

## **La vitamine E : comparaison de l'efficacité d'incorporation de l'alpha-tocophérol dans les organes par rapport au gamma-tocophérol**

Jean-Marie BOURRE \*, Michel CLÉMENT

### INTRODUCTION

Le rôle biologique majeur de la vitamine E est de protéger les acides gras polyéthyléniques contre l'oxydation, éventuellement radicalaire. En effet, toutes les membranes cellulaires de l'organisme sont formées de lipides contenant des quantités importantes d'acides gras polyéthyléniques à très longues chaînes, très sensibles aux réactions d'oxydation et nécessitant, par conséquent, des protections efficaces. Celles-ci sont fournies, principalement sinon exclusivement, par la vitamine E. De ce fait, cette vitamine est impliquée dans la protection contre un grand nombre de mécanismes, y compris la lutte contre l'ischémie et le vieillissement (en particulier cérébral).

Le terme générique de vitamine E regroupe un grand nombre de molécules chimiquement différentes. Il s'agit des alpha, bêta, gamma et delta-tocophérols et des alpha, bêta, gamma et delta-tocotriénols. Chacune de ces molécules possède une activité biologique différente ; dans les conditions normales, les membranes biologiques des mammifères ne contiennent que de l'alpha-tocophérol. La chaîne latérale phytyl, insaturée dans les tocotriénols, est saturée dans les tocophérols. Par ailleurs, la présence de carbones asymétriques fait naître des stéréoisomères, parmi lesquels seul le RRR-alpha-tocophérol serait le seul qui soit physiologique.

Les vitamines C, E et A jouent des rôles très variés et très importants au niveau de tous les tissus, y compris du cerveau [1-3]. Ces trois vitamines, directement impliquées dans les mécanismes de protection contre les peroxydations [4-5] et qui doivent être extrêmement puissantes au niveau du cerveau, sont très mal connues. Si la présence de la vitamine E dans le cerveau est connue depuis longtemps, sa localisation aux niveaux cellulaire et subcellulaire, voire régional, a été très peu sinon pas, étudiée [6]. De plus, ses modalités de transport ne sont

\* Unité de neuro-pharmaco-nutrition, INSERM U 26, Hôpital Fernand Widal, 200 rue du Faubourg Saint-Denis, 75475 Paris cedex 10. — Tel : 40 05 43 40 — Fax : 40 34 40 64.

*Tirés-à-part* : Professeur Jean-Marie BOURRE, à l'adresse ci-dessus.

*Article reçu le 3 janvier 1996, accepté le 25 mars 1996.*

pas clairement définies. Enfin, les rapports existant entre le contenu alimentaire en vitamine E et son niveau cérébral ont été récemment abordés [7].

Cependant, la vitamine E donne lieu, chez l'homme, à une pathologie par déficience due à des carences d'apport (sous-nutrition, enfants prématurés), d'absorption (malabsorption des graisses) ou de transport (alpha-bêta-lipoprotéïnémie [8-12]). Les carences de l'enfant [13-14] se traduisent par la constitution progressive de neuropathies [15] et de rétinopathies [16]. On admet que la cellule contient en moyenne 1 mg de vitamine E pour 600 mg d'acides gras polyéthyléniques (1 % est proposé dans l'alimentation), afin de protéger les acides gras polyéthyléniques contre les peroxydations [17-18].

Dans les apports aux nourrissons [19] et aux personnes âgées en particulier, il convient de distinguer la vitamine E (et plus particulièrement son isomère alpha).

Deux revues récentes présentent les intérêts de la vitamine E, tant chez l'homme que chez les modèles animaux [20, 21].

La vitamine E étant manifestement impliquée dans de nombreux processus biochimiques et physiologiques, il est important de déterminer si tous ses isomères (en particulier alpha et gamma) présentent la même activité, ce qui constitue le but de ce travail, avant d'intégrer le concept de biodisponibilité, un concept en pleine évolution [22].

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

### **Captation préférentielle de l'alpha-tocophérol par rapport au gamma-tocophérol.**

Au 14<sup>e</sup> jour de gestation, des rates (wistar) ont été soumises à un régime carencé en vitamine E. Après les naissances et pendant l'allaitement, le même régime a été poursuivi. Leurs petits ont été nourris de même. A 60 jours, les animaux ont été divisés en deux lots : le premier a reçu une alimentation semi-synthétique carencée en vitamine E mais supplémentée en RRR-alpha-tocophérol (30 mg/kg d'alimentation); le régime du deuxième lot a été supplémenté par la même quantité de RRR gamma-tocophérol.

La cinétique a été mesurée en déterminant la concentration en tocophérols dans divers organes chez des animaux sacrifiés à des temps croissants après le changement de régime.

### **Effet de doses croissantes de gamma-tocophérol sur l'utilisation de l'alpha-tocophérol.**

Des rates (wistar) ont été soumises à un régime alimentaire carencé en vitamine E à partir du 14<sup>e</sup> jour de gestation. Les rats, issus de ces portées, ont

été nourris avec le même régime carencé. A l'âge de 60 jours, 6 lots ont été individualisés : le premier a reçu un régime contenant du gamma tocophérol, les autres des régimes contenant la même quantité d'alpha-tocophérol, mais des quantités croissantes de gamma-tocophérol (le rapport gamma/alpha-tocophérol allant de 1 à 5, selon les lots). Les animaux ont été sacrifiés à l'âge de 120 jours, soit 60 jours après le changement de régime et ont reçu 2,4 mg/kg/jour d'alpha-tocophérol, avec les 4 régimes. Concernant le gamma-tocophérol, le premier groupe (R1) a reçu 2,4 mg/kg/jour ; le deuxième groupe 4,8 mg/kg/jour ; le troisième 9,6 mg/kg/jour ; le quatrième 12 mg/kg/jour. Les animaux témoins (E+) ont reçu 2,4 mg/kg/jour d'alpha-tocophérol, les animaux contrôle (G+) ont reçu 2,4 mg/kg/jour de gamma-tocophérol. Le poids des animaux, au début de l'expérimentation, était d'environ 250 grammes, leur consommation journalière moyenne d'aliments de 20 g/jour.

Les tissus ont été traités selon la méthode mise au point au laboratoire ; le dosage des tocophérols a été réalisé par chromatographie liquide à haute pression, ainsi qu'il a été précédemment décrit [23]. Les analyses statistiques ont été réalisées en effectuant une analyse de variance puis en utilisant le test de Student-Newman-Kewls.

## RÉSULTATS

### **Captation préférentielle de l'alpha-tocophérol par rapport au gamma-tocophérol.**

Ré-alimenter des rats carencés en vitamine E avec de l'alpha-tocophérol se traduit par une augmentation régulière en fonction du temps, de la quantité de cette molécule dans le cerveau et le foie (figures 1 et 2), ainsi que dans le cervelet, le nerf sciatique et le muscle (résultats non montrés). Dans le système nerveux, le niveau optimum (celui des animaux non-carencés) n'est pas atteint en l'espace de 8 semaines ; ce résultat montre la lenteur de récupération des tissus nerveux (comme cela a été observé avec les acides gras polyéthyléniques). En revanche, le niveau optimum d'alpha-tocophérol est atteint en 2 semaines environ dans le foie et le sérum.

Ré-alimenter les animaux avec du gamma-tocophérol se traduit par une augmentation de la concentration de cette molécule dans le foie ; le plateau est atteint en 2 semaines environ (figure 1) ; il est nettement inférieur au niveau obtenu avec l'alpha-tocophérol : environ 4 fois moins (figure 1). Dans le muscle (résultat non montré), la captation est linéaire, le plateau n'est pas atteint dans les 8 semaines ; le niveau est 4 fois inférieur à celui obtenu avec l'alpha-tocophérol. La présence de gamma-tocophérol ne modifie que peu la concentration de l'alpha-tocophérol résiduel.

Dans le cerveau, la concentration de gamma-tocophérol n'atteint pas celle de l'alpha-tocophérol résiduel (figure 2) ; le plateau n'est pas atteint en 8 semai-

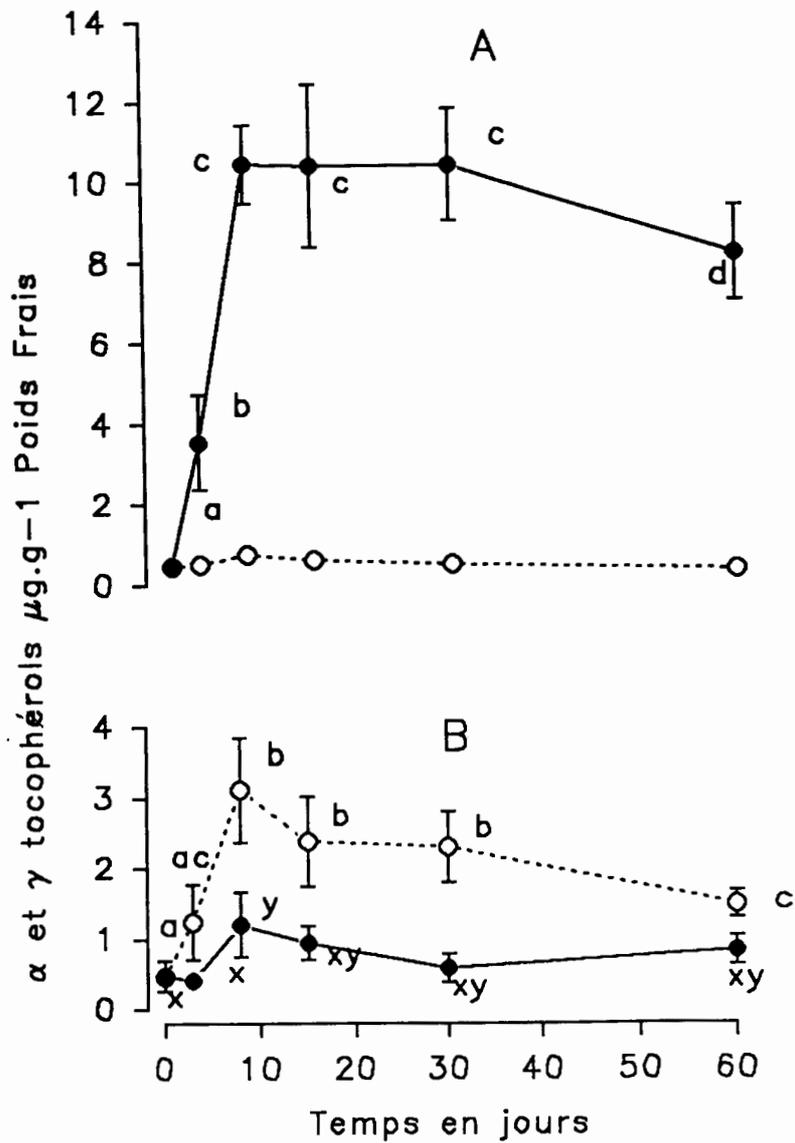


FIG. 1. — Cinétiques de captation de l'alpha et du gamma-tocophérol par le foie. Des rats, préalablement nourris avec une alimentation déficiente en vitamine E, ont été alimentés pendant 8 semaines par un régime contenant soit (A) du RRR-alpha-tocophérol (30 mg/Kg de nourriture), soit (B) du RRR-gamma-tocophérol (30 mg/Kg). Les animaux ont été sacrifiés à des temps variables après la ré-alimentation. Chaque point représente la moyenne  $\pm$  SD, pour 6 rats. Les valeurs ne portant pas le même index sont significativement différentes à  $P \leq 0,05$ . ● : alpha-tocophérol ; ○ : gamma-tocophérol.

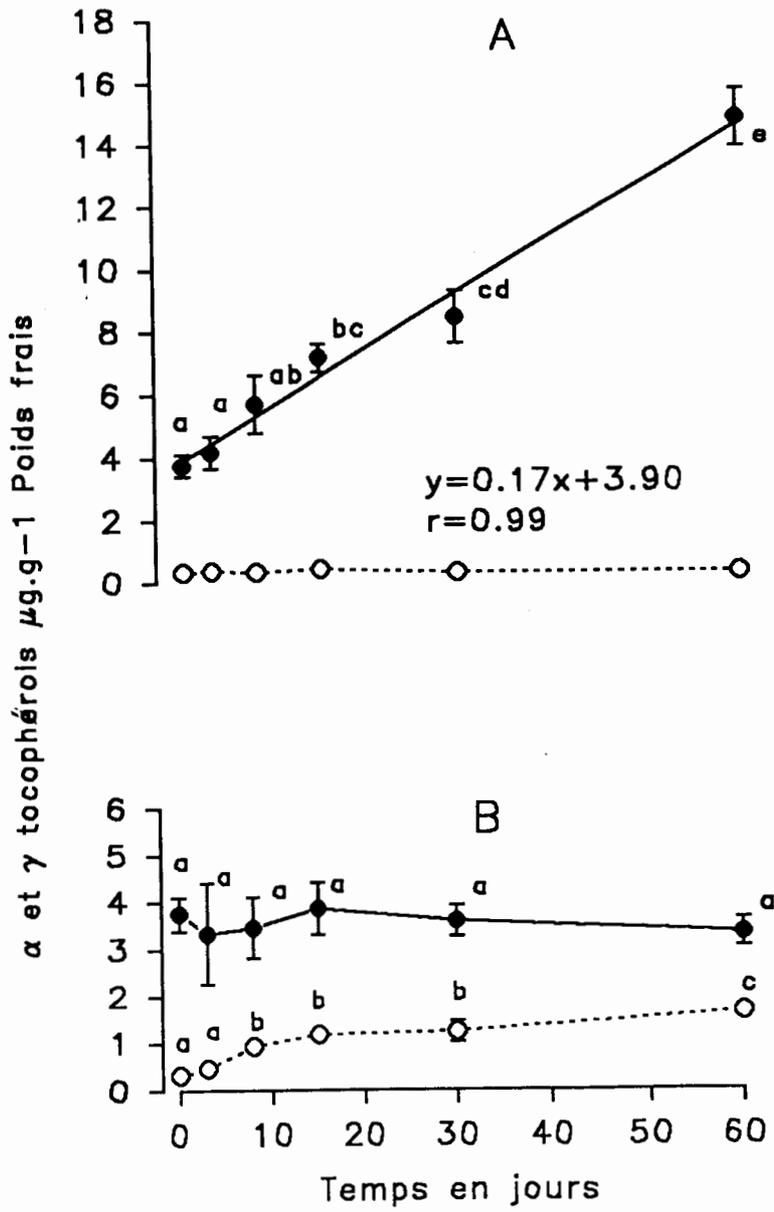


Fig. 2 — Cinétiques de captation de l'alpha et du gamma-tocophérol par le cerveau. Même légende que pour la figure 1.

nes. Dans le nerf sciatique et le cervelet (mais pas dans le cerveau), l'accroissement du gamma-tocophérol en fonction du temps est parallèle avec une légère (mais significative) diminution de l'alpha-tocophérol résiduel (résultats non montrés).

Dans tous les organes considérés, le gamma-tocophérol est donc beaucoup moins capté que l'alpha-tocophérol par les animaux carencés en vitamine E. Le gamma-tocophérol ne supplée donc pas l'alpha-tocophérol dans les tissus (et donc dans les membranes).

Ces études montrent que, chez les animaux carencés en alpha-tocophérol, celui-ci, bien que liposoluble, ne repasse pas du cerveau vers le sang (alors que le différentiel de concentration est très important). Par ailleurs, la carence touche de manière beaucoup plus importante les organes autres que le cerveau. Il y a donc une préservation de l'alpha-tocophérol dans le système nerveux (elle pourrait être altérée lors de certains processus pathologiques).

#### **Effet de doses croissantes de gamma-tocophérol sur l'utilisation de l'alpha-tocophérol (tableau 1).**

Chez les animaux carencés en vitamine E jusqu'au 60<sup>e</sup> jour, ayant reçu ensuite un régime non carencé en vitamine E jusqu'au 120<sup>e</sup> jour, la récupération de l'alpha-tocophérol est presque totale dans le cerveau (87,9 %) et le cœur (81,9 %), partielle dans le muscle (68,4 %), le foie (59,7 %) et le sérum (54,1 %). Chez les animaux carencés en vitamine E et recevant du gamma-tocophérol à partir du 60<sup>e</sup> jour, le taux basal de gamma-tocophérol est augmenté dans tous les organes : 114 % dans le cerveau, 96,8 % dans le foie, 78 % dans le muscle, 180 % dans le cœur, 90 % dans le sérum. Chez ces animaux, le taux basal d'alpha-tocophérol n'est pas significativement modifié par rapport à celui des animaux carencés, sauf pour le nerf sciatique.

Dans tous les organes étudiés (cerveau, nerf sciatique, foie, cœur, muscle, sérum), l'augmentation de gamma-tocophérol dans l'alimentation induit un accroissement de cet isomère.

De plus, l'augmentation de gamma-tocophérol entraîne aussi une augmentation de l'alpha-tocophérol. Ce résultat est inattendu car il était légitime de penser que le gamma-tocophérol réduirait, par compétition, l'utilisation de l'isomère alpha.

Pour un rapport gamma-tocophérol/alpha-tocophérol de 5, l'augmentation totale de vitamine E (alpha + gamma) est variable selon les organes : 24 % dans le cerveau, 52,4 % dans le foie, 71,6 % dans le cœur, 83,3 % dans le sérum, 69,2 % dans le muscle et 40 % dans le nerf sciatique.

Inversement, la présence d'alpha-tocophérol semble augmenter l'incorporation de gamma-tocophérol, sauf pour le cerveau et le nerf sciatique.

TABLEAU 1. — Effet de teneurs croissantes en gamma-tocophérol sur la concentration d'alpha-tocophérol dans les tissus.

		T 60 jours ⇒ T 120 jours					
		E+	G+	R1	R2	R3	R4
Sérum	α	4,09 ± 0,42	0,24 ± 0,02	5,70 ± 0,53	5,56 ± 0,50	6,34 ± 0,98	6,66 ± 0,68
	γ	0,28 ± 0,02	0,52 ± 0,05	0,53 ± 0,11	0,69 ± 0,13	0,88 ± 0,07	1,34 ± 0,50
	α + γ	4,36 ± 0,41	0,76 ± 0,06	6,23 ± 0,63	6,25 ± 0,62	7,21 ± 0,97	8,00 ± 1,05
	γ/α.10 <sup>2</sup>	6,80 ± 1,13	216,4 ± 25,0	9,20 ± 1,15	12,33 ± 1,34	14,09 ± 2,48	19,88 ± 6,20
Foie	α	14,49 ± 1,24	0,58 ± 0,09	15,60 ± 1,00	14,40 ± 0,88	17,33 ± 1,25	18,72 ± 2,04
	γ	0,85 ± 0,09	1,68 ± 0,22	1,73 ± 0,42	1,87 ± 0,11	2,74 ± 0,26	4,65 ± 1,15
	α + γ	15,34 ± 1,25	2,26 ± 0,29	17,33 ± 1,28	16,27 ± 0,79	20,06 ± 1,36	23,37 ± 2,84
	γ/α.10 <sup>2</sup>	5,92 ± 0,81	290,1 ± 28,2	11,06 ± 2,32	13,04 ± 1,57	15,81 ± 1,65	24,77 ± 4,84
Coeur	α	24,07 ± 1,83	0,80 ± 0,08	28,53 ± 1,35	30,89 ± 1,26	34,66 ± 1,28	34,46 ± 1,81
	γ	0,78 ± 0,09	2,18 ± 0,25	3,26 ± 0,77	4,01 ± 0,28	6,02 ± 0,71	8,17 ± 1,26
	α + γ	24,85 ± 1,86	2,99 ± 0,18	31,79 ± 2,07	34,90 ± 1,25	40,69 ± 1,15	42,63 ± 1,75
	γ/α.10 <sup>2</sup>	3,24 ± 0,39	275,3 ± 55,2	11,37 ± 2,20	13,40 ± 1,10	17,42 ± 2,46	23,84 ± 4,50
Muscle	α	7,92 ± 0,78	0,29 ± 0,05	9,76 ± 0,65	9,67 ± 0,87	11,66 ± 0,86	10,18 ± 0,65
	γ	0,61 ± 0,07	1,08 ± 0,10	1,80 ± 0,34	2,35 ± 0,34	3,54 ± 0,36	4,24 ± 0,57
	α + γ	8,52 ± 0,75	1,38 ± 0,13	11,55 ± 0,55	12,02 ± 1,12	15,20 ± 0,86	14,43 ± 1,01
	γ/α.10 <sup>2</sup>	7,75 ± 1,35	380,1 ± 60,8	18,55 ± 4,07	24,28 ± 2,52	30,47 ± 4,20	41,72 ± 5,29
Cerveau	α	16,97 ± 0,97	3,46 ± 0,21	18,69 ± 1,64	20,55 ± 2,40	20,06 ± 1,96	19,92 ± 1,09
	γ	0,50 ± 0,06	1,08 ± 0,07	0,95 ± 0,15	1,05 ± 0,10	1,41 ± 0,12	1,87 ± 0,20
	α + γ	17,48 ± 0,97	4,54 ± 0,23	19,63 ± 1,76	21,60 ± 2,48	21,47 ± 1,97	21,80 ± 1,02
	γ/α.10 <sup>2</sup>	2,96 ± 0,34	31,15 ± 2,89	5,04 ± 0,49	5,12 ± 0,31	7,07 ± 0,86	9,46 ± 1,40
Nerf sciatique	α	25,24 ± 2,17	5,73 ± 0,85	32,32 ± 1,05	29,62 ± 2,45	29,14 ± 2,01	29,86 ± 3,27
	γ	4,06 ± 0,35	5,97 ± 0,84	6,78 ± 0,61	7,82 ± 0,48	8,85 ± 1,31	11,35 ± 1,56
	α + γ	29,30 ± 1,98	11,70 ± 1,57	39,09 ± 1,16	37,44 ± 2,83	37,99 ± 2,06	41,21 ± 4,52
	γ/α.10 <sup>2</sup>	16,25 ± 2,47	104,9 ± 11,4	21,00 ± 2,06	26,44 ± 1,43	30,54 ± 5,74	38,06 ± 3,88

Les résultats (moyenne ± SD) sont exprimés en µg/ml pour le sérum, en µg/g de poids frais pour le foie, le cœur, le cerveau, le muscle et en µg/g de poids sec pour le nerf sciatique.

A partir du 60<sup>e</sup> jour chez des animaux carencés en vitamine E, et jusqu'au 120<sup>e</sup> jour, E+ signifie qu'ils ont reçu de l'alpha-d-tocophérol, G+ qu'ils ont reçu du gamma-tocophérol, R1 que le rapport entre l'alpha et le gamma-tocophérol a été de 1 (γ / α = 1), R2 de 2 (γ / α = 2), R3 de 4 (γ / α = 4) et R4 de 5 (γ / α = 5).

## DISCUSSION

L'efficacité d'absorption nette des tocophérols est beaucoup plus faible que pour les autres vitamines liposolubles ; une partie non négligeable est éliminée dans les fèces ou convertie par le foie en métabolites inefficaces. Par ailleurs, le site exact de la sélectivité de captation de l'alpha-tocophérol n'est pas précisément déterminé. Le processus d'absorption par l'intestin serait peu sélectif, quoique des protéines transporteuses dans le cytosol des cellules [24] semblent spécifiques [25, 26]. En revanche, l'incorporation dans les VLDL est spécifique de l'isomère RRR, y compris chez l'homme [27], mais la vitamine E est présente aussi dans d'autres lipoprotéines.

La compétition de captation lors de l'absorption intestinale est plus favorable à l'alpha-tocophérol qu'au gamma-tocophérol [28]. Le cerveau semble plus sélectif dans la captation et plus prioritaire dans ses besoins par rapport à d'autres organes [29-31].

Les résultats inattendus, présentés dans cette communication, sont actuellement difficilement interprétables et méritent incontestablement d'être approfondis.

Deux hypothèses peuvent être proposées : soit le gamma-tocophérol favorise l'incorporation de l'alpha-tocophérol, soit il induit un besoin supplémentaire d'alpha-tocophérol. Cette dernière hypothèse pourrait être la plus plausible.

Ces résultats, démontrant une spécificité de l'alpha-tocophérol, ont une implication en nutrition humaine et, par voie de conséquence, en productions agricoles, ainsi qu'en pharmacologie, c'est-à-dire dans la production de médicaments. Par ailleurs, les vétérinaires sont aussi concernés.

En effet, en France, il a été déterminé qu'au moins 60 % (Chazan, communication CNERNA), et probablement 75 % de la vitamine E qui est absorbée par les humains, proviennent exclusivement des huiles végétales. En conséquence, les huiles qui ne contiennent que de l'alpha-tocophérol doivent impérativement être favorisées par rapport à celles qui contiennent d'autres formes (or, certaines huiles contiennent plus de 50 % de vitamine E sous forme de gamma-tocophérol). Il a été déterminé [30] que la ration alimentaire, aux États-Unis, apporte deux à quatre fois plus de gamma-tocophérol que d'alpha-tocophérol. En effet, les huiles végétales qui apportent des acides gras polyéthyléniques doivent fournir l'antioxydant physiologique (l'alpha-tocophérol) pour le mammifère et non celui qui l'est beaucoup moins (le gamma-tocophérol), physiologique seulement pour les végétaux.

Sur un plan pharmacologique, les antioxydants sont de plus en plus prescrits dans le cadre de la prévention (et du traitement de certains aspects du vieillissement (y compris cérébral) et de la lutte contre les effets de l'ischémie

(en particulier générés par les radicaux libres). Ces résultats montrent qu'il serait illusoire de proposer l'utilisation d'autres molécules antioxydantes (au moins à visée membranaire) que l'alpha-tocophérol. Il est vraisemblable qu'il y ait aussi une stéréospécificité et que la seule molécule efficace soit l'alpha-d-tocophérol.

Du fait de ses effets pharmacologiques, la vitamine E et certains de ses isomères se situent donc aussi à la frontière du nutriment et du médicament [32].

En conclusion, il existe une sélectivité de captation et/ou d'utilisation de l'alpha-tocophérol ; celui-ci ne peut pas être remplacé par le gamma-tocophérol, tout au moins à des doses alimentaires.

De ce fait, il reste indispensable de déterminer si de fortes doses de gamma-tocophérol altèrent l'utilisation de l'alpha-tocophérol et modifient le profil des acides gras polyéthyléniques des membranes. Cette étude est en cours de réalisation au laboratoire. Il a été suggéré que les localisations subcellulaires de l'alpha et du gamma-tocophérol sont différentes chez les plantes [33] ; il pourrait être proposé qu'il puisse en être éventuellement de même chez les animaux, et que les structures des plantes qui contiennent le gamma-tocophérol n'aient pas leur équivalent chez les animaux ; d'où la bien moindre utilisation du gamma-tocophérol chez les animaux.

En effet, la nature des acides gras polyéthyléniques, en particulier ceux de la série  $\omega$ 3, module la structure et la fonction du cerveau [34]. Il est fondamental d'assurer leur protection et leur pérennité.

Dans les recherches épidémiologiques sur le statut vitaminique des individus [35], il sera sans doute judicieux de compléter, avec l'alpha-tocophérol, les chiffres donnant les quantités de vitamine E.

#### RÉSUMÉ

Ré-alimenter des rats carencés en vitamine E avec de l'alpha-tocophérol entraîne une augmentation de la quantité de cette molécule dans le cerveau et le foie (ainsi que dans le cervelet, le nerf sciatique et le muscle) ; le processus est régulier en fonction du temps. Le niveau optimum (celui des animaux non-carencés) n'est pas atteint dans le système nerveux en l'espace de 8 semaines de ré-alimentation ; ce résultat montre la lenteur de récupération des tissus nerveux (comme cela a été observé avec les acides gras polyinsaturés). En revanche, le niveau optimum d'alpha-tocophérol est atteint en 2 semaines environ dans le foie (et le sérum).

Ré-alimenter les animaux carencés en vitamine E avec du gamma-tocophérol induit une augmentation de la concentration de cette molécule dans le foie ; le plateau est atteint en 2 semaines environ, mais il est très inférieur au niveau obtenu avec l'alpha-tocophérol. Par ailleurs, la présence de gamma-tocophérol modifie peu la concentration de l'alpha-tocophérol résiduel.

Dans le système nerveux, point important, ré-alimenter les animaux carencés en vitamine E avec du gamma-tocophérol se traduit par un niveau de gamma-tocophérol qui n'atteint même pas celui de l'alpha-tocophérol résiduel.

Une deuxième série d'expérimentations a été réalisée chez les animaux carencés en vitamine E jusqu'au 60<sup>e</sup> jour, ayant reçu ensuite un régime non carencé jusqu'au 120<sup>e</sup> jour. Dans tous les organes étudiés (cerveau, nerf sciatique, foie, cœur, muscle, sérum), l'augmentation du rapport gamma/alpha-tocophérol (à alpha-tocophérol constant) entraîne aussi une augmentation de l'alpha-tocophérol. Inversement, la présence d'alpha-tocophérol semble augmenter l'incorporation de gamma-tocophérol, sauf pour le cerveau et le nerf sciatique. La présence de gamma-tocophérol paraît accroître les besoins en alpha-tocophérol.

Dans tous les organes considérés, le gamma-tocophérol est donc beaucoup moins capté que l'alpha-tocophérol par les animaux carencés en vitamine E. Le gamma-tocophérol ne supplée donc pas l'alpha-tocophérol dans les tissus (et donc dans les membranes). Cette spécificité d'utilisation de l'alpha-tocophérol est lourde d'implication en agronomie, en médecine vétérinaire, en nutrition humaine et en pharmacologie.

MOTS-CLÉS : TOCOPHÉROL, CARENCE. VITAMINE E. ACIDES GRAS INSATURÉS. MEMBRANES. ENCÉPHALE.

SUMMARY : *Vitamin E : comparison of the alpha-tocopherol incorporation efficiency in comparison with gamma-tocopherol.*

Refeeding rats deficient in vitamin E with alpha-tocopherol induces increased amount of this compound in brain, cerebellum, sciatic nerve and muscle. This increase is regular with time. The optimum level (corresponding to non-deficient animals) is not reached within 8 weeks after refeeding. Thus recovery is very slow for the nervous tissue (as it has been demonstrated for polyunsaturated fatty acids). In contrast, the optimum level is reached within 2 weeks for liver and serum.

Refeeding rat deficient in vitamin E with gamma-tocopherol induces an increase of this compound in the liver, the plateau is reached within 2 weeks, but is clearly lower than the one obtained with alpha-tocopherol : approximately 4 times lower. In the muscle, the uptake is linear with time, the plateau is not reached within 8 weeks, its level is 4 times lower than with alpha-tocopherol.

Important point : feeding animals deficient in vitamine E with gamma-tocopherol induces in the nervous system a level of gamma-tocopherol which is not the one of the residual alpha-tocopherol ; the plateau is not reached

within 8 weeks. In sciatic nerve and cerebellum (but not in the brain) increased amount of gamma-tocopherol as a function of time is parallel with a slight but significant reduction of the residual alpha-tocopherol.

In another experiment, rats were fed a diet deficient with vitamin E until 60 days of age. From this age, they received a non deficient diet until 120 days. In all organs, increasing the ratio gamma/alpha tocopherol (with a constant amount of alpha-tocopherol) induces an increase of alpha-tocopherol. This result is unexpected, as it was possible to propose that gamma-tocopherol could reduce alpha-tocopherol utilisation by competition.

Conversely, the presence of alpha-tocopherol seems to increase incorporation of gamma-tocopherol, except in brain and sciatic nerve.

The presence of gamma-tocopherol seems to induce increased need of alpha-tocopherol. This specificity for alpha-tocopherol is very important in terms of nutrition and pharmacology. In fact, at least to preserve biological membranes, it is important to provide only alpha-tocopherol, and not other molecules.

KEY-WORDS (Index Medicus) : VITAMIN E DEFICIENCY. VITAMIN E FATTY ACIDS. UNSATURATED. MEMBRANES. BRAIN.

#### BIBLIOGRAPHIE

- [1] BAKER H., FRANK O., CHEN T., FEINGOLD S., DEANGELIS B., BAKER E. — Vitamin content of some normal human brain segments. *J. Neurosci. Res.*, 1984, 11, 419-435.
- [2] BURTON G.W. — Vitamin E : antioxidant activity, biokinetics, and bioavailability. *Annu. Rev. Nutr.*, 1990, 10, 357-82.
- [3] SOKOL R.J. — Vitamin E deficiency and neurologic disease. *Annu. Rev. Nutr.*, 1988, 8, 351-373.
- [4] HALLIWELL B., GUTTERIDGE M.C. — Oxygen radicals and the nervous system, *TIBS*, 1985, 22-26.
- [5] FERRADINI C. — Espèces activées radicalaires de l'oxygène. *Biochimie*, 1986, 68, 779-785.
- [6] VATASSERY G.T., ANGERHOFER C.K., KNOX C.A., DESMUKH D.S. — Concentrations of vitamin E in various neuroanatomical regions and subcellular fractions and the uptake of vitamin by specific areas of rat brain. *Biochim. Biophys. Acta*, 1984, 792, 118-122.
- [7] BOURRE J.M. — La vitamine E : protection des acides gras polyéthyléniques membranaires contre les peroxydations radicalaires au cours du vieillissement cérébral, en particulier dans les capillaires et microvaisseaux cérébraux. *Bull. Acad. Natle. Méd.*, 1991, 175, 1305-1321.
- [8] ROSENBLUM J., KEATING J., PRENSKY A., NELSON J. — A progressive neurologic syndrome in children with chronic liver disease. *New Engl. J. Med.*, 1981, 304, 503-508.
- [9] MASON K.E. — Vitamin E and the nervous system. *Development. Med. & Child. Neurol.*, 1984, 26, 669-676.

- [10] MULLER D.P.R., LLOYD J.K., WOLFF O.H. — Vitamin E and neurological function. *The Lancet*, 1983, January 29, 225-229.
- [11] TOLONEN M., HALME M., SARNA S. — Vitamin E and selenium supplementation in geriatric patients. *Biol. Trace Element Res.*, 1985, 7, 161-168.
- [12] VAN VLEET J.F., FERRANS V.J. — Comparative pathology of selenium and vitamin E deficiency and excess. *Nutritional Diseases : Research Directions in Comparative Pathobiology*, 1986, 359-396.
- [13] BELL E., FILER L. — The role of vitamin E in the nutrition of premature infants. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1981, 34, 414-422.
- [14] HASSAN H., HASHIM S.A., VANLTALLIE T. — Syndrome in premature infants associated with low plasma vit. E levels and high PUFA diet. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1966, 19, 147-157.
- [15] LANDRIEU P., SELVA J., ALVAREZ F., ROPERT A., METRAL S. — Peripheral nerve involvement in children with chronic cholestasis and vitamin E deficiency; clinical, electrophysiological and morphological study. *Neuropediatr.*, 1985, 16, 194-201.
- [16] ALVAREZ F., LANDRIEU P., LAGET P., LEMONNIER F., ODIEVRE M., ALAGILLE D. — Nervous and ocular disorders in children with cholestasis and vitamin A and vitamin E deficiency. *Hepatology*, 1983, 3, 410-414.
- [17] KRUK P., ENESCO H.E. — Tocopherol reduces fluorescent age pigment levels in heart and brain of young mice. *Experientia*, 1981, 37, 1301-1302.
- [18] NODA Y., MCGEER P.L., MCGEER E.G. — Lipid peroxides in brain during aging and vitamin E deficient: Possible relations to changes in neurotransmitter indices. *Neurobiology of Aging*, 1982, 3, 173-178.
- [19] LESTRADET H., BOGGIO V., FANTINO M., ASTIER-DUMAS M. — Evolution des apports nutritionnels chez les nourrissons français. Comparaison de deux enquêtes nationales réalisées en 1981 et 1989. *Bull. Acad. Natle Med.*, 1992, 176, 899-907.
- [20] LEGER C.L. — Vitamine E, tocophérols et composés apparentés. *Polytechnica*, Paris, 1992.
- [21] PACKER L., FUCHS J. — Vitamin E in health and disease. Marcel Decker Editeur, New-York, 1993.
- [22] FERRANDO R. — Biodisponibilité : une notion générale méconnue. *Bull. Acad. Natle Med.*, 1985, 169, 411-416.
- [23] CLÉMENT M., BOURRE J.M. — Alteration of alpha-tocopherol content in the developing and aging peripheral nervous system : persistence of high correlations with total and specific (n-6) polyunsaturated fatty acids. *Neurochem.*, 1990, 54, 2110-2117.
- [24] MURPHY D.J., MAVIS R.D. — Membrane transfer of  $\alpha$ -tocopherol influence of soluble  $\alpha$ -tocopherol-binding factors from the liver lung, heart, and brain of the rat. *J. Biol. Chem.*, 1981, 25, 10464-10468.
- [25] VERDON C.P., BLUMBERG J.B. — Influence of dietary vitamin E on the intermembrane transfer of  $\alpha$ -tocopherol as mediated by an  $\alpha$ -tocopherol binding protein. *Society for Experimental Biology and Medicine*, 1988, 189, 52-60.
- [26] BJORNEBOE A., BJORNEBOE G.E., DREVON C.A. — Absorption, transport and distribution of vitamin E. *J. Nutr.*, 1990, 120, 233-242.
- [27] TRABER M.G., KAYDEN H.J. — Preferential incorporation of  $\alpha$ -tocopherol vs-tocopherol in human lipoproteins. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1989, 49, 517-26.
- [28] BEHRENS W.A., MARERE R. — Tissue discrimination between dietary RRR-  $\alpha$ - and all-raC- $\alpha$ -tocopherols in rats. *J. Nutr.*, 1991, 121, 454-459.

- [29] INGOLD K.U., BURTON G.W., FOSTER D.O., HUGUES L., LINDSAY D.A., WEDD A. — Biokinetics and discrimination between dietary RRR- and SRR- $\alpha$ -tocopherol in the male rat. *Lipids.*, 1987, 22, 163-172.
- [30] BEHRENS W.A., MADERE R.L.T. — Interrelationship and competition of  $\alpha$ - and  $\delta$ -tocopherol at the level of intestinal absorption, plasma transport and liver uptake. *Nutrition Research.*, 1983, 3, 891-897.
- [31] CLÉMENT M., DINH L., BOURRE J.M. — Uptake of dietary RRR- $\alpha$ -tocopherol and RRR- $\gamma$ -tocopherol by nervous tissue, liver and muscle in vitamine E-deficient rats. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1995, 1256, 175-180.
- [32] RAOUL Y. — Les vitamines : nutriments et médicaments, leur frontière. *Ann. Pharm. Fr.*, 1991, 49, 177-185.
- [33] NEWTON R.P., PENNOCK J.F. — The intracellular distribution of tocopherols in plants. *Phytochemistry*, 1971, 10, 2323-2328.
- [34] BOURRE J.M. — Nature, origine et rôle des acides gras du système nerveux : un acide gras essentiel, l'acide  $\alpha$ -linoléique, module la structure et la fonction cérébrales. *Bull. Acad. Natle. Méd.*, 1989, 173, 1137-1151.
- [35] RAOUL Y. — A propos d'une action de recherche épidémiologique sur le statut vitaminique des français. *Bull. Acad. Natle. Méd.*, 1984, 168, 520-521.

## DISCUSSION

M. Roger NORDMANN : Je souhaiterais vous féliciter d'avoir centré vos recherches sur le cerveau. En effet, la vitamine E y joue un rôle de premier plan dans la protection contre la lipoperoxydation, laquelle est pourtant favorisée, dans cet organe, par la richesse de l'oxygénation, l'abondance des substrats peroxydables (acides gras polyéthyléniques) et l'activité réduite de certains enzymes antioxydants (catalase glutathion peroxydase). Vos résultats démontrent que, comme cela était déjà connu au niveau de l'intestin, du foie et d'autres organes) le  $\gamma$ -tocophérol est beaucoup moins incorporé que l' $\alpha$ -tocophérol. Ils montrent également que l'augmentation du rapport  $\gamma/\alpha$  (à  $\alpha$ -tocophérol constant) entraîne une augmentation de l' $\alpha$ -tocophérol. Peut-on, à partir de ces données, conclure que la présence de  $\gamma$ -tocophérol paraît accroître les besoins en  $\alpha$ -tocophérol (ce qui donnerait une connotation « toxique » au  $\gamma$ -tocophérol) ? Ne peut-on soutenir, au contraire, que l'apport en  $\gamma$ -tocophérol a diminué les besoins en  $\alpha$ -tocophérol, diminution qui se traduirait par une élévation de la concentration de ce dernier. Seule une étude du *turn-over* cérébral de l' $\alpha$ -tocophérol (et de l'influence du  $\gamma$ -tocophérol sur celui-ci) nous semblerait permettre de répondre à cette question fondamentale pour les perspectives agricoles, nutritionnelles et vétérinaires que vous envisagez à si juste titre. Enfin, que pensez-vous de l'utilisation d'huile de palme préconisée par divers auteurs en raison de sa richesse en tocotriénols (moins biodisponibles que l' $\alpha$ -tocophérol mais à activité anti-oxydante plus élevée) ?

M. Jacques POLONOVSKI : Les premières recherches sur la comparaison de l'efficacité des  $\alpha$  et  $\gamma$ -tocophérols avaient abouti à la notion que le  $\gamma$ -tocophérol était trois fois moins efficace que l' $\alpha$ -tocophérol chez les animaux carencés : ceci impliquerait donc que le  $\gamma$ -tocophérol ait un rôle plus faible, mais néanmoins favorable et non toxique, sur ces animaux. Sait-on pourquoi la carence en vitamine E est assez spécifiquement impliquée dans la gestation ?

M. Yves RAOUL : 1)  $\alpha$  et  $\gamma$ -tocophérols se distinguant par un méthyl de plus que dans le  $\gamma$ , n'est-il pas compréhensible qu'un seul de ces composés soit actif au niveau cérébral ? 2) d ou l ou dl racémique, lequel est le plus actif ?

M<sup>me</sup> Marie-Odile RETHORÉ : Pensez-vous qu'il soit intéressant de donner de la vitamine E aux enfants trisomiques 21 qui ont un excès de superoxydase dismutase dont le gène est situé sur le chromosome 21 ? Le traitement précoce peut-il améliorer le développement de l'enfant et le protéger du vieillissement prématuré que l'on observe, si souvent, autour de la trentaine ?

M. Henri LESTRADET : Lorsqu'une femme allaitant prend une alimentation contenant une certaine proportion d' $\alpha$  et de  $\gamma$ -tocophérol, retrouve-t-on cette même proportion dans son lait ? ou bien le sein est-il capable de sélectionner préférentiellement l' $\alpha$ -tocophérol ?

M. Pierre DELAVEAU : Pour la plupart, les huiles alimentaires sont fortement raffinées (ce qui apporte l'avantage d'éliminer les aflatoxines). Mais les procédés de raffinage ont l'inconvénient de déséquilibrer les systèmes antioxydants des huiles vierges. Quels effets précis sur les tocophérols avec, comme conséquence, quelle répercussion sur les besoins nutritionnels, en particulier en  $\alpha$ -tocophérol ?

M. Alain RÉRAT : J'aimerais faire une remarque concernant l'application, aux problèmes d'élevage, de faits très intéressants que vous venez de rapporter. Comme vous le savez, on incite actuellement à la production d'animaux dont les tissus adipeux contiennent moins d'acides gras saturés et plus d'insaturés, de façon à proposer au consommateur humain des aliments moins susceptibles de favoriser les maladies cardio-vasculaires. Ces modifications de la composition chimique des dépôts adipeux, chez l'animal, sont assez faciles à réaliser en introduisant, dans son régime, des huiles telles que l'huile de colza, dont le rapport acide linoléique/acide linoléique est particulièrement favorable et se répercute sur les dépôts. Cependant, la présence d'acides gras insaturés en fortes proportions dans des tissus adipeux, les rend particulièrement sensibles aux phénomènes d'oxydation pendant le stockage après abattage. Il est donc conseillé d'utiliser, dans le régime des animaux, des antioxydants tels que le tocophérol. En l'occurrence, vaut-il mieux leur administrer du gammatocophérol, dont vous venez de dire qu'il avait un pouvoir antioxydant plus élevé, que l'alphatocophérol, ou leur fournir de l'alphatocophérol dont les capacités d'absorption et d'assimilation sont beaucoup plus élevées que celles du gammatocophérol ?

M. BOURRE : — à M. Nordmann : Bien évidemment, la proposition de mesurer le renouvellement cérébral de l'alpha-tocophérol (et celui du gamma-tocophérol) est extrêmement intéressante. A juste titre, compte tenu des résultats obtenus, il est maintenant indispensable de vérifier si la présence de gamma-tocophérol modifie le renouvellement membranaire de l'alpha-tocophérol, dans le cerveau comme dans d'autres organes. L'un des avantages de l'huile de palme est de contenir des tocotriénols dont, notamment, le pouvoir antioxydant est relativement élevé. Si ces tocotriénols présentent une activité antioxydante *in vitro* intéressante, il serait possible d'envisager de les utiliser comme agents pharmacologiques, en particulier, par exemple, pour protéger les lipoprotéines sériques. En revanche, les tocotriénols n'étant pratiquement pas détectables dans les membranes, y compris celles du cerveau, il ne semble pas possible de les utiliser dans un objectif de protection membranaire. Nos résultats montrent donc que la présence de gamma-tocophérol augmente, dans certaines conditions et certains organes, les besoins en alpha-tocophérol. Effectivement deux hypothèses opposées peuvent être proposées. Toutefois, les résultats préliminaires montrent que l'augmentation du gamma-tocophérol dans le foie (les autres organes ne sont pas encore analysés), induit une diminution du 22: 6  $\omega$ 3 ce qui, *a priori*, n'est pas favorable.

— à M. Polonovski : Il est tout à fait judicieux de rappeler que des expériences déjà anciennes avaient montré que le gamma-tocophérol était moins efficace que l'alpha-tocophérol. Il est important de noter que les activités biologiques des composants de la vitamine E sont définies par l'intermédiaire d'un certain nombre de tests. La plupart d'entre eux sont réalisés *in vitro*, d'autres *in vivo*, notamment chez le poulet. C'est ainsi que le gamma-tocophérol s'avère un excellent antioxydant *in vitro* sur des liposomes ; mais, comme le montre le travail que je viens de présenter, le gamma-tocophérol n'étant pas capté par les membranes, il ne peut donc pas y manifester ses propriétés antioxydantes. Il ne me semble pas possible de parler de toxicité du gamma-tocophérol. La conclusion de ce travail est que, simplement, *in vivo*, il est beaucoup moins bien capté par les membranes que l'alpha-tocophérol. Il serait d'ailleurs extrêmement intéressant d'étudier les diverses barrières qui permettent la sélection de l'alpha-tocophérol : barrière intestinale, captation par le foie, transfert spécifique de tocophérol sur les lipoprotéines, barrière hémato-encéphalique, spécificité des protéines de transport des tocophérols, selon les organes et les cellules. Concernant la reproduction, on sait que la carence en tocophérol entraîne une réduction du poids des testicules ainsi qu'une altération du profil de leurs phospholipides. Il est connu depuis longtemps que la carence en vitamine E entraîne une difficulté au niveau de la gestation. Curieusement, les mécanismes demeurent encore très mal connus.

— à M. Raoul : Les tocophérols se définissant par la présence de méthyle, il est effectivement compréhensible que cette différence induise une sélectivité de captation et d'utilisation, en particulier au niveau cérébral. Des résultats

récents, obtenus par d'autres laboratoires, montrent qu'un seul isomère (le d), est actif.

— à M<sup>me</sup> Rethoré : La suggestion de supplémenter des enfants trisomiques en vitamine E est effectivement très intéressante. Il convient de noter que, malheureusement, des dosages de vitamine E dans les tissus de ces enfants, n'ont été qu'exceptionnellement réalisés. L'alpha-tocophérol protège, entre autres, les acides gras polyéthyléniques membranaires, c'est-à-dire que son action s'effectue en phase lipidique. Cette vitamine E, après avoir piégé les radicaux libres, doit être régénérée. Les mécanismes de régénération sont inconnus. Ils sont probablement complexes. En effet, étant donné que les autres systèmes de protection contre les radicaux libres se situent dans divers compartiments cellulaires, notamment le cytosol, les interactions entre les phases lipidiques et liquides sont probablement très élaborées. Sont principalement impliqués : la vitamine C, le glutathion ainsi que d'autres molécules, la glutathion peroxydase, les superoxydes dismutases et d'autres systèmes enzymologiques. *A priori*, l'utilisation de vitamine E, chez les enfants trisomiques, ne doit pas être rejetée.

— à M. Lestradet : Des résultats très anciens montrent que le gamma-tocophérol alimentaire peut se retrouver dans le lait. Des études plus précises, utilisant des technologies modernes de dosages, doivent être réalisées pour déterminer si le lait s'enrichit plus facilement en alpha-tocophérol qu'en gamma-tocophérol. Cette question est particulièrement importante car, d'une manière générale, certaines huiles végétales apportent des acides gras polyéthyléniques indispensables associés à une dose importante d'alpha-tocophérol ; alors que d'autres huiles végétales apportent les mêmes acides gras polyéthyléniques, mais avec une dose importante de gamma-tocophérol. Ces deux huiles fournissent des acides gras qui sont utilisés par l'organisme de manière équivalente, mais n'apportent donc pas le même potentiel de protection des acides gras contre la peroxydation.

— à M. Delaveau : Effectivement, les procédés de raffinage réduisent la quantité de vitamine E présente dans les huiles végétales, mais cette réduction est relativement peu importante. Concernant notre protocole expérimental, nous avons utilisé des huiles végétales spécialement traitées pour ne plus contenir de vitamine E (nous avons vérifié que la technique utilisée n'altère pas les acides gras polyéthyléniques) ; ces huiles avaient pour but d'apporter normalement aux animaux les acides gras indispensables. Par ailleurs, les régimes ont été enrichis avec soit de l'alpha-tocophérol, soit du gamma-tocophérol, l'un et l'autre purifiés. La pureté a été vérifiée par chromatographie liquide haute pression.

— à M. Rérat : Effectivement, le gamma-tocophérol pouvant être, *in vitro*, un meilleur antioxydant que l'alpha-tocophérol, il pourrait être utilisé en alimentation animale pour protéger, notamment, les tissus adipeux contre l'oxydation. Mais il faudrait vérifier, au préalable, que le gamma-tocophérol est effectivement capté par le tissu adipeux (c'est-à-dire que le « filtre » sélectif en

faveur de l'alpha-tocophérol, concernant les autres organes, n'y existe pas). En tout état de cause, si le gamma-tocophérol était aussi capté par le tissu adipeux, il faudrait que cette éventuelle moindre captation soit suffisamment faible pour être compensée par le meilleur pouvoir antioxydant. *A priori*, l'alpha-tocophérol semble plus intéressant, d'autant qu'il se retrouve aussi dans les parties comestibles.