

## Etude du métabolisme du cholestérol marqué au $^{14}\text{C}$ chez le Poussin

A. G. RICO, J. C. GODFRAIN, V. BURGAT-SACAZE,  
P. BÉNARD, J. P. BRAUN

Note présentée par M. PANTALÉON

L'utilisation des isotopes en Médecine et Biologie a permis de suivre la dynamique de nombreux métabolismes, ce qu'il est difficile de faire avec d'autres techniques. Parallèlement aux méthodes de mesure de la radioactivité, s'est développée la méthode autoradiographique, imaginée par BECQUEREL (1896) (1), LACASSAGNE et LATTES (1924) (3) qui lui ont donné son nom. Cette autoradiographie très tôt appliquée à la Biologie, s'est imposée en Physiologie et en Pharmacologie grâce aux travaux d'ULLBERG (1958) (4) inventeur de la méthode d'autoradiographie du corps entier : « Whole body autoradiography ».

C'est cette technique que nous avons utilisée pour tenter une approche du métabolisme du cholestérol exogène chez le poussin.

### I. PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

1.1. Cholestérol marqué : la molécule de cholestérol marqué au  $^{14}\text{C}$  dans son carbone  $\text{C}_4$  nous a été livrée par le Commissariat à l'Energie atomique Saclay France. Elle présentait les caractéristiques suivantes :

— Activité spécifique : 35 à 45 mCi par millimole soit 35 à 45 mCi pour 386 mg.

— Conservation : livrée en solution benzénique (0,1 à 1 mCi/ml)-ampoule scellée sous azote à conserver au froid ( $-25\text{ }^\circ\text{C}$ ).

— Pureté radiochimique : contrôlée par chromatographie en couche mince.

— Support : silicagel G.

- Solvant 1 : — Cyclohexane : 70, acétate d'éthyle : 30  
2 : — Benzène : 20, acétate d'éthyle : 10  
3 : — Benzène : 50, éther : 50
- Valeur : 99 p. 100.

1.2. Animaux : les expérimentations ont porté sur 18 poussins de moins de 6 jours pesant de 45 à 60 g le jour de l'administration.

1.3. Administration de cholestérol et échelonnement des temps de survie :

Les animaux ont reçu par sonde œsophagienne 40 NCi par kilogramme de cholestérol radioactif.

Ils ont été sacrifiés par congélation à  $-70^{\circ}\text{C}$  après les temps de survie suivants : 1, 2, 6, 12, 26, 36, 48, 72, 96 heures.

1.4. Autoradiographie macroscopique de coupes d'animal entier :

Les coupes sagitales de poussin ont été obtenues à l'aide de la technique d'ULLBERG (4) modifiée par GOHEN et DELASSUE (2).

#### PRINCIPE :

— Après congélation, l'animal est découpé en tranches de quelques microns. Ces coupes sont desséchées, puis appliquées sur films. Après un temps variable d'exposition, déterminée expérimentalement, compte tenu de la dose injectée et de l'énergie du radio-élément, le film est développé. La lecture se fait par comparaison avec la coupe correspondante.

#### TECHNIQUE :

— Congélation du poussin anesthésié par immersion dans un bain réfrigérant d'azote liquide ( $-70^{\circ}\text{C}$ ) durant 8 heures.

— Coupes du poussin à l'aide d'un microtome spécial à grande platine réfrigérée :

- épaisseur des coupes : 20  $\mu$ .

Les coupes sont recueillies sur support Scotch.

— Mise en congélation immédiate dans un congélateur des coupes précédentes durant 15 jours :

- but : dessiccation des coupes sous forme congelée.

— Mise en dessiccateur durant 5 heures des coupes à la sortie du congélateur pour éviter la condensation.

— Application des coupes en chambre noire sur films Kodirex. Après application, les films et les coupes sont pressés entre deux plaques de verre et placés au réfrigérateur.

— Développement du film : après un temps variable d'exposition déterminé expérimentalement : 4 à 20 jours dans cette expérience.

## II. — RÉSULTATS

### 2.1. Temps de survie : 1 et 2 heures :

- durée d'exposition : 6 jours.

On observe une radioactivité importante dans le ventricule sacculaire et l'intestin. L'imprégnation de la muqueuse intestinale atteste du début de l'absorption. Le foie n'a pas encore été pénétré.

### 2.2. Temps de survie : 6 heures :

- durée d'exposition : 6 jours.

Imprégnation intestinale nette — présence de cholestérol dans le cloaque.

### 2.3. Temps de survie : 12 heures :

- durée d'exposition : 10 jours.

A 12 heures, le cholestérol imprègne encore fortement la muqueuse intestinale. Il est aussi présent dans le gésier. On note une imprégnation nette du foie, légère du rein et du sang. Dans le foie, les taches plus claires appartiennent à des sections de vaisseaux sanguins. Aucune radioactivité n'est décelée, ni dans les masses musculaires particulièrement gésier et cœur, ni dans l'axe cérébrospinal.

### 2.4. Temps de survie : 26 heures :

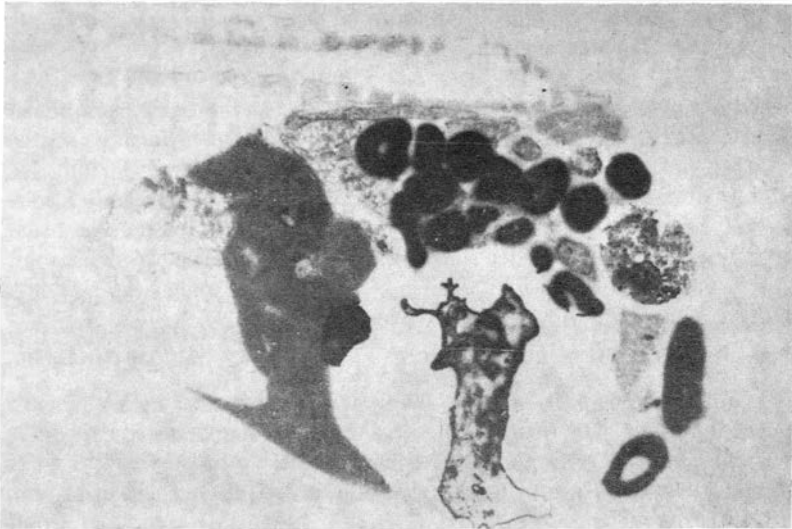
- durée d'exposition : 10 jours.

L'autoradiographie montre des images analogues à celles décrites précédemment. On observe en plus une imprégnation nette de la vésicule biliaire. On aperçoit nettement la veine porte et l'aorte postérieure ainsi que la masse rénale. On distingue aussi la section de l'axe vertébral.



● durée d'exposition : 15 jours.

Images analogues mais le film est plus impressionné. On aperçoit en particulier l'axe vertébral et la vésicule biliaire. Présence de radioactivité dans les masses musculaires.



2.5. Temps de survie : 36 heures :

- durée d'exposition : 20 jours.

Le foie est toujours très fortement imprégné de même que l'intestin. La radioactivité musculaire est légère.

2.6. Temps de survie : 48 heures :

- durée d'exposition : 10 jours.

L'impression du film est plus légère. Les organes les plus impressionnés restent toujours le foie, l'intestin et la vésicule biliaire particulièrement chargée.

- durée d'exposition : 20 jours.

Les masses musculaires sont très légèrement radioactives. L'œil apparaît sur le film. Le cerveau ne présente aucune trace de radioactivité.

2.7. Temps de survie : 72 et 96 heures :

- 72 heures-exposition : 15 jours.

La radioactivité est plus faible. On observe les mêmes éléments décrits précédemment.

- 96 heures-exposition : 20 jours.

Mêmes remarques que pour le film de 48 heures exposé dans les mêmes conditions.

### III. — DISCUSSION

A la lumière de ces quelques résultats fragmentaires nous pouvons déjà tirer quelques conclusions quant au métabolisme du cholestérol chez le poussin.

Administré par voie buccale, il est absorbé relativement lentement. Les organes dans lesquels il se fixe plus intensément sont : la vésicule biliaire, le foie, et l'intestin. L'imprégnation importante durant 96 heures de ces trois organes, laisse supposer l'existence d'un cycle entérohépatique.

Il faut souligner aussi, sa fixation précoce dans la moelle osseuse rouge des corps vertébraux, sa présence à partir de la 12<sup>e</sup> heure dans

le rein, une imprégnation discrète des masses musculaires et pratiquement nulle de l'axe cérébrospinal à la fin de cette expérimentation.

L'élimination paraît lente et semble se faire essentiellement par voie digestive.

En conclusion, l'étude de la répartition chez le poussin du cholestérol marqué au  $^{14}\text{C}$  par autoradiographie a mis en évidence une absorption digestive relativement lente ainsi qu'une élimination par cette même voie.

Outre l'imprégnation importante du tractus intestinal, du foie et de la vésicule biliaire, ce qui laisse supposer l'existence d'un cycle entérohépatique elle a révélé la fixation de la molécule dans la moelle osseuse rouge des corps vertébraux, sa pénétration discrète dans les masses musculaires et pratiquement nulle dans le système nerveux central. Cette non-pénétration du tissu nerveux ne peut que surprendre lorsque l'on sait la richesse d'un tel tissu en cholestérol.

#### BIBLIOGRAPHIE

1. BECQUEREL (H). — *C. R. Acad. Sci.*, 1896, **122**, 420-421.
  2. GOHEN (Y) et DELASSUE (H). — Modification de la méthode d'autoradiographie de S. ULLBERG sur coupes de souris entières. *C. R. Soc. Biol.*, 1959, **153**, 300-304.
  3. LACASSAGNE (A) et LATTES (J. S.). — *C. R. Acad. Sci.*, 1924, **178**, 488-490.
  4. ULLBERG (S). — Autoradiographies studies on the distribution of labelled drugs in the body. Second Intern. Conf. Peaceful Uses Atomic Energy, Geneva 1958, 24, 248-254.
-