova, J., Skottova, N., Bengtsson-Olivecrona, G., Llobera, M. & Robert, M.Q., 1991.** Lipoprotein lipase enables triacylglycerol hydrolysis by perfused newborn rat liver. *Am. J. Physiol.* 261 : 641-647.
- Gjerde, B. & Schaeffer, L.R., 1989.** Body traits in rainbow trout II. Estimates of heritabilities and of phenotypic and genetic correlations. *Aquaculture* 80 : 25-44.

- Gjøen, T. & Berg, T., 1992a.** Metabolism of high-density lipoproteins in rainbow trout. *Biochim. Biophys. Acta* 1125 : 8-12.
- Gjøen, T. & Berg, T., 1992b.** Metabolism of low density lipoproteins in rainbow trout. *Fish Physiol. Biochem.* 9 : 453-461.
- Gjøen, T. & Berg, T., 1993.** Interaction of low density lipoproteins with liver cells in rainbow trout. *Fish Physiol. Biochem.* 10 : 465-473.
- Goldberg, I.J., 1996.** Lipoprotein lipase and lipolysis: central roles in lipoprotein metabolism and atherogenesis. *J. Lipid Res.* 37 : 693-707.
- Gómez-Requeni, P., Mingarro, M., Kirchner, S., Calduch-Giner, J.A., Médale, F., Corraze, G., Panserat, S., Martin, S.A.M., Houlihan, D.F., Kaushik, S.J. & Pérez-Sánchez, J., 2003.** Effects of dietary amino acid profile on growth performance, key metabolic enzymes and somatotrophic axis responsiveness of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture* 220 : 749-767.
- Gómez-Requeni, P., Mingarro, M., Calduch-Giner, J.A., Médale, F., Martin, S.A.M., Houlihan, D.F., Kaushik, S. & Pérez-Sánchez, J., 2004.** Protein growth performance, amino acid utilisation and somatotrophic axis responsiveness to fish meal replacement by plant protein sources in gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture* 232 : 493-510.
- Gondret, F., Mourot, J. & Bonneau, M., 1997.** Developmental changes in lipogenic enzymes in muscle compared to liver and extramuscular adipose tissues in the rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *Comp. Biochem. Physiol.* 117B : 259-265.
- Goodridge, A.G. & Ball, E.G., 1966.** Lipogenesis in the pigeon: in vitro studies. *Am. J. Physiol.* 211 : 803-808.
- Goodridge, A.G. & Ball, E.G., 1967.** Lipogenesis in the pigeon: in vivo studies. *Am. J. Physiol.* 213 : 245-249.
- Goolish, E.M. & Adelman, I.R., 1984.** Effects of ration size and temperature on the growth of juvenile common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Aquaculture* 36 : 27-35.
- Greene, D.H. & Selivonchick, D.P., 1987.** Lipid metabolism in fish. *Prog. Lipid Res.* 26 : 53-85.
- Greene, D.H.S. & Selivonchick, D.P., 1990.** Effects of dietary vegetable, animal and marine lipid and haematology of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 89 : 165-182.
- Griffin, H., Acamovic, F., Guo, K. & Peddie, J., 1989.** Plasma lipoprotein metabolism in lean and in fat chickens produced by divergent selection for plasma very low density lipoprotein concentration. *J. Lipid Res.* 30 : 1243-1250.
- Griffin, H.D., Guo, K., Windsor, D. & Butterwith, S.C., 1992.** Adipose tissue lipogenesis and fat deposition in leaner broiler chickens. *J. Nutr.* 122 : 363-368.
- Grimsgaard, S., Bønaa, K.H., Hansen, J.B. & Nordøy, A., 1997.** Highly purified eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid in humans have similar triacylglycerol-lowering effects but divergent effects on serum fatty acids. *Am. J. Clin. Nutr.* 66 : 649-659.
- Grisdale-Helland, B., Ruyter, B., Rosenlund, G., Obach, A., Helland, S.J., Sandberg, M.G., Standal, H. & Røsjø, C., 2002.** Influence of high contents of dietary soybean oil on growth, feed utilization, tissue fatty acid composition, heart histology and standard

- oxygen consumption of Atlantic salmon (*Salmo salar*) raised at two temperatures. *Aquaculture* 207 : 311-329.
- Groot, P.H.E., de Boer, B.C.J., Haddeman, E., Houtsmuller, U.M.T. & Hülsmann, W.C., 1988.** Effect of dietary fat composition on the metabolism of triacylglycerol-rich plasma lipoproteins in the postprandial phase in meal-fed rats. *J. Lipid Res.* 29 : 541-551.
- Groot, P.H.E., Scheek, L.M., Dubelaar, M.L., Verdouw, P.D., Hartog, J.M. & Lamers, J.M.J., 1989.** Effects of diets supplemented with lard fat or mackerel oil on plasma lipoprotein lipid concentrations and lipoprotein lipase activities in domestic swine. *Atherosclerosis* 77 : 1-6.
- Grundy, S.M. & Denke, M.A., 1990.** Dietary influences on serum lipids and lipoproteins. *J. Lipid Res.* 31 : 1149-1172.
- Guderley H., Gawlicka A., 1992.** Qualitative modification of muscle metabolic organization with thermal acclimation of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Fish Physiol. Biochem.* 10 :123-132.
- Guillou, A., Soucy, P., Khalil, M. & Adambounou, L., 1995.** Effects of dietary vegetable and marine lipid on growth, muscle fatty acid composition and organoleptic quality of flesh of brook charr (*Salvelinus fontinalis*). *Aquaculture* 136 : 351-362.
- Gurr, M.I. & Harwood, J.L., 1991.** Lipid biochemistry. An introduction. 4<sup>th</sup> edition (ed : Chapman & Hall), London, 406 pp.
- Guyard-Dangremont, V., Desrumaux, C., Gambert, P., Lallement, C. & Lagrost, L., 1998.** Phospholipid and cholesteryl ester transfer activities in plasma from 14 vertebrate species. Relation to atherogenesis susceptibility. *Comp. Biochem. Physiol.* 120B : 517-525.
- Haa, Y.C. & Barter, P.J., 1982.** Differences in plasma cholesteryl ester transfer activity in sixteen vertebrates species. *Comp. Biochem. Physiol.* 71B : 265-269.
- Hagar, A.F. & Hazel, J.R., 1985.** Changes in desaturase activity and the fatty acid composition of microsomal membranes from liver tissue of thermally-acclimating rainbow trout. *J. Comp. Physiol.* 156B : 35-42.
- Halvorsen, B., Rustan, A.C. & Christiansen, E.N., 1995.** Effect of long-chain mono-unsaturated and n-3 polyunsaturated fatty acids on postprandial blood and liver lipids in rats. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 55 : 469-475.
- Hansen, H.O., & Knudsen, J., 1981.** The influence of environmental and incubation temperature on fatty acid synthetase from flounder (*Platichthys flesus* L.) liver. *Comp. Biochem. Physiol.* 70B : 515-520.
- Hansen, H.J. & Abraham, S., 1983.** Influence of temperature, environmental salinity and fasting on the patterns of fatty acids synthesized by gills and liver of the European eel (*Anguilla anguilla*). *Comp. Biochem. Physiol.* 75B : 581-587.
- Harris, W.S., 1989.** Fish oils and plasma lipid and lipoprotein metabolism in humans: a critical review. *J. Lipid Res.* 30 : 785-807.
- Harris, W.S., 1997.** N-3 fatty acids and serum lipoproteins: human studies. *Am. J. Clin. Nutr.* 65 : 1645S-1654S.
- Harris, W.S., Connor, W.E., Alam, N. & Illingworth, D.R., 1988.** Reduction of postprandial triglyceridemia in humans by dietary n-3 fatty acids. *J. Lipid Res.* 29 : 1451-1460.

- Harris, W.S., Lu, G., Rambjør, G.S., Wålen, A.I., Ontko, J.A., Cheng, Q. & Windsor, S.L., 1997.** Influence of n-3 fatty acid supplementation on the endogenous activities of plasma lipases. *Am. J. Clin. Nutr.* 66 : 254-260.
- Havel, R.J., 1998.** Receptor and non-receptor mediated uptake of chylomicron remnants by the liver. *Atherosclerosis* 141 : S1-S7.
- Hayes, K.C. & Khosla, P., 1992.** Dietary fatty acid thresholds and cholesterolemia. *FASEB J.* 6 : 2600-2607.
- Hayes, K.C., Pronczuk, A., Lindsey, S. & Diersen-Schade, D., 1991.** Dietary saturated fatty acids (12:0, 14:0, 16:0) differ in their impact on plasma cholesterol and lipoproteins in nonhuman primates. *Am. J. Clin. Nutr.* 53 : 491-498.
- Hayes, K.C., Pronczuk, A. & Khosla, P., 1995.** A rationale for plasma cholesterol modulation by dietary fatty acids: modeling the human response in animals. *J. Nutr. Biochem.* 6 : 188-194.
- Hazel, J.R., 1979.** Influence of thermal acclimation on membrane lipid composition of rainbow trout liver. *Am. J. Physiol.* 236 : R91-101.
- Hazel, J.R., 1990.** Adaptation to temperature: phospholipid synthesis in hepatocytes of rainbow trout. *Am. J. Physiol.* 258 : R1495-1501.
- Hazel J.R. & Prosser C.L., 1979.** Incorporation of 1-<sup>14</sup>C-acetate into fatty acids and sterols by isolated hepatocytes of thermally acclimated rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *J. Comp. Physiol.* 134B : 321-329.
- Hazel, J.R. & Sellner, P.A., 1979.** Fatty acid and sterol synthesis by hepatocytes of thermally acclimated rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *J. Exp. Zool.* 209 : 105-114.
- He, L. & Fernandez, M.L., 1998.** Dietary carbohydrate type and fat saturation independently regulate hepatic cholesterol and LDL metabolism in guinea pigs. *J. Nutr. Biochem.* 9 : 37-46.
- Hegsted, D.M., McGandy, R.B., Myers, M.L. & Stare, F.J., 1965.** Quantitative effects of dietary fat on serum cholesterol in man. *Am. J. Clin. Nutr.* 17 : 281-295.
- Hegsted, D.M., Ausman, L.M., Johnson, J.A. & Dallal, G.E., 1993.** Dietary fat and serum lipids: an evaluation of the experimental data. *Am. J. Clin. Nutr.* 57 : 875-883.
- Hellerstein, M.K., 1996.** Regulation of hepatic de novo lipogenesis in human. *Annu. Rev. Nutr.* 16 : 523-557.
- Hemre, G.I. & Sandnes, K., 1999.** Effect of dietary lipid level on muscle composition in Atlantic salmon *Salmo salar*. *Aquacult. Nutr.* 5 : 9-16.
- Henderson, R.J. & Sargent, J.R., 1981.** Lipid biosynthesis in rainbow trout, *Salmo gairdnerii*, fed diets of differing lipid content. *Comp. Biochem. Physiol.* 69C : 31-37.
- Henderson, R.J. & Tocher, D.R., 1987.** The lipid composition and biochemistry of freshwater fish. *Prog. Lipid Res.* 26 : 281-347.
- Hennessy, L.K., Osada, J., Ordovas, J.M., Nicolosi, R.J., Stucchi, A.F., Brousseau, M.E. & Schaefer, E.J., 1992.** Effects of dietary fats and cholesterol on liver lipid content and hepatic apolipoprotein A-I, B, and E and LDL receptor mRNA levels in cebus monkeys. *J. Lipid Res.* 33 : 351-360.

- Hermier, D., Forgez, P. & Chapman, M.J., 1985.** A density gradient study of the lipoprotein and apolipoprotein distribution in the chicken, *Gallus domesticus*. *Biochim. Biophys. Acta* 836 : 105-118.
- Hermier, D., Quignard-Boulangé, A., Dugail, I., Guy, G., Salichon, M.R., Brigant, L., Ardouin, B. & Leclercq, B., 1989.** Evidence of enhanced storage capacity in adipose tissue of genetically fat chickens. *J. Nutr.* 119 : 1369-1375.
- Herzberg, G.R. & Janmohamed, N., 1980.** Regulation of hepatic lipogenesis by dietary maize oil or tripalmitin in the meal-fed mouse. *Br. J. Nutr.* 43 : 571-579.
- Hidalgo, F., Alliot, E. & Thebault, H., 1987.** Influence of water temperature on food intake, food efficiency and gross composition of juvenile sea bass, *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture* 64 : 199-207.
- Hide, W.A., Chan, L. & Li, W.H., 1992.** Structure and evolution of the lipase superfamily. *J. Lipid Res.* 33 : 167-178.
- Higgins, D. & Sharp, P., 1989.** Fast and sensitive multiple sequence alignments on a microcomputer. *CABIOS* 5 : 151-153.
- Hillestad, M., Johnsen, F., Austreng, E. & Åsgård, T., 1998.** Long-term effects of dietary fat level and feeding rate on growth, feed utilization and carcass quality of Atlantic salmon. *Aquacult. Nutr.* 4 : 89-97.
- Hillgartner, F.B., Salati, L.M. & Goodridge, A.G., 1995.** Physiological and molecular mechanisms involved in nutritional regulation of fatty acid synthesis. *Physiol. Rev.* 75 : 47-76.
- Hood, R.L., Cook, L.J., Mills, S.C. & Scott, T.W., 1980.** Effect of feeding protected lipids on fatty acid synthesis in ovine tissues. *Lipids* 15 : 644-650.
- Horrocks, L.A. & Yeo, Y.K., 1999.** Health benefits of docosahexaenoic acid (DHA). *Pharmacol. Res.* 40 : 211-225.
- Horton, J.D., Cuthbert, J.A. & Spady, D.K., 1993.** Dietary fatty acids regulate hepatic low density lipoprotein (LDL) transport by altering LDL receptor protein and mRNA levels. *J. Clin. Invest.* 92 : 743-749.
- Hsu, R.Y., Butterworth, P.H.W. & Porter, J.W., 1969.** Pigeon liver fatty acid synthetase. In: *Methods of Enzymology*, vol.14 (ed : Lowenstein, J.M.), Academic Press, New York, pp. 33-39.
- Hung, S.S.O., Fynn-Aikins, F.K., Lutes, P.B. & Xu, R., 1989.** Ability of juvenile white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) to utilize different carbohydrate sources. *J. Nutr.* 119 : 727-733.
- Ide, T., Kobayashi, H., Ashakumary, L., Rouyer, I.A., Takahashi, Y., Aoyama, T., Hashimoto, T. & Mizugaki, M., 2000.** Comparative effects of perilla and fish oils on the activity and gene expression of fatty acid oxidation enzymes in rat liver. *Biochim. Biophys. Acta* 1485 : 23-25.

- Ihara, M., Umekawa, H., Takahashi, T. & Furuichi, Y., 1998.** Comparative effects of short- and long-term feeding of safflower oil and perilla oil on lipid metabolism in rats. *Comp. Biochem. Physiol.* 121B : 223-231.
- Iijima, N., Aihara, M., Kayama, M., Okazaki, M. & Hara, I., 1989.** Lipid Transport Mechanism in the Fish .4. Comparison of Carp Plasma Lipoproteins Under Starved and Fed Conditions. *Nippon Suisan Gakkaishi* 55 : 2001-2007.
- Iijima, N., Ueki, T., Yoshitake, S. & Kayama, M., 1990.** Isolation and characterization of carp plasma lipoproteins. *Nippon Suisan Gakkaishi - Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 56 : 1113-1122.
- Iijima, N., Gotou, T. & Kayama, M., 1995.** Isolation and characterization of serum lipoproteins in red sea bream. *Fish. Sci.* 61 : 297-303.
- Imslund, A.K., Foss, A., Gunnarsson, S., Berntssen, M.H.G., FitzGerald, R., Bonga, S.W., Ham, E.V., Nævdal, G. & Stefansson, S.O., 2001.** The interaction of temperature and salinity on growth and food conversion in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquaculture* 198 : 353-367.
- Ingemansson, T., Olsson, N.U. & Kaufmann, P., 1993.** Lipid composition of light and dark muscle of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) after thermal acclimation: a multivariate approach. *Aquaculture* 113 : 153-165.
- Ingle, D.L., Bauman, D.E. & Garrigus, U.S., 1972.** Lipogenesis in the ruminant: in vivo site of fatty acid synthesis in sheep. *J. Nutr.* 102 : 617-623.
- Iritani, N., Ikeda, Y., Fukuda, H. & Katsurada, A., 1984.** Comparative study of lipogenic enzymes in several vertebrates. *Lipids* 19 : 828-835.
- Ishihara, A., Ito, A., Sakai, K., Watanabe, S., Kobayashi, T. & Okuyama, H., 1995.** Dietary high-linoleate safflower oil is not hypocholesterolemic in aged mice after a long-term feeding-comparison with lard, perilla oil and fish oil. *Biol. Pharm. Bull.* 18 : 485-490.
- Iwamoto, R.N., Myers, J.M. & Hershberger, W.K., 1990.** Heritability and genetic correlations for flesh coloration in pen-reared coho salmon. *Aquaculture* 86 : 181-190.
- Izquierdo, M.S., Obach, A., Arantzamendi, L., Montero, D., Robaina, L. & Rosenlund, G., 2003.** Dietary lipid sources for seabream and seabass: growth performance, tissue composition and flesh quality. *Aquacult. Nutr.* 9 : 397-407.
- Izquierdo, M.S., Montero, D., Robaina, L., Caballero, M.J., Rosenlund, G. & Gines, R., 2005.** Alterations in fillet fatty acid profile and flesh quality in gilthead seabream (*Sparus aurata*) fed vegetable oils for a long term period. Recovery of fatty acid profiles by fish oil feeding. *Aquaculture* 250 : 431-444.
- Jeppesen, J., Schaaf, P., Jones, C., Zhou, M.Y., Chen, Y.D.I. & Reaven, G.M., 1997.** Effects of low-fat, high-carbohydrate diets on risk factors for ischemic heart disease in postmenopausal women. *Am. J. Clin. Nutr.* 65 : 1027-1033.
- Jibril, N., Mori, Y., Tanaka, Y., Sakata, T., Miki, H., Sakakibara, T., Sato, M. & Hayashi, S., 1995.** Effect of specific binding of high density lipoprotein to eel hepatocytes on their secretion of lipoprotein. *Cell Struct. Funct.* 20 : 301-310.
- Jobling, M. & Bendiksen, E.Å., 2003.** Dietary lipids and temperature interact to influence tissue fatty acid compositions of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., parr. *Aquac. Res.* 34 : 1423-1441.

- Johnsen, F., Hillestad, M. & Austreng, E., 1993.** High energy diets for Atlantic salmon. Effects on pollution. In : Fish Nutrition in Practice, Proceedings of the Ivth International Symposium on Fish Nutrition and Feeding, Biarritz (France), 24-27 June 1991 (eds : Kaushik, S.J. & Luquet, P.), INRA Editions, Paris, pp. 391-401.
- Johnston, I.A., Sidell, B.D. & Driedzic, W.R., 1985.** Force-velocity characteristics and metabolism of carp muscle fibres following temperature acclimation. *J. Exp. Biol.* 119 : 239-249.
- Juaneda, P. & Roquelin, G., 1985.** Rapid and convenient separation of phospholipids and non phosphorus lipids from rat heart using silica cartridges. *Lipids* 20 : 40-41.
- Judé, S., Roger, S., Martel, E., Besson, P., Richard, S., Bougnoux, P., Champeroux, P. & Le Guennec, J.Y., 2006.** Dietary long-chain omega-3 fatty acids of marine origin : a comparison of their protective effects on coronary heart disease and breast cancers. *Prog. Biophys. Mol. Biol.* 90 : 299-325.
- Jump, D.B., Clarke, S.D., Thelen, A. & Liimatta, M., 1994.** Coordinate regulation of glycolytic and lipogenic gene expression by polyunsaturated fatty acids. *J. Lipid Res.* 35 : 1076-1084.
- Jürss, K., 1979.** Effects of temperature, salinity, and feeding on aminotransferase activity in the liver and white muscle of rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). *Comp. Biochem. Physiol.* 64B : 213-218.
- Kabashima, T., Kawaguchi, T., Wadzinski, B.E. & Uyeda, K., 2003.** Xylulose 5-phosphate mediates glucose-induced lipogenesis by xylulose 5-phosphate-activated protein phosphatase in rat liver. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 100 : 5107-5112.
- Kalopissis, A.D., Griglio, S. & Le Liepvre, X., 1982.** Intestinal very low density lipoprotein secretion in rats fed various amounts of fat. *Biochim. Biophys. Acta* 711 : 33-39.
- Katoh, H., Ge, Y.P., Tsuda, T. & Hayashi, S., 2001.** High density lipoprotein binding protein of eel (*Anguilla japonica*) liver with specificity of binding to apoAI as a ligand. *Comp. Biochem. Physiol.* 129B : 843-852.
- Katsurada, A., Iritani, N., Fukuda, H., Noguchi, T. & Tanaka, T., 1987.** Influence of diet on the transcriptional and post-transcriptional regulation of malic enzyme induction in the rat liver. *Eur. J. Biochem.* 168 : 487-491.
- Kause, A., Ritola, O., Paananen, E.M. & Eskelinen, U., 2002.** Coupling body weight and its composition: a quantitative genetic analysis in rainbow trout. *Aquaculture* 211 : 65-79.
- Kaushik, S.J., Cravedi, J.P., Lalles, J.P., Sumpter, J., Fauconneau, B. & Laroche, M., 1995.** Partial or total replacement of fish meal by soybean protein on growth, protein utilization, potential estrogenic or antigenic effects, cholesterolemia and flesh quality in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 133 : 257-274.
- Kayama, M., Mankura, M. & Dalimunthe, D., 1979.** Comparative biochemical studies on plasma cholesterol. I. Activity of carp plasma lecithin:cholesterol acyltransferase. *Bull. Jpn. Soc. Fish.* 45 : 523-525.
- Kelley, D.S., Nelson, G.J., Serrato, C.M. & Schmidt, P.C., 1987.** Nutritional regulation of hepatic lipogenesis in the rat. *Nutr. Res.* 7 : 509-517.
- Keys, A., Anderson, J.T. & Grande, F., 1958.** Effect on serum cholesterol in man of mono-ene fatty acid (oleic acid) in the diet. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 98 : 387-391.

- Keys, A., Anderson, J.T. & Grande, F., 1965.** Serum cholesterol response to changes in the diet. IV. Particular saturated fatty acid in the diet. *Metabolism* 14 : 776-787.
- Khan, S., Minihane, A.M., Talmud, P.J., Wright, J.W., Murphy, M.C., Williams, C.M. & Griffin, B.A., 2002.** Dietary long-chain n-3 PUFAs increase LPL gene expression in adipose tissue of subjects with an atherogenic lipoprotein phenotype. *J. Lipid Res.* 43 : 979-985.
- Khérifi, S., El-Cafsi, M., Masmoudi, W., Castell, J.D. & Romdhane, M.S., 2003.** Salinity and temperature effects on the lipid composition of mullet sea fry (*Mugil cephalus*, Linne, 1758). *Aquac. Int.* 11 : 571-582.
- Khosla, P. & Hayes, K.C., 1993.** Dietary palmitic acid raises plasma LDL cholesterol relative to oleic acid only at a high intake of cholesterol. *Biochim. Biophys. Acta* 1210 : 13-22.
- Khosla, P. & Sundram, K., 1996.** Effects of dietary fatty acid composition on plasma cholesterol. *Prog. Lipid Res.* 35 : 93-132.
- Kim, H.K., Choi, S. & Choi H., 2004.** Suppression of hepatic fatty acid synthase by feeding  $\alpha$ -linolenic acid rich perilla oil lowers plasma triacylglycerol level in rats. *J. Nutr. Biochem.* 15 : 485-492.
- Kinghorn, B.P., 1983.** A review of quantitative genetics in fish breeding. *Aquaculture* 31 : 283-304.
- Kirchgessner, T.G., Chuat, J.C., Heinzmann, C., Etienne, J., Guilhot, S., Svenson, K., Ameis, D., Pilon, C., d'Auriol, L., Andalibi, A., Schotz, M.C., Galibert, F. & Lusic, A.J., 1989.** Organization of the human lipoprotein lipase gene and evolution of the lipase gene family. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 86 : 9647-9651.
- Kirkland, J.L., Hollenberg, C.H., Kindler, S. & Roncari, D.A.K., 1994.** Long-chain fatty acids decrease lipoprotein lipase activity of cultured rat adipocyte precursors. *Metabolism* 43 : 144-151.
- Kouba, M. & Mouro, J., 1999.** Effect of a high linoleic acid diet on lipogenic enzyme activities and on the composition of the lipid fraction of fat and lean tissues in the pig. *Meat Sci.* 52 : 39-45.
- Kuo, P., Weinfeld, M. & Loscalzo, J., 1990.** Effect of membrane fatty acyl composition on LDL metabolism in Hep G2 hepatocytes. *Biochemistry* 29 : 6626-6632.
- Kurushima, H., Hayashi, K., Shingu, T., Kuga, Y., Ohtani, H., Okura, Y., Tanaka, K., Yasunobu, Y., Nomura, K. & Kajiyama, G., 1995.** Opposite effects on cholesterol metabolism and their mechanisms induced by dietary oleic acid and palmitic acid in hamsters. *Biochim. Biophys. Acta* 1258 : 251-256.
- Lanari, D., Poli, B.M., Ballestrazzi, R., Lupi, P., D'Agaro, E. & Mecatti, M., 1999.** The effects of dietary fat and NFE levels on growing European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). Growth rate, body and fillet composition, carcass traits and nutrient retention efficiency. *Aquaculture* 179 : 351-364.
- LaRosa, J.C., Levy, R.I., Herbert, P., Lux, S.E. & Fredrickson, D.S., 1970.** A specific apoprotein activator for lipoprotein lipase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 41 : 57-62.
- Lee, D.J. & Putnam, G.B., 1973.** The response of rainbow trout of varying protein-energy ratios in a test diet. *J. Nutr.* 103 : 916-922.

- Léger, C., 1985.** Digestion, absorption and transport of lipids. In : Nutrition and feeding in fish (ed : Cowey, C.B., Mackie, A.M. & Bell, J.G.), Academic Press, London, pp. 299-331.
- Leigh-Firbank, E.C., Minihane, A.M., Leake, D.S., Wright, J.W., Murphy, M.C., Griffin, B.A. & Williams, C.M., 2002.** Eicosapentanoic acid and docosahexaenoic acid from fish oils: differential associations with lipid responses. *Br. J. Nutr.* 87 : 435-445.
- Leitzmann, M.F., Stampfer, M.J., Michaud, D.S., Augustsson, K., Colditz, G.C., Willett, W.C. & Giovannucci, E.L., 2004.** Dietary intake of n-3 and n-6 fatty acids and the risk of prostate cancer. *Am. J. Clin. Nutr.* 80 : 204-216.
- Leung, T.T. & Bauman, D.E., 1975.** In vivo studies of the site of fatty acid synthesis in the rabbit. *Int. J. Biochem.* 6 : 801-805.
- Leveille, G.A., Romsos, D.R., Yeh, Y. & O'Hea, E.K., 1975.** Lipid biosynthesis in the chick. A consideration of site of synthesis, influence of diet and possible regulatory mechanisms. *Poult. Sci.* 54 : 1075-1093.
- Liang, X.F., Oku, H. & Ogata, H.Y., 2002a.** The effects of feeding condition and dietary lipid level on lipoprotein lipase gene expression in liver and visceral adipose tissue of red sea bream *Pagrus major*. *Comp. Biochem. Physiol.* 131A : 335-342.
- Liang, X.F., Ogata, H.Y. & Oku, H., 2002b.** Effect of dietary fatty acids on lipoprotein lipase gene expression in the liver and visceral adipose tissue of fed and starved red sea bream *Pagrus major*. *Comp. Biochem. Physiol.* 132A : 913-919.
- Lie, Ø., Lied, E., Lambertsen, G., 1986.** Liver retention of fat and of fatty acids in cod (*Gadus morhua*) fed different oils. *Aquaculture* 59 : 187-196.
- Lie, Ø., Sandvin, A. & Waagbø, R., 1993.** Influence of dietary fatty acids on the lipid composition of lipoproteins in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Fish Physiol. Biochem.* 12 : 249-260.
- Liepa, G.U., Beitz, D.C. & Linder, J.R., 1978.** Fatty acid synthesis in ruminating and nonruminating goats. *J. Nutr.* 108 : 1733-1739.
- Likimani, T.A. & Wilson, R.P., 1982.** Effects of diet on lipogenic enzyme activities in channel catfish hepatic and adipose tissue. *J. Nutr.* 112 : 112-117.
- Lin, H., Romsos, D.R., Tack, P.I. & Leveille, G.A., 1977a.** Influence of diet on in vitro and in vivo rates of fatty acid synthesis in coho salmon [*Oncorhynchus kisutch* (Walbaum)]. *J. Nutr.* 107 : 1677-1682.
- Lin, H., Romsos, D.R., Tack, P.I. & Leveille, G.A., 1977b.** Influence of dietary lipid on lipogenic enzyme activities in coho salmon, *Oncorhynchus kisutch* (Walbaum). *J. Nutr.* 107 : 846-854.
- Lin, H., Romsos, D.R., Tack, P.I. & Leveille, G.A., 1977c.** Effects of fasting and feeding various diets on hepatic lipogenic enzyme activities in coho salmon [*Oncorhynchus kisutch* (Walbaum)]. *J. Nutr.* 107 : 1477-1783.
- Lin, M.C., Arbeeny, C., Bergquist, K., Kienzle, B., Gordon, D.A. & Wetterau, J.R., 1994.** Cloning and regulation of hamster microsomal triglyceride transfer protein. The regulation is independent from that of other hepatic and intestinal proteins which participate in the transport of fatty acids and triglycerides. *J. Biol. Chem.* 269 : 29138-29145.

- Lin, M.H., Lu, S.C., Hsieh, J.W. & Huang, P.C., 1995.** Lipoprotein responses to fish, coconut and soybean oil diets with and without cholesterol in the Syrian hamster. *J. Formos. Med. Assoc.* 94 : 724-731.
- Lindberg, A. & Olivecrona, G., 1995.** Lipase evolution: trout, *Xenopus* and chicken have lipoprotein lipase and apolipoprotein C-II-like activity but lack hepatic lipase-like activity. *Biochim. Biophys. Acta* 1255 : 205-211.
- Lindberg, A. & Olivecrona, G., 2002.** Lipoprotein lipase from rainbow trout differs in several respects from the enzyme in mammals. *Gene* 292 : 213-223
- Lindsey, S., Pronczuk, A. & Hayes, K.C., 1992.** Low density lipoprotein from humans supplemented with n-3 fatty acids depresses both LDL receptor activity and LDLr mRNA abundance in HepG2 cells. *J. Lipid Res.* 33 : 647-658.
- Loscalzo, J., Freedman, J., Rudd, M.A., Barsky-Vasserman, I. & Vaughan, D.E., 1987.** Unsaturated fatty acids enhance low density lipoprotein uptake and degradation by peripheral blood mononuclear cells. *Arteriosclerosis* 7 : 450-455.
- Madsen, L., Froyland, L., Dyroy, E., Helland, K. & Berge, R.K., 1998.** Docosahexaenoic and eicosapentaenoic acids are differently metabolized in rat liver during mitochondria and peroxisome proliferation. *J. Lipid Res.* 39 : 583-593.
- Matsuyama, H., Sato, K., Nakamura, Y., Suzuki, K. & Akiba, Y., 2005.** Modulation of regulatory factors involved in cholesterol metabolism in response to feeding of pravastatin- or cholesterol-supplemented diet in chickens. *Biochim. Biophys. Acta* 1734 : 136-142.
- Mattson, F.H. & Grundy, S.M., 1985.** Comparison of effects of dietary saturated, monounsaturated, and polyunsaturated fatty acids on plasma lipids and lipoproteins in man. *J. Lipid Res.* 26 : 194-202.
- Matvienko, O.A., Lewis, D.S., Swanson, M., Arndt, B., Rainwater D.L., Stewart, J. & Alekel, D.L., 2002.** A single daily dose of soybean phytosterols in ground beef decreases serum total cholesterol and LDL cholesterol in young, mildly hypercholesterolemic men. *Am. J. Clin. Nutr.* 76 : 57-64.
- McGandy, R.B., Hegsted, D.M. & Myers, M.L., 1970.** Use of semisynthetic fats in determining effects of specific dietary fatty acids on serum lipids in man. *Am. J. Clin. Nutr.* 23 : 1288-1298.
- Mead, J.R., Irvine, S.A. & Ramji, D.P., 2002.** Lipoprotein lipase: structure, function, regulation, and role in disease. *J. Mol. Med.* 80 : 753-769.
- Médale, F., Larroquet, L., Travaglini, M., Corraze, G. & Kaushik, S., 2005.**  $\beta$ -oxydation des acides gras dans le foie et le muscle de la truite arc-en-ciel nourrie avec des aliments à base d'huile de poisson ou d'huiles végétales. 1ères Journées d'Animation Scientifique du Département de Physiologie Animale et Systèmes d'Élevage, 15-16 mars, Tours, France, p.197.
- Menoyo, D., Lopez-Bote, C.J., Bautista, J.M. & Obach, A., 2003.** Growth, digestibility and fatty acid utilization in large Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed varying levels of n-3 and saturated fatty acids. *Aquaculture* 225 : 295-307.
- Menoyo, D., Izquierdo, M.S., Robaina, L., Gines, R., Lopez-Bote, C.J. & Bautista, J.M., 2004.** Adaptation of lipid metabolism, tissue composition and flesh quality in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) to the replacement of dietary fish oil by linseed and soyabean oils. *Br. J. Nutr.* 92 : 41-52.

- Merckel, M., Eckel, R.H. & Goldberg, I.J., 2002.** Lipoprotein lipase: genetics, lipid uptake, and regulation. *J. Lipid Res.* 43 : 1997-2006.
- Metón, I., Mediavilla, D., Caseras, A., Cantó, E., Fernández, F. & Baanante, I.V., 1999.** Effect of diet composition and ration size on key enzyme activities of glycolysis-gluconeogenesis, the pentose phosphate pathway and amino acid metabolism in liver of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Br. J. Nutr.* 82 : 223-232.
- Michaud, S.E. & Renier, G., 2001.** Direct regulatory effect of fatty acids on macrophage lipoprotein lipase: potential role of PPARs. *Diabetes* 50 : 660-666.
- Middleton, S. & Schneeman, B.O., 1996.** Rat plasma triglycerides and hepatic fatty acid synthetase mRNA, but not apolipoprotein B and A-IV mRNA, respond to dietary fat content. *J. Nutr.* 126 : 1627-1634.
- Moghadasian, M.H. & Frohlich, J.J., 1999.** Effects of dietary phytosterols on cholesterol metabolism and atherosclerosis: clinical and experimental evidence. *Am. J. Med.* 107 : 588-594.
- Mommsen, T.P. & Plisetskaya, E.M., 1991.** Fish insulin: history, structure, and metabolic regulation. *Rev. Aquat. Sci.* 4 : 225-259.
- Monnot, M.J., Babin, P.J., Poleo, G., Andre, M., Laforest, L., Ballagny, C. & Akimenko, M.A., 1999.** Epidermal expression of apolipoprotein E gene during fin and scale development and fin regeneration in zebrafish. *Dev. Dyn.* 214 : 207-215.
- Montalto, M.B. & Bensadoun, A., 1993.** Lipoprotein lipase synthesis and secretion: effects of concentration and type of fatty acids in adipocyte cell culture. *J. Lipid Res.* 34 : 397-407.
- Montero, D., Kalinowski, T., Obach, A., Robaina, L., Tort, L., Caballero, M.J. & Izquierdo, M.S., 2003.** Vegetable lipid sources for gilthead seabream (*Sparus aurata*): effects on fish health. *Aquaculture* 225 : 353-370.
- Montero, D., Robaina, L., Caballero, M.J., Ginés, R. & Izquierdo, M.S., 2005.** Growth, feed utilization and flesh quality of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed diets containing vegetable oils: A time-course study on the effect of are-feeding period with a 100% fish oil diet. *Aquaculture* 248 : 121-134.
- Morgado, N., Rigotti, A. & Valenzuela, A., 2005.** Comparative effect of fish oil feeding and other dietary fatty acids on plasma lipoproteins, biliary lipids, and hepatic expression of proteins involved in reverse cholesterol transport in the rat. *Ann. Nutr. Metab.* 49 : 397-406.
- Mori, T.A., Burke, V., Puddey, I.B., Watts, G.F., O'Neal, D.N., Best, J.D. & Beilin, L.J., 2000.** Purified eicosapentaenoic and docosapentaenoic acids have differential effects on serum lipids and lipoproteins, LDL particle size, glucose, and insulin in mildly hyperlipidemic men. *Am. J. Clin. Nutr.* 71:1085-1094.
- Mourete, G. & Dick, J.R., 2002.** Influence of partial substitution of dietary fish oil by vegetable oils on the metabolism of [1-<sup>14</sup>C] 18:3n-3 in isolated hepatocytes of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Fish Physiol. Biochem.* 26 : 297-308.
- Mourete, G., Good, J.E. & Bell, J.G., 2005a.** Partial substitution of fish oil with rapeseed, linseed and olive oils in diets for European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.): effects on flesh fatty acid composition, plasma prostaglandins E<sub>2</sub> and F<sub>2α</sub>, immune function and effectiveness of a fish oil finishing diet. *Aquacult. Nutr.* 11 : 25-40.

- Moyad, M.A., 2005.** An introduction to dietary/supplemental omega-3 fatty acids for general health and prevention: Part II. *Urol. Oncol.* 23 : 36-48.
- Murphy, M.C., Zampelas, A., Puddicombe, S.M., Furlonger, N.P., Morgan, L.M. & Williams, C.M., 1993.** Pretranslational regulation of the expression of the lipoprotein lipase (EC 3.1.1.34) gene by dietary fatty-acids in the rat. *Br. J. Nutr.* 70 : 727-736.
- Murphy, M.C., Isherwood, S.G., Sethi, S., Gould, B.J., Wright, J.W., Knapper, J.A. & Williams, C.M., 1995.** Postprandial lipid and hormone responses to meals of varying fat contents: modulatory role of lipoprotein lipase? *Eur. J. Clin. Nutr.* 49 : 578-588.
- Murphy, M.C., Brooks, C.N., Rockett, J.C., Chapman, C., Lovegrove, J.A., Gould, B.J., Wright, J.W. & Williams, C.M., 1999.** The quantitation of lipoprotein lipase mRNA in biopsies of human adipose tissue, using the polymerase chain reaction, and the effect of increased consumption of n-3 polyunsaturated fatty acids. *Eur. J. Clin. Nutr.* 53 : 441-447.
- Mustad, V.A., Ellsworth, J.L., Cooper, A.D., Kris-Etherton, P.M. & Etherton, T.D., 1996.** Dietary linoleic acid increases and palmitic acid decreases hepatic LDL receptor protein and mRNA abundance in young pigs. *J. Lipid Res.* 37 : 2310-2323.
- Muurling, M., Jong, M.C., Mensink, R.P., Hornstra, G., Dahlmans, V.E., Pijil, H., Voshol, P.J. & Havekes, L.M., 2002.** A low-fat diet has a higher potential than energy restriction to improve high-fat diet-induced insulin resistance in mice. *Metabolism* 51 : 695-701.
- Nelson, G.J., Schmidt, P.C. & Kelley, D.S., 1995.** Low-fat diets do not lower plasma cholesterol levels in healthy men compared to high-fat diets with similar fatty acid composition at constant caloric intake. *Lipids* 30 : 969-976.
- Nestel, P.J., Connor, W.E., Reardon, M.R., Connor, S., Wong, S. & Boston, R., 1984.** Suppression by diets rich in fish oil of very low density lipoprotein production in man. *J. Clin. Invest.* 74:82-89.
- New, M.B. & Wijkstroem, U.N., 2002.** Use of fishmeal and fish oil in aquafeeds. Further thoughts on the fishmeal trap. FAO Fisheries circular no. 975, 61 pp.
- Ng, T.K.W., Hayes, K.C., Dewitt, G.F., Jegathesan, M., Satgunasingam, N., Ong, A.S.H. & Tan D., 1992.** Dietary palmitic and oleic acids exert similar effects on serum-cholesterol and lipoprotein profiles in normocholesterolemic men and women. *J. Am. Coll. Nutr.* 11 : 383-390.
- Ng, W., Lim, P. & Boey, P., 2003.** Dietary lipid and palm oil source affects growth, fatty acid composition and muscle  $\alpha$ -tocopherol concentration of African catfish, *Clarias gariepinus*. *Aquaculture* 215 : 229-243.
- Norberg, B. & Haux, C., 1985.** Induction, isolation and a characterization of the lipid content of plasma vitellogenin from two *Salmo* species: rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and sea trout (*Salmo trutta*). *Comp. Biochem. Physiol.* 81B : 869-876.
- Nordgarden, U., Hemre, G.I. & Hansen, T., 2002.** Growth and body composition of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) parr and smolt fed diets varying in protein and lipid contents. *Aquaculture* 207 : 65-78.
- Nordöy, A., Hatcher, L.F., Ullmann, D.L. & Connor, W.E., 1993.** Individual effects of dietary saturated fatty acids and fish oil on plasma lipids and lipoproteins in normal men. *Am. J. Clin. Nutr.* 57 : 634-639.

- Normén, L., Dutta, P., Lia, Å. & Anderson, H., 2000.** Soy sterol esters and  $\beta$ -sitostanol ester as inhibitors of cholesterol absorption in human small bowel. *Am. J. Clin. Nutr.* 71 : 908-913.
- Nozaki, S., Garg, A., Vega, G.L. & Grundy, S.M., 1991.** Postheparin lipolytic activity and plasma lipoprotein response to  $\omega$ -3 polyunsaturated fatty acids in patients with primary hypertriglyceridemia. *Am. J. Clin. Nutr.* 53 : 638-642.
- Ochoa, S., 1955.** Malic enzyme. In: *Methods in Enzymology*, vol. 1 (eds : Colowick, S.P., Kaplan, N.O.), Academic Press, New York, pp. 739-753.
- O'Hea, E.K. & Leveille, G.A., 1968.** Lipogenesis in isolated adipose tissue of the domestic chick (*Gallus domesticus*). *Comp. Biochem. Physiol.* 26 : 111-120.
- O'Hea, E.K. & Leveille, G.A., 1969a.** Lipid biosynthesis and transport in the domestic chick (*Gallus domesticus*). *Comp. Biochem. Physiol.* 30 : 149-159.
- O'Hea, E.K. & Leveille, G.A., 1969b.** Significance of adipose tissue and liver as sites of fatty acid synthesis in the pig and the efficiency of utilization of various substrates for lipogenesis. *J. Nutr.* 99 : 338-344
- Oku, H., Ogata, H.Y. & Liang, X.F., 2002.** Organization of the lipoprotein lipase gene of red sea bream *Pagrus major*. *Comp. Biochem. Physiol.* 131B : 775-785.
- Olsen, R.E. & Henderson, R.J., 1997.** Muscle fatty acid composition and oxidative stress indices of Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.), in relation to dietary polyunsaturated fatty acid levels and temperature. *Aquacult. Nutr.* 3 : 227-238.
- Park, Y. & Harris, W.S., 2003.** Omega-3 fatty acid supplementation accelerates chylomicron triglyceride clearance. *J. Lipid Res.* 44 : 455-463.
- Park, M.Y., Tsuchimoto, M., Jabarsyah, A., Mishima, T. & Tachibana, K., 1999.** Difference of serum lipoprotein profile between cultured and wild red sea bream. *Fish. Sci.* 65 : 279-283.
- Parks, E.J., Krauss, R.M., Christiansen, M.P., Neese, R.A. & Hellerstein, M.K., 1999.** Effects of a low-fat, high-carbohydrate diet on VLDL-triglyceride assembly, production, and clearance. *J. Clin. Invest.* 104 : 1087-1096.
- Patel, M.S. & Hanson, R.W., 1974.** Lipogenesis in developing guinea pig liver. *Mech. Ageing Dev.* 3 : 65-73.
- Pedersen, T. & Jobling, M., 1989.** Growth rates of large, sexually mature cod, *Gadus morhua*, in relation to condition and temperature during an annual cycle. *Aquaculture* 81 : 161-168.
- Pégorier, J.P., Le May, C. & Girard, J., 2004.** Control of gene expression by fatty acids. *J. Nutr.* 134 : 2444S-2449S.
- Peinado-Onsurbe, J., Staels, B., Deeb, S., Ramirez, I., Llobera, M. & Auwerx, J., 1992.** Neonatal extinction of liver lipoprotein lipase expression. *Biochim. Biophys. Acta* 1131 : 281-286.
- Peres, H. & Oliva-Teles, A., 1999a.** Effect of dietary lipid level on growth performance and feed utilization by European sea bass juveniles (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture* 179 : 325-334.

- Peres, H. & Oliva-Teles, A., 1999b.** Influence of temperature on protein utilization in juvenile European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture* 170 : 337-348.
- Perrier, H., Perrier, C., Peres, G. & Gras, J., 1979.** Immediate effects of thermal shocks on the plasma level of various components in the Rainbow trout: compounds indicating stress and protein fraction. *Rev. Can. Biol.* 38 : 37-41.
- Person-Le Ruyet, J., Mahé, K., Le Bayon, N. & Le Delliou, H., 2004.** Effects of temperature on growth and metabolism in a Mediterranean population of European sea bass, *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture* 237 : 269-280.
- Pfaffl, M.W., 2001.** A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Res.* 29 : 2002-2007.
- Pfaffl, M.W., Horgan, G.W. & Dempfle, L., 2002.** Relative expression software tool (REST (c)) for group-wise comparison and statistical analysis of relative expression results in real-time PCR. *Nucleic Acids Res.* 30 : 1-10.
- Phillips, K.M., Ruggio, D.M., Toivo, J.I., Swank, M.A. & Simpkins, A.H., 2002.** Free and esterified sterol composition of edible oils and fats. *J. Food Compos. Anal.* 15 : 123-142.
- Poupard, G., André, M., Durliat, M., Ballagny, C., Boeuf, G. & Babin, P.J., 2000.** Apolipoprotein E gene expression correlates with endogenous lipid nutrition and yolk syncytial layer lipoprotein synthesis during fish development. *Cell Tissue Res.* 300 : 251-261.
- Pronczuk, A., Khosla, P. & Hayes, K.C., 1994.** Dietary myristic, palmitic, and linoleic acids modulate cholesterolemia in gerbils. *FASEB J.* 8 : 1191-1200.
- Psota, T.L., Gebauer, S.K. & Kris-Etherton, P., 2006.** Dietary omega-3 fatty acid intake and cardiovascular risk. *Am. J. Cardiol.* 98 : 3-18.
- Quillet, E., Le Guillou, S., Aubin, J. & Fauconneau, B., 2005.** Two-way selection for muscle lipid content in pan-size rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 245 : 49-61.
- Refstie, S., Storebakken, T., Baeverfjord, G. & Roem, A.J., 2001.** Long-term protein and lipid growth of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets with partial replacement of fish meal by soy protein products at medium or high lipid level. *Aquaculture* 193 : 91-106.
- Reiser, R., Probstfield, J.L., Silvers, A., Scott, L.W., Shorney, M.L., Wood, R.D., O'Brien, B.C., Gotto, A.M., Jr., Phil, D. & Insull, W., Jr., 1985.** Plasma lipid and lipoprotein response of humans to beef fat, coconut oil and safflower oil. *Am. J. Clin. Nutr.* 42 : 190-197.
- Regost, C., Arzel, J., Cardinal, M., Laroche, M. & Kaushik, S.J., 2001a.** Fat deposition and flesh quality in seawater reared, triploid brown trout (*Salmo trutta*) as affected by dietary fat levels and starvation. *Aquaculture* 193 : 325-345.
- Regost, C., Arzel, J., Cardinal, M., Robin, J., Laroche, M. & Kaushik, S.J., 2001b.** Dietary lipid level, hepatic lipogenesis and flesh quality in turbot (*Psetta maxima*). *Aquaculture* 193 : 291-309.
- Regost, C., Arzel, J., Robin, J., Rosenlund, G. & Kaushik, S.J., 2003.** Total replacement of fish oil by soybean or linseed oil with a return to fish oil in turbot (*Psetta maxima*) - 1. Growth performance, flesh fatty acid profile, and lipid metabolism. *Aquaculture* 217 : 465-482.

- Richard, M.J., Holck, J.T. & Beitz, D.C., 1989.** Lipogenesis in liver and adipose tissue of the domestic cat (*Felis domestica*). *Comp. Biochem. Physiol.* 93B : 561-564.
- Rivellese, A.A., Maffetone, A., Vessby, B., Uusitupa, M., Hermansen, K., Berglund, L., Louheranta, A., Meyer, B.J. & Riccardi, G., 2003.** Effects of dietary saturated, monounsaturated and n-3 fatty acids on fasting lipoproteins, LDL size and post-prandial lipid metabolism in healthy subjects. *Atherosclerosis* 167 : 149-158.
- Robb, D.H.F., Kestin, S.C., Warriss, P.D. & Nute, G.R., 2002.** Muscle lipid content determines the eating quality of smoked and cooked Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 205 : 345-358.
- Rognstad, R. & Katz, J., 1979.** Effects of 2,4-dihydroxybutyrate on lipogenesis in rat hepatocytes. *J. Biol. Chem.* 254 : 11969-11972.
- Romero, A.L. & Fernandez, M.L., 1996.** Dietary fat amount and carbohydrate type regulate hepatic acyl CoA:cholesterol acyltransferase (ACAT) activity. Possible links between ACAT activity and plasma cholesterol levels. *Nutr. Res.* 16 : 937-948.
- Rosenlund, G., Obach, A., Sandberg, M.G., Standal, H. & Tveit, K., 2001.** Effect of alternative lipid sources on long-term growth performance and quality of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquac. Res.* 32 : 323-328.
- Rosolowska-Huszcz, D., Gromadzka-Ostrowska, J., Wilczak, J., Romanowicz, K., Borysiak, M., Debska, M. & Mazurek, B., 2001.** Thyroid peroxidase activity, hepatic glucose-6-phosphate dehydrogenase activity and corticosterone level in plasma and tissues of rats fed different dietary fats. *J. Anim. Feed Sci.* 10 : 185-200.
- Roynette, C.E., Calder, P.C. & Dupertuis, Y.M., 2004.** N-3 polyunsaturated fatty acids and colon cancer prevention. *Clin. Nutr.* 23 : 139-151.
- Russell, N.R., Fish, J.D. & Wootton, R.J., 1996.** Feeding and growth of juvenile sea bass: the effect of ration and temperature on growth rate and efficiency. *J. Fish Biol.* 49 : 206-220.
- Rye, M. & Gjerde, B., 1996.** Phenotypic and genetic parameters of body composition traits and flesh colour in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Aquac. Res.* 27 : 121-133.
- Saadoun, A. & Leclercq, B., 1983.** Comparison of *in vivo* fatty acid synthesis of the genetically lean and fat chickens. *Comp. Biochem. Physiol.* 75B : 641-644.
- Saadoun, A. & Leclercq, B., 1987.** *In vivo* lipogenesis of genetically lean and fat chickens: effects of nutritional state and dietary fat. *J. Nutr.* 117 : 428-435.
- Sacks, F.M. & Katan, M., 2002.** Randomized clinical trials on the effects of dietary fat and carbohydrate on plasma lipoproteins and cardiovascular disease. *Am. J. Med.* 113 : 13S-24S.
- Sadur, C.N., Yost, T.J. & Eckel, R.H., 1984.** Fat feeding decreases insulin responsiveness of adipose tissue lipoprotein lipase. *Metabolism* 33 : 1043-1047.
- Saera-Vila, A., Calduch-Giner, J.A., Gómez-Requeni, P., Médale, F., Kaushik, S. & Pérez-Sánchez, J., 2005.** Molecular characterization of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) lipoprotein lipase. Transcriptional regulation by season and nutritional condition in skeletal muscle and fat storage tissues. *Comp. Biochem. Physiol.* 142B : 224-232.
- Sakai, K., Shimokawa, T., Kobayashi, T. & Okuyama, H., 1992.** Lipid lowering effects of high linoleate and high alpha-linolenate diets in rats and mice. Consequence of long-term feedings. *Chem. Pharm. Bull.* 40 : 2129-2132.

- Salati, L.M., Szeszel-Fedorowicz, W., Tao, H.M., Gibson, M.A., Amir-Ahmady, B., Stabile, L.P. & Hodge, D.L., 2004.** Nutritional regulation of mRNA processing. *J. Nutr.* 134 : 2437S-2443S.
- Salter, A.M., Mangiapane, E.H., Bennett, A.J., Bruce, J.S., Billett, M.A., Anderton, K.L., Marenah, C.B., Lawson, N. & White, D.A., 1998.** The effect of different dietary fatty acids on lipoprotein metabolism: concentration-dependent effects of diets enriched in oleic, myristic, palmitic and stearic acids. *Br. J. Nutr.* 79 : 195-202.
- Sampath, H. & Ntambi, J., 2005.** Polyunsaturated fatty acid regulation of genes of lipid metabolism. *Annu. Rev. Nutr.* 25 : 317-340.
- Samra, J.S., Clark, M.L., Humphreys, S.M., MacDonald, I.A. & Frayn, K.N., 1996.** Regulation of lipid metabolism in adipose tissue during early starvation. *Am. J. Physiol.* 271 : 541-546.
- Sanchez-Muros, M.J., Garcia-Rejon, L., Lupianez, J.A. & de la Higuera, M., 1996.** Long-term nutritional effects on the primary liver and kidney metabolism in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). II. Adaptive response of glucose 6-phosphate dehydrogenase activity to high-carbohydrate/low-protein and high-fat/non-carbohydrate diets. *Aquacult. Nutr.* 2 : 193-200.
- Sanders, T.A.B. & Hinds, A., 1992.** The influence of a fish oil high in docosahexaenoic acid on plasma lipoprotein and vitamin E concentrations and haemostatic function in healthy male volunteers. *Br. J. Nutr.* 68 : 163-173.
- Santinha, P.J.M., Médale, F., Corraze, G. & Gomes, E.F.S., 1999.** Effects of the dietary protein : lipid ration on growth and nutrient utilization in gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Aquacult. Nutr.* 5 : 147-156.
- Santulli, A., Curatolo, A., Modica, A. & D'Amelio, V., 1988.** Time-course changes of plasma lipid levels and lipoprotein pattern after feeding in cultured sea bass, *Dicentrarchus labrax* L. *J. Fish Biol.* 32 : 859-867.
- Santulli, A., Curatolo, A., Modica, A., D'Amelio, L. & D'Amelio, V., 1989.** Serum lipoproteins of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). Purification and partial characterization by density gradient ultracentrifugation and agarose column chromatography. *Comp. Biochem. Physiol.* 94B : 613-619.
- Santulli, A., Modica, A., Cusenza, L., Curatolo, A. & D'Amelio, V., 1993.** Effects of temperature on gastric evacuation rate and absorption and transport of dietary lipids in sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.). *Comp. Biochem. Physiol.* 105A : 363-367.
- Santulli, A., Messina, C., Modica, A., Curatolo, A. & D'Amelio, V., 1996.** Lipid and apolipoprotein composition of lipoproteins of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Comp. Biochem. Physiol.* 114B : 321-326.
- Santulli, A., Messina, C.M. & D'Amelio, V., 1997.** Variations of lipid and apolipoprotein content in lipoproteins during fasting in European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Comp. Biochem. Physiol.* 118A : 1233-1239.
- Sargent, J., Henderson, R.J. & Tocher, D.R., 1989.** The lipids. In : Fish Nutrition, 2<sup>nd</sup> ed (ed : Halver, J.E.), Academic Press, Inc, pp. 153-218.
- Sargent J.R., Tocher D.R., Bell J.G., 2002.** The lipids. In : Fish Nutrition, 3rd ed (eds : Halver, J.E., Hardy, R.W.), Elsevier, USA, pp. 181-257.
- SAS, 1993.** SAS/STAT user's guide. Version 7, Edition 4, SAS Institute Inc, Cary, NC.

- Schneider, W.J., 1996.** Removal of lipoproteins from plasma. In *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes*. In : *Biochemistry of lipids, lipoproteins and membranes*. (ed.: Vance, D.E. & Vance, J.E.). Elsevier Science B.V., Amsterdam, pp. 417-541.
- Schwarz, J.M., Linfoot, P., Dare, D. & Aghajanian, K., 2003.** Hepatic de novo lipogenesis in normoinsulinemic and hyperinsulinemic subjects consuming high-fat, low-carbohydrate and low-fat, high-carbohydrate isoenergetic diets. *Am. J. Clin. Nutr.* 77 : 43-50.
- Scow, R.O. & Blanchette-Mackie, E.J., 1985.** Why fatty acids flow in cell membranes. *Prog. Lipid Res.* 24 : 197-241.
- Sellner, P.A. & Hazel, J.R., 1982.** Desaturation and elongation of unsaturated fatty acids in hepatocytes from thermally acclimated rainbow trout. *Arch. Biochem. Biophys.* 213 : 58-66.
- Semenkovich, C.F., Chen, S.H., Wims, M., Luo, C.C., Li, W.H. & Chan, L., 1989.** Lipoprotein lipase and hepatic lipase mRNA tissue specific expression, developmental regulation, and evolution. *J. Lipid Res.* 30 : 423-431.
- Shantha, N.C. & Ackman, R.G., 1990.** Nervonic acid versus tricosanoic acid as internal standards in quantitative gas chromatographic analyses of fish oil longer-chain n-3 polyunsaturated fatty acid methyl esters. *J. Chromatogr. B Biomed. Appl.* 533 : 1-10.
- Sheridan, M.A., 1988.** Lipid dynamics in fish: aspects of absorption, transportation, deposition and mobilization. *Comp. Biochem. Physiol.* 90B : 679-690.
- Sheridan, M.A., 1994.** Regulation of lipid metabolism in poikilothermic vertebrates. *Comp. Biochem. Physiol.* 107B : 495-508.
- Shikata, T. & Shimeno, S., 1994.** Metabolic response to dietary stearic acid, linoleic acid, and highly unsaturated fatty acid in carp. *Fish. Sci.* 60 : 735-739.
- Shikata, T. & Shimeno, S., 1997.** Effects of feed restriction and starvation on fatty acid synthesis and oxidation of glucose and alanine in carp hepatopancreas. *Fish. Sci.* 63 : 301-303.
- Shillabeer, G., Hornford, J., Forden, J.M., Wong, N.C.W. & Lau, D.C.W., 1990.** Hepatic and adipose tissue lipogenic enzyme mRNA levels are suppressed by high fat diets in the rat. *J. Lipid Res.* 31 : 623-631.
- Shimeno, S., Hosokawa, H., Takeda, M., Takayama, S., Fukui, A. & Sasaki, H., 1981.** Adaptation of hepatic enzymes to dietary lipid in young yellowtail. *Nippon Suisan Gakkaishi* 47 : 63-69.
- Shimeno, S., Ming, D.C. & Takeda, M., 1993.** Metabolic response to dietary carbohydrate to lipid ratios in *Oreochromis niloticus*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 59 : 827-833.
- Shimeno, S., Kheyyali, D. & Shikata, T., 1995.** Metabolic response to dietary lipid to protein ratios in common carp. *Fish. Sci.* 61 : 977-980.
- Shimeno, S., Shikata, T., Hosokawa, H., Masumoto, T. & Kheyyali, D., 1997.** Metabolic response to feeding rates in common carp, *Cyprinus carpio*. *Aquaculture* 151 : 371-377.
- Shrago, E., Glennon, J.A. & Gordon, E.S., 1971.** Comparative aspects of lipogenesis in mammalian tissues. *Metabolism* 20 : 54-62.
- Simopoulos, A.P., 1999.** Essential fatty acids in health and chronic disease. *Am. J. Clin. Nutr.* 70 : 560S-569S.

- Simopoulos, A.P., 2002.** Omega-3 fatty acids in inflammation and autoimmune diseases. *J. Am. Coll. Nutr.* 21 : 495-505.
- Skinner, E.R. & Rogie, A., 1978.** The isolation and partial characterization of the serum lipoproteins and apolipoproteins of the rainbow trout. *Biochem. J.* 173 : 507-520.
- Skinner, E.R. & Youssef, A.M., 1982.** The characterization of lipoprotein lipase isolated from the post-heparin plasma of the rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *Biochem. J.* 203 : 727-734.
- Skinner, E.R., Youssef, A.M. & Plack, P.A., 1980.** Lipoprotein lipase activity in the post-heparin plasma and adipose tissue of the rainbow trout (*Salmo gairdnerii*) [proceedings]. *Biochem. Soc. Trans.* 8 : 74.
- Smith, L.S., 1989.** Digestive function in teleost fishes. In : Fish Nutrition, 2<sup>nd</sup> ed (ed : Halver, J.E.), Academic Press, Inc, pp. 331-421.
- Smith, S., Witkowski, A. & Joshi, A.K., 2003.** Structural and functional organization of the animal fatty acid synthase. *Prog. Lipid Res.* 42 : 289-317.
- Sorci-Thomas, M., Wilson, M.D., Johnson, F.L., Williams, D.L. & Rudel, L.L., 1989.** Studies on the expression of genes encoding apolipoproteins B100 and B48 and the low density lipoprotein receptor in nonhuman primates. Comparison of dietary fat and cholesterol. *J. Biol. Chem.* 264 : 9039-9045.
- Spady, D.K., 1993.** Regulatory effects of individual n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids on LDL transport in the rat. *J. Lipid Res.* 34 : 1337-1346.
- Spady, D.K. & Dietschy, J.M., 1985.** Dietary saturated triacylglycerols suppress hepatic low density lipoprotein receptor activity in the hamster. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 82 : 4526-4530.
- Spady, D.K. & Dietschy, J.M., 1988.** Interaction of dietary cholesterol and triglycerides in the regulation of hepatic low density lipoprotein transport in the hamster. *J. Clin. Invest.* 81 : 300-309.
- Spady, D.K., Woollett, L.A. & Dietschy, J.M., 1993.** Regulation of plasma LDL-cholesterol levels by dietary cholesterol and fatty acids. *Annu. Rev. Nutr.* 13 : 355-381.
- Spady, D.K., Horton, J.D. & Cuthbert, J.A., 1995.** Regulatory effects of n-3 polyunsaturated fatty acids on hepatic LDL uptake in the hamster and rat. *J. Lipid Res.* 36 : 1009-1020.
- Srivastava, R.A.K., Jiao, S., Tang, J., Pflieger, B.A, Kitchens, R.T. & Schonfeld, G., 1991.** In vivo regulation of low-density lipoprotein receptor and apolipoprotein B gene expressions by dietary fat and cholesterol in inbred strains of mice. *Biochim. Biophys. Acta* 1086 : 29-43.
- Stabile, L.P., Hodge, D.L., Klautky, S.A. & Salati, L.M., 1996.** Posttranscriptional regulation of glucose-6-phosphate dehydrogenase by dietary polyunsaturated fat. *Arch. Biochem. Biophys.* 332 : 269-279.
- Stabile, L.P., Klautky, S.A., Minor, S.M. & Salati, L.M., 1998.** Polyunsaturated fatty acids inhibit the expression of the glucose-6-phosphate dehydrogenase gene in primary rat hepatocytes by a nuclear posttranscriptional mechanism. *J. Lipid Res.* 39 : 1951-1963.
- Steffens, W., 1997.** Effects of variations in essential fatty acids in fish feeds on nutritive value of freshwater fish for humans. *Aquaculture* 151 : 97-119.

- St-Pierre J., Charest P.M., Guderley H., 1998.** Relative contribution of quantitative and qualitative changes in mitochondria to metabolic compensation during seasonal acclimatisation of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *J. Exp. Biol.* 201 : 2961-2970.
- Stucchi, A.F., Hennessy, L.K., Vespa, D.B., Weiner, E.J., Osada, J., Ordovas, J.M., Schaefer, E.J. & Nicolosi, R.J., 1991.** Effect of corn and coconut oil-containing diets with and without cholesterol on high density lipoprotein apoprotein A-I metabolism and hepatic apoprotein A-I mRNA levels in cebus monkeys. *Arterioscler. Thromb.* 11 : 1719-1729.
- Stucchi, A.F., Nicolosi, R.J., Karge, W.H. III, Ausman, L.M. & Ordovas, J.M., 1998.** Dietary cholesterol affects serum lipids, lipoproteins and LDL metabolism in Cynomolgus monkeys in a dose-dependent manner. *J. Nutr.* 128 : 1104-1113.
- Stürzenbaum, S.R. & Kille, P., 2001.** Control genes in quantitative molecular biological techniques : the variability of invariance. *Comp. Biochem. Physiol.* 130 : 281-289.
- Sun, D., Fernandez, M.L., Lin, E.C. & McNamara, D.J., 1999.** Regulation of guinea pig hepatic acyl-coA:cholesterol acyltransferase activity by dietary fat saturation and cholesterol. *J. Nutr. Biochem.* 10 : 172-180.
- Surette, M.E., Whelan, J., Broughton, K.S. & Kinsella, J.E., 1992.** Evidence for mechanisms of the hypotriglyceridemic effect of n-3 polyunsaturated fatty acids. *Biochim. Biophys. Acta* 1126 : 199-205.
- Suzukawa, M., Abbey, M., Howe, P.R. & Nestel, P.J., 1995.** Effects of fish oil fatty acids on low density lipoprotein size, oxidizability, and uptake by macrophages. *J. Lipid Res.* 36 : 473-484.
- Tacon, A.G.J., 2005.** Salmon aquaculture dialogue: status of information on salmon aquaculture feed and the environment. *International Aquafeed* 8 : 22-37.
- Takahashi, Y. & Ide, T., 1999.** Effect of dietary fats differing in degree of unsaturation on gene expression in rat adipose tissue. *Ann. Nutr. Metab.* 43 : 86-97.
- Takahashi, Y. & Ide, T., 2001.** Dietary fat-dependent changes of gene expression in rat adipose tissue. *Jpn. Agric. Res. Q.* 35 : 31-38.
- Takahashi, Y., Ide, T. & Fujita, H., 2000.** Dietary gamma-linolenic acid in the form of borage oil causes less body fat accumulation accompanying an increase in uncoupling protein 1 mRNA level in brown adipose tissue. *Comp. Biochem. Physiol.* 127B : 213-222.
- Takeuchi, T., Watanabe, T. & Ogino, C., 1978.** Supplementary effect of lipids in a high protein diet of rainbow trout. *Bull. Japan. Sci. Fish.* 44 : 677-681.
- Takeuchi, H., Nakamoto, T., Mori, Y., Kawakami, M., Mabuchi, H., Ohishi, Y., Ichikawa, N., Koike, A. & Masuda, K., 2001.** Comparative effects of dietary fat types on hepatic enzyme activities related to the synthesis and oxidation of fatty acid and to lipogenesis in rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 65 : 1748-1754.
- Tao, H.M., Szeszel-Fedorowicz, W., Amir-Ahmady, B., Gibson, M.A., Stabile, L.P. & Salati, L.M., 2002.** Inhibition of the splicing of glucose-6-phosphate dehydrogenase precursor mRNA by polyunsaturated fatty acids. *J. Biol. Chem.* 277 : 31270-31278.
- Teichert, T. & Wodtke, E., 1992.** Acyl-CoA: cholesterol acyltransferase and 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase in carp-liver microsomes: effect of cold acclimation on enzyme activities and on hepatic and plasma lipid composition. *Biochim. Biophys. Acta* 1165 : 211-221.

- Temme, E.H.M., Mensink, R.P. & Hornstra, G., 1997.** Effects of medium chain fatty acids (MCFA), myristic acid, and oleic acid on serum lipoproteins in healthy subjects. *J. Lipid Res.* 38 : 1746-1754.
- Thivend, P., Mercier & C., Guilbot, A., 1972.** Determination of starch with glucoamylase. In: *Methods in Carbohydrate Chemistry*, vol. 6 (eds : Whistler, R.L., Bemiller, J.N.), Academic Press, pp. 100-105.
- Tholstrup, T., Marckmann, P., Jespersen, J., Vessby, B., Jart, A. & Sandström, B., 1994.** Effect on blood lipids, coagulation, and fibrinolysis of a fat high in myristic acid and a fat high in palmitic acid. *Am. J. Clin. Nutr.* 60 : 919-925.
- Tiku, P.E., Gracey, A.Y., Macartney, A.I., Beynon, R.J. & Cossins, A.R., 1996.** Cold-induced expression of  $\Delta 9$ -desaturase in carp by transcriptional and posttranslational mechanisms. *Science* 271 : 815-818.
- Tocher, D.R., 2003.** Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. *Fish. Sci.* 11 : 107-184.
- Tocher, D.R. & Harvie, D.G., 1988.** Fatty acid composition of the major phosphoglycerides from fish neural tissue; (n-3) and (n-6) polyunsaturated fatty acids in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and cod (*Gadus morhua*) brains and retinas. *Fish Physiol. Biochem.* 5 : 229-239.
- Tocher, D.R., Bell, J.G., MacGlaughlin, P., McGhee, F., & Dick, J.R., 2001.** Hepatocyte fatty acid desaturation and polyunsaturated fatty acid composition of liver in salmonids: effects of dietary vegetable oil. *Comp. Biochem. Physiol.* 130B : 257-270.
- Tocher, D.R., Fonseca-Madriral, J., Dick, J.R., Ng, W.K., Bell, J.G. & Campbell, P.J., 2004.** Effects of water temperature and diets containing palm oil on fatty acid desaturation and oxidation in hepatocytes and intestinal enterocytes of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comp. Biochem. Physiol.* 137B : 49-63.
- Torstensen, B.E., Lie, Ø. & Frøyland, L., 2000.** Lipid metabolism and tissue composition in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) - Effects of capelin oil, palm oil, and oleic acid-enriched sunflower oil as dietary lipid sources. *Lipids* 35 : 653-664.
- Torstensen, B.E., Lie, Ø. & Hamre, K., 2001.** A factorial experimental design for investigation of effects of dietary lipid content and pro- and antioxidants on lipid composition in Atlantic salmon (*Salmo salar*) tissues and lipoproteins. *Aquacult. Nutr.* 7 : 265-276.
- Torstensen, B.E., Frøyland, L. & Lie, Ø., 2004a.** Replacing dietary fish oil with increasing levels of rapeseed oil and olive oil - effects on Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) tissue and lipoprotein lipid composition and lipogenic enzyme activities. *Aquacult. Nutr.* 10 : 175-192.
- Torstensen, B.E., Frøyland, L., Ørnsrud, R. & Lie, Ø., 2004b.** Tailoring of a cardioprotective muscle fatty acid composition of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed vegetable oils. *Food Chem.* 87 : 567-580.
- Toussaint, C., Médale, F., Davenel, A., Fauconneau, B., Haffray, P. & Akoka, S., 2002.** Determination of the lipid content in fish muscle by a self-calibrated NMR relaxometry method : comparison with classical chemical extraction methods. *J. Sci. Food Agric.* 82 : 173-178.

- Tremblay, L. & Van der Kraak, G., 1998.** Use of a series of homologous in vitro and in vivo assays to evaluate the endocrine modulating actions of beta-sitosterol in rainbow trout. *Aquat. Toxicol.* 43 : 149-162.
- Tripodi, A., Loria, P., Dilengite, M.A. & Carulli, N., 1991.** Effect of fish oil and coconut oil diet on the LDL receptor activity of rat liver plasma membranes. *Biochim. Biophys. Acta* 1083 : 298-304.
- Trueman, R.J., Tiku, P.E., Caddick, M.X. & Cossins, A.R., 2000.** Thermal thresholds of lipid restructuring and  $\Delta 9$ -desaturase expression in the liver of carp (*Cyprinus carpio* L.). *J. Exp. Biol.* 203 : 641-650.
- Tsai, A.C. & Gong, T.W., 1987.** Modulation of the exercise and retirement effects by dietary fat intake in hamsters. *J. Nutr.* 117 : 1149-1153.
- Turley, S.D., Spady, D.K. & Dietschy, J.M., 1995.** Role of liver in the synthesis of cholesterol and the clearance of low density lipoproteins in the cynomolgus monkey. *J. Lipid Res.* 36 : 67-79.
- Vannier, C. & Ailhaud, G., 1989.** Biosynthesis of lipoprotein lipase in cultured mouse adipocytes. II. Processing, subunit assembly, and intracellular transport. *J. Biol. Chem.* 264 : 13206-13216.
- Vanstone, C.A., Raeini-Sarjaz, M., Parsons, W.E. & Jones, P.J.H., 2002.** Unesterified plant sterols and stanols lower LDL-cholesterol concentrations equivalently in hypercholesterolemic persons. *Am. J. Clin. Nutr.* 76 : 1272-1278.
- Ventura, M.A., Woollett, L.A. & Spady, D.K., 1989.** Dietary fish oil stimulates hepatic low density lipoprotein transport in the rat. *J. Clin. Invest.* 84 : 528-537.
- Vidon, C., Boucher, P., Cachefo, A., Peroni, O., Diraison, F. & Beylot, M., 2001.** Effects of isoenergetic high-carbohydrate compared with high-fat diets on human cholesterol synthesis and expression of key regulatory genes of cholesterol metabolism. *Am. J. Clin. Nutr.* 73 : 878-884.
- Vilaro, S., Llobera, M., Bengtsson-Olivecrona, G. & Olivecrona, T., 1988.** Synthesis of lipoprotein lipase in the liver of newborn rats and localization of the enzyme by immunofluorescence. *Biochem. J.* 249 : 549-556.
- Voss, B., Jankowsky, H.D. & Weddigen P., 1986.** Temperature dependence of lipogenesis in isolated hepatocytes from rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Comp. Biochem. Physiol.* 83B : 13-22.
- Wallaert, C. & Babin, P.J., 1992.** Effects of 17 beta -estradiol and starvation on trout plasma lipoprotein. *Lipids* 27 : 1032-1041.
- Wallaert, C. & Babin, P.J., 1994a.** Effects of temperature variations on dietary lipid absorption and plasma lipoprotein concentrations in trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comp. Biochem. Physiol.* 109B 473-487.
- Wallaert, C. & Babin, P.J., 1994b.** Age-related, sex-related, and seasonal changes of plasma lipoprotein concentrations in trout. *J. Lipid Res.* 35 : 1619-1633.
- Walton, M.J., 1986.** Metabolic effects of feeding a high protein/low carbohydrate diet as compared to a low protein/high carbohydrate diet to rainbow trout *Salmo gairdneri*. *Fish. Physiol. Biochem.* 1 : 7-15.
- Walton, M.J. & Cowey, C.B., 1982.** Aspects of intermediary metabolism in salmonid fish. *Comp. Biochem. Physiol.* 73B: 59-79.

- Walzem, R.L., Storebakken, T., Hung, S.S.O. & Hansen, R.J., 1991.** Relationship between growth and selected liver enzyme activities of individual rainbow trout. *J. Nutr.* 121 : 1090-1098.
- Wardlaw, G.M. & Snook, J.T., 1990.** Effect of diets high in butter, corn oil, or high-oleic acid sunflower oil on serum lipids and apolipoproteins in men. *Am. J. Clin. Nutr.* 51 : 815-821.
- Warman, A.W., 3rd & Bottino, N.R. 1978.** Lipogenic activity of catfish liver. Lack of response to dietary changes and insulin administration. *Comp. Biochem. Physiol.* 59B : 153-161.
- Watanabe, T., 1982.** Lipid nutrition in fish. *Comp. Biochem. Physiol.* 73B: 3-15.
- Wilson, A.C. & Williamson, I.P., 1970.** Fatty acid synthetase from the liver of the plaice, *Pleuronectes platessa*. *Biochem. J.* 117 : 26-27.
- Woollett, L.A., Spady, D.K. & Dietschy, J.M., 1989.** Mechanisms by which saturated triacylglycerols elevate the plasma low density lipoprotein-cholesterol concentration in hamsters. Differential effects of fatty acid chain length. *J. Clin. Invest.* 84 : 119-128.
- Woollett, L.A., Spady, D.K. & Dietschy, J.M., 1992a.** Regulatory effects of the saturated fatty acids 6:0 through 18:0 on hepatic low density lipoprotein receptor activity in the hamster. *J. Clin. Invest.* 89 : 1133-1141.
- Woollett, L.A., Spady, D.K. & Dietschy, J.M., 1992b.** Saturated and unsaturated fatty acids independently regulate low density lipoprotein receptor activity and production rate. *J. Lipid Res.* 33 : 77-88.
- Xu, J., Nakamura, M.T., Cho, H.P. & Clarke, S.D., 1999.** Sterol regulatory element binding protein-1 expression is suppressed by dietary polyunsaturated fatty acids. A mechanism for the coordinate suppression of lipogenic genes by polyunsaturated fats. *J. Biol. Chem.* 274 : 23577-23583.
- Yahagi, N., Shimano, H., Hasty, A.H., Amemiya-Kudo, M., Okazaki, H., Tamura, Y., Iizuka, Y., Shionoiri, F., Ohashi, K., Osuga, J., Harada, K., Gotoda, T., Nagai, R., Ishibashi, S. & Yamada, N., 1999.** A crucial role of sterol regulatory element-binding protein-1 in the regulation of lipogenic gene expression by polyunsaturated fatty acids. *J. Biol. Chem.* 274 : 35840-35844.
- Yamauchi, T., Stegeman, J.J. & Goldberg, E., 1975.** The effects of starvation and temperature acclimation on pentose phosphate pathway dehydrogenases in brook trout liver. *Arch. Biochem. Biophys.* 167 : 13-20.
- Yokoyama, W.H., 2004.** Plasma LDL cholesterol lowering by plant phytosterols in a hamster model. *Trends Food Sci. Tech.* 15 : 528-531.
- Yoshikawa, T., Shimano, H., Yahagi, N., Ide, T., Amemiya-Kudo, M., Matsuzaka, T., Nakakuki, M., Tomita, S., Okazaki, H., Tamura, Y., Iizuka, Y., Ohashi, K., Takahashi, A., Sone, H., Osuga Ji, J., Gotoda, T., Ishibashi, S. & Yamada, N., 2002.** Polyunsaturated fatty acids suppress sterol regulatory element-binding protein 1c promoter activity by inhibition of liver X receptor (LXR) binding to LXR response elements. *J. Biol. Chem.* 277 : 1705-1711.
- Yu, F.G., Ando, S. & Hayashi, S., 1992.** Conversion of the lipoprotein secreted by cultured eel hepatocytes to high density lipoprotein. *Comp. Biochem. Physiol.* 103B : 321-327.

- Yu, S., Derr, J., Etherton, T.D. & Kris-Etherton, P.M., 1995.** Plasma cholesterol-predictive equations demonstrate that stearic acid is neutral and monounsaturated fatty acids are hypocholesterolemic. *Am. J. Clin. Nutr.* 61 : 1129-1139.
- Zampelas, A., Murphy, M., Morgan, L.M. & Williams, C.M., 1994.** Postprandial lipoprotein lipase, insulin and gastric inhibitory polypeptide responses to test meals of different fatty acid composition: comparison of saturated, n-6 and n-3 polyunsaturated fatty-acids. *Eur. J. Clin. Nutr.* 48 : 849-858.
- Zhou, S., Ackman, R.G. & Morrison, C., 1995.** Storage of lipids in the myosepta of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Fish Physiol. Biochem.* 14: 171-178.
- Zock, P.L., de Vries, J.H. & Katan, M.B., 1994.** Impact of myristic acid versus palmitic acid on serum lipid and lipoprotein levels in healthy women and men. *Arterioscler. Thromb.* 14 : 567-575.



**Résumé : Effet du taux et de la nature des lipides alimentaires sur les mécanismes intervenant dans la constitution des dépôts lipidiques (transport, captage, synthèse) chez la truite arc-en-ciel et le bar**

Le remplacement de l'huile de poisson des aliments par un mélange d'huiles végétales sur une période d'élevage supérieure à un an, n'affecte pas la croissance ni la lipogenèse hépatique et le captage tissulaire des lipides chez la truite arc-en-ciel et le bar Européen. Cependant, cette substitution diminue la concentration en cholestérol plasmatique chez les deux espèces ainsi que la teneur en LDL chez la truite. La teneur en lipides musculaires des poissons n'est pas affectée par un tel remplacement mais la composition en acides gras de la chair est modifiée et reflète en grande partie celle de la source lipidique de l'aliment.

L'augmentation de la teneur en lipides de l'aliment inhibe la lipogenèse hépatique mais ne modifie pas le captage des lipides par les tissus chez le bar ainsi que chez deux lignées de truites sélectionnées sur la teneur en lipides du muscle. Chez le bar, le taux de lipides de l'aliment a un impact moins important sur la croissance et sur le métabolisme lipidique que la température d'élevage. Chez cette espèce, l'augmentation de la température augmente la capacité de lipogenèse hépatique ainsi que les teneurs en VLDL et LDL plasmatiques et diminue la proportion des composants de surface (phospholipides et protéines) de ces deux classes de lipoprotéines. La synthèse endogène des lipides et les capacités de captage tissulaire des lipides ne permettent pas au stade précoce de différencier les deux lignées de truites.

**Mots-clés :** bar, lipides alimentaires, lipogenèse, lipoprotéines, lipoprotéine lipase, truite arc-en-ciel

**Abstract : Effect of amount and composition of dietary lipids on mechanisms involved in lipid deposition (transport, uptake, synthesis) in rainbow trout and seabass**

Replacement of dietary fish oil by a blend of vegetable oils for more than a year does not affect growth, hepatic lipogenesis and tissue lipid uptake in rainbow trout and European seabass. However, this replacement decreases plasma cholesterol level in both species and LDL amount in rainbow trout. Such replacement does not affect muscle lipid content of fish but modifies fatty acid composition of fish flesh which reflects in most part that of dietary lipid source.

Increasing dietary lipid level inhibits hepatic lipogenesis but does not modify tissue lipid uptake in seabass and in two trout lines selected for muscle lipid level. In seabass, dietary lipid level had a lower impact on growth and lipid metabolism than rearing temperature. In this species, increasing temperature enhances hepatic lipogenesis, increases plasma VLDL and LDL amount and depletes surface component proportions (phospholipids and proteins) in these two lipoprotein classes. Both rainbow trout lines cannot be differentiated by endogeneous synthesis of lipid or by tissue lipid uptake ability.

**Key words :** dietary lipid, lipogenesis, lipoprotein lipase, lipoproteins, rainbow trout, seabass





**Résumé : Effet du taux et de la nature des lipides alimentaires sur les mécanismes intervenant dans la constitution des dépôts lipidiques (transport, captage, synthèse) chez la truite arc-en-ciel et le bar**

Le remplacement de l'huile de poisson des aliments par un mélange d'huiles végétales sur une période d'élevage supérieure à un an, n'affecte pas la croissance ni la lipogenèse hépatique et le captage tissulaire des lipides chez la truite arc-en-ciel et le bar Européen. Cependant, cette substitution diminue la concentration en cholestérol plasmatique chez les deux espèces ainsi que la teneur en LDL chez la truite. La teneur en lipides musculaires des poissons n'est pas affectée par un tel remplacement mais la composition en acides gras de la chair est modifiée et reflète en grande partie celle de la source lipidique de l'aliment.

L'augmentation de la teneur en lipides de l'aliment inhibe la lipogenèse hépatique mais ne modifie pas le captage des lipides par les tissus chez le bar ainsi que chez deux lignées de truites sélectionnées sur la teneur en lipides du muscle. Chez le bar, le taux de lipides de l'aliment a un impact moins important sur la croissance et sur le métabolisme lipidique que la température d'élevage. Chez cette espèce, l'augmentation de la température augmente la capacité de lipogenèse hépatique ainsi que les teneurs en VLDL et LDL plasmatiques et diminue la proportion des composants de surface (phospholipides et protéines) de ces deux classes de lipoprotéines. La synthèse endogène des lipides et les capacités de captage tissulaire des lipides ne permettent pas au stade précoce de différencier les deux lignées de truites.

**Mots-clés :** bar, lipides alimentaires, lipogenèse, lipoprotéines, lipoprotéine lipase, truite arc-en-ciel

**Abstract : Effect of amount and composition of dietary lipids on mechanisms involved in lipid deposition (transport, uptake, synthesis) in rainbow trout and seabass**

Replacement of dietary fish oil by a blend of vegetable oils for more than a year does not affect growth, hepatic lipogenesis and tissue lipid uptake in rainbow trout and European seabass. However, this replacement decreases plasma cholesterol level in both species and LDL amount in rainbow trout. Such replacement does not affect muscle lipid content of fish but modifies fatty acid composition of fish flesh which reflects in most part that of dietary lipid source.

Increasing dietary lipid level inhibits hepatic lipogenesis but does not modify tissue lipid uptake in seabass and in two trout lines selected for muscle lipid level. In seabass, dietary lipid level had a lower impact on growth and lipid metabolism than rearing temperature. In this species, increasing temperature enhances hepatic lipogenesis, increases plasma VLDL and LDL amount and depletes surface component proportions (phospholipids and proteins) in these two lipoprotein classes. Both rainbow trout lines cannot be differentiated by endogeneous synthesis of lipid or by tissue lipid uptake ability.

**Key words :** dietary lipid, lipogenesis, lipoprotein lipase, lipoproteins, rainbow trout, seabass