

— C 655 —

**ÉTUDE DE LA TRANSFORMATION
DE L'ASTAXANTHINE EN VITAMINE A
CHEZ LE RAT ALBINOS :
EXPÉRIENCES « IN VITRO »**

par

M^{lle} R. MASSONET, M^{me} T. CONQUY et R. R. GRANGAUD

Laboratoire de biochimie médicale de la Faculté mixte de médecine et pharmacie, Rennes

C'est une notion classique que, seules sont douées, chez les Mammifères, de propriétés vitaminiques A, les substances qui possèdent dans leur molécule le groupement axérophthyle formé par l'union d'un noyau de β -ionone et d'une chaîne isoprénique, c'est-à-dire d'une molécule de vitamine A en puissance. Les pigments caroténoïdes à 40 atomes de carbone dont les deux noyaux sont oxygénés, tels que la zéaxanthine, la xanthophylle, etc., sont dépourvus d'activité vitaminique A.

Cependant, l'astaxanthine, 3,3'-dihydroxy 4,4'-dicéto- β -carotène, principal pigment caroténoïde des Crustacés, constitue une singulière exception à cet égard. Administré au Rat blanc carencé en vitamine A, ce pigment manifeste une activité antixérophthalmique notable; mais il se distingue néanmoins des autres facteurs vitaminiques A : c'est seulement avec des doses bien supérieures à celles qui guérissent les lésions oculaires qu'est obtenu un accroissement pondéral important (2) (3) (1). De plus, quelle que soit la dose de pigment administrée, on enregistre de graves désordres dans les fonctions de reproduction : les mâles sont frappés de stérilité; quant aux femelles, elles conservent bien la possibilité d'être fécondées, mais la gestation est profondément perturbée (avortement, portées mort-nées [9]).

Cependant, des recherches poursuivies parallèlement chez les Poissons, devaient montrer que ceux-ci sont capables d'utiliser l'astaxanthine comme précurseur de la vitamine A. En effet, l'administration du pigment à *Gambusia holbrooki* Grd. donne lieu à une néoformation de rétinol décelable dans la muqueuse intestinale, le foie et les yeux (5) (4) (7) (12).

La confrontation de cet ensemble de données ne pouvait manquer de suggérer que, chez le Rat, subsiste peut-être la même possibilité, mais électivement localisée et quantitativement limitée. Cette hypothèse, soumise à l'expérimentation, a reçu une première confirmation (6) (10) : après administration de diacétate d'astaxanthine, on constate que le Rat est incapable de constituer des réserves de pigment, mais que la teneur en rétinol de la rétine est notablement augmentée. L'expérimentation *in vitro* permet de constater que le tissu oculaire effectue la conversion de l'astaxanthine en vitamine A.

Ces recherches ont été poursuivies pour préciser, à la fois, la spécificité chimique et la spécificité tissulaire. Comparativement, du diacétate d'astaxanthine, du β -carotène et du dipalmitate de xanthophylle ont été incubés avec successivement du tissu rétinien, de la muqueuse intestinale et des surrénales de rats carencés. L'extraction de l'astaxanthine, la préparation du diacétate et les contrôles de pureté ont été antérieurement décrits ainsi que la préparation des animaux et les techniques d'incubation (10).

Les animaux sont sacrifiés par décapitation, trois jours après l'apparition des signes de carence (stabilisation de poids et début de xérophtalmie). Les organes sont immédiatement et rapidement prélevés.

Les yeux (sauf pour la première expérience qui a porté sur le globe oculaire intact) sont sectionnés verticalement pour ne conserver que la région rétinienne qui est aussitôt immergée dans le liquide d'incubation. Pour éliminer l'erreur due à des variations individuelles, deux lots sont constitués en associant les segments des yeux droits de la moitié des sujets (sept) aux segments des yeux gauches des animaux restants et inversement, le liquide d'incubation du premier lot étant seul additionné de caroténoïde.

Pour la constitution des lots de surrénales, les mêmes précautions ont été observées.

Quant aux intestins, ils ont été lavés au sérum physiologique à 9 ‰ et sectionnés en tronçons de 1 centimètre. Les deux lots ont été constitués chacun de six tronçons alternés.

Pour toutes les expériences, la durée d'incubation à 37 °C a été uniformément de 3 h. 30, sauf pour la première (yeux entiers) où elle a été maintenue pendant 12 heures.

Au bout de ce temps, les fragments de tissus des différents lots sont saponifiés selon la technique de LEWIS, BODANSKY, FALK et Mac GUIRE (8). L'insaponifiable est repris par l'éther de pétrole. Après lavage et évaporation sous pression réduite en atmosphère d'azote, le résidu est dissous dans le chloroforme. La recherche et le dosage de la vitamine A sont effectués à l'aide de la

réaction de CARR et PRICE selon la technique cinétique de MEUNIER et RAOUL (11).

Les résultats sont rassemblés au tableau ci-dessous :

Organe incubé	Caroténoïde ajouté	Vitamine A en µg
Yeux entiers	Diacétate d'astaxanthine	1,65
	0	0,75
Yeux région rétinienne	Diacétate d'astaxanthine	1,0
	0	0,3
Yeux région rétinienne	β -carotène	0,8
	0	Traces (*)
Yeux région rétinienne	Dipalmitate de xanthophylle	Traces (*)
	0	Traces (*)
Surrénales	Diacétate d'astaxanthine	0
	0	0
Surrénales	β -carotène	Traces (*)
	0	0
Surrénales	Dipalmitate de xanthophylle	0
	0	0
Intestins	Diacétate d'astaxanthine	0
	β -carotène	Traces (*)
	0	0

(*) Non dosables.

Il apparaît clairement que chez le Rat, c'est au tissu rétinien qu'est électivement dévolue la faculté de convertir l'astaxanthine en rétinol. L'absence de transformation de la xanthophylle souligne en outre que, conformément aux données classiques, cette propriété ne s'étend pas à l'ensemble des caroténoïdes dont les deux cycles sont oxygénés.

La limitation au tissu rétinien de cette aptitude à convertir l'astaxanthine rend compte de l'activité essentiellement antixérophtalmique que manifeste ce caroténoïde chez le Rat. La vitamine A ne se formant localement qu'en quantités insuffisantes pour permettre son passage dans la circulation, l'action sur l'état général est au moins partiellement abolie, d'où la dissociation observée dans l'activité vitaminique du pigment.

BIBLIOGRAPHIE

1. GRANGAUD R., Thèse de doctorat ès-sciences, Lyon, 1950. — 2. GRANGAUD R. et MASSONET R., *C.R. Acad. Sci.*, 1948, **227**, 568. — 3. GRANGAUD R. et MASSONET R., *C.R. Acad. Sci.*, 1950, **230**, 1319. — 4. GRANGAUD R. et MASSONET R., *Arch. Sci. physiol.*, 1955, **9**, 3. — 5. GRANGAUD R. et MASSONET R., *C.R. Acad. Sci.*, 1955, **241**, 1087. — 6. GRANGAUD R., MASSONET R., CONQUY T. et RIDOLFO J., *C.R. Acad. Sci.*, 1961, **252**, 1854. — 7. GRANGAUD R., VIGNAIS P., MASSONET R. et MOATTI J. P., *Bull. Soc., chim. biol.*, 1957, **39**, n° 11. — 8. LEWIS J. M., BODANSKY K. G., FALK et MACGUIRE G., *J. Nutrit.*, 1941, **23**, 351. — 9. MASSONET R., Thèse de doctorat ès-sciences, Lyon, 1958. — 10. MASSONET R., CONQUY T. et GRANGAUD R., *C.R. Soc. biol.*, 196, **155**, 747.

11. MEUNIER P. et RAOUL Y., *Le diagnostic chimique des avitaminoses*. Masson et Cie éd. Paris, 1942. — 12. MOATTI J. P., Thèse de doctorat en Pharmacie, Alger, 1959.

DISCUSSION

M. RAOUL. — Je constate que la rétine s'ajoute aux lieux déjà connus où un caroténoïde de type doublé se transforme en type simple : muqueuse intestinale et foie où le β -carotène se transforme en rétinol. C'est là un fait important car dans l'ouvrage classique de T. MOORE, seule la muqueuse intestinale était retenue pour cette coupure. Des travaux récents avec le β -carotène marqué ont confirmé l'efficacité du parenchyme hépatique. Il y a donc plusieurs possibilités.

M. MATET. — 1^o Est-ce de la vitamine A alcool ou du rétinène que l'auteur a retrouvé dans les yeux de rats recevant de l'astaxanthine?

M^{lle} MASSONET. — Chez les animaux examinés, c'est le rétinol qui a été retrouvé.

M. MATET. — 2^o A-t-on, chez les mêmes animaux, retrouvé de l'astaxanthine inaltéré, dans le foie en particulier?

M^{lle} MASSONET. — Chez les animaux traités à l'astaxanthine, le pigment a été trouvé, à l'état de traces, au niveau des yeux et des thyroïdes. Le pigment est absent dans les autres organes examinés et dans le foie en particulier il n'a jamais été décelé.

M. GRANGAUD. — La publication en 1948 de l'observation des propriétés électivement antixérophtalmiques des huiles de Péneïdés, a été généralement accueillie avec un scepticisme bien naturel. D'emblée, cependant, Paul MEUNIER a accordé sa confiance à nos résultats et nous a encouragés à poursuivre. Aussi l'aboutissement de ce travail qui vient de vous être présenté est-il dans mon esprit un hommage à sa mémoire et je suis heureux de le déclarer ici devant plusieurs de ses amis et collaborateurs les plus proches.