

Effet de l'âge sur la dégradation des acides gras polyinsaturés par le peroxyosome : quelles implications sur la santé ?

Régis PÉRICHON, Jean-Marie BOURRE

INSERM U26, Laboratoire de Neuro-Pharmaco-Nutrition, Hôpital Fernand Widal,
200, rue du Faubourg Saint-Denis, 75010 Paris

Résumé : La composition en acides gras polyinsaturés des membranes exerce une influence directe sur leurs fonctions. Parmi les mécanismes qui assurent la maintenance membranaire en acides gras polyinsaturés, les étapes de synthèse au niveau du réticulum endoplasmique et celles de dégradation assurée par les peroxyosomes au niveau du foie sont d'une importance toute particulière. Le peroxyosome assure un triple rôle par son implication dans : 1) l'homéostasie cellulaire en acides gras polyinsaturés, 2) la synthèse terminale de l'acide docosahexaénoïque et 3) l'élimination spécifique des acides gras à très longue chaîne saturés et mono-insaturés.

Le vieillissement se caractérise par des modifications de la fonction et de la composition en acides gras des membranes. Le présent article fait le bilan de plusieurs travaux que nous avons effectués dans le but de caractériser l'évolution du métabolisme lipidique peroxyosomal au cours du vieillissement et son implication dans le phénomène de modification de composition et de fonction des membranes biologiques au cours du vieillissement.

Les résultats montrent une forte diminution de l'activité peroxysomale qui suggère, chez l'animal âgé, un affaiblissement de la maintenance membranaire en acides gras polyinsaturés, une décroissance de l'apport en acide docosahexaénoïque et une accumulation des acides gras à très longue chaîne saturés et mono-insaturés. L'implication de ces résultats sur la santé de la personne âgée ainsi que le rôle de la nutrition sont discutés.

Abstract : The polyunsaturated fatty acid composition of membranes directly influences membrane functions. Among the mechanisms involved in membrane maintenance, both polyunsaturated fatty acid biosynthesis in the endoplasmic reticulum and degradation in peroxisomes are of major importance. Peroxisome deals with membrane maintenance through its involvement in: 1) cell polyunsaturated fatty acid homeostasis, 2) terminal step of docosahexaenoic acid synthesis, and 3) saturated and monounsaturated very long-chain fatty acid breakdown.

Aging is characterized by alterations in both function and polyunsaturated composition of membranes. The present article summarizes different works that were carried out in order to characterize the peroxisomal lipid metabolism during aging and its relationship with aging-related alterations in membrane composition.

Our results have shown a severe aging-related decrease in peroxisomal activity suggesting a decrease in both membrane maintenance capability and in docosahexaenoic acid terminal synthesis. This also suggests an aging-related accumulation in saturated and monounsaturated very long chain fatty acids in body fluids and tissues.

Consequences of these results on health during elderly and the role of nutrition are discussed.

Introduction

Les acides gras polyinsaturés sont des constituants importants des membranes biologiques où ils apparaissent principalement sous la forme de phospholipides. Certains de ces acides gras polyinsaturés, notamment l'acide arachidonique (ARA ou 20:4(n-6)) et l'acide éicosapentaénoïque (EPA ou 20:5(n-3)), sont les précurseurs de molécules biologiquement actives comme les prostaglandines, leucotriènes et thromboxanes et regroupées sous le terme d'éicosanoïdes [1]. À côté de ce rôle, les acides gras polyinsaturés sont capables d'influencer directement les fonctions des membranes dans lesquelles ils se trouvent. Des expérimentations nutritionnelles ont montré que la composition en acides gras polyinsaturés de la série n-3 module de nom-

breuses activités membranaires aussi bien au niveau enzymatique que physiologique, toxicologique et comportemental [2,3]. Ainsi, le taux d'acides gras polyinsaturés membranaire doit être finement régulé afin d'offrir à la cellule, à l'organe et finalement à l'organisme, un fonctionnement optimum. Ceci est d'autant plus important que des tissus comme le cerveau et la rétine sont très riches en acides gras polyinsaturés des séries n-6 et n-3 (acide docosahexaénoïque (DHA ou 22:6(n-3)) [4].

Bien que l'organisme soit capable de synthétiser de novo la plupart de ses acides gras, il est clairement établi qu'il ne peut effectuer la synthèse des acides gras polyinsaturés n-6 et

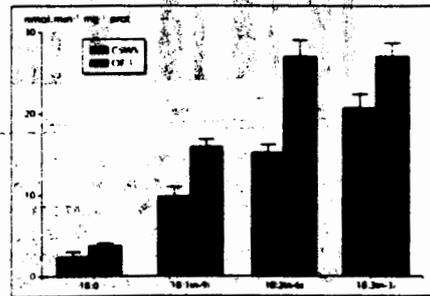


Figure 1. Activité de dégradation peroxysomale des acides gras saturés, mono-insaturés et polyinsaturés à 18 atomes de carbone dans le foie de souris de 300 jours des souches CSWV et OF1. Chaque valeur représente la moyenne \pm la déviation standard. La mesure (en double) de chaque activité [15] a été déterminée sur 3 à 5 homogénats de foie selon la méthode de Wanders et al. qui utilise le cyanure pour bloquer la β -oxydation mitochondriale [31]. On remarque que l'activité de dégradation augmente avec le nombre de double liaisons de l'acide gras et que l'activité de la souche OF1 est toujours supérieure à celle de la souche CSWV, quel que soit l'acide gras considéré ($p < 0,05$, analyse statistique faite par un test-t non apparié unilatéral).

n-3, comme l'acide arachidonique et l'acide docosahexaénoïque, qu'à partir de précurseurs qui sont respectivement l'acide linoléique (18:2(n-6)) et l'acide α -linoléique (18:3(n-3)) [5]. Ces précurseurs sont essentiels puisque leur absence dans l'alimentation se traduit par une déficience de la composition des membranes pour toute la série d'acides gras polyinsaturés à laquelle ils appartiennent ; déficience associée à des modulations de plusieurs paramètres biologiques [3,4,6]. De plus, une fois la déficience en acides gras polyinsaturés n-3 établie, la vitesse de réversion vers une composition normale est extrêmement lente pour le cerveau

[7,8]. Ces résultats ont démontré le caractère essentiel des acides linoléique et α -linoléique pour l'organisme et donc la nécessité de les apporter par l'alimentation.

Ils soulignent aussi l'importance de l'évaluation des besoins [9] et des mécanismes maintenant les compositions membranaires. Sur ce dernier point, notre laboratoire s'est d'abord orienté vers l'étude de la biosynthèse des acides gras polyinsaturés au cours du développement et du vieillissement chez le rat. Nos résultats d'alors confirmèrent une approche faite par une équipe italienne [10] mais surtout ils apportèrent en complément une vision inédite et détaillée de l'activité de biosynthèse des acides gras polyinsaturés tout au long de la vie [11,12]. Tout d'abord, l'étude a démontré que l'activité clef de la biosynthèse microsomale des acides gras polyinsaturés, la $\Delta 6$ -désaturase, disparaît rapidement dans le cerveau vers la fin de la période de myélinisation. Ce résultat implique que l'apport cérébral en acides gras polyinsaturés des séries n-6 et n-3, principalement l'acide arachidonique et l'acide docosahexaénoïque, doit être assuré par un autre organe. Cette même étude a montré que le foie, lieu le plus actif de la synthèse des acides gras polyinsaturés, garde un niveau important de biosynthèse chez l'adulte. Ainsi, très tôt, le foie assumerait la majeure partie de la synthèse des acides gras polyinsaturés de l'organisme. Cette hypothèse est soutenue par des résultats qui ont démontré le rôle primordial du foie dans l'approvisionnement du cerveau pour les acides gras polyinsaturés [13]. Enfin, l'étude de notre laboratoire a caractérisé pour la première fois la décroissance liée à l'âge de l'activité de biosynthèse des acides gras polyinsaturés, non pas comme un phénomène continu initialisé dès la fin de la période de développement, mais comme un phénomène se déclenchant à un âge avancé de l'adulte (neuf mois chez le rat) [11,12]. Puisque le foie assure la synthèse d'acides gras polyinsaturés fondamentaux pour le bon fonctionnement d'organes comme le cerveau et la rétine, la décroissance caractérisée au cours du vieillissement présente un risque pour l'approvisionnement en acides gras polyinsaturés de ces organes.

En complément des résultats sur l'activité de biosynthèse, notre laboratoire a entrepris l'étude de l'activité de dégradation des acides gras polyinsaturés, dans le but de caractériser au cours du développement et du vieillissement, le *turn over* des acides gras polyinsaturés dans le foie, cet organe au rôle central dans l'approvisionnement en acides gras polyinsaturés pour l'organisme. L'étape de dégradation des acides gras polyinsaturés a

lieu principalement au niveau des peroxy-somes quand il s'agit des acides gras présentant une longueur de chaîne carbonée longue et très longue (au moins 18 atomes de carbone). La mitochondrie, organe très actif du point de vue de la dégradation des acides gras, montre une activité très faible pour ces acides gras à très longue chaîne. Ainsi les acides gras polyinsaturés sont d'autant plus efficacement dégradés par les peroxy-somes que la taille de leur chaîne carbonée est grande [14]. L'étude de l'activité peroxysomale de dégradation des acides gras au cours du développement et principalement du vieillissement a été menée pour les précurseurs des acides gras polyinsaturés (acides gras à 18 atomes de carbones) et pour les acides gras polyinsaturés eux-mêmes (acide arachidonique et acide docosahexaénoïque).

Résultats et discussion

Les données rassemblées ici sont extraites d'un ensemble de travaux décrits dans nos précédents articles [15-17]. Le but que nous nous sommes fixés dans cet article de synthèse est de présenter l'évolution de la fonction peroxysomale au cours du vieillissement et une argumentation quant aux conséquences de cette évolution, principalement en termes de santé. La méthodologie utilisée est succinctement citée dans les légendes des figures mais reste entièrement accessible dans nos précédents articles [15-17].

Les résultats que nous avons obtenus montrent que l'activité de dégradation peroxysomale des acides gras est d'autant plus grande que le degré d'insaturation est élevé (figure 1). Cette donnée qui se retrouve aussi bien pour la souche CSWV que pour la souche OF1 est importante pour la compréhension du rôle du peroxysome dans le métabolisme des acides gras polyinsaturés. Ainsi, l'activité de dégradation des deux précurseurs essentiels, l'acide linoléique et l'acide α -linoléique par les peroxysomes, est plus de sept fois supérieure à celle de l'acide stéarique. En d'autres termes, non seulement l'activité de dégradation d'un acide gras augmente avec la taille de sa chaîne carbonée mais aussi avec son degré d'insaturation. Au-delà de 18 atomes de carbone, l'activité peroxysomale décroît mais reste toujours largement supérieure à celle de la mitochondrie.

La dégradation des acides stéarique (18:0), oléique (18:1(n-9)), linoléique (18:2(n-6)), α -linoléique (18:3(n-3)), arachidonique (20:4(n-6)) et docosahexaénoïque (22:6(n-3)), suit un même profil au cours du développement et du

vieillessement [15-17], profil identique à celui caractérisé pour la biosynthèse des acides gras polyinsaturés [11,12]. Cette similitude s'étend à la phase de vieillissement où l'activité de dégradation de tous les acides gras testés subit une décroissance de plus de 50% chez les souris CSWV (figure 2) [15] et 40% chez les souris OF1 (figure 3) [16,17]. Par ailleurs, nos données attribuent cette diminution de l'activité de dégradation des acides gras polyinsaturés

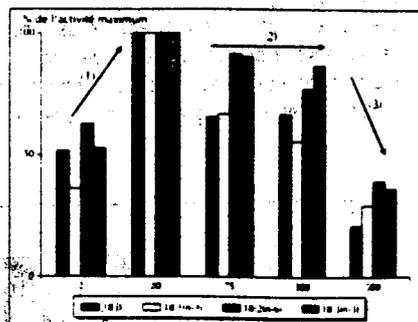


Figure 2. Activité hépatique de dégradation peroxysomale des acides gras à 18 atomes de carbone en fonction de l'âge (en jours), en % de l'activité maximum (à 20 jours) chez la souris CSWV. Le graphique est divisé en trois parties : 1) Le développement (de 2 à 20 jours) caractérisé par une rapide augmentation de l'activité de dégradation. Le sevrage (entre 20 et 22 jours) provoque une forte diminution de l'activité peroxysomale. Il est suivi d'une nouvelle augmentation de l'activité qui atteint son maximum chez l'adulte vers 75 jours [15]. 2) La maturité (75 à 300 jours), caractérisée par une relative stabilité de l'activité peroxysomale. 3) Le vieillissement (de 300 à plus de 500 jours), où se produit une forte diminution de l'activité de dégradation des acides gras. Cette dernière diminution se retrouve aussi pour la souche OF1 (voir fig. 3). L'activité catalase suit le même profil d'expression au cours du développement et du vieillissement pour la souche CSWV [15]. La mesure de la dégradation des acides gras a été faite en double sur 3 à 5 homogénats [15] selon la méthode de Wanders et al. [31].

par les peroxysomes hépatiques chez l'animal âgé à la diminution spécifique de l'activité acyl-CoA oxydase, enzyme clé de la β -oxydation peroxysomale (figure 3) [16,17]. Or, cette enzyme contrôle aussi l'activité de dégradation des acides gras à très longue chaîne, saturés et mono-insaturés, comme l'acide hexacosanoïque (26:0) qui est toxique pour l'organisme.

Les maladies génétiques peroxysomales, qui touchent le système de β -oxydation, sont toutes associées à des taux élevés en acides gras à très longue chaîne et caractérisées par une augmentation forte du rapport entre le taux en 26:0 et le taux en 22:0 (acide docosa-

noïque). A ces maladies peroxysomales est associée toute une série de troubles neurologiques et visuels profonds [18,19]. Le cas type de maladie peroxysomale est le syndrome de Zellweger caractérisé au niveau cellulaire par une absence de structures peroxysomales caractéristiques. Au niveau biochimique, on trouve une importante accumulation des acides gras à très longue chaîne (rapport C26:0/22:0 7-10 fois supérieur à la normale). Enfin, au niveau fonctionnel, des troubles neurologiques sévères, l'apparition de troubles visuels (évoluant rapidement vers la cécité) et un dysmorphisme prononcé, complètent le tableau clinique de cette maladie [18,19]. L'espérance de vie varie de quelques semaines à quelques mois selon la sévérité du trouble peroxysomal. Par exemple, l'adréno-leucodystrophie, associée elle aussi à un taux très élevé en acides gras à très longue chaîne, une démyélinisation intense au niveau du système nerveux central, l'évolution rapide vers la cécité, des troubles auditifs et neurologiques, présente une espérance de vie supérieure (quelques années) à celle des malades atteints du syndrome de Zellweger (quelques semaines à quelques mois) [20].

Il existe une forme particulière de maladie peroxysomale qui se caractérise biochimiquement par la suppression spécifique de l'activité acyl-CoA oxydase. Les individus atteints de cette maladie, dite adrénoleucodystrophie pseudo-néonatale, présentent un taux élevé en acides gras à très longue chaîne (forte élévation du rapport 26:0/22:0), une démyélinisation progressive, le développement de troubles visuels (évoluant vers la cécité), auditifs et neurologiques. Au niveau cellulaire, la taille et le volume des peroxysomes sont supérieurs à la normale [21]. Dans le cas de l'adrénoleucodystrophie pseudo-néonatale, c'est le déficit spécifique pour l'acyl-CoA oxydase qui est à l'origine du développement de ces diverses caractéristiques. Or, les résultats de nos travaux font apparaître, là aussi, un déficit spécifique pour l'acyl-CoA oxydase peroxysomale hépatique lors du vieillissement. La principale différence entre nos résultats et l'ALD-pseudo néonatale est que le vieillissement provoque un déficit partiel et progressif et non un déficit total et immédiat. Cependant, ce déficit lié au vieillissement s'exprime sur une durée beaucoup plus longue que la période de développement.

De plus, le fait que le peroxysome soit impliqué dans la synthèse terminale du 22:6(n-3), acide docosahexaénoïque, se traduit chez les sujets atteints du syndrome de Zellweger par une forte déficience en cet acide gras [22,23]. À partir de ces observations, un groupe de recherche a proposé une voie alternative de

synthèse du 22:6(n-3), dite rétroconversion, impliquant effectivement le peroxyosome, grâce à son activité β -oxydative, dans l'étape ultime de formation de cet acide gras [24]. Ainsi, en plus du rôle régulateur, partagé avec le réticulum endoplasmique, dans le *turn over* hépatique et l'approvisionnement de l'organisme en acides gras polyinsaturés, le peroxyosome aurait un double rôle spécifique : la régulation des taux en acides gras à très longue chaîne saturés et mono-insaturés et la détermination directe du taux en 22:6(n-3) dans l'organisme.

La diminution liée au vieillissement de l'activité de β -oxydation peroxyosomale caractérisée pour la souche de souris CSWV (figure 1) [15] a été testée pour une autre souche (OF1) afin d'en démontrer le caractère général [15,16]. De plus, le caractère polyénique des acides gras polyinsaturés étant souvent considéré dans le processus de vieillissement comme un facteur aggravant, par le biais de la théorie radicalaire [25], nous avons aussi entrepris la détermination de l'activité catalase hépatique chez les deux souches de souris [15,16]. La catalase est principalement localisée dans les peroxyosomes et sert à l'élimination de l'eau oxygénée formée dans la cellule. Or, le peroxyosome contient de nombreux métabolismes producteurs d'eau oxygénée, à commencer par le β -oxydation. Les résultats obtenus montrent que l'activité catalase la plus élevée se trouve bien dans les souris présentant la longévité la plus grande (souche OF1) mais que ces mêmes souris présentent aussi une activité de β -oxydation peroxyosomale supérieure. Ainsi, chez la souche OF1, le haut niveau antioxydant assuré par la catalase est en présence d'un haut niveau pro-oxydant généré, entre autres, par la β -oxydation peroxyosomale [15].

Conclusions et perspectives

L'ensemble de nos résultats, sur l'activité de biosynthèse microsomale et l'activité de β -oxydation peroxyosomale des acides gras lors du vieillissement, amène aux conclusions suivantes. Globalement, l'ensemble du métabolisme hépatique des acides gras polyinsaturés à longue et très longue chaîne, c'est-à-dire la synthèse et la dégradation, diminue au cours du vieillissement, mais seulement à partir d'un âge avancé chez l'animal. Cet ensemble, synthèse et dégradation, n'est pas affecté qualitativement, mais quantitativement. De ce fait, l'apport alimentaire devient primordial dans la maintenance des compositions membranaires. En effet, la baisse quantitative du *turn over* des

acides gras polyinsaturés dans le foie rend l'animal âgé de plus en plus sensible aux situations de carences, puisque l'activité D6-désaturase est diminuée, mais aussi aux situations de surcharge, par sa moindre activité acyl-CoA oxydase peroxyosomale, surtout vis-à-vis des acides gras à très longue chaîne saturés [15]. En ce sens, la spécificité de la dégradation des acides gras à très longue chaîne saturés et mono-insaturés par le peroxyosome soulève chez l'animal âgé la possibilité de l'accumulation de ces acides gras toxiques. Comme nous

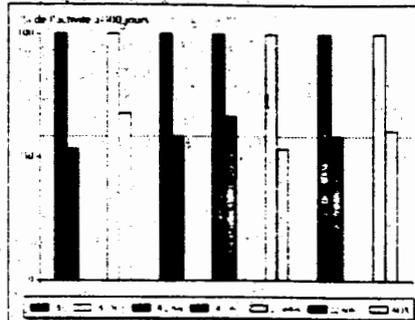


Figure 3. Comparaison de la perte liée au vieillissement de l'activité de dégradation des acides gras dans le foie de souris OF1 âgées de 300 jours (première barre) à plus de 500 jours (seconde barre). L'activité moyenne, tous acides gras confondus, chez l'animal vieillissant est de 60%, celle de l'animal de 300 jours (ligne horizontale en pointillée) attestant d'une perte moyenne de 40%. L'activité acyl-CoA oxydase, AOX, montre une perte d'environ 40%, suggérant bien que la perte d'activité de dégradation des différents acides gras est due à une diminution spécifique de l'activité AOX [16,17]. Chez la souris CSWV (résultats non montrés), la perte d'activité pour les 4 premiers acides gras atteint 50% [15]. La mesure de la dégradation des acides gras a été faite selon la méthode de Wanders et al. [31], la détermination de l'activité AOX [16,17] selon la méthode de Lazarow [32].

l'avons précisé dans un paragraphe précédent, la suppression de l'activité acyl-CoA oxydase, et donc de la β -oxydation peroxyosomale dans le cas de l'adréno-leucodystrophie pseudo-néonatale, s'accompagne de troubles neurologiques, auditifs et visuels rapides et profonds [21]. Lors du vieillissement, une diminution spécifique de l'activité acyl-CoA oxydase peroxyosomale se développe progressivement [15-17]. Il y a une similitude évidente entre l'ALD-pseudo néonatale et le vieillissement pour l'activité acyl-CoA oxydase ; le vieillissement représenterait une forme modérée de l'ALD-pseudo néonatale (40% de diminution contre 100%). Il existe plusieurs arguments pour soutenir cette hypo-

thèse : 1) Les personnes âgées développent des troubles auditifs, visuels et neurologiques. 2) Une étude a démontré que chez l'animal âgé, le taux de 22:6(n-3) dans la rétine diminuait et que cette diminution impliquait non pas la capacité de fixation du 22:6(n-3) dans les lipides rétinien (qui est d'ailleurs augmentée) mais l'approvisionnement de la rétine en 22:6(n-3) qui est assuré par le foie [26]. 3) Une étude en microscopie électronique a montré que les peroxyosomes de foie de rats âgés ont une taille et un volume supérieurs à ceux de jeunes rats [27], résultats analogues à ceux trouvés chez des patients atteints d'ALD-pseudo néonatale [21].

Il reste à démontrer que les acides gras à très longue chaîne s'accumulent dans les membranes des animaux âgés (étude en cours dans notre laboratoire) et que le déficit de l'activité acyl-CoA oxydase lors du vieillissement présente des analogies avec l'ALD-pseudo néonatale au point de vue biochimique et symptomatique (troubles visuels et neurologiques). Enfin, le peroxyosome étant aussi impliqué dans le métabolisme des plasmalogènes, constituants importants de la myéline et de la matière blanche, l'examen de ce métabolisme au cours du vieillissement pourrait apporter de nouvelles perspectives quant à la participation du peroxyosome dans le processus de vieillissement surtout au point de vue neurodégénératif. Les résultats de notre travail donnent d'ores et déjà à la nutrition un rôle régulateur primordial dans le développement d'altérations liées à la diminution de l'activité peroxyosomale de β -oxydation (baisse du taux en 22:6(n-3) et accumulation des acides gras à très longue chaîne). Il sera nécessaire de tester l'effet de certains régimes ou traitements sur le déclenchement et le déroulement de ces altérations. Il est déjà intéressant de noter que la restriction calorique retarde les effets du vieillissement sur de nombreux paramètres biochimiques [28,29]. L'implication de l'altération des compositions lipidiques membranaires dans le développement de troubles neurodégénératifs, et notamment dans la maladie d'Alzheimer, est de plus en plus envisagée [30]. Dans ce contexte, le peroxyosome par son rôle unique dans le métabolisme des acides gras polyinsaturés membranaires pourrait y contribuer de façon tout aussi inattendue que déterminante.

RÉFÉRENCES

1. SPRECHER H (1986). The metabolism of (n-3) and (n-6) fatty acids and their oxygenation by platelet cyclooxygenase and lipoxygenase. *Prog Lipid Res*, 25 : 19-28.

2. BOURRE JM, PASCAL G, DURAND G, MASSON M, DUMONT O, PICIOTTI M (1984). Alterations in the fatty acid composition of rat brain cells (neurons, astrocytes and oligodendrocytes) and subcellular fractions (myelin and synaptosomes) induced by a diet devoid of n-3 fatty acids. *J Neurochem*, 43: 342-8.
3. BOURRE JM, FRANÇOIS M, YOUYOU A, et al. (1989). The effect of dietary α -linolenic acid on the composition of nerve membranes, enzyme activity, amplitude of electrophysiological parameters, resistance of learning tasks in rats. *J Nutr*, 119: 1880-92.
4. STUBBS CD, SMITH AD (1984). The modification of mammalian membrane polyunsaturated fatty acid composition in relation to membrane fluidity and function. *Biochimica Biophysica Acta*, 779: 89-137.
5. BURR GO, BURR MM (1929). A new deficiency disease produced by the rigid exclusion of fat from the diet. *J Biol Chem*, 82: 345-67.
6. BRENNER RR (1984). Effect of unsaturated acids on membrane structure and enzyme kinetics. *Prog Lipid Res*, 23: 69-96.
7. BOURRE JM, YOUYOU A, DURAND G, PASCAL G (1987). Slow recovery of the fatty acid composition of sciatic nerve in rats fed a diet initially low in n-3 fatty acids. *Lipids*, 22: 535-8.
8. BOURRE JM, DURAND G, PASCAL G, YOUYOU A (1989). Brain cell and tissue recovery in rats made deficient in n-3 fatty acids by alteration of dietary fat. *J Nutr*, 119: 15-22.
9. BOURRE JM, DUMONT O, PASCAL G, DURAND G (1993). Dietary α -linolenic acid at 1.3 g/kg maintains maximal docosahexaenoic acid concentration in brain, heart and liver of adult rats. *J Nutr*, 123: 1313-9.
10. BORDONI A, BIAGI PL, TURCHETTO E, HRELIA S (1988). Aging influence on delta-6-desaturase and fatty acid composition of rat liver microsomes. *Biochem Int*, 17: 1001-9.
11. BOURRE JM, PICIOTTI M, DUMONT O (1990). $\Delta 6$ desaturase in brain and liver during development and aging. *Lipids*, 25: 354-6.
12. BOURRE JM, PICIOTTI M (1992). Delta-6-desaturation of alpha linolenic acid in brain and liver during development and aging in the mouse. *Neurosci Lett*, 141: 65-8.
13. SCOTT BL, BAZAN NG (1989). Membrane docosahexaenoate is supplied to the developing brain and retina by the liver. *Proc Natl Acad Sci, USA*, 86: 2903-7.
14. STREET JM, JOHNSON DW, SINGH H, POULOS A (1989). Metabolism of saturated and polyunsaturated fatty acids by normal and Zellweger syndrome skin fibroblasts. *Biochem J* 260: 647-50.
15. PÉRICHON R, BOURRE JM (1995). Peroxisomal β -oxidation activity and catalase activity during development and aging in mouse liver. *Biochimie*, 77: 288-93.
16. PÉRICHON R, BOURRE JM (1995). Liver peroxisomal fatty acid oxidizing system during aging in control and clofibrate-treated mice. *Biochem. Mol Biol Int*, 37: 475-80.
17. PÉRICHON R, BOURRE JM (1996). Aging-related decrease in liver peroxisomal fatty acid oxidation in control and clofibrate-treated mice. A biochemical study and mechanistic approach (accepted for publication in *Mech Ageing Dev*).
18. BROWN III FR, MCADAMS AJ, CUMMINS JW, et al. (1982). Cerebro-hepato-renal (Zellweger) syndrome and neonatal adrenoleukodystrophy: similarities in phenotype and accumulation of very long chain fatty acids. *Johns Hopkins Med J*, 151: 344-61.
19. WANDERS RJA, HEYMAN'S HSA, SCHUTGENS RBH, BARTH PG, VAN DEN BOSCH H, TAGER JM (1988). Peroxisomal disorders in neurology. *J Neural Sci*, 88: 1-39.
20. WANDERS RJA, BARTH PG, SCHUTGENS RBH, TAGER JM (1993). Peroxisomal disorders. In *Peroxisomes: biology and importance in toxicology and medicine*. G Gibson, B Lake eds. London, Taylor and Francis: 63-98.
21. POLL-THE BT, ROELS F, OGIER H, et al. (1988). A new peroxisomal disorder with enlarged peroxisomes and a specific deficiency of acyl-CoA oxidase (pseudo-neonatal adrenoleukodystrophy). *Am J Hum Genet*, 42: 322-34.
22. MARTINEZ M (1990). Severe deficiency of docosahexaenoic acid in peroxisomal disorders: a defect in $\Delta 4$ -desaturation? *Neurology*, 40: 1292-8.
23. MARTINEZ M (1992). Abnormal profiles of polyunsaturated fatty acids in the brain, liver, kidney and retina of patients with peroxisomal disorders. *Brain Res*, 583: 171-82.
24. VOSS A, REINHART M, SANKARAPPA S, SPRECHER H (1991). The metabolism of 7,10,13,16,19-docosapentaenoic acid to 4,7,10,13,16,19-docosahexaenoic acid in rat liver is independent of a $\Delta 4$ -desaturase. *J Biol Chem*, 266: 19 995-20 000.
25. HARMAN D (1956). A theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol*, 11: 298-300.
26. ROTSTEIN NP, KLINCHENTA DE BOSCHERO MC, GIUSTO NM, ALVEDANO MI (1987). Effects of aging on the composition and metabolism of docosahexaenoate-containing lipids of retina. *Lipids*, 22: 253-60.
27. BEIER K, VOLKL A, FAHIMI HD (1993). The impact of aging on enzyme proteins of rat liver peroxisomes: quantitative analysis by immunoblotting and immunoelectron microscopy. *Virchows Archiv B Cell Pathol*, 63: 139-46.
28. LAGANIERE S, YU BP (1989). Effect of chronic food restriction in aging rats I. Liver subcellular membranes. *Mech Ageing Dev*, 48: 207-19.
29. LAGANIERE S, YU BP (1989). Effect of chronic food restriction in aging rats II. Liver cytosolic antioxidants and related enzymes. *Mech Ageing Dev*, 48: 221-30.
30. ROTH GS, JOSEPH JA, MASON RP (1995). Membrane alterations as causes of impaired signal transduction in Alzheimer's disease and aging. *TINS*, 180: 203-6.
31. WANDERS RJA, VAN ROERMUND CWT, WJLAND MJA, et al. (1987). Studies on the peroxisomal oxidation of palmitate and lignocerate in rat liver. *Biochim Biophys Acta*, 919: 21-5.
32. LAZAROW PB (1981). Assay of peroxisomal β -oxidation of fatty acids. In: *Methods in enzymology*, vol 72, Academic Press: 315-9.