

Activités enzymatiques liées au glutathion chez les rats recevant un régime alimentaire riche en cholestérol ou standard supplémenté par deux formes de sélénium

J. Cases ^a, M. Puig^a, B. Caporiccio ^a, B. Baroux ^b, J.-C. Baccou ^c, P. Besançon ^a,
J.-M. Rouanet^{a,*}

^aUnité Nutrition, Laboratoire Génie Biologique et Sciences des Aliments, Département Agroressources et Procédés Biologiques, Université Montpellier II, 34095 Montpellier, France

^bSociété Aquamer, Station de Lagunage, BP 118, 34140 Mèze, France

^cUnité Physiologie et Technologie Végétales, Laboratoire Génie Biologique et Sciences des Aliments, Département Agroressources et Procédés Biologiques, Université Montpellier II, 34095 Montpellier, France

Reçu le 30 juin 1998 ; reçu sous forme révisée et accepté le 20 août 1998

Résumé

Une carence en sélénium a été produite chez des rats nourris avec un régime riche en cholestérol pendant 57 jours (groupe 1). Elle a été caractérisée par une augmentation du malondialdéhyde (MDA), un produit final de la peroxydation des lipides, et par l'effondrement spectaculaire de l'activité de la glutathion peroxydase séléniquement dépendante (GSHPx) dans le plasma, les érythrocytes et dans la fraction surnageante homogène du foie, des reins et du cœur, par rapport à des rats nourris avec un régime standard contenant du sélénite de sodium (groupe 3). Une augmentation compensatoire de l'activité de la glutathion S-transférase (GST) du foie ainsi que de l'activité de la glutathion réductase (GSSGR) s'est accompagnée d'une augmentation des enzymes génératrices de NADPH, la glucose-6-phosphate déshydrogénase et la 6-phosphogluconate déshydrogénase. Une supplémentation adéquate en sélénium alimentaire par la spiruline riche en sélénium a permis de corriger tous les effets de la carence en sélénium (groupe 2), puis les activités de la GSHPx et des enzymes consommatrices de NADPH ont été du même ordre de grandeur que celles des rats nourris avec un régime standard contenant suffisamment de sélénium sous forme de sélénite de sodium. Sur la base de cette étude, il est conclu que la spiruline enrichie en sélénium se comporte comme un excellent transporteur de sélénium. © 1999 Elsevier Science Ltd. Tous droits réservés.

1. Introduction

Le besoin nutritionnel en sélénium à l'état de traces est reconnu depuis de nombreuses années (Schwarz & Foltz, 1957). Sa fonction antioxydante était inconnue jusqu'à ce que Rotruck et al. (1972) découvrent que le sélénium est un composant intégral du site actif de l'enzyme mammifère glutathion peroxydase (GSH-Px). Cette enzyme catalyse la réduction des hydroperoxydes et protège ainsi les cellules des dommages oxydatifs. Une faible activité de cette enzyme est liée à une carence en sélénium (Rotruck et al., 1972) et, par conséquent, un faible statut en sélénium peut augmenter le risque de dommages oxydatifs. Il y a un intérêt à supplémenter les sujets humains avec du sélénium pour la prévention de maladies telles que le cancer (Clark & Combs, 1986) et les maladies cardiovasculaires (Salonen, Alfthan, Huttunen, Pikkarainen, & Puska,

1982). Il a été démontré

* Correspondance avec l'auteur. Tél. : +33-0467-1435-21 ; fax : +33-0467- 6336-49 ; courriel : rouanet@gbsa.arpb.univ-montp2.fr

que l'alimentation en cholestérol entraînait une augmentation du taux de peroxydation des lipides et une diminution de l'activité de la GSH-Px dans le foie du rat (Tsai, 1975) et que le processus dommageable de la peroxydation des lipides pourrait être un facteur important dans l'étiologie de l'athérosclérose ; c'est pourquoi un régime alimentaire riche en cholestérol et déficient en sélénium et en vitamine E (dont il a été démontré qu'il neutralisait les radicaux peroxy pendant la peroxydation des lipides) a été utilisé ici.

La cyanobactérie *Spirulina platensis* (algue bleu-vert) est disponible dans le commerce pour la

consommation humaine. La spiruline représente l'une des sources de protéines d'origine végétale les plus riches (60-70 %) et est une bonne source de vitamines et de minéraux (Bourges, Sotomayor, Mendoza, & Chavez, 1971 ; Dillon, Phuc, & Dubacq, 1995), bien que l'on trouve une faible quantité de sélénium (Se) (de 0,01 à 0,04 mg/kg). Ces microalgues sont aujourd'hui utilisées comme source de nourriture saine pour l'homme (Hay, 1991). La simplicité des techniques de culture et la bonne qualité de leurs protéines, ainsi que l'absence de tout effet secondaire toxique (Chamarro, Herrera, Salazar, Salazar, & Ulloa, 1988 ;

Yoshino, Hirai, Takahashi, Yamamoto, & Yamazaki, 1980), favorisent leur production à grande échelle. De plus, la capacité à contrôler la composition chimique en variant les conditions de culture fait de la spiruline le végétal le plus facilement supplémentable en Se par le milieu aquatique.

Le but de cette étude était d'évaluer la capacité de la spiruline enrichie en Se à influencer la défense anti-oxydante enzymatique dans les tissus de rats nourris avec un régime athérogène déficient en Se, de sorte qu'une application pharmaceutique potentielle devienne intéressante par rapport à une supplémentation classique en sélénite de sodium.

centrifugé à 105 000 X g pendant 60 minutes. Des aliquotes du surnageant obtenu (cytosol) ont été stockées à -80 °C pour l'analyse ultérieure de la glutathion peroxydase (GSH-Px), de la glutathion-S-transférase (GST), de la glutathion réductase (GSSGR) et des enzymes productrices de NADPH : glucose-6-

2. Matériels et méthodes

2.1. Conception expérimentale

Des rats mâles Sprague Dawley (Iffa Credo, L'Arbresle, France) (n=21) pesant 110±9 g ont été répartis en trois groupes égaux de sept chacun, selon le poids corporel moyen. Ils ont été assignés de manière aléatoire à des régimes expérimentaux à base de levure torula (Tableau 1), ce qui a donné trois groupes de traitement alimentaire, soit à faible teneur en vitamine E (4,5 mg α -tocophérol/kg de régime), déficient en sélénium (0,006 mg/kg de régime) et riche en cholestérol (1 %) supplémenté (groupe 2) ou non (groupe 1) avec de la spiruline enrichie en Se (0,200 mg Se/kg de régime), soit adéquat en vitamine E (346 mg α -tocophérol/kg de régime) et en sélénium (0,200 mg Se sous forme de Na₂SeO₃/kg de régime) (groupe 3). Les animaux étaient logés individuellement dans des cages métaboliques en acier inoxydable dans une pièce à température contrôlée (22 °C) avec une humidité constante et des cycles lumière-obscurité de 12 heures (lumières allumées, de 7 h à 19 h). Tous les groupes alimentaires ont reçu quotidiennement la même quantité de nourriture et ont eu un accès libre à de l'eau distillée ; le poids corporel a été mesuré deux fois par semaine pendant les 57 jours de la période expérimentale.

2.2. Procédures analytiques

Les animaux ont été anesthésiés avec du pentobarbital (Pentobarbital 6 %, 60 mg/kg de poids corporel) et tués par exsanguination. Le foie a été perfusé avec du HCl à 1,15 % pour éliminer le sang résiduel, rapidement excisé, rincé dans une solution saline glacée, séché, pesé et stocké dans de l'azote liquide. Les étapes suivantes ont été réalisées à 4 °C ; le tissu a été homogénéisé dans un tampon de phosphate de potassium 0,1 M, froid comme la glace, de 5 volumes (pH 7,4). Une aliquote de l'homogénat a été prélevée pour la détermination de la peroxydation des lipides. L'homogénat restant a été centrifugé à 13 000 X g pendant 15 minutes et le surnageant a été re-

Tableau 1

Composition des régimes expérimentaux (g/100 g)^a

Composant du régime	Groupe 1	Groupe 2	Groupe 3
Levure torula ^b (N × 6,25)	32,30	32,30	32,30
DL-méthionine	0,10	0,10	0,10
Amidon de maïs	29,19	29,20	34,40
Sucrose	14,40	14,40	17,20
Cellulose	–	–	5,00
Huile de maïs	2,00	2,00	5,00
Saindoux	15,00	15,00	–
Cholestérol	1,00	1,00	–
Mélange de minéraux ^c	–	–	4,00
Mélange de minéraux ^d	4,00	4,00	–
Mélange de vitamines ^e	–	–	2,00
Mélange de vitamines ^f	2,00	2,00	–
Spiruline ^g (mg/kg de régime)	–	92,50	–
Vitamine E totale (mg/100 g)	0,45	0,45	34,56
Sélénium total (µg/100 g)	0,60	20,00	20,00
Énergie métabolisable (kcal/g)	475,00	475,00	412,00

^a Tous les régimes ont été formulés pour contenir 15 % de protéine.

^b La levure rorula contenait 7,42 % d'azote et 0,02 ppm de Se.

^c Le mélange de minéraux contenait (mg/kg de régime) : CaHPO₄, 17 200 ; HCl, 4 000 ; NaCl, 4 000 ; MgO, 420 ; MgSO₄, 2 000 ; Fe₂O₃, 120 ; FeSO₄.7H₂O, 200 ; oligo-éléments, 400 (Na₂SeO₃, 0,44 ; MnSO₄.H₂O, 98 ; CuSO₄.

5H₂O, 20 ; ZnSO₄.7H₂O, 80 ; CoSO₄.7H₂O, 0,16 ; HI, 0,32 ; une quantité d'amidon suffisante pour porter à 40 g (par kg de régime).

^d Mélange de minéraux tel que décrit ci-dessus et exempt de Na₂SeO₃.

^e Mélange de vitamines contenant (mg/kg de régime) : rétinol, 12 ; cholécalférol, 0,125 ; thiamine, 40 ; thiamine, 30 ; acide pantothénique, 140 ; pyridoxine, 20 ; inositol, 300 ; cyanocobalamine, 0,1 ; all-rac- α -tocophérol, 340 ; ménadione, 80 ; acide nicotinique, 200 ; choline, 2 720 ; acide folique, 10 ; p-acide aminobenzoïque, 100 ; biotine, 0,6 ; une quantité d'amidon suffisante pour porter à 20 g (par kg de régime).

^f Mélange de vitamines tel que décrit ci-dessus et exempt de all-rac- α -tocophérol.

^g Poids de la spiruline fournissant la même quantité de sélénium que le mélange de minéraux donné au groupe 3 (soit 0,2 mg de Se par kg de régime).

phosphate déshydrogénase (G6PD), 6-phosphogluconate déshydrogénase (6PGD) et enzyme malique (ME).

Le sang a été prélevé par ponction cardiaque dans des tubes héparinés. Les érythrocytes ont été séparés par centrifugation du sang à 1000 x g pendant 15 min, les cellules ont été lavées avec une solution saline froide à 0,9 % et ont été lysées avec de l'eau distillée. Des aliquotes de plasma et d'hémolysat ont été conservées à -80 °C pour l'analyse ultérieure de la GSHPx.

Les dommages causés par les radicaux libres ont été estimés en mesurant

le malondialdéhyde (MDA) à l'aide du test thiobarbiturique (TBA) selon Esterbauer et Cheeseman (1990) en présence d'hydroxytoluène butylé. Les composés réagissant au TBA ont été exprimés en nmol de MDA par gramme de protéine. L'activité de la glutathion peroxydase a été évaluée par la méthode de Paglia et Valentine (1967) telle que modifiée par Lawrence et Burk (1976) en utilisant du peroxyde d'hydrogène comme substrat et

en incluant 1,0 mM d'azide pour inhiber la catalase, de sorte que seule la GSHPx dépendant du Se a été mesurée. L'activité de la GST a été déterminée par l'augmentation de l'absorbance à 340 nm due à la formation de 2,4-dinitrophényl S-glutathion à partir de 1-chloro-2,4-dinitrobenzène et de GSH, mesurée comme

indiqué par Habig, Pabst et Jakoby (1974). L'activité de la glutathion réductase a été surveillée en suivant le taux de réduction du NADP⁺ en NADPH en présence de glutathion oxydé (Cohen & Duvel, 1988). La G6PD et la 6PGD ont été analysées selon la méthode de Glock et McLean (1953) et le ME selon la procédure d'Ochoa, Mehler et Hornberg (1948). Pour l'analyse du glutathion, des échantillons de 100 mg de tissu ont été homogénéisés dans 15 volumes d'acide perchlorique (2 g/litre). Après centrifugation, les fractions surnageantes (200 µl) ont été analysées pour le glutathion total selon la procédure d'Anderson (1985) où la teneur en GSH a été déterminée par sa réaction avec 5-5'-dithiobis-(2-acide nitrobenzoïque) pour produire le chromophore jaune, 5-thio-2-acide nitrobenzoïque à 412 nm. Les déterminations des protéines ont été effectuées selon Smith et al. (1985) en utilisant la sérum-albumine bovine comme norme.

2.3. Analyse statistique

Les données sont présentées comme la moyenne \pm SEM de sept observations par groupe. La signification statistique des différences entre les traitements a été établie par ANOVA en utilisant un programme de micro-ordinateur Stat View 512+ (Brain Power, Calabasas, CA) intégrant un calcul de la différence la moins significative de Fisher entre les groupes. Les différences ont été considérées comme significatives lorsque $p < 0,05$.

3. Résultats

Les résultats sont présentés dans les tableaux 2 et 3. La supplémentation en cholestérol alimentaire et la déplétion en vitamine E ont affecté la prise de poids, car les régimes 1 et 2 ont fourni plus d'énergie métabolisable que le régime 3. Elle a considérablement augmenté la taille du foie. La concentration plasmatique de cholestérol était plus faible en présence de Se (groupe 2) qu'en son absence (groupe 1), lorsque les régimes alimentaires étaient inadéquats en vitamine E. La concentration plasmatique de HDL-C était faible chez les rats nourris avec des régimes à haute teneur en cholestérol et inadéquats en vitamine E (groupes 1 et 2) par rapport à ceux du groupe 3 nourris avec un régime à faible teneur en cholestérol, adéquats en Se et en vitamine E. En l'absence de Se alimentaire (groupe 1), les rats ont présenté des taux de C-LDL élevés par rapport au groupe 2, lorsque les animaux ont reçu le même régime alimentaire supplémenté avec de la spiruline ; cette valeur a été ramenée au même niveau que celui observé chez les animaux ayant reçu des régimes alimentaires contenant suffisamment de vitamine E et de Se. La

peroxydation des lipides du foie, des reins et du cœur, c'est-à-dire la concentration de MDA, a été significativement augmentée par les régimes riches en cholestérol (groupes 1 et 2) par rapport au régime standard (groupe 3) ; néanmoins, les rats soumis à un régime de vitamine E modifié et recevant une dose adéquate de sélénium sous forme de spiruline (groupe 2) ont montré une nette diminution des niveaux de MDA hépatique (environ 30 %), rénal (48 %) et cardiaque (49 %) par rapport à ceux du groupe 1. Comme prévu, la carence en Se a provoqué une diminution significative de

Tableau 2

Poids corporel, consommation alimentaire, poids du foie et cholestérol plasmatique chez les rats nourris avec les régimes expérimentaux^a

	Groupe 1	Groupe 2	Groupe 3
Poids corporel initial (g)	110±6a	110±2a	110±2a
Poids corporel final (g)	371±5a	371±6a	352±5a
Croissance (g/j)	4,56±0,08a	4,57±0,10a	4,23±0,08b
Consommation alimentaire (g/j)	16,50±0,13a		16,61±0,15a
Poids du foie (g/100 g PC)	16,83±0,18a	3,49±0,08a	
	3,46±0,06a	3,18±0,15b	
Cholestérol total (mg/100 ml)	67,3±5,0a	51,3±4,0b	61,0±3,7a
HDL-cholestérol (mg/100 ml)	30,8±2,6a	31,9±4,3a	47,3±3,7b
LDL-cholestérol (mg/100 ml)	12,1±1,8a	6,71,3b	5,9±0,9b

^a Les valeurs sont des moyennes ±SEM de sept observations par groupe ; les valeurs sur une ligne avec des lettres différentes sont significativement différentes (p<0,05).

Tableau 3

Glutathion du sang entier, malondialdéhyde tissulaire (MDA) et activité tissulaire de la glutathion peroxydase (GSHPx), de la glutathion réductase (GSSGR), de la glutathion-S-transférase (GST), de la glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PD), de la 6-phosphogluconate déshydrogénase (6PGD) et de l'enzyme malique (ME) chez les rats nourris avec les régimes expérimentaux^a

	Groupe 1	Groupe 2	Groupe 3
Plasma			
GSHPx (mU/mg protéine)	1,38±0,06a	7,88±0,40b	7,54±0,80b
Globules rouges			
GSHPx (mU/mg protéine)	28,8±1,7a	53,9±0,6b	51,5±1,1b
Sang total			
Total GSH (nmol/mg protéine)	587±5a	493±7b	535±12b
Foie			
MDA (nmol/g protéine)			
lié	19,4±1,5a	13,8±1,6b	3,4±0,6c
libre	11,1±1,1a	7,4±0,8b	3,2±0,5c
GSHPx (mU/mg protéine)	93,36±5,7a	594,4±23,8b	671,0±42,0b
GST (mU/mg protéine)	69,2±13,3a	23,0±3,0b	29,3±2,9b
GSSGR (mU/mg protéine)	127,8±9,6a	98,0±5,6b	84,2±8,5b
G6PD (mU/mg protéine)	19,7±1,5a	14,4±0,9b	10,8±1,1b
6PGD (mU/mg protéine)	39±1a	28±1b	28±1b
ME (mU/mg protéine)	71,3±1,9a	73,3±5,1a	
	94,5±6,4b	Rein	
MDA (pmol/g protéine)			
lié	315,1±33,3a	215,0±24,2b	129,9±11,2c
libre	268,0±34,4a	88,2±9,4b	18,3±7,8c
GSHPx (mU/mg protéine)	591,4±31,1a	1227,8±55,8b	
	1518,0±77,4a		
Cœur			
MDA (pmol/g protéine)			
lié	148,0±18,8a	72,0±8,5b	29,5±4,6c
libre	87,7±13,2a	38,3±7,2b	2,8±0,3c
GSHPx (mU/mg protéine)	187,4±16,5a	317,4±18,1b	305,2±19,9b

^a Les valeurs sont des moyennes ±SEM de sept observations par groupe ; les valeurs sur une ligne avec des lettres différentes sont significativement différentes (p<0,05).

érythrocytes, le foie, les reins et le cœur. La carence en vitamine E n'a pas eu d'effet sur l'activité de la GST et de la GSSGR (Tableau 3), car aucune différence significative n'est apparue entre les groupes 2

l'activité de la GSHPx dans tous les tissus étudiés (tableau 3) et cette diminution était indépendante et non affectée par le statut en vitamine E des rats. Le pourcentage de pertes d'activité de la GSHPx dues à une carence en sélénium était de 82, 46, 84, 52 et 41 %, respectivement, dans le plasma, les

et 3 quelle que soit l'enzyme considérée. Cependant, la carence en sélénium a déclenché une augmentation significative de l'activité de la GST (66 %) et de la GSSGR (23 %) du foie par rapport aux rats du groupe 2 qui ont été alimentés en sélénium par la spiruline ; les activités présentées par ces animaux n'étaient pas significativement différentes de celles observées dans le groupe 3. Les activités spécifiques des trois enzymes productrices de NADPH sont également présentées dans le tableau 3. Les activités de G6PD et 6PGD ont augmenté de manière significative dans le groupe 1 (environ 27-28 %) par rapport aux groupes 2 et 3, tandis que celle de ME est restée inchangée dans les groupes 1 et 2 et nettement inférieure à celle du groupe 3.

4. Discussion

Cette expérience a permis d'étudier la capacité de la spiruline alimentaire à se comporter comme un transporteur de sélénium, telle que mesurée par l'activité de la GSHPx du foie et les activités enzymatiques liées au glutathion (GSSGR, GST), les activités des enzymes génératrices de NADPH (G6PD, 6PGD et ME) ont également été surveillées. Des rats soumis à un stress oxydatif ont été utilisés pour tester l'effet bénéfique des microalgues riches en Se. En outre, des rats nourris avec des régimes alimentaires standard ont également été utilisés. Dans ce travail, nous avons constaté qu'une carence alimentaire de 57 jours en nutriments antioxydants à un niveau de cholestérol élevé affectait de manière significative le taux de C-LDL dans le plasma des rats ; les rats nourris avec un régime alimentaire déficient en vitamine E et en Se présentaient un taux de C-LDL accru de 79 % par rapport soit à des rats nourris avec un régime identique mais supplémenté avec de la spiruline enrichie en Se, soit à des rats nourris avec un régime standard adéquat concernant ces deux antioxydants. Par conséquent, la carence en sélénium était la seule responsable du taux élevé de C-LDL. Cela est en accord avec les travaux rapportés par d'autres (Stone, Stewart, Nicholas, & Pavuluri, 1986 ; Mazur et al., 1996). Stone et al. (1984) ont suggéré que l'effet hypercholestérolémique de la carence en Se était amplifié par l'ajout de 1 % de cholestérol alimentaire connu pour diminuer le taux de clairance plasmatique de la LDL (Slater, Shepherd, & Packerd, 1982), permettant ainsi à la LDL de subir une peroxydation lipidique *in vivo* accrue. Les carences alimentaires en vitamine E et en Se favorisent la peroxydation lipidique *in vivo* (Hafeman & Hoekstra, 1977), ce qui a été souligné ici par les faibles niveaux de MDA (libre ou lié) observés dans tous les tissus étudiés de rats du groupe 3 ayant reçu un régime alimentaire adéquat en vitamine E et en Se. En outre, l'apport de sélénium par la spiruline

(groupe 2) a entraîné une baisse significative du niveau de MDA dans le foie, les reins et le cœur par rapport aux animaux du groupe 1. Bien que la même quantité de sélénium ait été donnée aux groupes 2 et 3, ils diffèrent sensiblement les uns des autres en termes de MDA, libre et lié, dans le foie, les reins et le cœur : ces niveaux tissulaires plus élevés de MDA chez les rats du groupe 2 peuvent être attribués à l'alimentation qui est naturellement riche en saindoux et en cholestérol et faible en vitamine E ; ce n'est pas le cas des rats du groupe 3. La carence en sélénium a entraîné une chute générale

et spectaculaire de l'activité de Se-GSHPx. Il faut souligner que la supplémentation en spiruline alimentaire (groupe 2) a permis aux rats de restaurer les activités de Se-GSHPx à un niveau identique à celui observé chez les rats nourris avec une alimentation adéquate en antioxydants (groupe 3). La GST, présente en grande quantité dans le foie, catalyse la conjugaison par le glutathion d'une large gamme de xénobiotiques. Lawrence et Burk (1978) et Lawrence, Parkhill et Burk (1978) ont rapporté que, chez les rats, la carence en sélénium s'accompagne d'une augmentation compensatoire de l'activité de la GST. La diminution de 84 % de l'activité hépatique de Se-GSHPx s'est accompagnée ici d'une augmentation de 66 % de l'activité de la GST. Des études ont montré que l'activité de la GST augmente jusqu'à 200 % dans le foie de rat déficient en Se (Burk, Lawrence, & Correia, 1980) ; ce niveau d'augmentation n'a pas été atteint chez les rats du groupe 1. En ce qui concerne l'activité spécifique de la GSSGR, qui a augmenté de manière significative chez les rats du groupe 1 par rapport à ceux du groupe 2, certains auteurs (Reiter & Uendel, 1984, 1985) ont signalé une augmentation de cette activité enzymatique chez les souris déficientes en Se, tandis que d'autres (Burk, Nishiki, Lawrence, & Chance, 1978) n'ont constaté aucun changement dans le foie des rats déficients en Se. Les activités spécifiques des enzymes génératrices de NADPH se sont comportées de manière différente chez les rats déficients en Se : bien que les activités de G6PD et 6PGD aient été augmentées, aucun changement n'a été observé dans celle du ME par rapport aux rats du groupe 2. Nos résultats démontrent clairement une relation de réponse entre une enzyme consommatrice de NADPH (GSSGR) et les enzymes G6PD et 6PGD, génératrices de NADPH. Néanmoins, pendant la carence en sélénium, l'activité des enzymes maliques n'a pas évolué vers une production accrue de NADPH comme l'ont fait la G6PD et la 6PGD, peut-être pour maintenir le glutathion dans un état réduit. Ayala, Lobato, et Machado (1986) ont rapporté une telle relation entre la GSSGR et le ME chez des rats recevant de l'hydroperoxyde de t-butyle. Vadhanavikit et Ganther (1993, 1994) ont constaté une augmentation de l'activité cytosolique des enzymes génératrices de NADPH (G6PD, 6PGD et ME) et de la GSSGR dans le foie de rats nourris avec une alimentation déficiente en Se par rapport aux témoins, alors que les études de Burk et al. (1978) ont signalé une diminution de l'activité de la G6PD chez les rats déficients en Se. La légère divergence qui est apparue entre ces résultats et les nôtres est inexplicable mais pourrait être attribuée aux régimes alimentaires riches en graisses utilisés ici. Néanmoins, la supplémentation en Se alimentaire par la spiruline chez les rats du groupe 2 a déclenché une demande réduite de NADPH par rapport à une carence en Se, fournissant ainsi

suffisamment de glutathion pour la réduction des hydroperoxydes par GSHPx, comme observé chez les rats standard du groupe 3.

La forte récupération de l'activité de Se-GSHPx et la restauration globale des paramètres étudiés ont démontré que la spiruline se comporte comme un véhicule efficace pour le sélénium après une supplémentation alimentaire en algues riches en Se chez les rats soumis à des dommages peroxydatifs. Néanmoins, bien que l'un d'entre nous ait montré la localisation cytoplasmique algale de l'élément et toute contamination de source extracellulaire dans la spiruline sèche finale en poudre (données

non publiées), la nature organique éventuelle du sélénium reste à évaluer.

Remerciements

Ce travail a été soutenu en partie par une subvention de la Région Languedoc-Roussillon. Les auteurs remercient le Dr Jacques Dubois (consultant pour les Laboratoires Pierre Fabre) pour ses suggestions et ses critiques utiles.

Références

- Anderson, M. E. (1985). Determination of glutathione and glutathione disulfide in biological. *Weth. Enzymol.*, 113, 548–55.
- Ayala, A., Lobato, M.-F., & Machado, A. (1986). Malic enzyme levels are increased by the activation of NADPH-consuming pathways, detoxification processes. *YEBS Lett.*, 202, 102–106.
- Bourges, H., Sotomayor, A., Mendoza, E., & Chavez, E. (1971). Utilization of the blue-green-algae *Spirulina* as a protein source. *Nutv. Rep. Intevn.*, 4, 31–43.
- Burk, R. F., Lawrence, R. A., & Correia, R. A. (1980). Sex differences in biochemical manifestations of selenium deficiency in rat liver with special reference to heme metabolism. *Biochem. Pharmacol.*, 29, 39–42.
- Burk, R. F., Nishiki, H., Lawrence, R. A., & Chance, B. (1978). Peroxide removal by selenium-dependent and selenium-independent glutathione peroxidases in hemoglobin-free perfused rat liver. *J. Biol. Chem.*, 253, 43–46.
- Chamarro, G., Herrera, G., Salazar, M., Salazar, S., & Ulloa, V. (1988). Subchronic toxicity study in rats fed *Spirulina*. *J. Phavm. Belg.*, 43, 29–36.
- Clark, L. C., & Combs Jr., G. F. (1986). Selenium compounds and the prevention of cancer, research needs and public health implications. *J. Nutv.*, 116, 170–173.
- Cohen, M. B., & Duvel, D. L. (1988). Characterization of the inhibition of glutathione reductase and the recovery of enzyme activity in exponentially growing murine leukemia (L1210) cells treated with 1,3-bis (2-chloroethyl)-1-nitrosourea. *Biochem. Pharmacol.*, 37, 317–3320.
- Dillon, J. C., Phuc, A. P., & Dubacq, J. P. (1995). Nutritional value of the alga *spirulina*. *Eovld Rer. Nutv. Diet.*, 77, 32–46.
- Esterbauer, H., & Cheeseman, H. H. (1990). Determination of aldehydic lipid peroxidation products, malondialdehyde and 4-hydroxynonenal. *Weth. Enzymol.*, 186, 407–415.
- Glock, G. G., & McLean, P. (1953). Further studies on the properties and assay of glucose-6-phosphate dehydrogenase and 6-phosphogluconate dehydrogenase of rat liver. *Biochem. J.*, 55, 400–408.
- Habig, U. H., Pabst, M. J., & Jakoby, U. B. (1974). Glutathione S-transferase. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.*, 249, 7130–7139.
- Hafeman, D. G., & Hoekstra, U. G. (1977). Lipid peroxidation in vivo during vitamin E and selenium deficiency in the rat as monitored by ethane evolution. *J. Nutv.*, 107, 666–672.
- Hay, R. A. (1991). Microalgae as food and supplement. *Clin. Rer. Yood Sci. Nutv.*, 30, 555–573.
- Lawrence, R. A., & Burk, R. F. (1976). Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem. Biophys. Rez. Commun.*, 71, 952–958.
- Lawrence, R. A., & Burk, R. F. (1978). Species, tissue and subcellular distribution of non-Se-dependent glutathione peroxidase activity. *J. Nutv.*, 108, 211–215.
- Lawrence, R. A., Parkhill, L. H., & Burk, R. F. (1978). Hepatic cytosolic non selenium-dependent glutathione peroxidase activity, its nature and the effect of selenium deficiency. *J. Nutv.*, 108, 981–987.
- Mazur, A., Nassir, F., Gueux, E., Moundras, C., Bellanger, J., Grolier, P., Rock, E., & Rayssiguier, Y. (1996). Diets deficient in selenium and vitamin E affect plasma lipoprotein and apolipoprotein concentrations in the rat. *Bv. J. Nutv.*, 76, 899–907.
- Ochoa, S., Mehler, A. H., & Hornberg, A. (1948). Biosynthesis of dicarboxylic acids by carbon dioxide fixation, I. Isolation and properties of an enzyme from pigeon liver catalyzing the reversible oxidative decarboxylation of L-malic acid. *J. Biol. Chem.*, 174, 979–1000.
- Paglia, D. E., & Valentine, U. N. (1967). Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J. Lab. Clin. Med.*, 70, 158–69.
- Reiter, R., & Uendel, A. (1984). Selenium and drug metabolism II, independence of glutathione peroxidase and reversibility of hepatic enzyme modulations in mice. *Biochem. Pharmacol.*, 33, 1923–1928.
- Reiter, R., & Uendel, A. (1985). Selenium and drug metabolism III, relation of glutathione peroxidase and other hepatic enzyme modulations to dietary supplements. *Biochem. Pharmacol.*, 34, 2287–2290.
- Rotruck, J. T., Pope, A. L., Ganther, H., Swanson, A. B., Hafeman, D. G., & Hoekstra, U. G. (1972). Selenium, biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Science*, 179, 588–590.
- Salonen, J. T., Alfthan, G., Huttunen, J. H., Pikkarainen, J., & Puska, P. (1982). Association between cardiovascular death and myocardial infarction and serum selenium in a matched-pair longitudinal study. *Lancet*, 2, 175–179.
- Schwarz, H., & Foltz, C. M. (1957). Selenium as an integral part of factor 3 against dietary liver degeneration. *J. Am. Chem. Sci.*, 79, 3292–3293.
- Slater, H. R., Shepherd, J., & Packard, C. J. (1982). Receptor-mediated catabolism and tissue uptake of human low density lipoprotein in the cholesterol-fed, atherosclerotic rabbit. *Biochim. Biophys. Acta.*, 713, 435–445.
- Smith, S. H., Hrohn, R. I., Mallia, A. H., Provenzano, M. D., Fujimoto, E. H., Goeke, N. M., Olson, B. J., & Hlenk, D. H. (1985). Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Anal. Biochem.*, 150, 76–85.
- Stone, U. L., Nicholas, C., & Pavuluri, S. (1984). Lipoprotein cholesterol levels in rats fed a cholesterol supplemented diet either deficient or supplemented with vitamin E and/or selenium. *Yed. Pvoc.*, 43, 715 (abstract).
- Stone, U. L., Stewart, M. E., Nicholas, C., & Pavuluri, S. (1986). Effects of dietary selenium and vitamin E on plasma lipoprotein cholesterol levels in male rats. *Ann. Nutv. Wetab.*, 30, 94–103.
- Tsai, A. C. (1975). Lipid peroxidation and glutathione peroxidase activity in the liver of cholesterol-fed rats. *J. Nutv.*, 105, 946–951.
- Vadhanavikit, S., & Ganther, H. E. (1993). Effect of hypothyroidism in selenium deficient rats. *YASEB J.*, 7, 1607, (abstract).
- Vadhanavikit, S., & Ganther, H. E. (1994). Increased malic enzyme activity in selenium-deficient rat liver. *J. Nutv. Biochem.*, 5, 314–316.
- Yoshino, Y., Hirai, Y., Takahashi, H., Yamamoto, N., & Yamazaki, N. (1980). The chronic intoxication test on *Spirulina* product fed to Uistar-strain rats. *Jpn. J. Nutv.*, 38, 221–225.