

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la
Recherche Scientifique

Université ABOU BEKR BELKAID Tlemcen
Institut des Sciences de la Nature

THESE EN VUE DE L'OBTENTION DU
DIPLOME DE DOCTORAT D'ETAT ES SCIENCES

en

PHYSIOLOGIE ET BIOCHIMIE DE LA NUTRITION

Présentée par

Mme MERZOUK BABA HAMED Hafida

***L'HYPOTROPHIE ET LA MACROSOMIE DU
NOUVEAU-NE A TERME S'ACCOMPAGNENT DE
PERTURBATIONS IMPORTANTES DU
METABOLISME DES LIPIDES ET DES
LIPOPROTEINES***

Soutenue le 19/04/1999, devant la commission d'examen

Professeur	M.A KHELLIL	Président
Professeur	M. TOUHAMI	Examineur
Maître de Conférence	D. CHABANE SARI	Examineur
Docent	M. BENYOUCEF	Examineur
Professeur	M. BOUCHENAK	Directeur de thèse
Professeur	J. BELLEVILLE	Codirecteur de thèse

Dedicaces

A la mémoire de mon père

A mon mari Sid Ahmed

A mon fils Riad

A ma fille Amel

A ma mère Zoubida

A toute ma famille

A tous mes ami(e)s



REMERCIEMENTS

Je remercie Madame M. BOUCHENAK , professeur à l'Université d'Oran , qui a guidé judicieusement ces recherches. Je garde en mémoire ces conseils bien vaillants, son infatigable dévouement, ses encouragements et son soutien moral durant les moments difficiles. Qu'elle veuille bien accepter les témoignages de ma grande admiration et de ma gratitude pour ses remarquables qualités humaines et ses connaissances scientifiques.

Je remercie Mr J. BELLEVILLE, Professeur à l'Université de Bourgogne , pour avoir pris en charge ce travail avec beaucoup d'intérêt et de patience. Je lui exprime ma profonde reconnaissance pour son importante aide, ses précieux conseils et sa constante disponibilité. Qu'il veuille bien accepter l'expression de ma profonde et respectueuse gratitude.

Je remercie Mme J. PROST, Maître de conférence à l'Université de Bourgogne, pour avoir mis à ma disposition tous les moyens tant matériels que scientifiques, indispensables à la réalisation de ce travail de recherche. Je tiens à lui exprimer ma sincère reconnaissance pour m'avoir appris les techniques de laboratoire. Sa sensibilité pour tous mes problèmes m'a particulièrement touchée. Qu'elle trouve ici l'expression de toute ma gratitude et toute mon estime.

Je remercie Mr M.A. KHELLIL , professeur à l'Université de Tlemcen, de l'intérêt qu'il a bien voulu porter à ce travail en acceptant de présider le jury de cette thèse. Qu'il soit assuré de ma sincère reconnaissance.

Je remercie Mr M. TOUHAMI , professeur en Pédiatrie au CHU d'Oran , pour l'attention qu'il a bien voulu porter à ce travail en acceptant de le juger et de faire partie du jury de thèse. Qu'il soit assuré de ma profonde gratitude.

Je remercie Mr D. CHABANE SARI , Maître de Conférence à l'Université de Tlemcen, de l'intérêt qu'il a bien voulu porter à ce travail en acceptant de le juger et

de faire partie du jury de thèse. Je n'oublie pas sa précieuse aide technique qui m'a permis la réalisation d'une partie de mon travail expérimental. Qu'il soit assuré de ma sincère reconnaissance.

Je remercie Mr M. BENYOUCEF , Docent à l'Université de Tlemcen, pour l'attention qu'il a bien voulu porter à ce travail en acceptant de le juger et de faire partie du jury de thèse. Qu'il soit assuré de ma profonde gratitude

Je remercie Anne MAGNET, ESP d'anglais à l'Université de Bourgogne, pour avoir bien voulu consacré le temps nécessaire à la correction de mes articles. Je lui exprime ma profonde reconnaissance et mon estime.

Je remercie tout le personnel de l'unité de recherche de nutrition cellulaire et métabolique et particulièrement Mme Françoise ROUSSEL, Mr Michel SAUNIER, Mr Joseph GRETI et Mlle Sandrine ROBLET pour leur disponibilité et aide technique.

Je remercie également toute l'équipe du laboratoire de nutrition de l'Université d'Oran pour leur aide technique et leur soutien moral.

Enfin, je remercie tout ceux qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail.

COMMUNICATIONS

- * **28^{ème} Réunion de l'association Française de Nutrition, Ingestion - Digestion - Absorption – Métabolisme. 8-9 Octobre 1991, Dijon, France.**

MERZOUK H, MEGHELLI-BOUCHENAK M, KERZABI K, EL KORSO N, BELLEVILLE J. Teneurs sériques en protéines et en lipides de la mère et du nouveau-né hypotrophe.

MERZOUK H, MEGHELLI-BOUCHENAK M, KERZABI K, EL KORSO N, LAMRI MY, HAMOU H, BELLEVILLE J. Etude quantitative et qualitative des lipoprotéines sériques chez le nouveau-né hypotrophe à terme comparé au témoin.

- * **Colloque International du Groupe d'études et de Recherches sur la Nutrition et le vieillissement (GNRV), sur le thème « Caractéristiques nutritionnelles des régimes alimentaires méditerranéens, prévention des maladies cardio-vasculaires », 29-31 Octobre 1991, Monastir, Tunisie.**

MERZOUK H, MEGHELLI-BOUCHENAK M, KERZABI K, EL KORSO N, BELLEVILLE J. Teneurs sériques en protéines et en lipides de la mère et du nouveau-né hypotrophe.

MERZOUK H, MEGHELLI-BOUCHENAK M, KERZABI K, EL KORSO N, LAMRI MY, HAMOU H, BELLEVILLE J. Etude quantitative et qualitative des lipoprotéines sériques chez le nouveau-né hypotrophe à terme comparé au témoin.

MERZOUK H, MEGHELLI-BOUCHENAK M, BELLEVILLE J, EL KORSO N, KERZABI K. Facteurs associés à l'hypotrophie fœtale.

- * **V^{èmes} Journées Internationales du Groupe d'Etude et de Recherches sur la malnutrition (GERM), 22-27 Novembre 1992, Balaruc, Montpellier, France.**

MERZOUK H, MEGHELLI-BOUCHENAK M, EL KORSO N, KERZABI K, LAMRI MY, BELLEVILLE J. Evaluation de l'état nutritionnel de la mère et du nouveau-né hypotrophe : - Facteurs associés à l'hypotrophie fœtale – Etude du transport des lipides.

- * **IV^{èmes} Journées Nationales de Nutrition de la Fondation Nationale de la Recherche Médicale (FOREM), 19-21 Avril 1993, Alger, Algérie.**

MERZOUK H, BENHBIB S, MEGHELLI-BOUCHENAK M, KORSO N. Comparaison des profils sériques lipidiques et protéiques chez les nouveau-nés à terme macrosomiques ou eutrophiques et de leur mères. Résumé publié dans « Santé Plus. Troubles nutritionnels et Métaboliques ». Numéro spécial, Avril 1993.

- * **IV^{èmes} Journées Médico-chirurgicales/ 2^oRM, 11-12 Mai 1993, Oran, Algérie.**

MERZOUK H, BENHBIB S, MEGHELLI-BOUCHENAK M, KORSO N. Comparaison des profils sériques lipidiques et protéiques chez les nouveau-nés à terme macrosomiques ou eutrophiques et de leur mères.

- * **1^{er} Congrès des Chercheurs et Universitaires Maghrébins en France, 16-18 Novembre 1994, Hammamet, Tunisie.**

MERZOUK H, LAMRI MY, MEGHELLI-BOUCHENAK M, KORSO N, MEKKI K, PROST J, BELLEVILLE J. Influence de la macrosomie (poids de naissance > 4 kg) sur les lipoprotéines de haute densité (HDL₂ et HDL₃) et sur l'activité de la lécithine : cholestérol acyltransférase.

* **Congrès Scientifique « Nutrition et santé autour de la Méditerranée » 16-18 Février 1995, Marseille, France.**

MERZOUK H, MEGHELLI-BOUCHENAK M, LAMRI MY, EL KORSO N, PROST J, BELLEVILLE J. Teneurs et composition des lipoprotéines sériques chez des nouveau-nés à terme macrosomiques ou eutrophiques et de leurs mères.

* **IV^{èmes} Journées Nationales de Nutrition de la Fondation Nationale de la Recherche Médicale (FOREM), 24-25 Avril 1996, Alger, Algérie.**

MERZOUK H, LAMRI MY, MEGHELLI-BOUCHENAK M, EL KORSO N, BELLEVILLE J. Activité de la lécithine : cholestérol acyltransférase et teneurs et composition des HDL₂-HDL₃ sériques chez le nouveau-né à terme hypotrophe.

* **16th Congress of Nutrition, Palais des Congrès, 27 Juillet- 1^{er} Aout 1997, Montréal, Canada.**

MEGHELLI-BOUCHENAK M, MERZOUK H, MEKKI K, KORSO N, BELLEVILLE J. Food consumption and low birth weight associated factors in an algerian population.

* **38th International Conference on the Biochemistry of Lipids. Septembre 16-19, 1997, Assisi, Italie.**

MERZOUK H, LAMRI MY, MEGHELLI-BOUCHENAK M, EL KORSO N, PROST J, BELLEVILLE J, POISSON JP. Serum high density lipoprotein abnormalities in insulin-dependent diabetic human mothers and their macrosomic newborns are not related to lecithin : cholesterol acyltransferase.

MERZOUK H, PROST J, BELLEVILLE J. Does macrosomic offspring of streptozotocin-induced diabetic rats show abnormal lipid metabolism in adulthood ?

* **3rd Congress of the International Society for the Study of fatty acids and lipids (ISSFAL), Fatty Acids and Lipids from Cell Biology to Human Disease, 1-5 Juin 1998, Lyon, France.**

MERZOUK H, PROST J, MEGHELLI-BOUCHENAK M, BELLEVILLE J. Fatty acid compositions of liver and VLDL lipids in macrosomic offspring of streptozotocin-induced diabetic rats.

SOMMAIRE

AVANT PROPOS p 1

1^{ère} partie: HYPOTROPHIE DU NOUVEAU-NE A TERME ET MODIFICATIONS DES TENEURS ET DE LA COMPOSITION DES LIPOPROTEINES SERIQUES ET DE L'ACTIVITE DE LA LECITHINE : CHOLESTEROL ACYLTRANSFERASE

Introduction..... p 6

Population, matériel et méthodes..... p14

Article 1: Modifications quantitatives et qualitatives des HDL₂ et HDL₃ et
activité de la lécithine : cholestérol acyltransférase chez les nouveau-nés
hypotrophes à terme..... p18

Article 2: L'hypotrophie du nouveau-né à terme modifie les concentrations
et les compositions des lipoprotéines sériques..... p24

Discussion..... p31

2^{ème} partie: MODIFICATIONS DU METABOLISME DES LIPIDES ET DES LIPOPROTEINES AU COURS DE LA MACROSOMIE FŒTALE

I. Modifications qualitatives et quantitatives des lipoprotéines
sériques chez les nouveau-nés macrosomiques de mères
diabétiques ou de mères obèses

Introduction..... p34

Population, matériel et méthodes..... p39

Article 3: L'obésité maternelle qui entraîne la macrosomie fœtale altère
qualitativement et quantitativement les lipoprotéines sériques de la mère
et du nouveau-né. p43

Article 4: Le diabète maternel insulino-dépendant qui entraîne la macrosomie
fœtale modifie les teneurs et la composition des lipoprotéines sériques de la mère
et du nouveau-né..... p60

Article 5: Evolution des concentrations et des compositions des lipides et des
lipoprotéines sériques, au cours du premier mois de vie post-natale chez l'enfant

macrosomique né de mère diabétique insulino-dépendante.....	p77
Discussion.....	p93
II. Quelles sont les modifications du métabolisme des lipides et des lipoprotéines chez les rats macrosomiques nés de rattes rendues diabétiques par la streptozotocine et comment évoluent-elles avec l'âge ?	
Introduction.....	p99
Matériel et méthodes.....	p104
Résultats	p113
Discussion	p156
CONCLUSION GENERALE.....	p173
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	p176
ANNEXES	p199

LISTE DES TABLEAUX

1^{ère} partie : Hypotrophie fœtale

Article 1

Tableau I. Teneurs sériques en lipides et en apolipoprotéine A-I, et activité de la lécithine : cholestérol acyltransférase (LCAT) chez les nouveau-nés hypotrophes.....	p21
Tableau II. Teneurs et compositions des HDL ₂ et des HDL ₃ sériques.....	p22
Tableau III. Profils apolipoprotéiques des HDL ₂ et des HDL ₃ sériques.....	p22

2^{ème} partie : Macrosomie fœtale

I. Macrosomie fœtale chez l'homme

Article 3

Tableau I. Teneurs sériques en lipides et en apos A-I et B100, et activité de la LCAT chez les nouveau-nés macrosomiques et chez leurs mères obèses.....	p56
Tableau II. Rapports des différents constituants lipoprotéiques chez les nouveau-nés et leurs mères.....	p57

Article 4

Tableau I. Caractéristiques de la population étudiée.....	p73
Tableau II. Teneurs sériques en lipides et en apos A-I et B100, et activité de la LCAT chez les nouveau-nés macrosomiques et chez leurs mères diabétiques.....	p74

II. Macrosomie fœtale chez le rat

Tableau I. Teneurs sériques en glucose (g/L) chez les rattes gestantes.....	p105
Tableau II. Azote urinaire et fécal.....	p117
Tableau III. Coefficient d'utilisation digestive apparente de l'azote (CUD _N), bilan azoté (BA) et rapport d'efficacité nutritionnelle (REN)).....	p118
Tableau IV. Lipides ingérés, lipides fécaux et coefficient d'utilisation digestive apparente des lipides (CUD _L)	p119
Tableau Va. Variations des paramètres lipidiques et protéiques sériques et tissulaires	p153
Tableau Vb. Variations des compositions en lipides et apoprotéines des lipoprotéines	p154
Tableau Vc. Variations de la composition en acides gras.....	p155
Tableau VI. Profils apolipoprotéiques des VLDL sériques.....	p199

Tableau VII. Profils apolipoprotéiques des HDL ₂₋₃ sériques.....	p200
Tableau VIIIa. Composition en acides gras des triglycérides hépatiques des rats macroscopiques et témoins mâles	p201
Tableau VIIIb. Composition en acides gras des triglycérides hépatiques des rats macroscopiques et témoins femelles.....	p202
Tableau IXa. Composition en acides gras des phospholipides hépatiques des rats macroscopiques et témoins mâles	p203
Tableau IXb. Composition en acides gras des phospholipides hépatiques des rats macroscopiques et témoins femelles.	p204
Tableau Xa. Composition en acides gras des esters de cholestérol hépatiques des rats macroscopiques et témoins mâles	p205
Tableau Xb. Composition en acides gras des esters de cholestérol hépatiques des rats macroscopiques et témoins femelles.	p206
Tableau XIa. Composition en acides gras des triglycérides des VLDL sériques des rats macroscopiques et témoins mâles	p207
Tableau XIb. Composition en acides gras des triglycérides des VLDL sériques des rats macroscopiques et témoins femelles	p208
Tableau XIIa. Composition en acides gras des phospholipides des VLDL sériques des rats macroscopiques et témoins mâles	p209
Tableau XIIb. Composition en acides gras des phospholipides des VLDL sériques des rats macroscopiques et témoins femelles	p210
Tableau XIIIa. Composition en acides gras des esters de cholestérol des VLDL sériques des rats macroscopiques et témoins mâles.....	p211
Tableau XIIIb. Composition en acides gras des esters de cholestérol des VLDL sériques des rats macroscopiques et témoins femelles.	p212

LISTE DES FIGURES

1^{ère} partie : Hypotrophie fœtale

Article 2

- FIG.1. Teneurs sériques en lipides chez les nouveau-nés hypotrophes..... p27
- FIG.2. Teneurs et compositions des lipoprotéines sériques..... p28
- FIG.3. Profils apolipoprotéiques des VLDL, HDL₂ et HDL₃ sériques..... p29

2^{ème} partie : Macrosomie fœtale

I. Macrosomie fœtale chez l'homme

Article 3

- FIG.1. Teneurs et compositions des lipoprotéines sériques chez les nouveau-nés macrosomiques et chez leurs mères obèses..... p58
- FIG.2. Profils apolipoprotéiques des VLDL, HDL₂ et HDL₃ sériques..... p59

Article 4

- FIG.1. Teneurs et compositions des lipoprotéines sériques chez les nouveau-nés macrosomiques et chez leurs mères diabétiques..... p75
- FIG.2. Profils apolipoprotéiques des VLDL, HDL₂ et HDL₃ sériques..... p76

Article 5

- FIG.1. Teneurs sériques en lipides, en apos A-I et B100, et en lipoprotéines chez les nouveau-nés macrosomiques à la naissance et après un mois de vie..... p89
- FIG.2. Teneurs en lipides des différentes lipoprotéines sériques chez les macrosomiques à la naissance et après un mois de vie post-natale..... p90
- FIG.3. Profils apolipoprotéiques des VLDL, LDL, HDL₂ et HDL₃ chez les macrosomiques à la naissance et après un mois de vie post-natale..... p91
- FIG.4. Composition en acides gras des triglycérides, phospholipides, esters de cholestérol sériques..... p92

II. Macrosomie fœtale chez le rat

FIG. 1. Evolution du poids corporel (g) des rats	p114
FIG.2. Apport énergétique (kJ/j/P ^{0,75}), nourriture et azote ingérés (g/j/rat) au cours des bilans nutritionnels	p115
FIG.3. Teneurs sériques en insuline et en glucose chez les rats.....	p120
FIG.4. Poids relatif des différents organes	p122
FIG.5. Contenus en protéines des différents tissus.....	p123
FIG.6. Contenus en lipides totaux des différents tissus.....	p124
FIG.7. Activités des lipoprotéine lipases (LPL) tissulaires	p126
FIG.8. Activités des enzymes hépatiques HMG-CoA réductase, 7 α -hydroxylase et ACAT.....	p128
FIG.9. Teneurs hépatiques et sériques en lipides.....	p130
FIG.10. Teneurs en VLDL et LDL-HDL ₁ sériques.....	p133
FIG.11. Teneurs en apolipoprotéines totales et en lipides des VLDL sériques.....	p134
FIG.12. Teneurs en apolipoprotéines totales et en lipides des LDL-HDL ₁ sériques	p135
FIG.13. Concentrations en apo B100 et en apos C des VLDL.....	p137
FIG.14. Composition en acides gras des triglycérides hépatiques.....	p138
FIG.15. Composition en acides gras des phospholipides hépatiques.....	p140
FIG.16. Composition en acides gras des esters de cholestérol hépatiques.....	p142
FIG.17. Composition en acides gras des triglycérides des VLDL sériques.....	p143
FIG.18. Composition en acides gras des phospholipides des VLDL sériques.....	p145
FIG.19. Composition en acides gras des esters de cholestérol des VLDL sérique.....	p146
FIG.20. Teneurs en HDL ₂₋₃ sériques.....	p148
FIG.21. Teneurs en apolipoprotéines totales et en lipides des HDL ₂₋₃ sériques.....	p149
FIG.22. Profils apolipoprotéiques des HDL ₂₋₃ sériques	p151
FIG.23. Activité de la lécithine : cholestérol acyltransférase (LCAT).....	p152

ABREVIATIONS

ACAT:	Acyl-CoA:cholestérol acyltransférase
AG:	Acides gras
AGE:	Acides gras essentiels
AGL:	Acides gras libres
AGMI:	Acides gras monoinsaturés
AGPI:	Acides gras polyinsaturés
AGS:	Acides gras saturés
Apo:	Apolipoprotéine
BA:	Bilan azoté
CETP:	Cholesteryl ester transfer protein
CL:	Cholestérol libre
CoA:	Coenzyme A
CT:	Cholestérol total
CUD_N:	Coefficient d'utilisation digestive apparente de l'azote
CUD_L:	Coefficient d'utilisation digestive apparente des lipides
EC:	Ester de cholestérol
HDL:	High density lipoprotein
HMG-CoA :	Hydroxyl méthyl glutaryl- coenzyme A
HTGL:	Triglycéride lipase hépatique
LCAT:	Lécithine:cholestérol acyltransférase
LDL:	Low density lipoprotein
LPL:	Lipoprotéine lipase
LT:	Lipides totaux
PL:	Phospholipides
PN:	Poids de naissance
REN:	Rapport d'efficacité nutritionnelle
TG:	Triglycérides
VLDL:	Very low density lipoprotein

NOMENCLATURE DES ACIDES GRAS

NOM USUEL	NOM SYSTEMATIQUE	ABREVIATION
Laurique	Dodécanoïque	C12:0
Myristique	Tétradécanoïque	C14:0
Palmitique	Hexadécanoïque	C16:0
Stéarique	Octadécanoïque	C18:0
Palmitoléique	Hexadéca-7-énoïque	C16:1n-7
Oléique	Octadéca-9-énoïque	C18:1n-9
Linoléique	Octadéca-9,12-diénoïque	C18:2n-6
α -Linoléique	Octadéca-9,12,15-triénoïque	C18:3n-3
γ -Linoléique	Octadéca-6,9,12-triénoïque	C18:3n-6
Dihomo- γ -Linoléique	Eicosa-8,11,14-triénoïque	C20:3n-6
Arachidonique	Eicosa-5,8,11,14-tétraénoïque	C20:4n-6
Timnodonique	Eicosa-5,8,11,14,17-pentaénoïque	C20:5n-3
Docosapentaénoïque	Docosa-4,7,10,13,16-pentaénoïque	C22:5n-6
Clupanodonique	Docosa-7,10,13,16,19-pentaénoïque	C22:5n-3
Cervonique	Docosa-4,7,10,13,16,19-hexanénoïque	C22:6n-3

AVANT PROPOS

Les connaissances sur le développement pré-natal ont fait des progrès substantiels grâce à l'essor de l'embryologie expérimentale, au perfectionnement des enquêtes biométriques, à l'apparition de nouveaux moyens d'investigations (échographie, analyse du liquide amniotique, cytogénétique...). Cela a permis des applications particulièrement intéressantes, tel le dépistage anté-natal ou la surveillance ultrasonique de la grossesse. Il persiste cependant un écart considérable entre la densité des événements qui se déroulent pendant la vie fœtale et la pauvreté relative de nos moyens de suivi et de contrôle de ces événements. A sa naissance, l'être humain est en grande partie façonné, et les agressions de la période fœtale ont déjà fait des dégâts souvent irréversibles. Les agressions dont peut être l'objet l'embryon, puis le fœtus, sont multiples (agents infectieux, substances toxiques, malnutrition, suralimentation, désordres hormonaux....), elles vont avoir des conséquences variées, et parmi elles, les troubles métaboliques tiennent une place importante. Ces troubles sont susceptibles de perturber la croissance fœtale, et sont sous la dépendance directe ou indirecte du statut nutritionnel et hormonal de la mère.

La grossesse est une situation métabolique unique où les phénomènes d'adaptation tendent à privilégier l'unité fœto-placentaire. Le métabolisme de la mère est profondément modifié, en particulier au niveau de la circulation des métabolites et au niveau hormonal. Ces modifications permettent d'assurer normalement un apport suffisant de nutriments au fœtus lors de sa période de croissance (KNOPP et al., 1981; HAY, 1991). Durant cette période, le glucose assure la majeure partie de l'apport énergétique nécessaire aux synthèses des protéines, du glycogène et des lipides fœtaux (HAY, 1991). Le passage transplacentaire du glucose se fait par un processus de diffusion facilitée (KALKHOFF, 1991). Les acides aminés sont concentrés dans le placenta par un mécanisme de transport actif, et la plupart des acides aminés sont alors directement transférés au fœtus (GHADIMI & PECORA, 1981; YUDILEVICH & SWEIRY, 1985). Lors de périodes de jeûne maternel, les corps cétoniques qui diffusent facilement à travers la barrière placentaire peuvent servir de source énergétique pour le fœtus (RUDOLF & SHERWIN, 1983).

L'importance des lipides dans le métabolisme fœtal et placentaire ne doit pas être sous-estimée. En effet, 50% des besoins en acides gras, particulièrement en acides gras essentiels sont fournis par la mère à travers le placenta (COLEMAN, 1989). Le placenta possède des récepteurs spécifiques apo B/E lui permettant de capter les lipoprotéines de très faible et faible densités (VLDL, LDL) à partir de la circulation

maternelle (NAOUM et al., 1987). Le cholestérol prélevé est utilisé par le placenta pour la synthèse des hormones stéroïdiennes. Le cholestérol est faiblement transféré au fœtus qui est capable de le synthétiser en quantités suffisantes (JUREVICS et al., 1997). Les triglycérides et les phospholipides provenant de la circulation maternelle sont d'abord hydrolysés, et les acides gras libérés sont soit utilisés par le placenta, soit transférés au fœtus (COLEMAN, 1989). Les substrats transférés de la mère au fœtus par voie placentaire sont utilisés pour couvrir les besoins oxydatifs des tissus fœtaux, assurer la croissance du fœtus et constituer des réserves énergétiques (glycogène, triglycérides) qui auront un rôle déterminant dans les adaptations métaboliques du nouveau-né, lors du passage de la vie intra-utérine à la vie extra-utérine.

Durant les premières 24 heures de la vie, avant toute alimentation lactée, le nouveau-né est dépendant de ses réserves glucidiques qui sont rapidement consommées (HAWORTH & VIDYASAGAR, 1971). La baisse du quotient respiratoire indique que le nouveau-né utilise ensuite ses réserves lipidiques pour couvrir ses besoins énergétiques. Les teneurs en glycérol et acides gras libres sériques augmentent, indiquant une intense lipolyse (PERSSON & GENTZ, 1966). Les acides gras deviennent alors les substrats énergétiques essentiels du nouveau-né. De plus, en fin de gestation, le métabolisme fœtal des lipides est surtout en faveur du stockage des lipides (KIMURA, 1989). Les capacités d'oxydation des lipides sont alors faibles chez le fœtus (BAILEY & LOCKWOOD, 1973). Le fœtus est capable de synthétiser les acides gras saturés et les acides gras monoinsaturés à partir du glucose et des corps cétoniques, mais dépend pour les acides gras essentiels de leur transfert à partir de la circulation maternelle. La lipogénèse est étroitement liée à la disponibilité des substrats et à l'insuline fœtale qui règle non seulement l'équilibre glucidique mais aussi la synthèse des protéines et des lipides pendant la vie intra-utérine (MILLER et al., 1986). En plus de leur rôle de réserve, les lipides jouent un rôle très important lors du développement fœtal. Ils sont nécessaires en particulier, à la synthèse des membranes biologiques, du surfactant pulmonaire, des hormones stéroïdiennes, des prostaglandines et des lipoprotéines plasmatiques (VLDL, LDL, HDL). Les acides gras polyinsaturés, dérivés des acides gras essentiels, sont nécessaires pour le développement du cerveau fœtal (INNIS, 1991). De plus, le transport sérique des lipides du fœtus à terme est différent de celui de l'adulte (LEGRAS et al., 1995). Il est caractérisé par de très faibles concentrations en VLDL et LDL, les HDL constituant la fraction majeure des lipoprotéines chez le nouveau-né. En outre, la composition en

apolipoprotéines et en lipides de ces lipoprotéines est différente de celle de l'adulte (AVERNA et al., 1991).

Au cours du premier mois de vie post-natale, les concentrations et les compositions des lipoprotéines se modifient pour se rapprocher de celles de l'adulte (VAN BIERVLIET et al., 1986; MORILLAS et al., 1992; GARCIA-MOLINA et al., 1996); leur importance relative et leurs fonctions métaboliques varient aussi significativement (VAN BIERVLIET et al., 1986; 1992). Il apparaît clairement que le fœtus se développe progressivement et se prépare à assumer l'autonomie soudaine de la naissance. La naissance est suivie de changements métaboliques et hormonaux très importants, et le nouveau-né doit faire un effort d'adaptation pour assurer sa survie et sa croissance post-natale. De plus, durant la période périnatale, l'essentiel des apports énergétiques est assuré par les lipides contenus dans le lait. Le système de transport des lipides du nouveau-né doit donc être très efficace et doit s'adapter rapidement aux modifications physiologiques de la vie extra-utérine. Il doit aussi assurer une parfaite distribution des lipides aux différents tissus pour leurs besoins énergétiques et structuraux. Ainsi, toute agression pendant la vie fœtale peut provoquer des dérèglements métaboliques complexes entraînant une perturbation de la croissance, à l'origine d'une grande difficulté d'adaptation néonatale, à l'origine d'une forte mortalité.

Deux types d'agression d'ordre nutritionnel sont particulièrement intéressants, puisqu'ils aboutissent à des perturbations extrêmes de la croissance fœtale: la sous-nutrition in utero, qui est à l'origine d'un retard de croissance fœtale, appelée hypotrophie fœtale; la suralimentation in utero associée à un hyperinsulinisme responsable d'un excès de croissance appelée macrosomie fœtale. L'hypotrophie et la macrosomie constituent donc deux syndromes de troubles nutritionnels et hormonaux du développement fœtal.

De plus, des études ont mis en évidence, ces dernières années, les conséquences à long terme des perturbations du développement fœtal. L'hypotrophie ainsi que la macrosomie fœtales constituent des facteurs de risque de l'apparition de nombreuses maladies métaboliques à l'âge adulte, notamment l'obésité, le diabète, l'hypertension et les maladies cardio-vasculaires (DORNER & PLAGEMANN, 1994; BARKER, 1995; STANNER et al., 1997). Chez l'adulte, ces maladies sont caractérisées entre autres par des altérations du métabolisme des lipides. De plus, la sous-nutrition, tout comme la suralimentation de l'adulte, entraînent aussi des perturbations lipidiques. Ces données justifient donc l'intérêt que nous portons à ces deux types d'agressions pendant la vie

foétale, sachant l'importance du métabolisme des lipides au cours des périodes anté- et néonatales.

Chez les hypotrophes, les altérations du métabolisme des lipides sont peu connues, car ces nouveau-nés ont été longtemps confondus avec les prématurés.

Quelques études se sont intéressées aux nouveau-nés macrosomiques (ANDERSEN, 1979 ; LANE et al., 1983 ; KLIEGMAN et al., 1984 ; ROVAMO et al., 1986). Cependant, les altérations du métabolisme des lipoprotéines chez ces nouveau-nés et leurs relations avec les modifications lipidiques observées chez les mères diabétiques et les mères obèses sont très peu connues.

Chez le rat, les effets à long terme de la macrosomie sur le métabolisme des glucides ont été bien étudiés (ERIKSSON et al., 1980; CHA et al., 1987; OH et al., 1988; AERTS et al., 1990; GELARDI et al., 1990 et 1991). Cependant, peu de travaux se sont intéressés au métabolisme des lipides chez les rats nés macrosomiques (VILEISIS & OH, 1983; CATLIN et al., 1985; SHAFRIR & BARASH, 1987).

Dans ce travail, nous nous sommes donc fixés **plusieurs objectifs**:

1. *Le premier objectif* est de déterminer les effets de la sous-nutrition précoce sur le métabolisme des lipoprotéines chez le nouveau-né à terme. Pour cela, l'étude qualitative et quantitative des lipoprotéines sériques (VLDL, LDL, HDL₂ et HDL₃) et de l'activité de l'enzyme lécithine: cholestérol acyltransférase (LCAT), glycoprotéine synthétisée dans le foie, responsable en grande partie de la synthèse des esters de cholestérol circulants, est réalisée sur le sang de cordon de nouveau-nés hypotrophes (PN < 2500g à terme). Les résultats obtenus sont comparés à ceux de nouveau-nés eutrophiques témoins (PN compris entre 2700 et 3500g à terme).

2. *Le deuxième objectif* est de déterminer les troubles du métabolisme des lipoprotéines associés à la macrosomie foétale chez l'homme. Les lipoprotéines sériques sont analysées et l'activité LCAT est mesurée chez les nouveau-nés macrosomiques de mères diabétiques insulino-dépendantes et de mères obèses. La même étude est réalisée chez les mères afin d'évaluer les relations entre métabolisme maternel et foetal au niveau de ces paramètres.

3. *Le troisième objectif* est de déterminer, par une étude chronologique chez le rat, si la macrosomie foétale expérimentale est associée à des troubles du métabolisme des lipoprotéines et si ces modifications persistent ou s'accroissent à l'âge adulte.

La première étape de notre expérimentation a été de développer un modèle animal de la macrosomie foétale induite par une hyperglycémie maternelle. La ratte gestante est un bon modèle expérimental de la grossesse et de ses modifications métaboliques,

puisque l'on observe chez la ratte gestante une insulino-résistance et une hyperlipidémie secondaires à l'augmentation de la synthèse des hormones sexuelles, similaires à celles observées lors des grossesses humaines. L'administration de la streptozotocine au 5^{ème} jour de la gestation permet de provoquer une hyperglycémie chez la ratte gestante, qui entraîne par la suite une hyperglycémie fœtale. Ainsi, la situation est comparable à celle d'une grossesse chez la femme diabétique insulino-dépendante dont le diabète est mal contrôlé, ce qui majore la prévalence de la macrosomie fœtale suite à un hyperinsulinisme fœtal. A la naissance, l'excès de poids et le dosage du glucose et de l'insuline sont les critères de sélection des rats macrosomiques. Ces rats sont suivis jusqu'à l'âge adulte (3 mois). Ceci implique de suivre l'évolution:

- du poids corporel.
- des bilans nutritionnels ce qui permet, à partir de la mesure des ingesta et des excréta, de déterminer l'utilisation nutritionnelle du régime.
- des teneurs sériques en glucose et en insuline.
- des teneurs en lipides et en protéines du foie, du tissu adipeux, du pancréas, du muscle gastrocnémien.
- quantitative et qualitative des lipides et des lipoprotéines sériques.
- de l'activité d'enzymes jouant un rôle important dans le métabolisme lipidique (lipoprotéine lipase, lécithine : cholestérol acyltransférase, 7 α -hydroxylase, hydroxy méthylglutaryl-CoA reductase, acyl coenzyme A: cholestérol acyltransférase).

Cette étude des modifications du métabolisme des lipoprotéines chez les rats macrosomiques, en fonction de l'âge, doit permettre une meilleure compréhension des interrelations entre poids de naissance et incidence de certaines maladies métaboliques (obésité, diabète et athérosclérose) à long terme.

1ère Partie

**HYPOTROPHIE DU NOUVEAU-NE A TERME ET
MODIFICATIONS DES TENEURS ET DE LA
COMPOSITION DES LIPOPROTEINES SERIQUES
ET DE L'ACTIVITE DE LA LECITHINE :
CHOLESTEROL ACYLTRANSFERASE**

INTRODUCTION

L'hypotrophie fœtale ou retard de croissance intra-utérin ou sous-nutrition fœtale est définie par un poids insuffisant du fœtus né à terme (poids de naissance inférieur à 2500 g) (LABRUNE et al., 1988). Les causes sont multiples et sont hétérogènes, allant des facteurs physiques et génétiques, du déséquilibre nutritionnel de la mère, jusqu'aux perturbations psycho-affectives. DUMONT & MAZUEZ (1985) montrent que certains facteurs sont spécifiquement maternels: la primiparité, la petite taille, le petit poids, un gain pondéral insuffisant pendant la grossesse, les anomalies histologiques du placenta entraînant des insuffisances de vascularisation placentaire, les maladies chroniques, l'hypertension gravidique, le tabagisme, les antécédents d'avortement spontané et d'hypotrophie. FEDRICK & ADELSTEN (1978) indiquent que les conditions socio-économiques, le travail de la mère et l'exercice musculaire intense peuvent jouer un rôle non négligeable. D'autres études confirment ces différentes associations qui doivent être prises en considération dans l'identification des grossesses à risque. D'autres facteurs sont spécifiquement fœtaux, ils incluent la gémellité, les malformations, les embryo-foetopathies infectieuses, les aberrations chromosomiques et les maladies métaboliques (HOMER & LUDWIG, 1981; FARQUHARSON, 1983; KHROUF et al., 1983; RADHAKRISHNAN et al., 1989). Les enfants hypotrophes naissent avec un certain nombre de handicaps, dus à la fois à la sous-nutrition et à l'hypoxie subies in utero. Leur tissu adipeux est réduit et son contenu en triglycérides est diminué (ENZI et al., 1981). Leur masse musculaire est plus faible (BARKER, 1994a; 1995). Le volume du foie est généralement diminué comme celui de la plupart des organes, cependant le tissu cérébral est bien protégé (BARKER et al., 1993a; 1995). Les réserves en glycogène hépatique sont réduites (LEEuw & VRIES, 1976). La réduction du volume hépatique et de la réserve en glycogène et en graisses d'une part, et le bon développement du cerveau gros consommateur de glucose d'autre part, constituent des facteurs de risque d'hypoglycémie, dont les séquelles neurologiques à long terme sont bien connues. L'hypotrophie fœtale entraîne une augmentation du poids du placenta, considérée comme une adaptation au manque de nutriments et d'oxygène (FAICHNEY & WHITE, 1987; GODFREY et al., 1991; MC CRABB et al., 1991). ONGARI et al., (1984) mettent en évidence une déficience en acides gras essentiels chez les hypotrophes, avec une diminution concomitante de la synthèse des prostacyclines, qui jouent un rôle important dans le maintien du flux sanguin fœto-placentaire. Le poids de naissance est positivement corrélé aux concentrations sériques en acide arachidonique, précurseur des prostacyclines de la série 2 (ONGARI et al.,

1984; LEAF et al., 1992). Le profil lipidique sérique du nouveau-né hypotrophe est modifié. Cette situation se traduit par une élévation des triglycérides (TG), une diminution des phospholipides (PL) et des esters de cholestérol (EC), indiquant que l'hypotrophie fœtale a des effets sur le métabolisme des lipoprotéines (TSANG et al., 1974; TOTH et al., 1984; MORILLAS et al., 1992). Le stress, la sous-nutrition et l'anoxie in utero peuvent induire une déplétion rapide des réserves glucidiques et une mobilisation accrue, à partir des réserves lipidiques, des acides gras qui vont participer à la surproduction et à la sécrétion augmentée des triglycérides hépatiques, d'où l'hypertriglycéridémie (TSANG et al., 1974; TOTH et al., 1984). L'hypertriglycéridémie à la naissance a été aussi expliquée par une diminution de l'activité de la lipoprotéine lipase, ce qui réduit l'hydrolyse des triglycérides des chylomicrons et des lipoprotéines de très faible densité (VLDL) (MORILLAS et al., 1992). La réduction des teneurs plasmatiques en phospholipides peut être attribuée à une diminution de leur synthèse hépatique, suite à la sous-nutrition chronique (TOTH et al., 1984). Une diminution de l'activité de la lécithine: cholestérol acyltransférase (LCAT; EC.2.3.1.43) peut expliquer la baisse des concentrations sériques en esters de cholestérol, comme l'ont suggéré MORILLAS et al., (1992).

Quelques études ont rapporté une augmentation des teneurs en LDL-cholestérol chez les hypotrophes, résultant d'une réduction des récepteurs hépatiques spécifiques aux LDL, suite à une altération du développement du foie (ANDERSEN et al., 1979; BARKER et al., 1993c).

En liaison avec ces modifications biochimiques, plusieurs auteurs ont mis en évidence des altérations dans la sécrétion des hormones et dans la sensibilité des tissus à ces hormones.

L'insuline, l'hormone de croissance et les facteurs de croissance (IGFs ou somatomédines) sont les principales hormones régulant la croissance fœtale, et leurs concentrations sont très sensibles à la nutrition fœtale (FOWDEN, 1989; GLUCKMAN et al., 1992). Les îlots de Langerhans sont atrophiés chez les nouveau-nés hypotrophes, le nombre de cellules β est diminué, ce qui provoque une réduction de la sécrétion d'insuline (LEEJW & VRIES, 1976; VAN ASSCHE et al., 1977). En effet, HUTER et al., (1997) trouvent des teneurs sériques en insuline réduites chez les hypotrophes et la sensibilité à l'insuline peut être aussi altérée chez les hypotrophes (LEEJW & VRIES, 1976; BARKER, 1995). La diminution du tissu adipeux et de la masse musculaire, sites périphériques principaux de l'action de l'insuline et le développement normal du cerveau, peuvent représenter une adaptation à la sous-

nutrition in utero, avec la mise en place d'une résistance périphérique à l'insuline, modifications qui permettraient une épargne du glucose pour maintenir une croissance normale du tissu cérébral (BARKER, 1995).

Les altérations du développement des cellules β du pancréas sont à rapprocher d'un abaissement des concentrations en IGF-1, associé à une hypoglycémie ou à une déficience en hormone de croissance, ou à une résistance à cette hormone, dont le rôle dans la maturation des cellules β n'est plus discuté (BARKER et al., 1993b). Pourtant, les concentrations en hormones de croissance sont généralement normales ou élevées lors de l'hypotrophie. Cette contradiction peut s'expliquer par une diminution des récepteurs hépatiques spécifiques à cette hormone (LASSARRE et al., 1991; BARKER et al., 1993ad).

Les taux de cortisol plasmatique peuvent être aussi élevés chez les hypotrophes, sous l'influence de l'hypoglycémie et du stress nutritionnel subis in utero (BARKER et al., 1993a; BENEDIKTSSON et al., 1993; BARKER, 1994ab). L'augmentation du cortisol fœtal peut être aussi due à une diminution de l'activité de l'enzyme hydroxystéroïde-déshydrogénase placentaire, enzyme protégeant normalement le fœtus contre le transfert excessif du cortisol de la mère (BARKER et al., 1993a; EDWARDS et al., 1993). Les glucocorticoïdes en excès peuvent contribuer à une réduction de la vitesse de croissance du squelette en provoquant un défaut de maturation du cartilage, retardant ainsi la minéralisation de l'os (PECILE & MULLER, 1966; SILBERMANN & MAOR, 1978).

Il apparaît clairement que la majorité des altérations observées chez les nouveau-nés hypotrophes se rapprochent de celles rencontrées chez les enfants plus âgés malnourris. Plusieurs auteurs s'accordent sur le fait qu'une malnutrition maternelle, avec diminution du transfert des nutriments au fœtus, est à l'origine de l'hypotrophie dans la majorité des cas. En effet, il a été observé que la ration alimentaire maternelle est positivement corrélée au poids de naissance (DOYLE et al., 1989, 1990). DOYLE et al., (1990) rapportent que la ration alimentaire insuffisante en protéines et en énergie de la mère peut induire une sous-nutrition fœtale, et entraîne un faible poids à la naissance. Ainsi, une nutrition adéquate avant et pendant la grossesse peut réduire le risque d'hypotrophie fœtale. En conséquence, il a été proposé de mettre en place des programmes de supplémentation nutritionnelle des femmes enceintes à risque (LECHTIG et al., 1975; VILLAR & RIVERA, 1988). De plus, BARKER (1994b) rapporte que la nutrition de la femme, avant la conception, est un facteur très important pour le développement du placenta et du fœtus pendant la grossesse. Par ailleurs, MUNOZ et

al. (1995) montrent que les mères de nouveau-nés hypotrophes présentent des altérations du métabolisme des lipides et des lipoprotéines, marquées surtout par une diminution des triglycérides sériques, une augmentation du rapport apolipoprotéine (apo) B/A-I et une composition anormale des HDL, qui peuvent avoir des répercussions sur les échanges lipidiques mère-fœtus, et par la suite sur le développement fœtal.

De plus, les perturbations de la structure de différents tissus et de leur métabolisme chez les hypotrophes sont nombreuses et ne sont pas semblables dans tous les cas. En effet, la sous-nutrition, pendant la vie fœtale, induit différents types de retard de croissance caractérisés par des troubles métaboliques différents. Les anomalies de la croissance fœtale dépendent de la période durant laquelle se produit la sous-nutrition. Les effets sur les organes et les tissus fœtaux sont fonction de leur stade de développement. La vitesse de croissance fœtale des organes est variable, de même que leur niveau de maturation à un moment donné. Les tissus fœtaux sont vulnérables durant les phases de réplication cellulaire rapide. Ces phases dites sensibles se manifestent à des moments différents de la gestation, selon le type de tissu considéré (WIDDOWSON & MC CANCE 1975). Lors de la survenue de la sous-nutrition, les tissus dont la maturation est bien avancée continuent leur croissance, aux dépens des autres tissus (MC CANCE & WIDDOWSON, 1974).

Ainsi, une sous-nutrition durant le premier trimestre de la grossesse affecte la croissance des cellules embryonnaires et retarde le développement fœtal, avec réduction du nombre de cellules. Les nouveau-nés présentent dans ce cas un retard staturo-pondéral symétrique et sont petits proportionnellement (MC CANCE & WIDDOWSON, 1974; WIDDOWSON & MC CANCE, 1975; BARKER, 1994a).

Durant le deuxième trimestre de la gestation, la croissance du placenta est très importante. Il apparaît ainsi qu'une sous-nutrition durant cette période affecte le développement fœtal en changeant les interactions fœtus-placenta-mère. Le poids du placenta, lors de l'hypotrophie, est en général inférieur à la normale. Cependant, il est plus important de considérer le rapport poids du placenta/poids du fœtus (OWENS et al., 1987). MC CRABB et al., (1991) montrent qu'une sous-nutrition au deuxième trimestre de la gestation peut conduire à une augmentation du poids relatif du placenta par rapport à celui du fœtus, le rapport poids placenta/poids fœtus est alors élevé. L'hypertrophie relative du placenta est considérée comme une adaptation à un apport insuffisant en nutriments et en oxygène (MAYHEW et al., 1990; GODFREY et al., 1991; BARKER, 1994b, 1995).

Durant le troisième trimestre, une sous-nutrition peut conduire à des altérations sélectives des organes, et la croissance peut être disproportionnée. Dans ce cas, un ralentissement de la croissance et une altération des interactions fœto-placentaires sont notés (BARKER et al., 1993a). Le développement du fœtus est réduit aux dépens de celui du placenta. Le fœtus se trouve alors en situation catabolique, avec épuisement de ses réserves, dont une grande partie est utilisée pour couvrir les besoins énergétiques du placenta (OWENS et al., 1987; BARKER et al., 1993a). Le fœtus répond à la sous-nutrition durant le troisième trimestre de la gestation en maintenant la croissance du cerveau aux dépens de celle du reste du corps. Le développement du foie, qui est rapide durant cette période, est particulièrement compromis, et son poids à la naissance est faible comparé à celui du cerveau. Les enfants présentent à la naissance une réduction du poids et de la taille, et une augmentation du rapport diamètre crânien/diamètre abdominal, indicateur du développement du cerveau et du foie (BARKER, 1995).

Les conséquences à long terme de la sous-nutrition précoce méritent d'être soulignées. Une sous-nutrition durant les premières étapes de la vie fœtale (premier trimestre) a des conséquences définitives, comme une diminution du poids du cerveau et du nombre de cellules cérébrales, pouvant provoquer des séquelles psychiques, débilité et troubles du comportement (WINICK, 1971; LOW et al., 1982). Selon GAYLE et al., (1987), 20 à 40% des enfants nés avec un faible poids de naissance développent une malnutrition dans les deux premières années de vie. D'autres auteurs ont établi une relation entre un faible poids de naissance, dû particulièrement à un retard de croissance in utero, et une faible croissance post-natale (LOW et al., 1982; VILLAR et al., 1982). Le petit poids de naissance influence aussi le développement staturo-pondéral de l'enfant d'âge préscolaire (LOW et al., 1982; WESTWOOD et al., 1983) et de l'adolescent (VILLAR et al., 1982).

De plus, des travaux plus récents soulignent que les altérations métaboliques entraînant un risque athérogène sont initiées in utero, et que l'hypotrophie peut être à l'origine de maladies cardio-vasculaires à l'âge adulte (FALL et al., 1992; OSMOND et al., 1993; BARKER et al., 1993abcd; BARKER, 1994ab, 1995).

Il est cependant difficile de suivre sur de nombreuses années l'évolution du métabolisme, et de déterminer la part de l'hypotrophie in utero et celle de l'environnement nutritionnel et social après la naissance. Les études épidémiologiques visant à mettre en évidence l'importance possible d'une programmation in utero du risque athérogène sont basées sur une stratégie simple. Elle consiste à examiner des

hommes et des femmes adultes dont les mesures anthropométriques (poids, taille, périmètre crânien, périmètre abdominal) à la naissance ont été enregistrées. Toutes ces études s'accordent sur le fait que le taux de mortalité par maladies cardiovasculaires est plus élevé chez les personnes ayant eu un faible poids de naissance (BARKER et al., 1993abcd; OSMOND et al., 1993; BARKER, 1994ab, 1995). Ces travaux rapportent aussi que l'hypertension, le diabète non insulino-dépendant, les altérations du métabolisme du cholestérol et l'augmentation des concentrations en fibrinogène, qui sont des facteurs de risque de l'athérosclérose, sont liés au retard de croissance intra-utérin. Ces différentes associations sont indépendantes des autres facteurs de risque liés au mode de vie de l'adulte (tabagisme, régime alimentaire, statut socio-économique, activité physique...). Ces derniers agissent cependant sur le risque athérogène en relation avec l'hypotrophie fœtale.

La prévalence du diabète non insulino-dépendant est aussi plus élevée chez les sujets qui étaient hypotrophes à la naissance (HALLES & BARKER, 1992; ROBINSON et al., 1992; PHIPPS et al., 1993). De plus, le faible poids de naissance, ainsi que la maigreur à la naissance (évaluée par l'index pondéral), sont plus souvent associés à la présence du syndrome X à l'âge adulte (ATHENS et al., 1993; BARKER et al., 1993c; PHILLIPS et al., 1994). Le syndrome X décrit par REAVEN (1988) se marque par un état d'insulino-résistance, une hypertension, une hypertriglycéridémie avec hypo α -lipoprotéïnémie et une intolérance au glucose ou un diabète non insulino-dépendant. Certains auteurs rapportent qu'un rapport élevé poids placenta/poids de naissance est aussi lié à une intolérance au glucose à l'âge adulte (PHIPPS et al., 1993; BARKER, 1994b). L'association entre hypotrophie et diabète à l'âge adulte n'est pas surprenante, puisque des anomalies de la sécrétion d'insuline, ou de la sensibilité des tissus à cette hormone, sont souvent notées chez les hypotrophes.

De nombreuses études suggèrent aussi que l'hypertension peut être initiée in utero et qu'elle s'amplifie avec l'âge (BARKER et al., 1990; LAW et al., 1991, 1993). Le faible poids, la petite taille et l'augmentation du rapport poids placenta/poids fœtus à la naissance paraissent favoriser la prévalence de l'hypertension à l'âge adulte (BARKER et al., 1990; LAUNER et al., 1993; BARKER, 1995; MARTYN et al., 1995). Les mécanismes possibles sont une persistance des changements in utero de la structure vasculaire, incluant une perte de l'élasticité des parois, et la sécrétion anormale des glucocorticoïdes qui augmentent la pression sanguine (TANGALAKIS et al., 1992; BENEDIKTSSON et al., 1993; MARTYN et al., 1995). L'augmentation des concentrations en fibrinogène plasmatique à l'âge adulte, un autre facteur de risque de

maladies cardio-vasculaires, est aussi associée au petit poids, à la petite taille, à la diminution du périmètre abdominal et à l'augmentation du rapport poids placenta/poids du fœtus à la naissance (BARKER et al., 1992; BARKER et al., 1993d; BARKER, 1995). Ces différentes associations sont expliquées par une altération du développement du foie (organe intervenant dans le métabolisme du fibrinogène) (BARKER et al., 1993b).

D'autres études rapportent que la diminution du périmètre abdominal et du rapport périmètre abdominal/périmètre crânien est corrélée à une augmentation des concentrations en cholestérol total, LDL-cholestérol et apo B à l'âge adulte (SPORIK et al., 1991; BARKER et al., 1993a; BARKER, 1994b, 1995; PANETH et al., 1995). Une altération du développement du foie pendant la vie fœtale conduit à des anomalies du métabolisme lipidique, notamment celui du cholestérol, et à une diminution des récepteurs spécifiques aux LDL (BARKER et al., 1993a; DESAI et al., 1994; BARKER, 1995). Une persistance de ces anomalies après la naissance peut expliquer le lien entre hypotrophie et troubles du métabolisme du cholestérol et des lipoprotéines à l'âge adulte.

Les maladies métaboliques, notamment le diabète et l'athérosclérose sont donc plus fréquents chez les adultes ayant été hypotrophes à la naissance. Les dyslipoprotéinémies figurent au tout premier rang des facteurs de risque athérogène. L'existence de relations très étroites entre les concentrations sériques en certaines lipoprotéines et apolipoprotéines et le diabète ou les maladies cardio-vasculaires est aujourd'hui parfaitement démontrée.

Les troubles du métabolisme des lipoprotéines peuvent être initiés in utero, et s'amplifiés avec l'âge. Il est donc possible qu'à la naissance, l'hypotrophie présente un certain nombre d'altérations du métabolisme des lipoprotéines qui sont reflétées par les variations des teneurs en lipides et en apolipoprotéines des lipoprotéines, certaines pouvant être des indicateurs du risque de maladies métaboliques à l'âge adulte. Plusieurs études se sont donc intéressées à la valeur prédictive de certains de ces paramètres (FONNEBO et al., 1991; WANG et al., 1991; LARSSON & VAARA, 1992; BAO et al., 1993). Le "tracking" ou "le pistage" consiste à savoir chez un individu dans quelle mesure une variable biochimique maintient au cours du temps sa position relative, par rapport à la courbe de distribution de cette variable dans la population. Un degré significatif d'alignement est noté pour les concentrations en LDL-cholestérol et le rapport apo B/apo A-I, témoignant d'une bonne valeur prédictive du risque athérogène de ces deux paramètres (FONNEBO et al., 1991; WANG et al., 1991; BAO et al., 1993).

Cependant, même si des facteurs de risques sont présents dès la naissance, ils peuvent être diminués ou augmentés ultérieurement en fonction du mode de vie et de l'alimentation.

Dans cette étude, les altérations du métabolisme des lipides et des lipoprotéines sont déterminées chez des nouveau-nés à terme hypotrophes, dans le but de mieux connaître les modifications lipidiques entraînées par l'hypotrophie. Il serait ainsi possible grâce à une alimentation appropriée durant l'enfance de diminuer les facteurs lipidiques de risque de maladies métaboliques dont la fréquence paraît augmenter par l'hypotrophie fœtale.

POPULATION, MATERIEL ET METHODES

I. Population étudiée

Les échantillons de sang sont prélevés chez des nouveau-nés à terme dans le service de maternité du centre Hospitalo-Universitaire de Tlemcen. L'étude porte sur deux groupes de nouveau-nés :

- 40 nouveau-nés hypotrophes (poids de naissance $<$ à 2500 g)
- 30 nouveau-nés eutrophiques témoins (poids de naissance compris entre 2700 g et 3800 g).

Ces nouveau-nés sont exempts de pathologies.

II. Préparation des échantillons

Les prélèvements de sang se font sur la veine ombilicale, immédiatement après la délivrance et la coupure du cordon ombilical.

Le sang est recueilli dans des tubes secs. Après coagulation, les échantillons sont centrifugés à $600 \times g/\text{min}$ pendant 15min. Le sérum est ensuite conservé avec une solution de NaN_3 à 0,2% et de Na_2EDTA à 10%, à raison de $10 \mu\text{l}/\text{ml}$.

III. Analyses biochimiques

III.1. Séparation des lipoprotéines sériques par ultracentrifugation

Les lipoprotéines totales sont isolées à partir de 2 ml de sérum, dont la densité est ajustée à $d=1,21 \text{ g}/\text{ml}$ par addition de KBr en cristaux ($0,322 \text{ g}/\text{ml}$). Les lipoprotéines totales sont obtenues par simple ultracentrifugation de flotation à $122,000 \times g$ pendant 48h à 15°C (L8-55 Beckman ultracentrifuge, 50Ti rotor, Beckman Instruments, Palo Alto, CA, USA), selon la technique de HAVEL et al., (1955).

Les différentes fractions lipoprotéiques (VLDL : $1,006 < d < 1,019 \text{ g}/\text{ml}$; LDL : $1,019 < d < 1,063 \text{ g}/\text{ml}$; HDL₂ : $1,063 < d < 1,12 \text{ g}/\text{ml}$; HDL₃ : $1,12 < d < 1,21 \text{ g}/\text{ml}$) sont isolées à partir des lipoprotéines totales par une ultracentrifugation en gradient discontinu de densité, suivant la méthode de REDGRAVE et al., (1977), modifiée dans notre laboratoire pour obtenir une meilleure séparation des HDL₂ et des HDL₃. La centrifugation est opérée à $270,000 \times g$ pendant 24h à 15°C (L8-55 Beckman ultracentrifuge, SW 41Ti rotor, Beckman Instruments, Palo Alto, CA, USA). A la fin de celle-ci, 2 ml sont rapidement prélevés au sommet du tube. Cette fraction contient les VLDL. Ensuite, le contenu du tube est déplacé avec une solution lourde de KBr ($d=1,346$) perfusée au fond du tube ; le contenu est collecté au sommet du tube à l'aide d'une pompe péristaltique. L'effluent est dérivé sur un spectrophotomètre pour l'identification des pics de LDL, de HDL₂ et de HDL₃.

Toutes les fractions lipoprotéiques sont dialysées pendant 18h contre une solution de NaCl 0,15 M ; 0,04% Na₂EDTA à pH 7,4 et à 4°C dans des tubes à dialyser (Spectra/Por 2, Spectrum Medical Industries, INC, LA, USA).

III.2. Analyse des lipides et des lipoprotéines sériques

Les triglycérides (TG) sont dosés sur le sérum et sur les fractions de lipoprotéines par une méthode enzymatique, à l'aide d'un kit Boehringer (Mannheim, Allemagne).

Le cholestérol total (CT) et le cholestérol libre (CL) sont dosés sur le sérum par une méthode enzymatique (Kit Boehringer, Mannheim, Allemagne), et sur les différentes fractions de lipoprotéines par chromatographie gaz-liquide, selon la méthode de GAMBERT et al., (1979, 1982). Le dosage du cholestérol total par chromatographie gaz-liquide nécessite au préalable une saponification, une extraction à l'hexane, une silylation. La séparation s'effectue sur colonne capillaire, l'épicoprostanol servant de standard interne (GAMBERT et al., 1979). Pour mesurer le cholestérol libre, la même technique est utilisée, à l'exception de la saponification qui est omise (GAMBERT et al., 1982). Les teneurs en cholestérol estérifié sont obtenues par différence entre le cholestérol total et le cholestérol libre. Les taux d'esters de cholestérol (EC) sont estimés en multipliant par 1,67 la valeur de cholestérol estérifié, ce qui tient compte du poids moléculaire moyen d'un acide gras estérifiant le cholestérol.

Les teneurs en phospholipides (PL) sont déterminées par le dosage du phosphore selon la méthode de BARTLETT (1958). Les teneurs en phosphore obtenues sont multipliées par 25 pour obtenir les concentrations en phospholipides (le phosphore correspondant à 1/25^{ème} du poids de la molécule de phospholipides).

La détermination des teneurs en apolipoprotéines totales est réalisée selon la méthode de LOWRY et al., (1951).

III.3. Détermination quantitative et qualitative des apolipoprotéines des VLDL, HDL₂ et HDL₃

Une partie aliquote des lipoprotéines dialysées (VLDL, HDL₂ et HDL₃) est soumise à une lyophilisation partielle, suivie par une rapide délipidation avec 20 volumes d'éther froid. Après centrifugation (2000 x g durant 15 min) l'éther est aspiré et le culot est resolubilisé dans un tampon approprié. Les apolipoprotéines (apos) sont ensuite séparées sur gradient de gel de polyacrylamide (SDS-PAGE 2,5 à 20%), selon la technique d'IRWIN et al., (1984), et sur gel de polyacrylamide à 7,5%, avec un gradient de pH établi grâce à des ampholytes (Pharmacia, pH 4-6,5) selon la méthode de GIDEZ et al., (1977).

L'utilisation de ces deux méthodes d'électrophorèse permet une bonne séparation de toutes les apos et de leurs isoformes. Après 20 heures d'électrophorèse, à 4°C, les gels sont colorés au bleu de Coomassie G250.

Après décoloration, les gels sont lus au densitomètre à 600nm (densitomètre modèle Profil 26, SEBIA, Paris, France) et les pourcentages des différentes apos sont déterminés semi-quantitativement à l'aide des tracés densitométriques. Afin d'estimer la concentration de chaque apo, le pourcentage de la surface relative de chacune d'elle est multiplié par la concentration totale en apos de la fraction lipoprotéique, pour chaque échantillon sérique. Ces résultats sont exprimés en unités arbitraires (UA). Afin de valider nos techniques, une immunoélectrophorèse sur gel d'agarose (Kit Hydragel apo A-I, B, SEBIA) est réalisée pour quantifier les apos A-I et B 100.

III.4. Détermination de l'activité de la lécithine : cholestérol acyltransférase sérique (LCAT, EC 2.3.1.43)

L'activité de la LCAT est déterminée sur du sérum frais, par conversion du [³H] cholestérol en [³H] cholestérol estérifié, suivant la méthode de GLOMSET & WRIGHT (1964), modifiée par KNIPPING (1986). Les liposomes, substrat exogène pour la LCAT, sont une émulsion de cholestérol et de lécithines. La LCAT sérique permet le transfert d'un acide gras de la position 2 de la lécithine sur le 3-β-OH du cholestérol, formant le cholestérol estérifié et la lysolécithine. 2 mg de cholestérol et 16 mg de lécithines d'œuf (Merck) sont solubilisés dans un mélange chloroforme/méthanol (Prolabo) (2 :1, v :v). Le mélange est séché sous azote. Après addition de 1 ml de solution tampon 10 mM tris/HCl, 1 mM EDTA, pH 7,4 (tampon d'incubation), la solution subit une sonication pendant 30 minutes à 25°C. Pour chaque détermination, 88nM de liposomes-cholestérol, 7,4 KBq [³H] cholestérol (Amersham, Les Ulis, France) et 0,6 nM d'albumine fraction V (Merck, Darmstadt, Germany) sont mixés et préincubés avec le tampon à un volume final de 1 ml pendant 1 heure à 37°C. La réaction d'estérification débute par addition de 100 µl de sérum (source enzymatique) et 10 µl de mercaptoéthanol 1 M (Merck). Après 1 heure d'incubation, la réaction est stoppée avec 2 ml de chloroforme/méthanol (2 :1, v :v). Après extraction et séparation des lipides par chromatographie sur couches minces, le comptage de la radioactivité du cholestérol libre et du cholestérol estérifié est réalisé à l'aide d'un compteur à scintillation (Beckman LS 7500). L'activité LCAT est exprimée en nmoles de cholestérol estérifié.h⁻¹.ml⁻¹ de sérum.

IV. Traitement statistique

Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes \pm Erreur Standard. Après analyse de la variance, la comparaison des moyennes, entre nouveau-nés hypotrophes et nouveau-nés témoins, est réalisée par le test t de Student (STAT VIEW 512+, Brain Power, Calabasas, CA).

**Article 1: Modifications quantitatives et qualitatives des
HDL₂ et HDL₃ et activité de la lécithine : cholestérol
acyltransférase chez les nouveau-nés hypotrophes à
terme**

Acta Paediatr. **86**: 528-532, 1997

Serum lecithin : cholesterol acyltransferase activity and HDL₂ and HDL₃ composition in small for gestational age newborns

H Mezrouk¹, M-Y Lamri², M Meghelli-Bouchenak², N Korso³, J Prosi⁴ and J Belleville⁴

¹Laboratoire de Physiologie Animale¹, Institut des Sciences de la Nature, Université de Tlemcen, Tlemcen, Laboratoire de Physiologie Animale et de la Nutrition², Institut des Sciences de la Nature, Université d'Oran, Es-Sénia, Oran, Service de Maternité³, Centre Hospitalo-Universitaire de Tlemcen, Tlemcen, Algérie, Université de Bourgogne, Dijon, France

Mezrouk H, Lamri M-Y, Meghelli-Bouchenak M, Korso N, Prosi J, Belleville J. Serum lecithin : cholesterol acyltransferase activity and HDL₂ and HDL₃ composition in small for gestational age newborns. Acta Paediatr 1997; 86: 528-32, Stockholm, ISSN 0803-5253

The aim of this study was to determine serum lecithin : cholesterol acyltransferase (LCAT) activity in parallel with HDL₂ and HDL₃ composition in cord sera of small for gestational age (SGA) newborns, and to compare them with those obtained from appropriate for gestational age (AGA) newborns. LCAT activity was assayed by conversion of [³H]cholesterol to labelled cholesterol ester. HDL₂ and HDL₃ were separated by ultracentrifugation. Serum cholesterol ester, apolipoprotein (apo) A-I concentrations and LCAT activity were significantly lower (-47%, -18% and -56%, respectively), whereas serum triglyceride amounts were twofold higher in SGA newborns than in AGA newborns. In SGA newborns, HDL₂ and HDL₃ levels were low, and HDL₁ and HDL₂ phospholipid and HDL₂-cholesterol ester contents were diminished. HDL₃-apo A-I, A-II, C-III and E values were lower in SGA newborns. In HDL₂, apo A-I, A-II and E concentrations were decreased. Therefore, in SGA newborns, the reduced LCAT activity was associated with quantitative and qualitative changes in HDL₂ and HDL₃ particles. □ Apolipoproteins, high-density lipoprotein, lecithin : cholesterol acyltransferase, small for gestational age newborns

J Belleville, Unité de Nutrition Cellulaire et Métabolique, Faculté des Sciences Mirande, Université de Bourgogne, BP 400, 21011 Dijon, France

(11, 12). Sanchez-Pozo et al. (13) have reported in preterm infants that changes in LCAT activity during the first month of life were highly correlated with apo A-IV levels, whereas there was no significant correlation between changes in LCAT activity and plasma CE or phospholipids (13). However, little information has been provided on LCAT activity in serum of SGA newborns. Morillas et al. (4) suggested that LCAT activity might be decreased in SGA newborns, although they did not measure it.

The present investigation was designed to determine serum LCAT activity in parallel with HDL₂ and HDL₃ concentrations and composition in umbilical cord sera of SGA newborns and to compare them with those obtained in appropriate for gestational age (AGA) newborns.

Patients and methods

Ten non-toxaemic SGA newborns (birth weight, 2300 ± 45 g; height, 38 ± 0.43 cm; mean ± SEM; 4M, 6F) and 10 appropriate for gestational age newborns (AGA; birth weight, 3600 ± 66 g; height 45 ± 0.50 cm; mean ± SEM; 5M, 5F) from term deliveries (38-40 weeks) were investigated at the maternity hospital of Tlemcen (Algeria). Gestational age was assessed according

to the following criteria: (1) Approximately 50% of the total cord blood cholesterol is carried by HDL, in marked contrast to the adult where most cholesterol is carried by low-density lipoproteins (LDL). Intrauterine growth retardation is characterized by impaired plasma lipid metabolism (2-6). Increased plasma triglyceride (TG) concentrations (2, 5, 6) and decreased plasma total cholesterol (TC) concentrations (SGA) (2). The cholesterol ester (CE) to free cholesterol ratio in HDL is reduced (4). Diminished plasma lecithin : cholesterol acyltransferase (LCAT; EC 2.3.1.43) activity may be partly responsible for some abnormal lipid levels in SGA newborns. LCAT, an enzyme produced in the liver, esterifies free cholesterol in the smaller, denser HDL subclass (HDL₃) which is converted into the lighter HDL₂ subfraction. LCAT catalyses the transacylation of the fatty acid from the 2-position of phosphatidylcholine to the 3-hydroxyl group of cholesterol located in the particle surface, forming lysolipid and CE (7). Apolipoprotein (apo) A-I, the major HDL apolipoprotein, is a necessary cofactor for LCAT activity (8). Other apolipoproteins, e.g. apo C-I, apo E, apo A-II and apo A-IV, can also activate human LCAT (9). Earlier studies have shown that LCAT activity is lower at birth in full-term infants than in adults (10, 11), and is especially diminished in premature infants

to the mother's menstrual history and echography and confirmed by the pediatrician's assessment of the baby's maturity. Newborn weight was obtained immediately after delivery. Intrauterine growth retardation (IUGR) was diagnosed when birth weight was more than 2 SD below the mean for gestational age, which corresponded to less than 2500 g at term. The purpose of this study was explained to the mothers and the investigation was carried out with their consent. The experimental protocol was approved by the Terngen Hospital Committee for Research on Human Subjects.

Sample collection

Cord blood samples were obtained from the umbilical vein, immediately after delivery and cutting the umbilical vein. After 2–3 h of clotting, sera were separated by centrifugation at 4°C and 600 g. An aliquot of serum was preserved with 0.1% disodium EDTA and 0.02% sodium azide for quantifying HDL₂ and HDL₃ and another part was used for measuring LCAT activity.

Laboratory methods

Serum TG contents were determined with Boehringer Mannheim GmbH kits, according to an enzymatic method using glycerol as standard. The TC assay was performed by gas-liquid chromatography (14). This technique included saponification, extraction by hexane, silylation, separation on a glass capillary column and the use of epicoprostanol as internal standard. To determine unesterified cholesterol (UC), the procedure of the TC assay was used, except for saponification which was omitted, and for the first step of extraction which was modified (15). Esterified cholesterol levels were obtained from the difference between TC and UC values. The amounts of CE were estimated as 1.67 times the esterified cholesterol amount. This factor took into account the average molecular weight of cholesterol-esterifying fatty acids. Serum apo A-I amounts were determined by immunoelectrophoresis using monoclonal antibodies and ready-to-use plates (Hydrigel SEBIA kit, Issy-Les-Moulineaux, France).

Serum HDL were separated by sequential ultracentrifugation at 65 000 g for 3 h in a Beckman ultracentrifuge (Model L5-65, 65 Ti rotor), using sodium bromide for density adjustment (density, 1.12 g ml⁻¹ for HDL₂; 1.21 g ml⁻¹ for HDL₃), according to Havel et al. (16), modified to obtain HDL subfractions. These fractions were then dialysed overnight against a solution of 0.15 mM NaCl and 0.1% Na₂ EDTA, pH 7.4 at 4°C in Spectra/Por 2 dialysis tubing (Spectrum Medical Industries, Los Angeles, CA, USA). Triglycerides, total and unesterified cholesterol in the HDL₂ and HDL₃ fractions were measured as described above. HDL phospholipids were quantified by their phosphorus content according to Bartlett's method (17). This phosphorus content was multiplied by 25 to estimate the amount of phospholipids. The total protein content of each lipoprotein fraction was measured by the method of Lowry et al. (18), using bovine serum albumin as a standard. After concentration by partial lyophilization and rapid diethyl ether delipidation of HDL₂ and HDL₃, the apolipoproteins of each fraction were separated by two types of gel rod electrophoresis, as follows:

Analytical isoelectric focusing (IEF) was determined according to Gidez et al. (19) in polyacrylamide gels (7.5% monomer) containing 6.8 M urea and 2% ampholines of pH 4–6.5 (Pharmacia Fine Chemicals, Bois d'Arcy, France). Focusing was carried out at 4°C, at 200 V for 18 h. Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE), with 2.5–20% acrylamide, was carried out at 25 V for 18 h, according to the method of Irwin et al. (20). After electrophoresis, apolipoproteins were stained with Coomassie brilliant blue G 250. The use of both electrophoresis methods permitted a good separation of all apolipoproteins and their isoforms. The staining affinity of each individual peptide was not determined. However, when 50–200 µg of total apolipoproteins was applied, the chromogenicity of each major band varied linearly with the amount of total apolipoproteins applied on the gel. Furthermore, HDL apolipoprotein samples from both SGA and AGA newborns were electrophoresed every time in parallel. The proportions of the different apolipoproteins were determined semiquantitatively with the densitometer tracing at 600 nm (densitometer Model Profil 26, Sebia, Issy Les Moulineaux, France). To estimate the concentration of each apolipoprotein, the percentage of the area relative to each apolipoprotein was multiplied by the total HDL apolipoprotein concentration (determined by Lowry et al.) of each sample. These data were expressed as arbitrary units (AU) per litre of serum. To estimate the validity of the calculation, immunoelectrophoresis (Hydrigel SEBIA kit) was performed to quantitate apo A-I.

Assay for LCAT activity

LCAT activity was assayed by conversion of [³H]unesterified cholesterol to [³H]esterified cholesterol, according to the method of Glomset and Wright (21), modified by Knipping (22).

Cholesterol and egg phosphatidylcholines (PC) used for preparation of liposomes were purchased from Merck (Darmstadt, Germany).

Radiolabelled 7(n)-[³H]cholesterol was obtained from Amersham (Les Ulis, France). Specifically, 2 mg cholesterol and 16 mg egg PC in chloroform-methanol (2:1, v/v) were evaporated to dryness under a nitrogen stream. After adding 1 ml, 10 mmol Tris-HCl, 150 mmol NaCl and 1 mmol EDTA, pH 7.4 (incubation buffer), the solution was sonicated for 30 min at 100 W and 25°C with a Bioblock Scientific sonifier (Strasbourg, Illkirch, France). The mixture was used within 2 d. The final cholesterol and PC contents were estimated according to the method of Girard and Assous (23) and with test kits from Boehringer Mannheim, respectively. The final PC to cholesterol molar ratio was 4:1.

Serum HDL were separated by sequential ultracentrifugation at 65 000 g for 3 h in a Beckman ultracentrifuge (Model L5-65, 65 Ti rotor), using sodium bromide for density adjustment (density, 1.12 g ml⁻¹ for HDL₂; 1.21 g ml⁻¹ for HDL₃), according to Havel et al. (16), modified to obtain HDL subfractions. These fractions were then dialysed overnight against a solution of 0.15 mM NaCl and 0.1% Na₂ EDTA, pH 7.4 at 4°C in Spectra/Por 2 dialysis tubing (Spectrum Medical Industries, Los Angeles, CA, USA). Triglycerides, total and unesterified cholesterol in the HDL₂ and HDL₃ fractions were measured as described above. HDL phospholipids were quantified by their phosphorus content according to Bartlett's method (17). This phosphorus content was multiplied by 25 to

Table 1. Serum lipid and apolipoprotein A-I contents and serum LCAT activity in SGA and AGA newborns

	AGA	SGA
Triglycerides (mmol l ⁻¹)	0.52 ± 0.03	1.13 ± 0.07***
Total cholesterol (mmol l ⁻¹)	1.83 ± 0.13	1.21 ± 0.09**
Unesterified cholesterol (mmol l ⁻¹)	0.43 ± 0.05	0.43 ± 0.03
Cholesterol esters (mmol l ⁻¹)	1.43 ± 0.08	0.76 ± 0.04**
Apolipoprotein A-I (g l ⁻¹)	0.76 ± 0.04	0.62 ± 0.03*
LCAT activity (nmol ml ⁻¹ h ⁻¹)	150 ± 50.5	65.4 ± 20*

Values are means ± SEM. Significant differences between AGA and SGA newborns are indicated as: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

and CE contents were decreased only in HDL₂ (-52% and -71%, respectively) in SGA newborns compared with AGA newborns (Table 2). However, HDL₂ and HDL₃ UC and TG contents were not significantly different between the two populations.

HDL₃ apo A-I, A-II, C-III and E contents were low in SGA newborns (-30%, -52%, -56% and -70%, respectively), whereas HDL₃ apo C-II concentrations were similar in SGA and AGA newborns (Table 3). In HDL₂, apo A-I, A-II and E concentrations were significantly lower (-18.5%, -47% and -62.5%, respectively) in SGA than in AGA newborns (Table 3). Therefore, in SGA newborns, apo E contents in both HDL particles were the most diminished apolipoprotein.

Discussion

The present investigation was undertaken to determine the amounts and compositions of HDL₂ and HDL₃ fractions, as well as LCAT activity in SGA newborns. In the fetus, most of the cholesterol is carried by HDL particles (25) and HDL metabolism is very important because of the high requirement of the fetus for cholesterol to enable rapid growth. Many studies consider SGA infants together with preterm infants, despite the possible differences in their metabolism. In the present study, we have chosen to investigate the influence of birth weight on plasma lipoproteins, essentially HDL₂ and HDL₃, on the first day of life in SGA newborns at term.

The data showed that in SGA newborns reduced LCAT activity was associated with low serum TC concentrations, essentially because of CE diminution. Considering the role of LCAT in the esterification of plasma cholesterol, impaired LCAT activity could account for abnormal UC levels, and LCAT deficiency is normally associated with increased UC concentrations. However, despite reduced LCAT activity, UC levels were not increased in SGA newborns. The decreased LCAT activity could be due to decreased concentrations of its essential cofactor apo A-I. In SGA newborns, apo A-I was also decreased, but to a smaller extent than LCAT activity. The values of LCAT

LCAT activity was determined using liposomes prepared by the procedure described above. For each determination, 88 nM of liposome-cholesterol, 200 nCi [³H]cholesterol and 40 mg of fatty acid-free albumin were mixed and an incubation buffer was added to give a final volume of 1 mL. This mixture was preincubated for 1 h at 37°C, before 100 µl of serum (enzyme source) was added, together with 10 µl of 1 mol mercaptoethanol per litre (Merck). The amounts of apo A-I in 100 µl of serum per millilitre of assay mixture were sufficient and even superior to requirements for maximal activity when compared with other investigations (22, 24), and no exogenous apo A-I was later added to the mixture. The reaction was stopped by adding 20 volumes of chloroform-methanol (2:1, v/v). After 2 h, the mixture was filtered and the precipitate extracted three times with chloroform-methanol (2:1, v/v). The combined filtrate was concentrated in a vacuum and the water-free residue was extracted three times with 3 ml absolute ethanol (Prolabo, Paris, France). The lipid phase was evaporated to dryness and redissolved in 200 µl CHCl₃, and 50 µl was applied on Kieselgel G 60 plates (Merck). Lipids were separated with petroleum ether-diethyl ether-acetic acid (60:30:1, v/v/v) and located by exposure to iodine vapor. After evaporation of iodine, the areas containing unesterified cholesterol and esterified cholesterol were scraped into liquid scintillant in counting vials (Ready Solv HP/B, Beckman) and counted in a Beckman 7500 LS scintillation counter (Palo Alto, CA, USA). The cholesterol esterifying activity was expressed as nmol h⁻¹ ml serum⁻¹.

Comparison of means was performed by analysis of variance and Student's *t*-test. A value of $p < 0.05$ was considered to be statistically significant.

Statistical analysis

Results

Serum lipid and apolipoprotein A-I concentrations and LCAT activity are shown in Table 1. In SGA newborns, serum TC, CE and apo A-I concentrations were significantly lower than in AGA newborns (-34%, -47% and -18%, respectively), whereas their TG concentrations were twofold higher and those of UC were similar to those of controls. LCAT activity was significantly reduced in SGA compared with AGA newborns (-56%).

The quantitation and composition of HDL₂ and HDL₃ are presented in Table 2. The amounts of HDL₂ and HDL₃ were significantly diminished in SGA newborns compared with AGA newborns (-47% and -45%, respectively). The HDL₂ to HDL₃ ratio was 1.05:1 and 1.02:1 in AGA and SGA newborns, respectively. In SGA newborns, HDL₂ and HDL₃ protein (-30% and -42%, respectively) and phospholipid (-57% and -66%, respectively) concentrations were lower than in AGA newborns. Total cholesterol

Table 2. Quantitation and relative composition of HDL2 and HDL3 in SGA and AGA newborns

	AGA	SGA	AGA	SGA
Amounts (g l ⁻¹)	1.54 ± 0.16	0.82 ± 0.15**	1.47 ± 0.08	0.80 ± 0.10**
Protein (g l ⁻¹)	0.56 ± 0.04	0.39 ± 0.03*	0.73 ± 0.04	0.42 ± 0.05**
Phospholipids (mmol l ⁻¹)	0.59 ± 0.12	0.25 ± 0.02**	0.56 ± 0.05	0.19 ± 0.02**
Triglycerides (mmol l ⁻¹)	0.10 ± 0.01	0.06 ± 0.03	0.40 ± 0.03	0.07 ± 0.02
Total cholesterol (mmol l ⁻¹)	0.71 ± 0.02	0.34 ± 0.01**	0.40 ± 0.03	0.37 ± 0.01
Unesterified cholesterol (mmol l ⁻¹)	0.23 ± 0.02	0.20 ± 0.01	0.21 ± 0.02	0.20 ± 0.02
Cholesteryl esters (mmol l ⁻¹)	0.48 ± 0.03	0.14 ± 0.01**	0.19 ± 0.03	0.17 ± 0.02

Values are means ± SEM. HDL amounts were the sum of their apolipoprotein and lipid components. Significant differences between AGA and SGA newborns are indicated as: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

activity were 44%, whereas those of apo A-I were 82% of those of AGA newborns. Therefore, there was no correlation between LCAT activity and serum apo A-I concentrations in these newborns. Moreover, the low levels of HDL₃ (which are the preferential substrate for LCAT) observed in SGA newborns could enhance the effects of the reduction in LCAT activity. In SGA newborns, amounts of HDL₃ represented only 55% of AGA newborn values and their phospholipid contents (the fatty acid donor in cholesterol esterification by LCAT) were particularly low (-66%), which might also enhance the effects of LCAT activity diminution. The significant decrease in HDL₃ apo A-I and A-II observed in SGA implies that the number of HDL₃ particles was low. Decreased HDL₂ amounts were parallel to the changes in LCAT activity, whereas their CE contents were more strongly diminished (-71%). Morillas et al. (4) found, in SGA HDL, a low CE to free cholesterol ratio, suggesting a reduced LCAT activity. The present results provide clear evidence for this suggestion. The hypertriglyceridaemia observed in SGA newborns was associated with an increase in VLDL concentrations (unpublished data). Andersen and Frits-Hansen (6)

Table 3. Serum HDL₂ and HDL₃ apolipoproteins in SGA and AGA newborns.

	AGA	SGA
HDL ₂ (AU l ⁻¹)	36.8 ± 1.4	30.0 ± 2.1*
apo A-I	10.4 ± 1.7	5.5 ± 1.8*
apo C-II	1.6 ± 1.3	1.1 ± 0.7
apo C-III	2.0 ± 1.6	1.2 ± 0.9
apo E	3.2 ± 1.1	1.2 ± 0.5*
HDL ₃ (AU l ⁻¹)	35.0 ± 3.1	24.0 ± 1.6*
apo A-I	20.8 ± 1.3	10.0 ± 1.9*
apo C-II	2.7 ± 0.9	3.0 ± 0.8
apo C-III	7.8 ± 1.5	3.4 ± 0.5*
apo E	5.1 ± 1.2	1.5 ± 0.9*

AU l⁻¹: Arbitrary units per litre of serum; the concentration of apo was calculated from the percentage of the area for each apo relative to the total HDL apolipoprotein concentration. Values are means ± SEM. Significant differences between AGA and SGA newborns are indicated as: * $p < 0.05$.

reported higher TG and lower HDL cholesterol in SGA than in AGA newborns. Morillas et al. (4) showed significantly lower lipid concentrations of HDL at birth and higher lipid values of VLDL over a 3-7-d period in SGA infants compared with full-term healthy infants. These authors conclude that their data from SGA infants indicate a limited ability to metabolize VLDL. Increased TG levels and decreased HDL levels observed in SGA newborns led us to hypothesize that lipolytic system impairments could partly explain these perturbations. HDL are derived from both direct synthesis in the liver and the surface components of chylomicrons and VLDL particles, which are generated during lipolysis by lipoprotein lipase (LPL) at the endothelium surface. This dual aetiology of HDL explains the inverse correlation between plasma TG and HDL amounts. Decreased HDL₃ apo C and apo E in SGA newborns might also involve lipolytic system impairments. Fetal HDL have been reported to contain an elevated proportion of apo E (26). These apo E-rich HDL are a functional substitute for LDL in delivering cholesterol to fetal tissues. In SGA newborns, HDL₂ apo E concentrations were particularly lower than those of AGA newborns. These data might suggest a limited ability of HDL₂ to provide cholesterol to cells in SGA newborns. The present findings are at variance with those of Morillas et al. (4), who found no differences between all serum apolipoprotein levels in SGA and AGA newborns. One explanation for this discrepancy relies on the differences among the SGA newborns studied. Moreover, the discrepancies in the results may be due to the timing of fetal undernutrition and the degree of organ damage which led to different metabolic abnormalities in SGA newborns. McCance and Widdowson (27) showed that undernutrition in early intrauterine life or in later development led to different main organs involved in fetal lipoprotein synthesis (28). However, no studies on HDL₂ and HDL₃ apolipoproteins in SGA newborns are available, and the present study reports data on these parameters for the first time. In conclusion, in SGA newborns, reduced LCAT activity

- is associated with quantitative and qualitative alterations in HDL₂ and HDL₃ particles. These modifications might impair the functional role of HDL in delivering cholesterol to cells in these newborns. HDL₂ and HDL₃ abnormalities might also be partly due to the deficient lipolytic system. Further estimation of LPL activity in SGA newborns is needed to confirm this suggestion.
- Acknowledgments**—The authors are indebted to Anne Magne, an English for specific purposes linguist at the University of Burgundy (France) for editing the manuscript. This work was supported by the International Research Extension grant 95 MDU 378.
- References**
1. McConathy WJ, Lane DM. Studies on the apolipoproteins and lipoproteins of cord serum. *Pediatr Res* 1980; 14: 757-61
 2. Fosbrooke AS, Wharton BA. Plasma lipids in umbilical cord blood from infants of normal and low birth weight. *Biol Neonate* 1973; 23: 330-8
 3. Lane DM, McConathy WJ. Factors affecting the lipid and apolipoprotein levels of cord sera. *Pediatr Res* 1983; 17: 83-91
 4. Morillas JM, Mollo L, Robles R, Gil A, Sanchez-Pozo A. Lipoprotein levels of cord sera. *Pediatr Res* 1983; 17: 83-91
 5. Tsang RC, Glueck CJ, Evans G, Steiner PM. Cord blood hypertriglyceridemia. *Am J Dis Child* 1974; 127: 78-82
 6. Andersen GE, Frits-Hansen B. Cord serum lipid and lipoprotein-cholesterol values in normal and betamethasone treated newborns of varying gestational age. *Acta Paediatr Scand* 1977; 66: 355-60
 7. Fielding CJ, Fielding PE. Regulation of human plasma lecithin:cholesterol ester content. *J Biol Chem* 1981; 256: 2102-4
 8. Dobiasova M. Lecithin: cholesterol acyltransferase and the regulation of endogenous cholesterol transport. *Adv Lipid Res* 1983; 20: 107-94
 9. Paisch JR, Gatto AM, Olivecrona T, Eisenberg S. Formation of high density lipoprotein 2-like particles during lipolysis of very low density lipoprotein *in vitro*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1978; 75: 4519-23
 10. Cisternas JR, Lianos A, Celidon JM, Riquelme R. Plasma lecithin:cholesterol acyltransferase activity in normal full term newborn infants. *Rev Bras Resq Med Biol* 1979; 12: 9-15
 11. Papadopoulos A, Hamosh P, Chowdhry P, Scanlon JW, Hamosh P. Lecithin: cholesterol acyltransferase in newborn infants: low activity levels in preterm infants. *J Pediatr* 1988; 113: 896-9
 12. Amr S, Chowdhry P, Hamosh P, Hamosh M. Low levels of apolipoprotein A-I are not contributors to low lecithin:cholesterol
 13. Sanchez-Pozo A, Ramirez M, Gil A, Maldonado J, Van Brierche JP, Rosseneu M. Dietary nucleotides enhance plasma lecithin:cholesterol acyltransferase activity and apolipoprotein A-IV concentration in premature newborn infants. *Pediatr Res* 1988; 24: 191-3
 14. Gamber P, Lallemand C, Archambault A. Assessment of serum cholesterol by two methods: gas-liquid chromatography on a capillary column and chemical ionization mass fragmentation with isotopic dilution of (3,4-¹⁴C)cholesterol as internal standard. *J Chromatogr* 1979; 162: 1-6
 15. Gamber P, Lallemand C, Athias A, Padiou P. Alterations of HDL composition of ultracentrifugally separated lipoproteins in human serum. *J Clin Invest* 1955; 34: 1345-53
 16. Havel RJ, Eder HA, Bragdon JH. The distribution and chemical composition of ultracentrifugally separated lipoproteins in human plasma. *Biochim Biophys Acta* 1952; 713: 1-9
 17. Bartlett GR. Phosphorus assay in column chromatography. *J Biol Chem* 1959; 234: 466-8
 18. Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL, Kandal RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193: 265-75
 19. Gidez LI, Swaney JB, Murnane S. Analysis of rat serum apolipoproteins by isoelectric focusing. Part I: Studies on the middle molecular weight subunits. *J Lipid Res* 1977; 18: 59-68
 20. Irvn D, O'Looney PA, Quinn E, Vahouny GV. Application of SDS gradient polyacrylamide gel electrophoresis to analysis of apolipoprotein mass and radioactivity of lipoproteins. *Atherosclerosis* 1984; 53: 163-72
 21. Glomset JA, Wright JL. Some properties of cholesterol esterifying enzyme in human plasma. *Biochim Biophys Acta* 1964; 89: 266-71
 22. Knipping G. Isolation and properties of porcine lecithin:cholesterol acyltransferase. *Eur J Biochem* 1986; 154: 289-94
 23. Girard ML, Assous EF. Method of direct unesterified cholesterol assay. *Ann Biol* 1962; 20: 335-9
 24. Chen CH, Albers JJ. Characterization of proteoliposomes containing apolipoprotein A-I: a new substrate for the measurement of lecithin:cholesterol acyltransferase activity. *J Lipid Res* 1982; 23: 680-91
 25. Diaz M, Rannon Y, Cajal J, Jimenez MD, Martinez H, Pociot M, Grande F. Cord blood lipoprotein-cholesterol: relationship between birth weight and gestational age of newborns. *Metabolism* 1989; 38: 435-8
 26. Blum CB, Davis P, Forte TM. Elevated levels of apolipoprotein E in the high density lipoproteins of human cord blood plasma. *J Lipid Res* 1985; 26: 755-60
 27. McCance RA, Widdowson EML. The determinants of growth and form. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 1974; 185: 1-17
 28. Thibault L, Menard D, Lordight N, Levy E. Ontogeny of intestinal lipid and lipoprotein synthesis. *Biol Neonate* 1992; 62: 100-7

Received July 18, 1996. Accepted in revised form Jan 21, 1997.

**Article 2: L'hypotrophie du nouveau-né à terme altère les
concentrations et la composition des lipoprotéines
sériques**

Eur. J. Paediatr. **157**: 321-326, 1998

Low birth weight at term impairs cord serum lipoprotein compositions and concentrations

H. Merzouk · M. Meghelli-Bouchenak · N. El-Korso · J. Belleville · J. Prost

Received: 22 November 1996 and in revised form: 30 June 1997 / Accepted: 1 July 1997

Abstract The purpose of this study was to determine the effect of low birth weight at term on serum lipoproteins. Lipid and apolipoprotein (apo) contents were investigated in cord sera of small-for-gestational-age (SGA) newborns at term ($2290 \text{ g} \pm 33 \text{ g}$) and compared with those of appropriate-for-gestational-age (AGA) newborns ($3570 \text{ g} \pm 93 \text{ g}$). In SGA newborns, VLDL amounts were twofold higher, whereas LDL, HDL₂ and HDL₃ contents were lower than in AGA newborns (-38% , -44% and -42% , respectively). VLDL-triacylglycerols (TG), apo B-100 and apo E were higher, while VLDL-apo C-II values were 39% lower in SGA newborns compared with those of AGA newborns. In SGA newborns, HDL₂-apolipoprotein, phospholipid and cholesterol ester levels were respectively reduced to 70%, 50% and 40% compared with AGA values. HDL₃-apolipoprotein and phospholipid contents were also decreased in SGA newborns (-43% and -60% , respectively). The different HDL₂ and HDL₃-apolipoproteins (apo A-I, A-II, C-III and E) were significantly decreased in SGA newborns.

Conclusion Intra-uterine growth retardation was accompanied by alterations in apolipoproteins and lipid compositions in the four lipoprotein fractions, which may impair lipid metabolism. Follow up studies on lipoprotein patterns in SGA infants are required to investigate whether such abnormalities at birth lead to diseases in adulthood.

Key words Apolipoproteins · Lipids · Lipoproteins · Low birth weight · Small-for-gestational-age newborns

Abbreviations AGA appropriate for gestational age · EFA essential fatty acid · LURG intra-uterine growth retardation · LCAT lecithin:cholesterol acyltransferase · LPL lipoprotein lipase · SGA small for gestational age

Introduction Metabolic abnormalities which lead to coronary heart disease are known to be programmed by nutrition in utero and during infancy [3-5, 17, 18]. Intra-uterine malnutrition may result from diminished transport of nutrients from the mother to the fetus and may cause intra-uterine growth retardation (URG) [4, 7, 38]. Low birth weight infants delivered at term or small-for-gestational-age (SGA) newborns are considered growth retarded, and several studies have shown that they have

H. Merzouk

Laboratoire de Physiologie Animale, Institut des Sciences de la Nature, Université de Tlemcen, Tlemcen, Algeria

M. Meghelli-Bouchenak

Laboratoire de Physiologie Animale et de la Nutrition, Institut des Sciences de la Nature, Université d'Oran-Es-Senja, Oran, 31 000, Algeria

N. El-Korso

Service de Maternité, Centre Hospitalo-Universitaire de Tlemcen, Tlemcen, Algeria

J. Belleville (✉) · J. Prost

Unité de Nutrition Cellulaire et Métabolique, Faculté des Sciences Médicales, Université de Bourgogne, BP 400, F-21 011 Dijon Cedex, France

Tel.: 03 80 39 63 15, Fax: 03 80 39 63 30

small glycogen and fat deposits, compared with full-term newborns with birth weight appropriate-for-gestational-age (AGA) [13, 16]. Recent research has shown that these infants will be at increased risk of developing coronary heart disease, diabetes or hypertension during adult life [3, 6, 8]. It has been suggested that fetal undernutrition leads to impaired organ development and persisting changes in the levels of secretion of hormones, including growth hormone and insulin, and in the sensitivity of tissues to them [7]. Insulin has a central role in regulating fetal growth [21]. SGA infants are shown to have impaired glucose-insulin metabolism [7, 38, 42]. They have also altered lipid and lipoprotein levels [20, 24, 36, 41]. Disorders in adult lipoprotein metabolism are closely related to the risk of atherosclerosis. Interactions between insulin secretion and action and lipoprotein metabolism are well known in adult life.

Lipoprotein receptor activities play also an important role in lipoprotein metabolism. It is possible that a quantitation of cord blood lipoproteins might provide an available measure that could be used in the identification of lipoprotein metabolism abnormalities as markers of impaired fetal growth. Persisting lipoprotein alterations, associated with abnormalities in insulin and lipoprotein receptor activities may link IURG and adult risk of diabetes and atherosclerosis. These observations emphasize the importance of understanding lipoprotein metabolism during fetal life. Although an abundance of data is available on cord blood lipoprotein contents in AGA newborns and preterm infants, few data are available concerning SGA infants [1, 14, 20, 36, 41] and no detailed study on cord serum compositions and concentrations of major lipoprotein fractions and their apolipoprotein profiles has been carried out in SGA newborns. This is why, in the present study, the qualitative and quantitative compositions of lipoproteins were determined in SGA newborns, in order to assess any specific changes in cord serum lipoproteins as a consequence of IURG. Answering the questions whether lipoprotein alterations might be initiated in utero was the purpose of this paper, since these changes, if they persist after birth, could play a role in the pathogenesis of adult metabolic diseases.

Tracylglycerol contents of serum and each lipoprotein fraction were determined with a commercial kit (Boehringer Mannheim, GmbH, Germany) using the enzymatic method based on measurement of glycerol released by lipase hydrolysis. Total and unesterified cholesterol were measured by gas liquid chromatography of the bis (trimethylsilyl) trifluoro-acetate/trimethyl chlorosilane derivatives [22, 23]. Esterified cholesterol concentrations were obtained by subtraction (total cholesterol minus unesterified cholesterol). The amounts of cholesterol esters were estimated as 1.67 x esterified cholesterol concentrations. We did not use kits for cholesterol assays since although they are quite efficient in plasma, our results have shown that they are questionable when used assaying cholesterol in purified lipoproteins. Total phospholipids were assayed by phosphorus determination [10]. Total protein contents of each lipoprotein were measured by the method of Lowry et al. [33], using bovine serum albumin as standard.

Chemical analysis

After concentration by partial lyophilization and rapid diethyl-ether delipidation of VLDL, HDL₂ and HDL₃, the apolipoproteins of each lipoprotein fraction were separated by two types of gel rod electrophoresis:

1. Analytical isoelectric focussing was determined according to Gidez et al. [25] in polyacrylamide gels (7.5% monomer) containing 6.8 M urea and 2% ampholines of pH 4-6.5 (Pharmacia Fine Chemicals, Bois D'Arcy, France). Focussing was carried out at 4°C, at 200 V for 18 h.
2. Sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel electrophoresis with 2.5% 20% acrylamide at 25 V for 18 h, according to Irwin et al. [30].

These two types of electrophoresis provided a high degree of resolution and sensitivity resulting in a single separation of the major

VLDL, HDL₂ and HDL₃ apolipoproteins

Materials and methods

Patients

Materials and methods

The study was approved by the National Hospital Committee for Research on Human Subjects. Thirty eight non-toxaemic SGA newborns at term (body weight = 2290 g ± 33 g, height = 38.7 ± 0.33 cm, 38-41 weeks of gestation, sex ratio M/F 18/20) and 25 AGA newborns (body weight = 3570 g ± 93 g, height = 45.53 ± 0.47 cm, 38-41 weeks, M/F 13/12) were investigated at the maternity hospital of Lemcen (West Algeria). Newborn weight was obtained immediately after delivery. IURG was diagnosed when the birth weight was more than 2 S.D. below the mean for gestational age, which corresponded to less than 2500 g at term. The range below 2500 g conforms to the international definition of low birth weight. Gestational age was assessed according to the mother menstrual history and echography and confirmed by the paediatrician's assessment of the baby's maturity. The purpose of the study was explained to the mothers and investigation was carried out with their consent.

apolipoproteins (B, A-I, A-II, E, C-II, C-III) which could be easily visualized. Furthermore, these methods were convenient for apolipoprotein analysis by direct comparison of the two group samples (AGA, SGA) electrophoresed in parallel. The use of both electrophoresis methods did not depend on antibody recognition and therefore eliminated problems associated with immunological assay specificities. After electrophoresis, apolipoproteins were stained with Coomassie brilliant blue G 250. The staining affinity of each individual peptide was not determined. However, when 50–200 µg of total apolipoproteins were applied, the chromogenicity of each band varied linearly with the amount of total apolipoproteins applied to the gel. The proportions of the different apolipoproteins were determined semiquantitatively by densitometry at 600 nm (Model Profil 26, Sebia, France). To estimate the concentration of each apolipoprotein, the percentage of the area relative to each apolipoprotein (determined as protein) of each sample. These data were expressed as arbitrary units. To estimate the validity of our calibration, immuno-electrophoresis using monoclonal antibodies and ready-to-use plates (Hydragel SEBIA Kit, Issy Les Moulineaux, France) was performed to quantitate apo A-I and B-100.

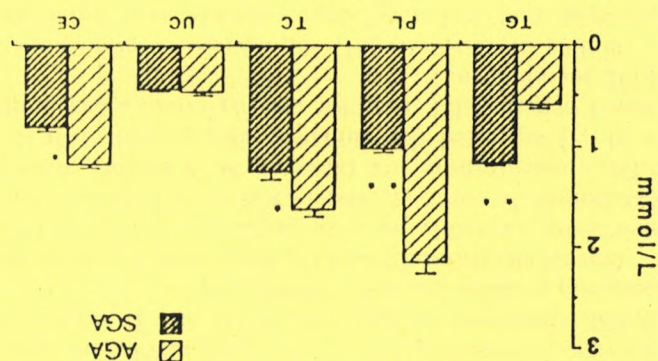
Statistical analysis

Statistical differences between means of SGA and AGA newborn values were assessed by ANOVA and Student's *t* test (STAT VIEW 512 + microcomputer program, Brain Power, Calabasas, CA).

Results

Serum lipid contents in SGA and AGA newborns are presented in Fig. 1. In SGA newborns, serum triacylglycerol concentrations were twofold higher, whereas phospholipid, total cholesterol and cholesterol ester amounts were lower (–53%, –23% and –30%, respectively) compared with control newborn values. Concentrations and compositions of serum lipoproteins (VLDL, LDL, HDL₂ and HDL₃) in SGA and AGA newborns are presented in Fig. 2. VLDL amounts were twofold higher in SGA than in AGA newborns. VLDL-triacylglycerol and -apolipoprotein contents were twofold higher in SGA than in AGA newborns.

Fig. 1 Serum lipid contents of SGA and AGA newborns (mmol/l). Values are means \pm SEM of 38 SGA and 25 AGA newborns (TG triacylglycerols, PL phospholipids, TC total cholesterol, C cholesterol, CE cholesteryl esters) \square AGA newborns, \blacksquare SGA newborns. Significant differences between AGA and SGA newborns are indicated as: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.



Discussion

LDL amounts were lower (–38%) in SGA newborns than those of AGA newborns. In LDL, apolipoprotein, phospholipid, cholesterol concentrations were diminished (–30%, –41%, –28%, –41% and –30%, respectively) in SGA newborns. These data indicated a reduction in LDL particle number. HDL₂ and HDL₃ amounts were also decreased (–44% and –42%, respectively) in SGA newborns compared to AGA newborn values. HDL₂-apolipoprotein, phospholipid and cholesterol ester amounts represented respectively 70%, 50% and 40% of AGA newborn values. HDL₃-apolipoprotein and phospholipid contents were also diminished in SGA newborns (–43% and –60%, respectively). Profiles of serum VLDL, LDL, HDL₂ and HDL₃-apolipoproteins are shown in Fig. 3. VLDL-apo B-100 and E amounts were respectively twofold and sixfold higher, whereas apo C-II values were depressed by 39% in SGA newborns compared with those of AGA newborns. HDL₂-apo A-I, A-II and E were significantly decreased (–18%, –47%, –62%, respectively) in SGA newborns compared with AGA values. HDL₃-apo A-I, A-II, C-III and E were lower (–31%, –52%, –56% and –70%, respectively) in SGA than in AGA newborns.

Our data showed that IURG was associated with several lipid, lipoprotein and apolipoprotein changes at birth. In agreement with previous studies [1, 20, 24], increased serum triacylglycerol concentrations observed in SGA newborns were accompanied with a concomitant increase in VLDL, particles responsible for triacylglycerol transport from liver to peripheral tissues. Compared with the values of AGA newborns, the higher amounts of VLDL and lower contents of LDL, HDL₂ and HDL₃ found in SGA newborns indicated a limited ability to metabolize VLDL, probably related to lipoprotein lipase (LPL) impairment. LPL impairment might be enhanced by the decrease in apo C-II observed in SGA-VLDL, which is a cofactor activator for LPL activity, and by the increase in apo E which is an inhibitor of LPL activity [39]. In SGA newborns, VLDL-apo B-100 and E were higher than in AGA newborns. Since both apolipoproteins are cell surface receptor recognition proteins, their enhancement must be normally correlated with the VLDL clearance increase. The absence of such a correlation in SGA newborns, suggested a diminution in apo B/E receptor number or affinity. It has been reported that fetal undernutrition may induce impaired β -cell development and insulin resistance [5, 7]. Impaired VLDL catabolism, reduced LPL

activity, overproduction of triacylglycerol and apo B-100, alterations of apo C-II, C-III and E levels are common in adult diabetes mellitus [26]. Our results showed that LDL levels were low in SGA newborns, probably as a consequence of low VLDL catabolism. In contrast, Andersen et al. [2] indicated that LDL concentrations are raised in SGA infants. Baker et al. [9] suggested that impaired liver growth with reduced hepatic LDL receptor activity could affect fetal LDL metabolism.

Unlike other results [31, 36], decreased serum phospholipid and cholesterol ester contents were found in SGA compared with AGA newborns. Lower HDL₂ and HDL₃ amounts were also noted in these newborns. Low phospholipid and HDL levels might reflect alterations in the composition of fatty acids, especially arachidonic acid. In fact, Leaf et al. [32] found a positive correlation between arachidonic acid and birth weight. Limitations of transplacental essential fatty acids transfer may cause low fetal essential fatty acid (EFA) status which is considered a limiting factor in growth [29, 32]. Ongian et al. [37] also indicated that HLRG was associated with reduced vascular prostacycline production and with EFA deficiency as assessed by the Mead acid to arachidonic acid ratio. Fetal EFA deficiency could be of maternal dietary origin. Maternal nutrition was correlated with fetal growth and birth weight [15, 27, 43].

In our study, reduced HDL₂ and HDL₃ levels suggested impaired HDL metabolism in SGA newborns. The low HDL₂-cholesterol ester concentrations found in SGA newborns are associated with a reduced liver cholesterol acyltransferase (LCAT) activity, as we have previously demonstrated [35]. This enzyme carries cholesterol esterification, transferring a fatty acid

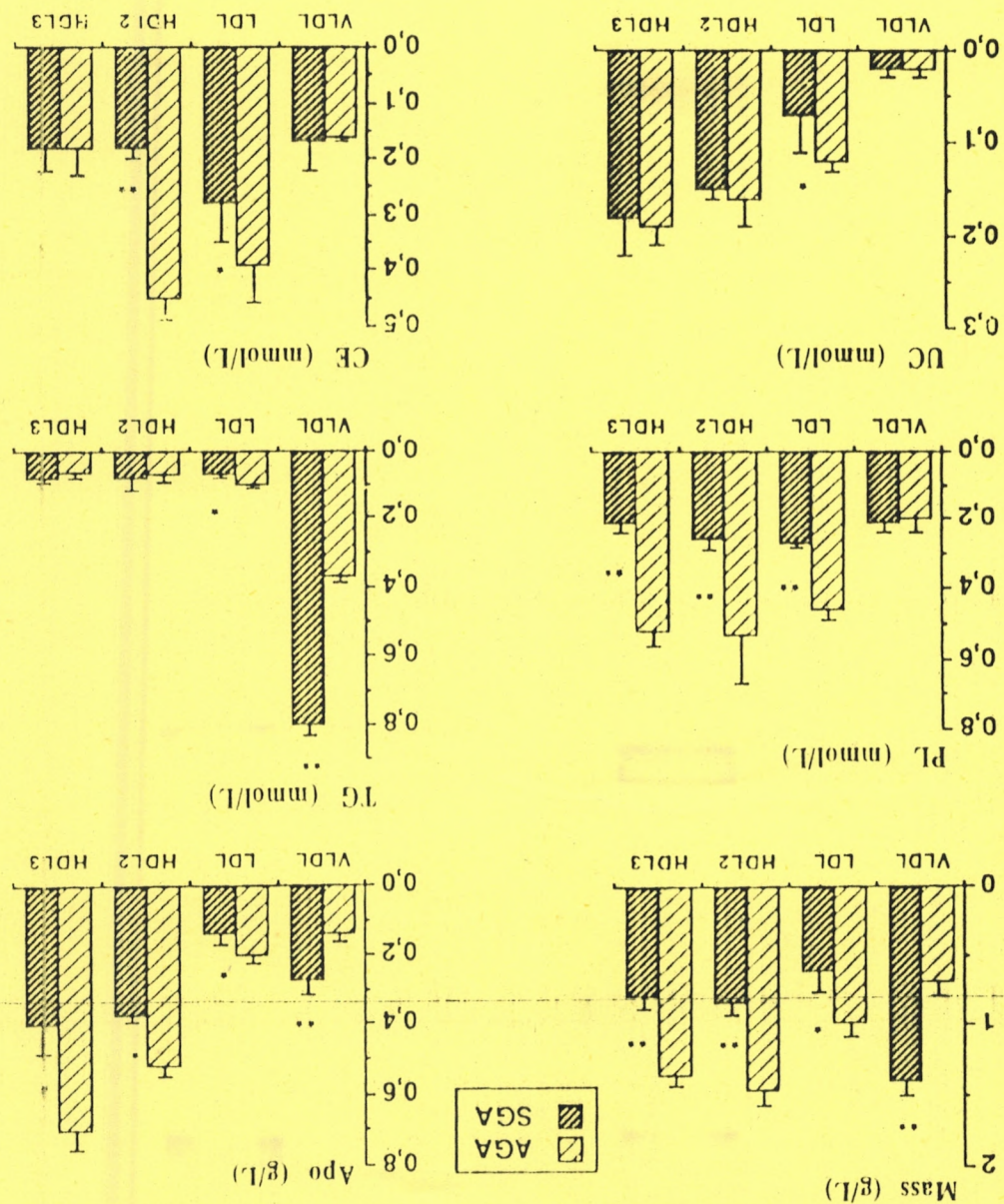


Fig. 2 Concentrations and compositions of serum lipoproteins. Values are means \pm SEM. Lipoprotein mass is the sum of apolipoprotein (apo), phospholipid (PL), triacylglycerol (TG), cholesterol ester (CE) and unesterified cholesterol (UC) components. \square AGA newborns; \square SGA newborns. Significant differences between AGA and SGA newborns are indicated as: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

The lipid and apolipoprotein level impairments noted in SGA newborns in the present investigation were comparable to those found in children with marasmus, due to postnatal malnutrition [11, 12, 19, 34]. These studies have shown normal or higher triacylglycerols, low LDL and HDL total cholesterol, reduced apo A-I and A-II and high apo E in serum of marasmic compared to normal children. The low birth weight newborn at term should be considered as a precocious marasmic child. Lipoprotein alterations seen in SGA newborns might be attributed to intra-uterine malnutrition. These findings might suggest that the combined effects of limited substrate and hormonal availability induce fetal undernutrition.

In conclusion, IURG is accompanied by profoundly altered VLDL, LDL, HDL₂ and HDL₃ amounts and composition. Lipoprotein changes express a high increase in VLDL and a moderate decrease in LDL, HDL₂ and HDL₃ concentrations, which strongly modifies blood lipid transport, and hence lipid supply to the fetus. This might be associated to parallel changes in lipoprotein receptors, LPL or LCAT activities and insulin production or sensitivity. These abnormalities, if they persist, might lead to metabolic diseases in adulthood such as diabetes and atherosclerosis. We therefore suggest follow up studies on lipoprotein patterns of SGA infants to investigate the long-term consequences of lipid metabolism impairments at birth.

Acknowledgements The authors thank A. Magner, an ESF linguist at the University of Burgundy (France) for editing the manuscript. This work was supported by the International Research Extension grant 95 MDU 318.

References

- Andersen GE, Friis-Hansen B (1977) Cord serum lipid and lipoprotein-cholesterol values in normal and betamethasone-treated newborns of varying gestational age. *Acta Paediatr Scand* 66:355-360
- Andersen GE, Litschitz C, Friis-Hansen B (1979) Dietary habits and serum lipids during first 4 years of life. A study of 95 Danish children. *Acta Paediatr Scand* 68:165-170
- Barker DJP (1994) Outcome of low birthweight. *Hum Res* 42:223-230
- Barker DJP (1994) Maternal and fetal origins of coronary heart disease. *J Royal Coll Phys London* 28:544-550
- Barker DJP (1995) Fetal origins of coronary heart disease. *BMJ* 311:171-174
- Barker DJP, Bull AR, Osmond C, Simmonds SJ (1990) Fetal and placental size and risk of hypertension in adult life. *BMJ* 301:259-262
- Barker DJP, Cluckman PD, Godfrey KM, Harding JE, Owens JA, Robinson JS (1993) Fetal nutrition and cardiovascular disease in adult life. *Lancet* 341:938-941
- Barker DJP, Hales CN, Fall CHD, Osmond C, Phillips R, Clark PMS (1993) Type 2 (non-insulin dependent) diabetes mellitus, hypertension and hyperlipidaemia (syndrome X): relation to reduced fetal growth. *Diabetologia* 36:62-67
- Barker DJP, Mauer CN, Osmond C, Hales CN, Fall CHD (1993) Growth in utero and serum cholesterol concentrations in adult life. *BMJ* 307:1524-1527
- Barker CR (1988) Phosphorus assay in column chromatography. *J Biol Chem* 263:466-469

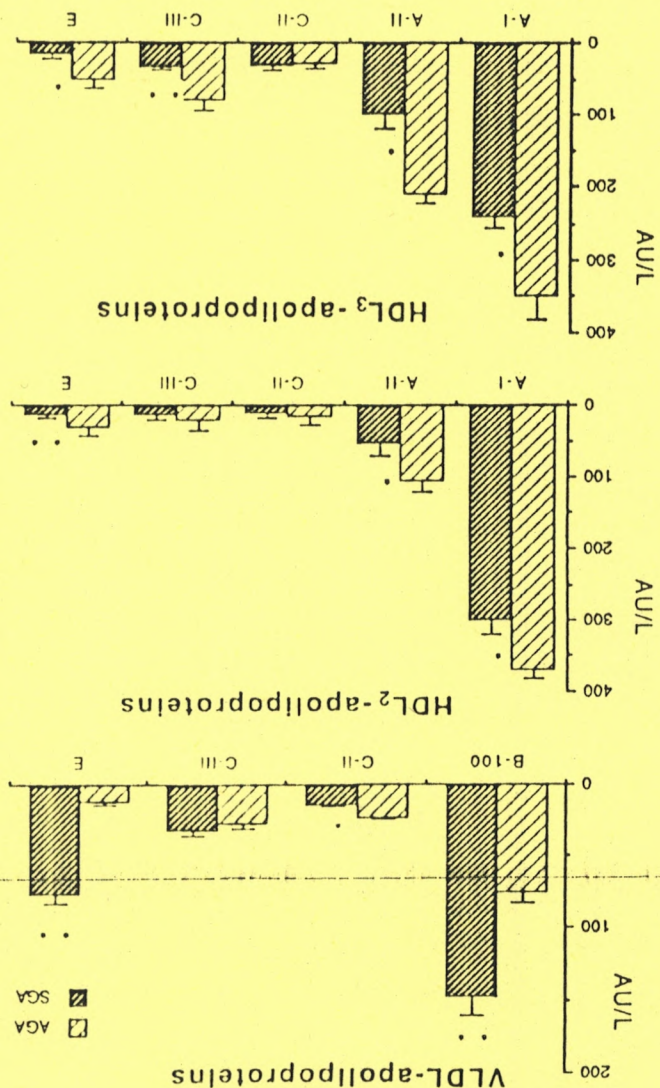


Fig. 3 Profiles of serum VLDL, HDL₂ and HDL₃-apolipoproteins. Values are means \pm SEM. \square AGA newborns; \square SGA newborns. Significant differences between AGA and SGA newborns are indicated as: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

from phosphatidylcholine to unesterified cholesterol. Moreover, during VLDL lipolysis by LPL action, surface components are transferred from VLDL to HDL₂, which are converted into HDL₃ particles by LCAT. This process might be diminished in SGA newborns as a result of VLDL accumulation leading to decreased VLDL catabolism. In adults, insulin deficiency and insulin resistance are also associated with low HDL and apo A-I levels [26].

Fetal HDL have been reported to contain an elevated proportion of apo E [11]. These apo E-rich particles can be cleared from the circulation by the liver and macrophages. In SGA newborns, HDL₂ and HDL₃-apo E were particularly lower than those of AGA newborns. These data could be attributed to decreased VLDL catabolism with a concomitant reduced transfer of apo-

28. Havel RJ, Leder HA, Bagdikian HH (1955) The distribution and chemical composition of ultracentrifugally separated lipoproteins in human serum. *J Clin Invest* 35:1945-1953
29. Imms SM (1991) Essential fatty acids in growth and development. *Prog Lipid Res* 30:39-103
30. Irwin D, O'Looney PA, Quinn E, Vahouny GV (1984) Application of SDS gradient polyacrylamide gel electrophoresis to analysis of apolipoprotein mass and radioactivity of lipoproteins. *Atherosclerosis* 53:163-172
31. Lane DM, McCannally WJ (1983) Factors affecting the lipid and apolipoprotein levels of cord sera. *Pediatr Res* 17:83-91
32. Lear AA, Leightfield ML, Costello KL, Crawford MA (1992) Factors affecting long-chain polyunsaturated fatty acid composition of plasma choline phosphoglycerides in preterm infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 14:300-308
33. Lowy OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ (1951) Protein measurement with the folin reagent. *J Biol Chem* 193:265-275
34. Mehta HC, Saini AS, Singh H, Dhari PS (1985) Serum lipids in marasmus. *Indian Pediatr* 22:137-140
35. Merzouk H, Lamri MY, Meghelli-Bouchenak M, Korso N, Prost J, Belleville J (1997) Serum lecithin:cholesterol acyltransferase activity and HDL₂ and HDL₃ composition in small gestational age newborns. *Acta Paediatr* 86:528-532
36. Morillas JM, Molio L, Robles R, Gila-Sanchez-Pozo A (1992) Lipoprotein in preterm and small-for-gestational-age infants during the first week of life. *Acta Paediatr* 81:774-778
37. Ongari MA, Ritter JM, Phil D, Orchard MA, Waddell KA, Blair IA, Lewis PJ (1984) Correlation of prostacyclin synthesis by human umbilical artery with status of essential fatty acid. *Am J Obstet Gynecol* 149:455-460
38. Owens JA (1990) Endocrine and substrate control of fetal growth: placental and maternal influences and insulin-like growth factors. *Reprod Fertil Dev* 3:501-517
39. Quarfordt SH, Hilderbrand H, Greenfield MR, Shelburne FA (1977) The effect of human arginine rich apoprotein on rat adipose lipoprotein lipase. *Biochem Biophys Res Commun* 78:302-307
40. Redgrave TG, Robert DCK, West CE (1975) Separation of plasma lipoproteins by density gradient ultracentrifugation. *Anal Biochem* 65:42-49
41. Skinner ER, Klopffer AI, Wilson GR, Toop KM (1983) The composition and concentration of umbilical cord plasma lipoproteins; their relationships to the birth weight and other clinical factors of the newborn. *Clin Chim Acta* 135:219-228
42. Soothill PW, Nicolaides KH, Campbell S (1987) Prenatal asphyxia, hyperlactacemia and erythroblastosis in growth retarded fetuses. *BMJ* 294:1051-1056
43. Villar J, Rivera J (1988) Nutritional supplementation during two consecutive pregnancies and the interim lactation period: effect on birthweight. *Pediatrics* 81:51-57
44. Blum CB, Davis P, Forte TM (1985) Elevated levels of apolipoprotein E in high density lipoproteins of human cord blood plasma. *Lipid Res* 26:755-760
45. Toward MA, Lunn PG (1981) The biochemistry and physiology of kwashiorkor and marasmus. *Br Med Bull* 37:19-24
46. DeGouw R, Devers H (1976) Hypoglycemia in small for dates newborn infants. *Pediatrics* 58:18-22
47. Diaz M, Ramon Y Cajal J, Jimenez MD, Martinez H, Picot M, Grande E (1989) Cord blood lipoprotein-cholesterol relationship between birth weight and gestational age of newborns. *Metabolism* 38:435-438
48. Doyle W, Crawford MA, Wynn AHA, Wynn SW (1990) The association between maternal diet and birth dimensions. *J Nutr Med* 1:9-17
49. Enzi G, Zanardo V, Caretta F, Imhnen EM, Rubaltili F (1981) Intra-uterine growth and adipose tissue development. *Am J Clin Nutr* 34:1785-1790
50. Fall CHD, Barker DJP, Osmond C, Winter PD, Clark PMS, Hales CN (1992) Relation of infant feeding to adult serum cholesterol concentration and death from ischaemic heart disease. *BMJ* 304:801-805
51. Fall CHD, Vijayakumar M, Barker DJP, Osmond C, Dugdaley S (1995) Weight in infancy and prevalence of coronary heart disease in adult life. *BMJ* 310:17-19
52. Feller F, Parra HJ, Kamian K, Bard JM, Fruchart JC, Vidales M (1993) Lipoprotein metabolism in marasmic children of Northern Mauritius. *Am J Clin Nutr* 58:484-488
53. Fostropic AS, Wharton BA (1973) Plasma lipids in umbilical cord blood from infants of normal and low birth weight. *Biol Neonate* 23:330-338
54. Fowden AL (1989) The role of insulin in prenatal growth. *J Dev Physiol* 12:173-182
55. Gamber P, Lallemand C, Archambault A, Maume BF, Padieu P (1979) Assessment of serum cholesterol by two methods: gas liquid chromatography on a capillary column and chemical ionization mass fragmentography with isotopic dilution of (3,4-¹⁴C) cholesterol as internal standard. *J Chromatogr* 162:1-6
56. Gamber P, Lallemand C, Athias A, Padieu P (1982) Alterations of HDL cholesterol distribution induced by incubation of human serum. *Biochim Biophys Acta* 713:1-9
57. Gayle HD, Dibley MJ, Marks JS, Trowbridge FL (1987) Maturation in the first two years of life. *Am J Dis Child* 141:531-539
58. Gidez CL, Swaney JB, Murname S (1977) Analysis of rat serum apolipoproteins by isoelectric focusing. Part I: studies on the middle molecular weight subunits. *J Lipid Res* 18:59-68
59. Ginsberg HN (1991) Lipoprotein physiology in nondiabetic and diabetic states. Relationship to atherogenesis. *Diabetes Care* 14:839-855
60. Harding JE, Liu L, Evans P, Oliver M, Gluckman PD (1992) Intrauterine feeding of the growth retarded fetus: can we help? *Early Hum Dev* 29:193-197

DISCUSSION

Nos résultats montrent que le métabolisme des lipoprotéines est profondément perturbé par l'hypotrophie foétale. En accord avec d'autres études (FOSBROOKE & WHARTON, 1973; ANDERSEN & FRIIS-HANSEN, 1977; HUTER et al., 1997), l'augmentation des teneurs sériques en TG chez les nouveau-nés hypotrophes comparés aux nouveau-nés témoins, est accompagnée de l'augmentation des VLDL sériques, particules responsables du transport des TG du foie vers les tissus périphériques.

Chez les hypotrophes, les concentrations élevées en VLDL et faibles en LDL, HDL₂ et HDL₃ indiquent une plus moindre capacité à métaboliser les VLDL. Ceci peut s'expliquer par une diminution de l'activité de l'enzyme lipoprotéine lipase (LPL), responsable de l'hydrolyse des TG des VLDL et de leur transformation en LDL. Une diminution de la synthèse de cette enzyme, suite à une déficience en acides aminés, peut expliquer la réduction de l'activité LPL et par la suite l'accumulation des VLDL sériques chez les hypotrophes. Une déficience en insuline ou une résistance des tissus à cette hormone peut aussi être à l'origine des altérations du catabolisme des VLDL chez les hypotrophes. En effet, l'insuline augmente l'activité LPL en majorant la transcription du gène de la LPL et en augmentant la synthèse de l'enzyme (SANTAMARIA-FOJO & DUGI, 1994). Une sous-nutrition foétale entraîne dans la majorité des cas une altération du développement des cellules β pancréatiques et/ou une insulino-résistance (BARKER et al., 1993a; 1995), et les teneurs sériques en insuline sont basses chez les hypotrophes (HUTER et al., 1997). De plus, les teneurs en apo C-II (cofacteur activateur de la LPL) sont diminuées, alors que celles de l'apo E (inhibiteur de la LPL) sont augmentées, ce qui peut favoriser la plus faible activité de la LPL chez les hypotrophes.

Chez les hypotrophes, les teneurs en VLDL-apo B100 et -apo E sont deux et six fois plus élevées respectivement, que celles des témoins. L'apo B100 et l'apo E jouent un rôle très important dans la captation des lipoprotéines par les récepteurs reconnaissant les apos B100 et E (récepteurs apo B/E), et permettent ainsi à ces particules d'être internalisées et catabolisées au niveau du foie et des tissus extra-hépatiques. L'augmentation des contenus en apo B100 et E dans les VLDL est normalement corrélée avec l'augmentation du catabolisme de ces lipoprotéines. L'absence de cette corrélation chez les hypotrophes peut indiquer une diminution du nombre de récepteurs apo B/E ou une diminution de leur affinité.

Les altérations du métabolisme des VLDL, la diminution de l'activité LPL, l'augmentation des teneurs sériques en TG et VLDL, l'élévation des concentrations en apo B et E et la réduction du rapport apo CII/apo CIII sont aussi observées lors du diabète chez l'adulte (GINSBERG, 1991).

Une diminution des teneurs sériques en phospholipides et en esters de cholestérol est observée chez les hypotrophes comparés aux témoins. La réduction des PL circulants peut être la conséquence de la réduction de leur synthèse hépatique.

Une diminution des teneurs sériques en HDL₂ et HDL₃, et de l'activité LCAT, sont aussi notées chez les hypotrophes. La réduction des concentrations en HDL₂-EC est parallèle à celle de l'activité LCAT qui catalyse l'estérification du cholestérol, transformant les HDL₃ en HDL₂. La LCAT permet le transfert d'un acide gras de la position 2 d'une lécithine sur le 3-β-OH du cholestérol libre situé à la surface des HDL₃ (FRANCONE et al., 1989). L'apo A-I est le cofacteur essentiel de son action (JONAS et al., 1984).

Chez les hypotrophes, la diminution de l'activité LCAT peut être due à une synthèse hépatique plus faible, suite à une déficience d'apport en acides aminés. De plus, les faibles concentrations du substrat préférentiel (HDL₃), du cofacteur activateur (apo A-I) et du donneur d'acides gras (HDL₃-PL) lors de la réaction d'estérification, peuvent participer à la réduction de l'activité LCAT chez les hypotrophes.

Les teneurs en HDL₃-apo A-I et apo A-II sont plus faibles chez les hypotrophes, suggérant une réduction du nombre de particules HDL₃. Une diminution de l'activité LPL peut être à l'origine de la réduction des HDL₃ chez les hypotrophes. En effet, lors du catabolisme des VLDL, après l'action de la LPL, les composants de surface des VLDL sont transférés aux HDL₃. La diminution des teneurs en HDL₃-apo C et E chez les hypotrophes peut aussi s'expliquer par la diminution de l'activité LPL, puisque ces apo sont aussi transférées des VLDL aux HDL₃ lors de l'action de la LPL.

Le rapport apo B100/A-I est augmenté chez les hypotrophes. Ce rapport est particulièrement intéressant, car il est corrélé positivement avec le risque athérogène chez l'adulte.

En conclusion, l'hypotrophie fœtale perturbe le métabolisme des lipoprotéines. Les altérations des concentrations et des compositions des lipoprotéines semblent liées à la réduction de l'activité des enzymes LCAT et LPL, et sont comparables à celles observées lors de certaines maladies métaboliques de l'âge adulte (diabète, athérosclérose).

L'hypotrophe, dès sa naissance, présente un profil lipoprotéique très athérogène, à savoir une augmentation des teneurs sériques en TG et en apo B100, associée à une diminution des taux de HDL-cholestérol et d'apo A-I. Cette dyslipoprotéinémie, si elle persiste, peut être responsable d'atteintes vasculaires multiples. Elle ne doit pas être négligée et nécessite une prise en charge spécifique et précise. La stratégie de cette prise en charge peut reposer sur un suivi de ces nouveau-nés hypotrophes en réalisant des bilans lipidiques et lipoprotéiques réguliers. Ceci permettra d'identifier rapidement les sujets à risque dans le but d'agir de façon précoce, particulièrement par une alimentation adaptée, afin de ramener les paramètres mesurés dans des zones normales dites "à faible risque"

2ème partie

**MODIFICATIONS DU METABOLISME DES LIPIDES
ET DES LIPOPROTEINES AU COURS DE LA
MACROSOMIE FŒTALE**

**I. MODIFICATIONS QUALITATIVES ET QUANTITATIVES
DES LIPOPROTEINES SERIQUES CHEZ LES NOUVEAU-
NES MACROSOMIQUES DE MERES DIABETIQUES OU
DE MERES OBESES**

INTRODUCTION

On admet généralement qu'il y a macrosomie (ou obésité fœtale) si le poids de naissance à terme dépasse 4000 g, et si ce poids de naissance est dû à une croissance somatique, et non pas à un excès de liquide extra-cellulaire (SPELLACY et al., 1985). La macrosomie est associée, chez la mère, à un risque élevé, de traumatisme obstétrical, de délivrance par césarienne, d'un travail long d'accouchement et de mortalité maternelle accrue (STEVENSON et al., 1982; MESHARI et al., 1990). Les nouveau-nés macrosomiques sont particulièrement exposés aux risques de mortalité périnatale, de traumatismes, de malformations congénitales et de troubles métaboliques (STEVENSON et al., 1982; MESHARI et al., 1990).

La macrosomie fœtale est le reflet d'une augmentation de l'adiposité, mais aussi des masses musculaires et d'une organomégalie. En effet, plusieurs études montrent, qu'en plus de l'excès de tissu adipeux, les macrosomiques présentent à la naissance une hypertrophie et une hyperplasie de la plupart des organes (muscle, foie, cœur, poumon, thymus...) à l'exception du cerveau et des reins (NAEYE, 1965; HILL, 1978; COWETT & SCHWARTZ, 1982). La croissance fœtale accélérée est le résultat de l'effet combiné d'un hyperinsulinisme fœtal et d'un apport important de nutriments.

Les causes les plus fréquentes sont le diabète insulino-dépendant et/ou l'obésité de la mère (CALANDRA et al., 1981; COWETT & SCHWARTZ, 1982; BERK et al., 1989; LARSEN et al., 1990; BRESCHI et al., 1993).

Le diabète, tout comme l'obésité, entraîne des altérations du métabolisme des glucides et des lipides. Le diabète insulino-dépendant, dit de type I, est caractérisé par une diminution marquée des cellules β des îlots de Langerhans pancréatiques conduisant à un déficit en insuline, et par conséquent à une forte augmentation de la glycémie. La déficience en insuline a pour effet de faciliter la lipolyse, dont l'une des conséquences est la formation accrue de corps cétoniques. De plus, le diabète insulino-dépendant s'accompagne de taux plasmatiques élevés en triglycérides, en acides gras libres et en cholestérol (TASKINEN, 1990). Une élévation des VLDL et des LDL et une réduction des HDL sériques, associées à des modifications de la composition de ces lipoprotéines sont présentes. Ces modifications sont d'autant plus nettes que le diabète est mal contrôlé (GINSBERG, 1991; TOMKIN & OWENS, 1994). L'association diabète et grossesse peut entraîner une exagération des troubles du métabolisme des glucides et des lipides. Au cours de la grossesse, les femmes diabétiques insulino-dépendantes présentent une hyperglycémie qui varie suivant le niveau de contrôle du diabète (KNOPP et al., 1981; PETERSON et al., 1991; MONTELONGO et al., 1992). De plus, il

peut exister une forte élévation des teneurs sériques en acides gras libres et en triglycérides et une diminution des teneurs en cholestérol total, en HDL₃-cholestérol, en apo A-I et apo A-II (KNOPP et al., 1981; MONTELONGO et al., 1992; PETERSON et al., 1992; KNOPP et al., 1993).

L'obésité est caractérisée par un excès de tissu adipeux avec une lipogénèse accrue et/ou une diminution de la lipolyse (BJÖMTORP, 1991). Une augmentation des concentrations en insuline peut expliquer ces modifications (KATHER, 1981). Les teneurs sériques en glucose sont normales ou élevées chez les obèses (WINOCOUR et al., 1992). Les principales modifications lipidiques observées lors de l'obésité sont une augmentation des teneurs sériques en triglycérides, apo B100, VLDL et LDL, et une diminution de celles en HDL et apo A-I (BJÖMTORP, 1991; WINOCOUR et al., 1992; MOULIN & BERTHEZENE, 1996). La grossesse chez la femme obèse entraîne une élévation plus marquée des concentrations sériques en glucose et en triglycérides (CALANDRA et al., 1981; JOHNSON et al., 1987; KURISHITA et al., 1994; LANDON et al., 1994).

Etant donné que le glucose constitue le substrat énergétique essentiel du fœtus, et qu'il est transporté dans le placenta par un mécanisme de diffusion facilitée, l'hyperglycémie maternelle conduit à l'hyperglycémie fœtale. Cette dernière stimule le pancréas fœtal, ce qui entraîne une hyperplasie des cellules β et un hyperinsulinisme fœtal.

En effet, une hypertrophie et une hyperplasie des cellules β pancréatiques sont présentes chez les macrosomiques (PEDERSEN et al., 1961; COWETT & SCHWARTZ, 1982; De VILLIERS et al., 1984). Ces changements morphologiques sont associés à une élévation du contenu pancréatique en insuline et à une maturation précoce des mécanismes de sécrétion de l'insuline (O'SHAUGHNESSY, 1981; De VILLIERS et al., 1984), et un accroissement du nombre et de l'affinité des récepteurs à l'insuline (PEDERSEN et al., 1981; KAPLAN, 1984; LAUTALA et al., 1988), ce qui accentue encore les effets de l'hyperinsulinisme fœtal. L'insuline est l'hormone majeure qui régule la croissance pendant la période fœtale. Les études expérimentales mettent en évidence l'effet anabolisant de l'insuline pendant le développement fœtal. En effet, l'administration d'insuline in utero à des fœtus de rats entraîne une augmentation de la taille, du poids et de l'importance du tissu adipeux à la naissance (PICON, 1967; HILL, 1978). Les mêmes résultats sont obtenus par SUSA et al., (1984) après infusion d'insuline à des fœtus de singe Rhésus. Ainsi, l'hyperinsulinisme fœtal est à l'origine d'un accroissement de la synthèse du glycogène, d'un anabolisme protéique et d'un

stockage lipidique, d'où un développement excessif de tissu adipeux, responsable en partie de la macrosomie (HILL, 1978). Les travaux de ENZI et al., (1981) montrent que l'augmentation du poids de naissance est surtout liée au développement du tissu adipeux fœtal, avec enrichissement de son contenu en triglycérides. D'après ces auteurs, les adipocytes dont la taille et le nombre sont augmentés chez les macrosomiques, peuvent représenter un bon marqueur du statut nutritionnel du fœtus.

Il a été aussi établi, qu'une hyperglycémie maternelle, même modérée, est responsable d'un hyperinsulinisme fœtal (BRESCHI et al., 1993; HOEGSBERG et al., 1993; SIMMONS, 1994). De plus, la fréquence de la macrosomie reste plus élevée chez les gestantes diabétiques dont la glycémie a été pourtant bien contrôlée tout au long de la grossesse (SMALL et al., 1987).

Ces résultats supposent l'intervention de facteurs autres que l'hyperglycémie maternelle dans le développement de la macrosomie. L'augmentation du transfert des acides gras de la mère au fœtus, après hydrolyse des triglycérides par la lipoprotéine lipase placentaire, peut contribuer à l'élévation de la lipogénèse du fœtus (KNOPP et al., 1986; RUYLE et al., 1990; BONET et al., 1992). KNOPP et al., (1985) montrent que les concentrations sériques en triglycérides de la mère gestante sont corrélées positivement avec le poids du nouveau-né.

Les concentrations plasmatiques en acides aminés sont élevées chez les femmes gestantes diabétiques et/ou obèses, et sont aussi corrélées positivement au poids de naissance (KALKHOFF et al., 1988). Ces auteurs suggèrent qu'un transfert excessif d'acides aminés à travers le placenta peut constituer un facteur contribuant au développement de la macrosomie fœtale. En plus de leur rôle dans la synthèse protéique, certains acides aminés sont de puissants sécrétagogues de l'insuline. C'est le cas de la leucine et de l'arginine qui stimulent la sécrétion de l'insuline par les cellules β chez le fœtus (MILNER et al., 1972). D'autres études rapportent que les concentrations en peptide C du liquide amniotique (reflet de la sécrétion d'insuline fœtale) sont augmentées chez les diabétiques gestantes et sont corrélées positivement, non seulement aux teneurs sériques maternelles en glucose, mais aussi à celles en acides aminés (OGATA et al., 1980; PERSSON et al., 1986).

A côté de l'abondance de l'apport en nutriments et de l'hyperinsulinisme fœtal à l'origine de la macrosomie, d'autres facteurs hormonaux peuvent affecter le développement fœtal. Un taux élevé de somatomédines (IGFs, servant d'intermédiaires à l'action de l'hormone de croissance) favorise la multiplication cellulaire et contribue à la macrosomie fœtale (ERIKSSON et al., 1980; SUSA et al., 1984b; HALL et al., 1986;

DELMIS et al., 1992). De plus, même lors d'une grossesse normale, HILL et al., (1989) mettent en évidence une corrélation positive et significative entre les concentrations en IGF dans le sang de cordon et le poids de naissance à terme. Comme l'insuline stimule la production de somatomédines par le foie (DAUGHADAY et al., 1976), ceci peut expliquer que l'hyperinsulinisme fœtal s'accompagne d'une augmentation des concentrations sériques fœtales en IGFs, parallèle à l'élévation du poids de naissance (DELMIS et al., 1992).

D'autres études montrent que l'activité des hormones de contre-régulation de l'insuline, notamment le glucagon et la noradrénaline, est défectueuse chez les enfants de mères diabétiques (LIGHT et al., 1967; BLOOM & JOHNSTON, 1972; HERTEL et al., 1980; KÜHL et al., 1982).

Il est donc important de déterminer les effets des altérations métaboliques maternelles sur le métabolisme des lipides et des lipoprotéines du fœtus macrosomique. Quelques études sur les teneurs sériques en lipides et en lipoprotéines ont été réalisées chez les nouveau-nés macrosomiques (ANDERSEN et al., 1979; LANE & MC CONATHY, 1983; KLIEGMAN et al., 1984; ROVAMO et al., 1986) et sur les nouveau-nés de mères diabétiques, mais qui n'étaient pas toujours macrosomiques (FORDYCE et al., 1983; COWETT & SCHWARTZ, 1982; RAIVIO, 1985). Cependant, aucune étude détaillée sur le système de transport des lipides n'a été réalisée chez les macrosomiques de mères diabétiques ou de mères obèses.

Il a été montré qu'à long terme, la fréquence de survenue d'un diabète et de l'obésité est accrue chez ces nouveau-nés macrosomiques. En effet, les nouveau-nés macrosomiques sont plus prédisposés à l'obésité durant l'adolescence (VOHR et al., 1980; PETTITT et al., 1983 et 1991). Cette obésité favorise le développement du diabète à l'âge adulte (LEBOVITZ, 1984). PLAGEMANN et al., (1997) rapportent qu'à l'âge adulte la fréquence de l'intolérance au glucose est élevée chez les enfants de mères diabétiques. Le rapport insuline/glucose chez ces enfants est corrélé positivement à la valeur trouvée à la naissance. Les adolescents nés de mères diabétiques présentent souvent une hyperglycémie, un hyperinsulinisme et une augmentation du rapport insuline/glucose, reflet d'une insulino-résistance. (SILVERMAN et al., 1995; PURDY et al., 1996). D'autres travaux soulignent que l'hyperinsulinisme fœtal est un facteur prédisposant à l'obésité et au diabète non insulino-dépendant à l'âge adulte (DÖRNER & PLAGEMANN, 1994; MC CANCE et al., 1994).

Afin de diminuer l'incidence de l'obésité et du diabète, la prévention de la macrosomie apparaît comme un facteur important. L'analyse des lipoprotéines sériques sur le sang de cordon peut permettre un dépistage précoce des anomalies lipidiques et lipoprotéiques pouvant favoriser le diabète et l'obésité de l'adulte.

De plus, comme le système de transport des lipides du nouveau-né est modifié par l'introduction de l'alimentation lactée, l'analyse des lipoprotéines sériques chez les macrosomiques à l'âge de un mois permet de mettre en évidence la persistance ou non des anomalies constatées à la naissance.

Cette partie du travail est donc consacrée à:

- L'étude des concentrations et de la composition des lipoprotéines sériques et de l'activité LCAT sur le sang de cordon de nouveau-nés macrosomiques de mères diabétiques insulino-dépendantes et de mères obèses. La même étude est réalisée chez leurs mères en fin de gestation.
- L'étude de l'évolution des concentrations et des compositions des lipoprotéines au cours du premier mois de vie post-natale chez les macrosomiques de mères diabétiques insulino-dépendantes.

POPULATION, MATERIEL ET METHODES

I. Population étudiée

Les échantillons de sang proviennent de nouveau-nés à terme, sans pathologie, nés dans le service de maternité du centre Hospitalo-Universitaire de Tlemcen, et de leurs mères. La population étudiée est constituée de :

- 20 nouveau-nés macrosomiques (poids de naissance $> 4000\text{g}$) de mères diabétiques insulino-dépendantes. Parmi ces diabétiques, 11 sont de classe B selon la classification de White (durée du diabète = $4 \pm 0,4$ ans) et 9 de classe C (durée du diabète = 11 ± 1 ans). Toutes ces diabétiques sont traitées à l'insuline (injections multiples d'insuline) mais sont mal contrôlées comme le montre leur taux d'hémoglobine glycosylée (déterminé par chromatographie sur colonne, selon KAPLAN et al., 1982) et leur teneur sérique en glucose à jeun (méthode à la glucose oxydase, Beckman glucose Analyzer, Palo Alto, CA) mesurées durant le troisième trimestre de la grossesse (Tableau I).

- 30 nouveau-nés macrosomiques (poids de naissance supérieur à 4000g) de mères obèses (Index de Masse Corporelle: Poids/Taille² > 30). Ces femmes obèses présentent une intolérance au glucose, selon les critères de l'Organisation Mondiale de la Santé (METZGE, 1991). En effet, suite à un test de tolérance aux hydrates de carbone, effectué durant le troisième trimestre de la grossesse, la glycémie à jeun et 2 heures après de la charge glucosée (75 g de glucose) sont significativement plus élevées chez ces femmes obèses comparées aux valeurs obtenues chez les femmes enceintes témoins (Tableau I).

- 30 nouveau-nés témoins (poids de naissance compris entre 2700 et 3800 g) de mères normales non diabétiques et non obèses (Tableau I).

II. Préparation des échantillons

A la naissance, les prélèvements de sang sont réalisés sur la veine ombilicale, immédiatement après la délivrance et la coupure du cordon ombilical. Chez les enfants âgés de un mois, les prélèvements sanguins se font sur les veines périphériques, après 6h de jeûne. Le sang maternel est prélevé par ponction de la veine du pli du coude, après une nuit de jeûne, durant le troisième trimestre de la grossesse (34-36 semaines). Le sang est recueilli dans des tubes secs. Après coagulation, les échantillons sont centrifugés à $600 \times \text{g}/\text{min}$ pendant 15min. Le sérum est ensuite conservé avec une solution de NaN_3 à 0,2% et de Na_2EDTA à 10%, à raison de 10 $\mu\text{l}/\text{ml}$.

Tableau I. Caractéristiques de la population étudiée

Caractéristiques	Mères témoins	Mères diabétiques Insulino-dépendantes	Mères obèses
Age (ans)	25 ± 3	25 ± 2,50	25 ± 2
IMC (kg/m ²)	21,80 ± 2,30	22,40 ± 1,90 ⁺⁺	35 ± 2,10 ^{**}
Gain pondéral (kg)	10,50 ± 0,64	11,87 ± 0,82	13 ± 1,02
Parité	2 ± 1	2 ± 1	2 ± 1
Hb A1 (%)	5,80 ± 0,20	8,90 ± 0,30 ^{**}	ND
Glucose (à jeun, mmol/L)	4,70 ± 0,21	8,72 ± 0,40 ^{** +}	5,60 ± 0,10 [*]
Glucose (2h après charge glucosée, mmol/L)	5,20 ± 0,30	ND	8,30 ± 0,20 [*]
Poids de naissance (g)	3290 ± 45	4650 ± 90 ^{*** ++}	4360 ± 58 ^{***}
Age gestationnel (semaines)	39,50 ± 0,80	38,50 ± 0,30	39,01 ± 0,40

Chaque valeur représente la moyenne ± ES. IMC = index de masse corporelle avant la gestation, poids/taille²; Hb A1 : hémoglobine glycosylée; ND : non déterminé. La comparaison des moyennes entre population diabétique ou obèse et population témoin est réalisée par le test t de Student, après analyse de la variance.

* Mères diabétiques ou obèses versus mères témoins

+ Mères diabétiques versus mères obèses

*, + P < 0,05 ; **, ++ P < 0,01 ; *** P < 0,001.

III. Analyses biochimiques:

III.1. Séparation et caractérisation des différentes lipoprotéines sériques

Les différentes lipoprotéines sériques sont séparées par ultracentrifugation de flotation et par ultracentrifugation en gradient de densité selon les méthodes de HAVEL et al. (1955) et REDGRAVE et al. (1977), citées dans la première partie de ce travail (page 14). Leurs contenus en apolipoprotéines et en lipides sont analysés selon les mêmes techniques décrites dans la première partie (pages 15 et 16).

III.2. Détermination de la composition en acides gras des lipides sériques

Les lipides sont extraits du sérum par un mélange chloroforme:méthanol (2:1, v:v) selon la technique de FOLCH et al., (1957). Une partie aliquote de l'extrait sert à la séparation des différents lipides par chromatographie sur couches minces, sur plaques de gel de silice (Kieselgel 60 G, Merck, Darmstadt, Allemagne). L'élution est réalisée avec un mélange hexane:éther éthylique:acide acétique (90:30:1, v:v:v). Les fractions sont identifiées grâce à des mélanges de référence, en présence de vapeurs d'iode. Les zones correspondant aux triglycérides, phospholipides et esters de cholestérol sont prélevées par grattage du gel ; celui ci est mis en solution dans du chloroforme:méthanol (1:1, v:v pour les PL et 9:1, v:v pour les TG et EC). Les lipides en solution dans le chloroforme :méthanol sont ensuite filtrés afin de les séparer du gel de silice. Après addition d'une quantité connue de standard interne (acide heptadécanoïque, 17:0) et méthylation des acides gras, la composition en AG des différents lipides sériques est déterminée par chromatographie en phase gazeuse (colonne capillaire en Pyrex de 39 m de longueur et 0,3 mm de diamètre interne, remplie avec du carbowax 20 M, Applied Sciences Labs, State College, PA). Le chromatographe est équipé d'un injecteur de type ROS et d'un détecteur à ionisation de flamme relié à un intégrateur-calculateur Enica 21 (Delsi Instruments, Suresnes, France). L'identification des AG est réalisée par comparaison de leur temps de rétention avec ceux de standards d'acides gras (Nucheck-prep, Elysian, MN, USA). La surface des pics d'acides gras est proportionnelle à leur quantité ; elle est calculée à l'aide d'un intégrateur.

III.3. Détermination de l'activité de la lécithine : cholestérol acyltransférase sérique (LCAT, EC 2.3.1.43)

L'activité de la LCAT est déterminée sur du sérum frais, par conversion du [³H] cholestérol en [³H] cholestérol estérifié, suivant la méthode de GLOMSET & WRIGHT (1964), modifiée par KNIPPING (1986) : la technique est détaillée précédemment (page 16).

IV. Traitement statistique:

Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes \pm Erreur Standard. Après analyse de la variance, la comparaison des moyennes, entre nouveau-nés macrosomiques et nouveau-nés témoins, entre mères diabétiques ou obèses et mères témoins, est réalisée par le test t de Student (STAT VIEW 512+, Brain Power, Calabasas, CA).

Article3: *L'obésité maternelle qui entraîne la macrosomie fœtale altère qualitativement et quantitativement les lipoprotéines sériques de la mère et du nouveau-né.*

Soumis à Eur. J. Clin. Invest.

IMPAIRED LIPOPROTEIN CONCENTRATIONS AND COMPOSITIONS IN FETAL MACROSOMIA RELATED TO MATERNAL OBESITY.

MERZOUK H. ¹ MD, MEGHELLI-BOUCHENAK M. ² PhD, EL KORSO N. ³ MD, PROST J. ⁴ PhD, BELLEVILLE J. ⁴ PhD.*

1 Laboratoire de Physiologie Animale, Université de Tlemcen. ALGERIE.

2 Laboratoire de Physiologie Animale et de la Nutrition, Institut des Sciences de la Nature, Université d'Oran. ALGERIE.

3 Service de Maternité, Centre Hospitalo-Universitaire de Tlemcen. ALGERIE.

4 Université de Bourgogne. Unité de Nutrition Cellulaire et Métabolique. Faculté des Sciences Mirande. BP 400. 21011 Dijon Cedex. FRANCE.

Running title: Maternal obesity, macrosomia and lipoproteins

ABSTRACT

Objective: To determine lipoprotein metabolism alterations in macrosomic newborns and to see if these lipoprotein abnormalities were parallel or not to those found in their obese mothers.

Subjects: 30 obese mothers (BMI=35±2.1kg/m²) and their macrosomic newborns (BW=4360±58g), 30 normal weight mothers (BMI=21.8±3kg/m²) and their control newborns (BW=3290±45g).

Measurements: Lipids, apo A-I, apo B100, lipoproteins (VLDL, LDL, HDL₂ and HDL₃) concentrations and compositions and LCAT activity in sera from maternal and umbilical cord blood.

Results: Serum triglycerides, VLDL and apo B100 levels were higher while serum apo A-I and HDL₂ cholesterol concentrations were lower in obese mothers than in control mothers. Macrosomic newborns presented higher serum lipid and lipoprotein concentrations with higher apo B100 and apo A-I levels compared to control newborns. LCAT activity was similar in both mother groups and in both newborn groups. Hypertriglyceridemia with high VLDL and apo B100 levels and low HDL-cholesterol, major characteristics of obesity were observed in obese mothers and in their macrosomic newborns.

Conclusion: maternal obesity and fetal macrosomia were associated to lipoprotein abnormalities consistent with high atherogenic risk. Persisting lipoprotein abnormalities in macrosomic infants could link fetal macrosomia to adult metabolic diseases.

Key words: fetal macrosomia, maternal obesity, lipids, apolipoproteins, lipoproteins, lecithin:cholesterol acyltransferase.

INTRODUCTION

Macrosomia or neonatal obesity is a frequent complication observed in obese pregnancy (1). It results from combined effect of excess transfer of maternal nutrients (glucose, aminoacids, free fatty acids) to the fetus, and fetal hyperinsulinemia (2-6). Although genetic background influence fetal growth, intrauterine environment including the availability of nutrients, maternal and fetal hormonal profiles affect also birthweight (7).

Hyperglycemia, hyperinsulinemia, relative insulin resistance and hyperlipidemia are classic metabolic disturbances associated with the development of the overweight state (8,9). Similar metabolic changes are associated with advancing normal gestation (10), and so it is not surprising that they are more marked in obese gravidas (1-6). Since obesity of mother during pregnancy is often associated with fetal macrosomia, the particular effects of maternal obesity on fetal lipid metabolism is unclear.

Close relationships exist between patterns of intrauterine growth and the risk of obesity, diabetes and cardiovascular heart disease late in life (7,11-13). The importance of intrauterine metabolic environment, in addition to the genetic factors, as possible determinants of predisposition to later metabolic diseases has been previously reported (7,13,14). Fetal overnutrition represents one of these important risk factors (7,13).

Obesity in adults leads to abnormal compositions and concentrations of blood lipoproteins such as high triglyceride levels and low HDL-cholesterol concentrations, considered as coronary disease risk factors. Childhood obesity is a risk factor for adult obesity (15). Obesity among the children is closely related to maternal obesity and birthweight (16,17). Since obesity begins early in life, it is interest to see if macrosomic infants of obese mothers present "at-risk" lipoprotein profiles at birth which predispose to later metabolic diseases.

In addition, fetal HDL particles represent the main lipoprotein class which carry about half of fetal cholesterol. HDL are of particular interest in relation to the development of coronary heart disease. Cholesterol carried by HDL₂ particles is particularly related to low risk (18). The formation of HDL₂ subfraction from HDL₃ subclass is mediated by lecithin:cholesterol acyltransferase (LCAT; EC 2.3.1.43) activity. Through its role in the esterification of cholesterol, LCAT maintains a free cholesterol gradient between the cell membrane and plasma, allowing cellular cholesterol efflux (19). LCAT also indirectly influences the metabolism of others lipoproteins (20). Earlier studies have shown that HDL₂ and HDL₃-cholesterol concentrations and LCAT activity are lower at birth in full term infants than

in adults (21,22). We have previously reported that LCAT activity is low in small for gestational age newborns (23). However, no information has been provided on HDL subfractions and LCAT activity in serum of macrosomic infants of obese mothers.

On the other hand, independent regulation of lipid metabolism by the fetus begins around the middle gestation and is highly developed in late gestation (24,25). Thus, it is also interest to see if differences between macrosomic and control normal weight newborn serum lipoprotein profiles were comparable to those found between obese and healthy nonobese mothers.

The purpose of the present investigation was to determine lipoprotein metabolism alterations in macrosomic newborns, and to see if these lipoprotein abnormalities were parallel or not to those found in their obese mothers. To this end, we have determined serum lipoprotein compositions and concentrations and LCAT activity in macrosomic newborns and in their obese mothers, and compared them with appropriate for gestational age newborns and their healthy non obese mothers.

MATERIAL AND METHODS

Patients

Cord and maternal blood samples were collected from term deliveries (38 to 40 weeks) at the maternity hospital of Tlemcen (Algeria). The last menstrual period, early clinical examination and confirming ultrasound were used to establish gestational age. Newborns' weights were measured immediately after delivery. Macrosomia was defined as birth weight of ≥ 4000 g at term. Mothers who were known to suffer from type 1 or type 2 diabetes mellitus before pregnancy were excluded from this study. A pre-pregnancy body mass index (BMI) of 30 kg/m^2 was used to select obese mothers. Obese mothers who had infants with birthweight < 4000 g were excluded, since maternal obesity related to fetal macrosomia was the criterion of our experimental population selection. Nonobese control mothers (BMI $< 25 \text{ kg/m}^2$) who had infants with birthweight ≥ 4000 g were also excluded from this study.

Two groups of newborns and their mothers were then selected and studied:

Group 1 consisted of 30 macrosomic newborns at term (body weight= 4360 ± 58 g) born to obese mothers, as determined by their body mass index (BMI= $35 \pm 2.1 \text{ kg/m}^2$). To determine maternal glucose status, oral glucose tolerance test was performed within 48 h of birth using a 100g glucose load after an overnight fast. Plasma glucose was measured by a glucose oxidase method (Beckman glucose analyser, Palo Alto, CA). All obese mothers had significantly higher fasting glucose (5.6 ± 0.1 versus $4.6 \pm 0.2 \text{ mmol/L}$, $P < 0.05$) and significantly

higher 2h plasma glucose levels (8.3 ± 0.2 versus 5.2 ± 0.3 mmol/l, $P < 0.05$) than healthy non obese pregnant women subjected to the oral glucose tolerance test: these values in pregnancy indicated an impaired glucose tolerance, according to the World Health Organization (WHO) criteria (26).

Group 2 consisting of 30 appropriate for gestational age newborns (body weight = 3290 ± 45 g) born to non obese mothers (BMI = 21.8 ± 3 kg/m²) was used as controls.

All mothers, in both groups, were of similar parity (2 ± 1) and age (25 ± 2 years). The purpose of this study was explained to the mothers and the investigation was carried out with their consent. The experimental protocol was approved by the Tlemcen Hospital Committee for Research on Human Subjects.

Blood samples

Maternal blood was collected from the arm vein of the mothers at the third trimester of pregnancy. Cord blood was obtained from the umbilical cord after its clamping. All mothers were under fasting conditions. After clotting, sera were separated by centrifugation at 4°C and 600 x g. An aliquote of serum was preserved with 0.1% disodium EDTA and 0.02% sodium azide to quantify and analyze lipoproteins, another part was used to measure LCAT activity.

Laboratory methods

Lipoprotein isolation

Serum lipoproteins ($d < 1.21$ g/mL) were isolated by single ultracentrifugation flotation (Model L8-55, 50 Ti rotor, Beckman, Palo Alto CA, USA), according to Havel et al. (27). The lipoprotein fractions (VLDL, $1.006 < d < 1.019$; LDL, $1.019 < d < 1.063$; HDL₂, $1.063 < d < 1.12$; HDL₃, $1.12 < d < 1.21$ g.mL⁻¹) were separated from total lipoproteins with a single spin discontinuous gradient.

Chemical analysis

Triglyceride, total cholesterol and unesterified cholesterol contents of serum and each lipoprotein fraction were determined by Boehringer Mannheim GmbH. H. kit (Mannheim, Germany), using the enzymatic methods. Esterified cholesterol concentrations were obtained by difference between total cholesterol and unesterified cholesterol values. Total phospholipids were assayed for phosphorus content by the method of Bartlett (28). Total protein contents of each lipoprotein were measured by the method of Lowry et al. (29), using a bovine serum albumin as standard. Serum apolipoprotein A-I and B100 levels were determined by immunoelectrophoresis (Hydragel SEBIA kit, Issy Les Moulineaux, France).

VLDL, HDL₂ and HDL₃ apolipoprotein separation and quantification

After concentration by partial lyophilization and rapid diethyl-ether delipidation of VLDL, HDL₂ and HDL₃, the apolipoproteins of each lipoprotein fraction were separated by sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) system, with 2.5%-20% acrylamide, at 25 V for 18 h, according to Irwin et al.(30). The proportions of the different apolipoproteins were determined semiquantitatively with the densitometer tracings at 600 nm (densitometer Model Profil 26, Sebia, Issy les Moulineaux, France). To estimate the concentration of each apolipoprotein, the percentage of the area relative to each apolipoprotein was multiplied by the total apolipoprotein concentration, determined by the method of Lowry et al. (29), of each sample. These data were expressed as arbitrary units (AU) per litre of serum.

Assay for LCAT activity

LCAT activity was assayed by conversion of ³H unesterified cholesterol to ³H esterified cholesterol, according to the method of Glomset et al. (31), modified by Knipping (32), as we have previously described (23). The LCAT activity was expressed as nanomoles esterified cholesterol. h⁻¹. mL⁻¹ of serum.

Statistical analysis :

Statistical differences between macrosomic and control newborns, obese and control mothers were assessed by ANOVA of one factor and Student's t test. All statistical procedures were performed with a statistical software package (STAT VIEW J4.02; Abacus Concepts, Inc., Berkeley, Calif., USA).

RESULTS

Serum lipid, apolipoprotein (apo) A-I and B100 concentrations and LCAT activity in obese and control mothers and in their respective newborns are presented in Table 1. Serum triglyceride and apo B100 levels were significantly higher (+58% and +50%, respectively) while serum apo A-I contents were 28% lower in obese mothers than in control mothers, although no differences were observed with the other studied lipids. Similarly to their mothers, macrosomic newborns had increased serum triglyceride and apo B100 concentrations compared to control newborns (+100%). But in contrast to their mothers, macrosomic newborns showed significantly higher serum phospholipid, total cholesterol, unesterified cholesterol, cholesteryl ester and apo A-I levels than in control newborns (+60%, +26%, +46% +14% and +32%, respectively).

LCAT activity tended to be greater in obese mothers than in control mothers, and also in macrosomic newborns than in control newborns, but the differences were not statistically significant.

Mass and composition of each lipoprotein fraction (VLDL, LDL, HDL₂ and HDL₃) are presented in Figure 1. In obese mothers, VLDL amounts were 61% higher ($P < 0.01$) while HDL₂ levels were 14% lower ($P < 0.05$) compared to control mothers. LDL and HDL₃ mass did not differ significantly between mothers. In macrosomic newborns, all lipoprotein amounts (VLDL, LDL, HDL₂, HDL₃) were higher than in control newborns. Obese mothers showed VLDL-total protein, -triglyceride and -cholesteryl ester contents significantly greater than those of control mothers. In addition, HDL₂ and HDL₃-triglyceride amounts were increased (+100%), and HDL₂-total protein and -cholesteryl ester contents were decreased (-24% and -40%, respectively) in obese versus control mothers. Similarly to their mothers, macrosomic newborns had higher HDL₂ and HDL₃-triglyceride amounts (+100%) and lower HDL₂-cholesteryl ester levels (-31%) than in control newborn values. However, HDL₂ and HDL₃-total protein were high in macrosomic versus control newborns.

Apolipoprotein profiles of VLDL, HDL₂ and HDL₃ are presented in Figure 2. VLDL-apo B100 contents were twofold higher in obese compared to control mothers, and threefold higher in macrosomic versus control newborns. HDL₂-apo A-I values were 36% lower in obese than in control mothers. On the contrary, HDL₂-apo A-I and also HDL₃-apo A-I were significantly greater in macrosomic than in control newborns (+33% and +60%, respectively). In addition, HDL₂- and HDL₃-apo A-II values were significantly higher in macrosomic versus control newborns (+100% and +70%, respectively).

Different atherogenic ratios that are frequently used in the estimation of the cardiovascular disease risk were calculated in mothers and in their newborns (Table 2). Obese mothers had significantly higher atherogenic apo B100/apo A-I, total cholesterol/HDL-C, LDL-C/HDL-C and HDL₂-C/HDL₃-C ratios compared to control mothers. All these ratios were also elevated in macrosomic newborns when compared to control newborn values.

DISCUSSION

Our findings showed that maternal obesity and fetal macrosomia alter lipoprotein metabolism. We have not compared macrosomic newborns of obese mothers to normal weight newborns of obese mothers (who were excluded from this study) because the principal aim of this study was to determine lipoprotein metabolism in maternal obesity related to fetal macrosomia as compared to maternal nonobese healthy state related to normal fetal growth.

In agreement with previous studies (2.3.33), we found that obese mothers had higher plasma glucose concentrations and abnormal glucose tolerance. The association between maternal obesity and alterations in glucose metabolism during pregnancy is well documented, and maternal hyperglycemia is a major cause of fetal macrosomia (1-4,33), since placental transfer of glucose to the fetus is mediated by facilitated diffusion, and since glucose is the main substrate for fetal growth.

Obesity is also known to be associated with alterations in lipid metabolism (8.9). Pregnancy produces hormonal changes that likewise affect glucose metabolism and lipid transport (10.24). Therefore, it might be expected that any defects would be exaggerated when the two conditions coexist.

In obese mothers, serum triglyceride, VLDL and apo B100 concentrations were high. These metabolic disturbances are well known in obese subjects (8.9). Two mechanisms are considered such as enhanced hepatic VLDL production and reduced adipose tissue lipoprotein lipase (LPL) activity which restrains VLDL removal from the circulation (8.9,34).

In our study, serum apo A-I and HDL₂-cholesterol levels were low, while HDL₂ and HDL₃-triglyceride amounts were high in obese versus control mothers. The association between obesity, high serum triglyceride and low apo A-I and HDL concentrations is frequently reported (8.9,35) and reflect disturbances in plasma lipid transport and metabolism including, LPL, hepatic triglyceride lipase (HTGL), lecithin:cholesterol acyltransferase (LCAT) activities and cholesteryl ester transfer protein (CETP) which are crucial factors in the intravascular metabolism of HDL. Low HDL₂-cholesteryl ester amounts were not related to LCAT activity, since LCAT activity was normal in obese mothers. Our findings appeared to relate to impaired LPL and HTGL activities, or to excess transfer of triglycerides from VLDL to HDL and of cholesteryl esters in the opposite direction, probably due to an increased CETP activity. Indeed, plasma CETP activity is elevated in obese women (36).

Macrosomic newborns showed also several lipoprotein alterations when compared to control newborns. Some of these abnormalities were parallel to those seen in obese mothers when compared to control mothers such as high triglyceride, apo B100, VLDL and HDL-triglyceride levels, low HDL₂-cholesterol amounts but normal LCAT activity. However, other changes were different to those seen in their obese mothers such as high apo A-I levels in macrosomic versus control newborns but low apo A-I concentrations in obese versus control mothers; high cholesterol, phospholipid, LDL and apo A-II levels in macrosomic newborns but normal levels of these parameters in obese mothers. These findings appeared to reflect both the importance of

intrauterine environment, the ability of the fetus to regulate its own lipid metabolism in late gestation and a fundamental difference between fetal and maternal lipoprotein metabolism, although genetic background influences also lipoprotein concentrations and compositions. However, the question remained whether and how obese maternal and macrosomic lipoprotein metabolism changes might represent a cause-and-effect relationships.

In our study, macrosomia was associated with an increase in all lipid and lipoprotein amounts compatible with increased fat and protein synthesis in the fetuses with overnutrition. Macrosomic newborns showed higher serum VLDL accompanied with a concomitant increase in serum triglyceride and apo B100 levels which reflect enhanced hepatic VLDL secretion. Indeed, macrosomic newborns showed higher LDL amounts resulting from high VLDL concentrations, since the majority of LDL particles are derived from VLDL after LPL action.

Macrosomic newborns presented higher HDL₂ and HDL₃ levels accompanied by higher HDL-apoA-I and apo A-II amounts suggesting an increase in the number of HDL particles resulting probably from their enhanced synthesis. In these newborns, LCAT activity was not significantly different from that found in control newborns, despite high levels of apo A-I (its major cofactor). We, like others, have previously found that LCAT activity is not correlated to apo A-I levels in newborns (22,23). However, the levels of HDL₃-unesterified cholesterol (the preferential substrate for LCAT) and HDL₃-phospholipid (the fatty acid donor in cholesterol esterification by LCAT) in macrosomic newborns were similar to those of control newborns, and were related to normal LCAT activity in macrosomic infants.

HDL₂ and HDL₃ particles were enriched in triglycerides with a depletion in HDL₂ cholesteryl ester contents in macrosomic newborns. A possible increase in the interchange via CETP of lipids between lipoproteins could contribute to the increase in triglyceride and the decrease in cholesteryl ester levels in HDL particles. In adults, plasma CETP levels are affected mainly by the variation in adipose mass, since adipose tissue is a major source of CETP (37). As fat mass is increased in macrosomic newborns (38), plasma CETP levels could also be enhanced. Further analysis of CETP contents as well as LPL activities in these macrosomic newborns and in their obese mothers are needed to check our suggestions.

Lipoprotein profiles in macrosomic newborns is consistent with high cardiovascular risk, as in their obese mothers. The most useful marker ratios of atherogenic risk (apo B100/apo A-I, LDL-C/HDL-C, HDL₃-C/HDL₂-C) were all significantly higher in macrosomic compared to control newborns. The apo B100/apo A-I ratio is considered to be the most sensitive atherogenic index,

and is found to track closely during the first year of life (39). Thus, persisting lipoprotein abnormalities in macrosomic infants could be one of the processes that link macrosomia with adult metabolic diseases (13).

However, these hypotheses demand caution, and interpretation of our data is limited by several factors. First, fetal lipid metabolism is different from that in adulthood. Lipoprotein compositions and concentrations change markedly after birth. Thus, cord plasma levels of lipoproteins are not reflective of their adult levels. Second, hormonal and metabolic maternal status influence fetal metabolism. This influence disappears after birth. Third, nutritional and lifestyle factors after birth modify also lipid and lipoprotein levels. Further studies are then needed to examine long-term effects of macrosomia related to maternal obesity.

In conclusion, maternal obesity and fetal macrosomia are associated with lipoprotein abnormalities compatible with atherogenic profiles. Hypertriglyceridemia and alterations in HDL particle compositions were major lipoprotein changes found in obese mothers and in their macrosomic offspring. Persisting macrosomic lipoprotein alterations might lead to metabolic diseases in adulthood. Macrosomia should be considered as one of potential risk factors for later cardiovascular diseases. Therefore, a special health care for these macrosomic newborns are recommended. Regular examinations are necessary, including serum glucose, lipid and apolipoprotein measurements in order to establish intervention and education programs aimed at reducing the long-term consequence of macrosomia. It is also necessary to pay special attention to the quality of formulas of these macrosomic newborns, and recommendations for dietary requirements must take into account lipoprotein alterations in these macrosomic infants at birth.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by the French Foreign office (International Research Extension grants 95 MDU 318) .

The authors thank A. Magnet, an ESP linguist at the University of Burgundy (France), for editing the manuscript.

REFERENCES

- 1 Galtier-Dereure F, Montpeyroux F, Boulot P, Bringer J, Jaffiol C. Weight excess before pregnancy: complication and cost. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1995; 19:443-448.
- 2 Breschi MC, Seghieri G, Bartolomei G, Gironi A, Baldi S, Ferrannini E. Relation of birth weight to maternal plasma glucose and insulin concentrations during normal pregnancy. *Diabetologia* 1993; 36:1315-1321.

- 3 Johnson SR, Kolgerg BH, Varner MW. Maternal obesity and pregnancy. *Surg Gynecol Obstet* 1987; 164: 431-437.
- 4 Hoegsberg B, Gruppuso PA, Coustan DR. Hyperinsulinemia in macrosomic infants of nondiabetic mothers. *Diabetes Care* 1993; 16:32-36.
- 5 Kalkhoff RK. Impact of maternal fuels and nutritional state on fetal growth. *Diabetes* 1991; 40:61-65.
- 6 Kalkhoff RK, Kandaraki E, Morrow PG, Mitchell TH, Kelber S, Borkowf HI. Relationship between neonatal birth weight and maternal plasma aminoacid profiles in lean and obese nondiabetic women and in type 1 diabetic pregnant women. *Metabolism* 1988; 37:234-239.
- 7 Jackson AA, Langley-Evans SC, McCarthy HD. Nutritional influences in early life upon obesity and body proportions. *Ciba Found Symp* 1996; 201: 118-137.
- 8 Foster CJ, Weinsier RL, Birch R, Norris DJ, Bernstein RS, Wang J, Pierson RN, Van Itallie TB. Obesity and serum lipids: an evaluation of the relative contribution of body fat and fat distribution to lipid levels. *Int J Obes* 1987; 11:151-161.
- 9 Winocour PH, Kaluvya S, Ramaiya K, Brown L, Millar JP, Farrer M, Neil HAW, Laker MF, Alberti KGMM. Relation between insulinemia, body mass index and lipoprotein composition in healthy, non diabetic men and women. *Arterioscler Thromb* 1992; 12:393-402.
- 10 Knopp RH, Montes A, Childs M, Li JR, Mabuchi H. Metabolic adjustments in normal and diabetic pregnancy. *Clin Obstet Gynecol* 1981; 24:21-48.
- 11 Barker DJP. Fetal origins of coronary heart disease. *BMJ* 1995; 311:171-174.
- 12 Wattigney WA, Harsha DW, Srinivasan SR, Webber LS, Berenson GS. Increasing impact of obesity on serum lipids and lipoproteins in young adults. The Bogalusa heart study. *Arch Intern Med* 1991; 151:2017-2022.
- 13 Dorner G, Plagemann A. Perinatal hyperinsulinism as possible predisposing factor for diabetes mellitus, obesity and enhanced cardiovascular risk later life. *Horm Metab Res* 1994; 26: 213-221.
- 14 Pettitt DJ, Aleck KA, Baird HR, Carraher MJ, Bennett PH, Knowler WC. Congenital susceptibility to NIDDM: role of intrauterine environment. *Diabetes* 1988; 37: 622-628.
- 15 Stark D, Atkins E, Wolff DH, Douglas JWB. Longitudinal study of obesity in the national survey of health and development. *BMJ* 1981; 283: 12-17.
- 16 Binkin NJ, Yip R, Fleshood L, Trowbridge FL. Birthweight and childhood growth. *Pediatrics* 1988; 82: 828-834.
- 17 Gallaher MM, Hauck FR, Yang-Oshida M, Serdula MK. Obesity among mescalero preschool children. Association with maternal obesity and birthweight. *AJDC* 1991; 145: 1262-1265.

- 18 Ballantyne FC, Clark RS, Simpson HS, Ballantyne D. High density and low density lipoprotein subfractions in survivors of myocardial infarction and in control subjects. *Metabolism* 1982; 31: 433-437.
- 19 Jauhiainen M, Dolphin PJ. Human plasma lecithin: cholesterol acyltransferase. *J Biol Chem* 1986; 261:7032-7036.
- 20 Marcel YL. Lecithin:cholesterol acyltransferase and intravascular cholesterol transport. *Adv Lipid Res* 1982; 19: 85-136.
- 21 Asayama K, Miyao A, Kato K. High-density lipoprotein (HDL), HDL₂ and HDL₃ cholesterol concentrations determined in serum of newborns, infants, children, adolescents and adults by use of a micromethod for combined precipitation ultracentrifugation. *Clin Chem* 1990; 36:129-131.
- 22 Amr S, Chowdhry P, Hamosh P, Hamosh M. Low levels of apolipoprotein A₁ are not contributors to low lecithin-cholesterol acyltransferase activity in premature newborn infants. *Pediatr Res* 1988; 24: 191-193.
- 23 Merzouk H, Lamri MY, Meghelli-Bouchenak M, Korso N, Prost J, Belleville J. Serum lecithin:cholesterol acyltransferase activity and HDL₂ and HDL₃ composition in small for gestational age newborns. *Acta Paediatr* 1997; 86: 528-532.
- 24 Neary RH, Kilby MD, Kumpatula P, Game FL, Bhatnagar D, Durrington PN, O'Brien S. Fetal and maternal lipoprotein metabolism in human pregnancy. *Clin Sci* 1995; 88:311-318.
- 25 Walsh-Hentges LS, Martin RJ. Serum and lipoprotein lipids of fetal pigs and their dams during gestation as compared with man. *Biol neonate* 1987; 52: 127-134.
- 26 Metzge BE. Summary and recommendations of the third international workshop-conference on gestational diabetes mellitus. *Diabetes* 1991; 40:197-201.
- 27 Havel RJ, Eder HA, Bragdon JH. The distribution and chemical composition of ultracentrifugally separated lipoproteins in human serum. *J Clin Invest* 1955; 34:1345-1353.
- 28 Bartlett GR. Phosphorus assay in column chromatography. *J Biol Chem* 1958; 234:466-469.
- 29 Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL, Randal RJ. Protein measurement with the folin reagent. *J Biol Chem* 1951; 193:265-275.
- 30 Irwin D, O'Lonney PA, Quinet E, Vahouny GV. Application of SDS gradient polyacrylamide gel electrophoresis to analysis of apolipoprotein mass and radioactivity of lipoproteins. *Atherosclerosis* 1984; 53:163-172.
- 31 Glomset JA, Wright JL. Some properties of cholesterol esterifying enzyme in human plasma. *Biochim Biophys Acta* 1964; 89:266-271.

- 18 Ballantyne FC, Clark RS, Simpson HS, Ballantyne D. High density and low density lipoprotein subfractions in survivors of myocardial infarction and in control subjects. *Metabolism* 1982; 31: 433-437.
- 19 Jauhiainen M, Dolphin PJ. Human plasma lecithin: cholesterol acyltransferase. *J Biol Chem* 1986; 261:7032-7036.
- 20 Marcel YL. Lecithin:cholesterol acyltransferase and intravascular cholesterol transport. *Adv Lipid Res* 1982; 19: 85-136.
- 21 Asayama K, Miyao A, Kato K. High-density lipoprotein (HDL), HDL₂ and HDL₃ cholesterol concentrations determined in serum of newborns, infants, children, adolescents and adults by use of a micromethod for combined precipitation ultracentrifugation. *Clin Chem* 1990; 36:129-131.
- 22 Amr S, Chowdhry P, Hamosh P, Hamosh M. Low levels of apolipoprotein A₁ are not contributors to low lecithin-cholesterol acyltransferase activity in premature newborn infants. *Pediatr Res* 1988; 24: 191-193.
- 23 Merzouk H, Lamri MY, Meghelli-Bouchenak M, Korso N, Prost J, Belleville J. Serum lecithin:cholesterol acyltransferase activity and HDL₂ and HDL₃ composition in small for gestational age newborns. *Acta Paediatr* 1997; 86: 528-532.
- 24 Neary RH, Kilby MD, Kumputula P, Game FL, Bhatnagar D, Durrington PN, O'Brien S. Fetal and maternal lipoprotein metabolism in human pregnancy. *Clin Sci* 1995; 88:311-318.
- 25 Walsh-Hentges LS, Martin RJ. Serum and lipoprotein lipids of fetal pigs and their dams during gestation as compared with man. *Biol neonate* 1987; 52: 127-134.
- 26 Metzge BE. Summary and recommendations of the third international workshop-conference on gestational diabetes mellitus. *Diabetes* 1991; 40:197-201.
- 27 Havel RJ, Eder HA, Bragdon JH. The distribution and chemical composition of ultracentrifugally separated lipoproteins in human serum. *J Clin Invest* 1955; 34:1345-1353.
- 28 Bartlett GR. Phosphorus assay in column chromatography. *J Biol Chem* 1958; 234:466-469.
- 29 Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL, Randal RJ. Protein measurement with the folin reagent. *J Biol Chem* 1951; 193:265-275.
- 30 Irwin D, O'Lonney PA, Quinet E, Vahouny GV. Application of SDS gradient polyacrylamide gel electrophoresis to analysis of apolipoprotein mass and radioactivity of lipoproteins. *Atherosclerosis* 1984; 53:163-172.
- 31 Glomset JA, Wright JL. Some properties of cholesterol esterifying enzyme in human plasma. *Biochim Biophys Acta* 1964; 89:266-271.

- 32 Knipping G. Isolation and properties of porcine lecithin-cholesterol-acyl-transferase. *Eur J Biochem* 1986; 154:289-294.
- 33 Pagano G, Cassader M, Massobrio M. Insulin binding to human adipocytes during late pregnancy in healthy, obese and diabetic states. *Horm Metab Res* 1980; 12:177-182.
- 34 Eckel RH, Yost TJ, Jensen DR. Alterations in lipoprotein lipase in insulin resistance. *Int J Obes* 1995; 19:16-21.
- 35 Brinton EA, Eisenberg S, Breslow JL. Human HDL cholesterol levels are determined by apo A-I fractional catabolic rate, which correlated inversely with estimates of HDL particles size. Effects of gender, hepatic and lipoprotein lipases, triglyceride and insulin levels, and body fat distribution. *Arterioscler Thromb* 1994; 14:707-720.
- 36 Arai T, Yamashita S, Matsuzawa Y. Increased plasma cholesteryl ester transfer protein in obese subjects. *Am Heart J* 1994; 7:1129-1136.
- 37 Jiang XC, Moulin P, Quinet E, Golberg IJ, Yacoub LK, Agellon LB, Compton D, Schnitzer-Polokoff R, Tall AR. Mammalian adipose tissue and muscle are major source of lipid transfer protein mRNA. *J Biol Chem* 1991; 266:4631-4639.
- 38 Enzi G, Zanardo V, Caretta F, Inelmen EM, Rubaltelli F. Intrauterine growth and adipose tissue development. *Am J Clin Nutr* 1981; 34:1785-1790.
- 39 Wang XL, Wilcken DEL, Dudman NPB. Apolipoprotein A-I and B and the B/A-I ratio in the first year of life. *Pediatr Res* 1991; 30: 544-549.

Table 1. Serum lipid, apolipoprotein (apo) A-I and B100 contents and LCAT activity in newborns and their mothers (mmol/L serum)

	Newborns		Mothers	
	Control	Macrosomic	Control	Obese
Triglycerides (mmol/L)	0.62±0.09	1.36±0.13**	2.60±0.21	4.12±0.16**
Phospholipids (mmol/L)	1.75±0.19	2.80±0.17**	3.68±0.42	3.50±0.37
Total cholesterol (mmol/L)	1.79±0.05	2.26±0.10*	6.48±0.63	6.30±0.18
Unesterified cholesterol (mmol/L)	0.70±0.03	1.02±0.07*	1.55±0.14	1.50±0.08
Cholesteryl esters (mmol/L)	1.08±0.01	1.23±0.02*	4.90±0.61	4.76±0.70
Apo A I (g/L)	0.68±0.01	0.90±0.04*	1.60±0.04	1.15±0.05*
Apo B100(g/L)	0.18±0.02	0.40±0.07*	1.10±0.06	1.64±0.01*
LCAT activity (nmol.mL ⁻¹ .h ⁻¹)	110±55	142±38	252±39	273±41

Values are means ± SEM. Comparison of means was performed by Student's t test: Macrosomic newborns versus control newborns, or obese mothers versus control mothers:

* P<0.05. ** P<0.01.

Table 2. Lipoprotein ratios in newborns and in their mothers.

	Newborns		Mothers	
	Control	Macrosomic	Control	Obese
apo B/A I	0.26±0.02	0.46±0.03*	0.68±0.08	1.43±0.16*
TC/HDL-C	1.60±0.06	2.26±0.15*	3.34±0.24	4.22±0.35*
LDL-C/HDL-C	0.30±0.02	0.68±0.03*	1.98±0.04	2.50±0.05*
HDL ₃ -C/HDL ₂ -C	0.60±0.06	0.80±0.05*	0.56±0.06	0.82±0.04*

Values are means ± SEM. TC: total cholesterol, LDL-C: LDL-cholesterol, HDL-C: HDL-cholesterol. Comparison of means was performed by Student's t test: Macrosomic newborns versus control newborns, or obese mothers versus control mothers:

* P<0.05.

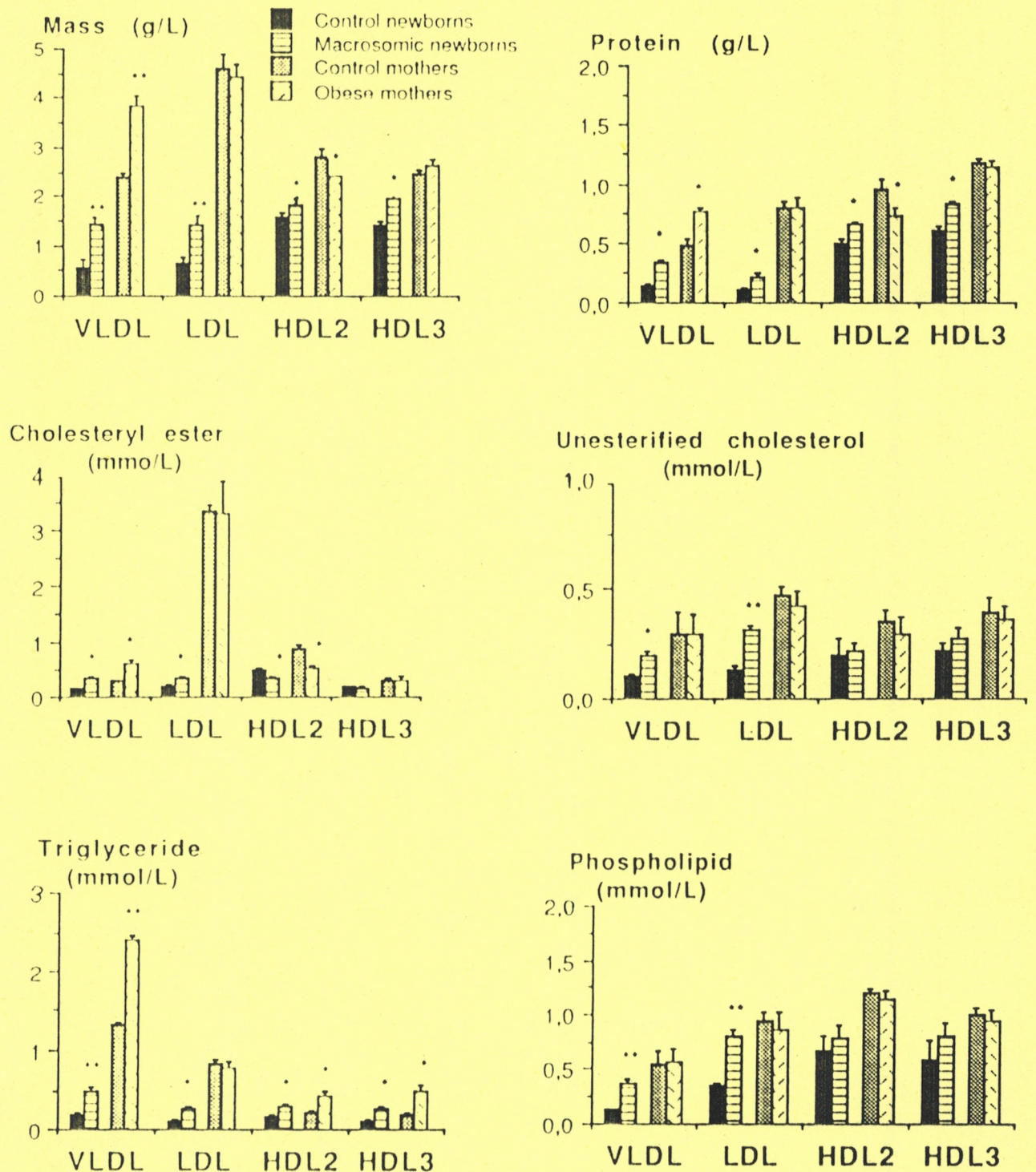


Fig 1. Serum lipoprotein mass and compositions in newborns and their mothers.

Values are means + SEM. Lipoprotein mass was the sum of protein, triglyceride, phospholipid, unesterified cholesterol, cholesteryl ester contents of each fraction. Comparison of means was performed by Student's t test; Macrosomic newborns versus control newborns, or obese mothers versus control mothers; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

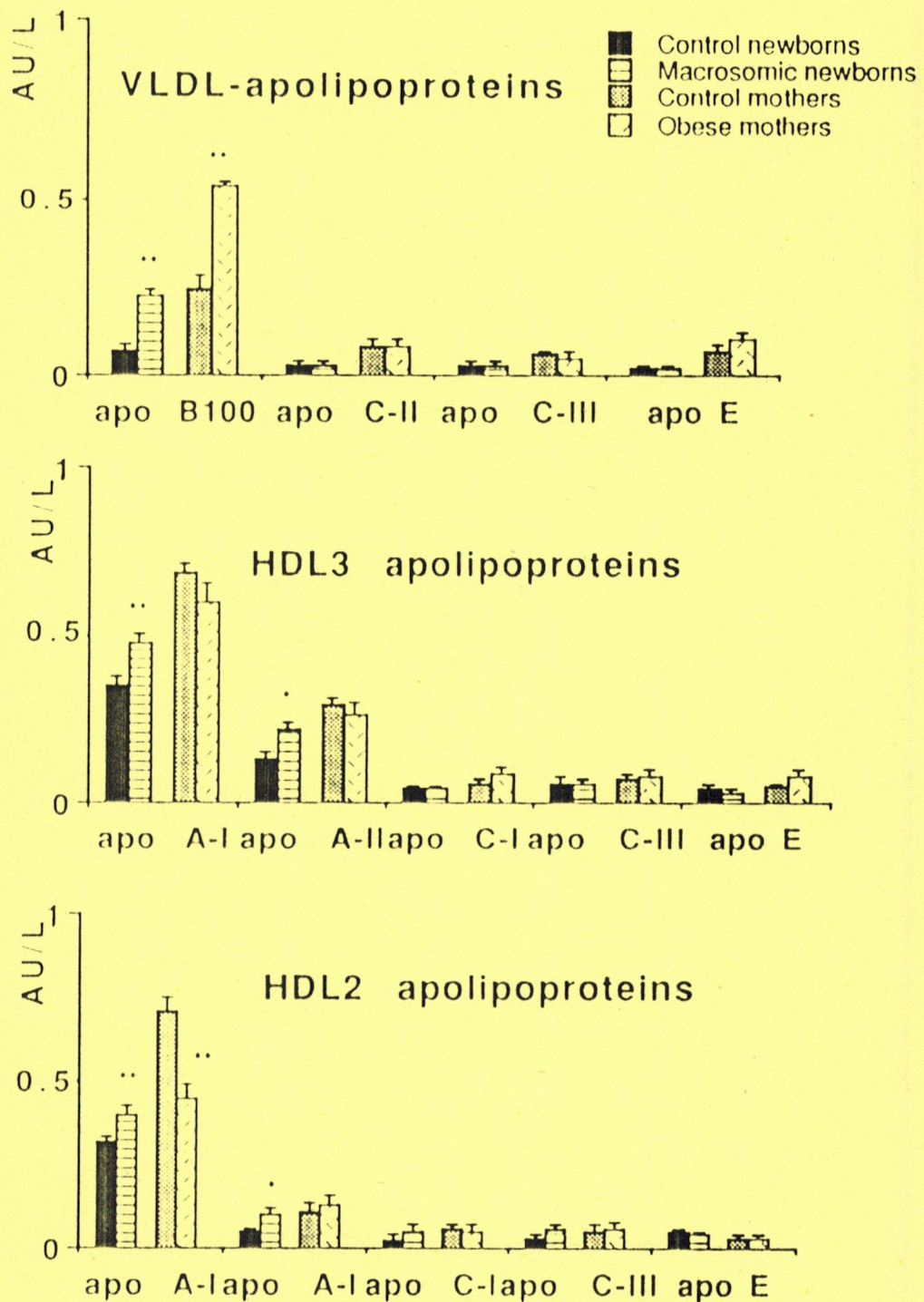


Fig 2. Serum VLDL, HDL2 and HDL3-apolipoprotein (Arbitrary Units/L) profiles in newborns and their mothers.

Values are means \pm SEM. Comparison of means was performed by Student's t test: Macrosomic newborns versus control newborns, or obese mothers versus control mothers: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

Article 4: *Le diabète maternel insulino-dépendant qui entraîne la macrosomie fœtale modifie les teneurs et les compositions des lipoprotéines sériques de la mère et du nouveau-né.*

Soumis à Prenatal. Diagnosis .

Article 4: *Le diabète maternel insulino-dépendant qui entraîne la macrosomie fœtale modifie les teneurs et les compositions des lipoprotéines sériques de la mère et du nouveau-né.*

Soumis à Prenatal. Diagnosis .

FOETAL MACROSOMIA RELATED TO MATERNAL INSULIN-DEPENDENT DIABETES STRONGLY IMPAIRS SERUM LIPOPROTEIN CONCENTRATIONS AND COMPOSITIONS.

H. MERZOUK ¹, M. MEGHELLI-BOUCHENAK ², N. EL KORSO ³, J. PROST ⁴, J. BELLEVILLE ⁴.

1. Laboratoire de Physiologie Animale, Université de Tlemcen, ALGERIE.

2 Laboratoire de Physiologie Animale et de la Nutrition, Institut des Sciences de la Nature, Université d'Oran, ALGERIE.

3 Service de Maternité, Centre Hospitalo-Universitaire de Tlemcen, ALGERIE.

4 Unité de Nutrition Cellulaire et Métabolique, Université de Bourgogne, Faculté des Sciences Mirande, BP 400, 21011 Dijon Cedex, FRANCE.

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the effects of foetal macrosomia related to maternal insulin-dependent diabetes on lipid transport system. Serum lipoprotein concentrations and compositions and LCAT activity were investigated in macrosomic newborns (BW=4650±90g) and in their insulin-dependent diabetic mothers, and were compared with those of control newborns (BW=3290±45g) and their healthy mothers. Serum triglyceride, VLDL and apo B-100 levels were higher ($p<0.01$ and $p<0.05$, respectively), while serum apo A-I and HDL₃ concentrations were lower ($p<0.05$ and $p<0.01$, respectively) in diabetic mothers with poor glycaemic control than in healthy mothers. VLDL-apo C-III, HDL₂ and HDL₃-TG amounts were increased in diabetic mothers ($p<0.05$). Macrosomic newborns presented an increase in all serum lipid and lipoprotein concentrations with high apo A-I and apo B-100 levels compared to control newborns ($p<0.05$ and $p<0.01$, respectively). LCAT activity was similar in both mother groups and in both newborn groups. Apo B-100/A-I ratio was higher in diabetic than in healthy mothers ($p<0.05$), and in macrosomic compared with control newborns ($p<0.05$).

In conclusion, maternal insulin-dependent diabetes and foetal macrosomia were associated to lipoprotein alterations. Macrosomic newborn lipoprotein profiles appear to have implications for later metabolic diseases.

Keywords: apolipoproteins, lipids, lipoproteins, lecithin:cholesterol acyltransferase, foetal macrosomia, maternal insulin-dependent diabetes.

INTRODUCTION

Macrosomia or foetal obesity (birth weight > 4000g at term) is a frequent complication observed in diabetic pregnancy [1,2]. Maternal hyperglycaemia leads to foetal hyperglycaemia which stimulates foetal pancreatic islets producing hyperinsulinaemia [1]. Insulin is a major anabolic hormone of the foetus that increases cell size by stimulating protein synthesis and increases glucose uptake and glucogenesis in peripheral tissues [3]. This intrauterine hyperinsulinemic state results in increased fat tissue, liver glycogen contents and total body size [1]. Other maternal fuels are also considered as contributors to foetal overgrowth. In diabetic pregnancy, maternal plasma aminoacid concentrations correlate with foetal birthweight [4]. Increased placental transport of maternal lipid accelerates foetal fat accretion leading to exaggerated foetal adiposity [5]. Increased foetal size in diabetic pregnancy was found correlated to the extent of maternal VLDL-triglyceride [6]. Using the diabetic rat, a significant correlation between maternal serum triglyceride and free fatty acid levels and foetal tissue triglyceride contents was demonstrated [7]. These observations emphasize the importance of maternal metabolism disturbances as factors affecting foetal growth. Since insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM) is well known to produce changes in maternal metabolic fuels [4,8-11], and since IDDM pregnancy is often associated with foetal macrosomia, the particular effects of maternal diabetes on foetal lipid metabolism is unclear.

On the other hand, macrosomic infants of diabetic mothers have been shown to be prone to the development of glucose intolerance, obesity and diabetes during childhood and adulthood [12-15]. Obesity and diabetes are associated with lipoprotein abnormalities such as mainly high plasma triglyceride levels and low HDL-cholesterol concentrations [16,17]. HDL has been shown to be protective against the development of atherosclerosis, due to its ability to mediate reverse cholesterol transport from cell to the liver. Separation of HDL into its two major subfractions, HDL₂ and HDL₃, has revealed that HDL₃ particles play a central role as the initial acceptors of cell membrane free cholesterol [18]. Lecithin:cholesterol acyltransferase (LCAT; EC 2.3.1.43), an enzyme produced in the liver, esterifies free cholesterol in HDL₃ subclass which is converted into HDL₂ subfraction [19]. This process increases the capacity of HDL₃ to accept a greater amount of cholesterol. LCAT influences not only the metabolism of HDL but also that of other lipoproteins [20]. Earlier studies have shown that HDL₂ and HDL₃-cholesterol concentrations and LCAT activity are lower at birth in full term infants than in adults [21,22]. We have previously reported that LCAT activity is low in small for gestational age

newborns [23]. However, no information has been provided on HDL subfractions and LCAT activity in serum of macrosomic infants. There is increasing interest in the importance of lipoprotein metabolism during foetal life and its implications for later cardiovascular diseases [24]. Since obesity and hyperinsulinaemia begin early in life in macrosomic infants of IDDM mothers [25], it is of interest to see if these infants present "at-risk" lipoprotein profiles at birth which would make them prone to later metabolic diseases.

The purpose of the present investigation was to determine whether lipoprotein metabolism is altered in macrosomic newborns of insulin-dependent diabetic mothers and if so, to what extent these abnormalities are related to maternal lipid disturbances. We have determined serum lipoprotein compositions and concentrations, and LCAT activity in macrosomic newborns and in their IDDM mothers, and compared them with appropriate for gestational age newborns and their healthy mothers.

MATERIALS AND METHODS

Patients

Subjects for this study were drawn consecutively from prenatal women investigated at the Maternity Hospital of Tlemcen (Algeria). Twenty insulin-dependent diabetic pregnant women whose newborns were macrosomic at birth were selected. Maternal diabetic status was determined by medical history review. Eleven mothers were White's class B (duration of diabetes = 4 ± 0.4 years, mean \pm SD) diabetics, and nine White's class C (duration of diabetes = 11 ± 1 years) diabetics. Anthropometric and laboratory characteristics of these mothers are summarized in Table 1. All diabetic mothers were treated with insulin during pregnancy (multiple injection self administration of short or long-acting doses of insulin), but were poorly controlled as shown by their glycosylated haemoglobin levels (Hb A_{1c}, performed by isolab column chromatography [26]) and their fasting glucose concentrations determined by a glucose oxidase procedure (Beckman glucose analyzer, Palo Alto, CA), during the last term of pregnancy (Table 1). Thirty healthy pregnant women whose babies were appropriate for gestational age newborns at term, were selected after an oral glucose tolerance test within 48h of birth, using a 100 g glucose load after an overnight fast. Only women with normal glucose tolerance test according to the World Health Organisation (WHO) criteria [27] were enrolled in control cases. Subjects' ages, pre-pregnancy body mass indices (BMI), parities, and weight gains during pregnancy were similar among the two groups of mothers (Table 1).

The gestational age of all the neonates was ≥ 38 weeks. Gestational age was assessed according to the mother's menstrual history and echography and

confirmed by the pediatrician's assessment of the baby's maturity. Newborn weight was obtained immediately after delivery. Macrosomia was defined as birthweight of ≥ 4000 g at term. IDDM mothers who had infants with birthweight < 4000 g were excluded, since foetal macrosomia related to maternal IDDM was the criterion for our experimental population selection. Healthy mothers who had infants with birthweight > 4000 g were also excluded. The infants belonged to one of the two following groups:

Group 1 consisted of 20 macrosomic newborns at term (body weight = 4650 ± 90 g) born to insulin-dependent diabetic mothers selected.

Group 2 of 30 appropriate for gestational age newborns (body weight = 3290 ± 45 g) born to healthy mothers selected.

The purpose of this study was explained to the mothers and the investigation was carried out with their consent. The experimental protocol was approved by Tlemcen Hospital Committee for Research on human subjects.

Blood samples

Maternal blood was collected from the arm vein of the mothers at the third trimester of pregnancy. Cord blood was obtained from the umbilical cord after its clamping. All mothers were under fasting conditions. After clotting, sera were separated by centrifugation at 4°C and $600 \times g$. An aliquote of serum was preserved with 0.1% disodium EDTA and 0.02% sodium azide to quantify and analyze lipoproteins, another part was used to measure LCAT activity.

Laboratory methods

Lipoprotein isolation

Serum lipoprotein fractions were separated by sequential ultracentrifugation (VLDL, $1.006 < d < 1.019$; LDL, $1.019 < d < 1.063$; HDL₂, $1.063 < d < 1.12$; HDL₃, $1.12 < d < 1.21 \text{ g.mL}^{-1}$) in a Beckman ultracentrifuge (Model L5-65, 65 Ti rotor), using sodium bromide for density adjustment, according to Havel et al. [28].

Chemical analysis

Triglyceride, total cholesterol and unesterified cholesterol contents of serum and each lipoprotein fraction were determined by Boehringer kit (Mannheim, Germany), using the enzymatic methods. Esterified cholesterol concentrations were obtained by difference between total cholesterol and unesterified cholesterol values. Total phospholipids were assayed for phosphorus content by the method of Bartlett [29]. Total protein contents of each lipoprotein were measured by the method of Lowry et al. [30], using a bovine serum albumin as standard. Serum apo A-I and B-100 concentrations were performed by immunoelectrophoresis using monoclonal antibodies and ready to use plates (Hydragel SEBIA kit, Issy Les Moulineaux, France).

VLDL-, HDL₂- and HDL₃- apolipoprotein separation and quantification

After concentration by partial lyophilization and rapid diethyl-ether delipidation of VLDL, HDL₂ and HDL₃, the apolipoproteins of each lipoprotein fraction were separated by sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) was achieved with 2.5%-20% acrylamide, at 25 V for 18 h, according to Irwin et al.[31].

Electrophoresis provided a high degree of resolution and sensitivity resulting in a single separation of the B-100, A-I, A-II, E, C-II, C-III apolipoproteins which can be easily visualized. Furthermore, this method was convenient for apolipoprotein analysis by direct comparison of the two group samples of newborns (macrosomic and control) and of mothers (diabetic and healthy) electrophoresed in parallel. After electrophoresis, apolipoproteins were stained with coomassie brilliant blue G 250. The staining affinity of each individual peptide was not determined. However, when 50-200 µg of total apolipoproteins were applied, the chromogenicity of each band varied linearly with the amount of total apolipoproteins applied to the gel. On the destained gels, the proportions of the different apolipoproteins were determined semiquantitatively with the densitometer tracings at 600 nm (densitometer Model Profil 26, Sebia, Issy les Moulineaux, France). To estimate the concentration of each apolipoprotein, the percentage of the area relative to each apolipoprotein was multiplied by the total apolipoprotein concentration, determined by the method of Lowry et al. [30], of each sample. These data were expressed as arbitrary units (AU) per litre of serum.

Assay for LCAT activity

LCAT activity was assayed by conversion of ³H unesterified cholesterol to ³H esterified cholesterol, according to the method of Glomset et al. [32], modified by Knipping [33], as we have previously described [23]. LCAT activity was expressed as nanomoles esterified cholesterol /h / mL of serum.

Statistical analysis :

Statistical differences between macrosomic and control newborns, between diabetic and healthy mothers were assessed by ANOVA of one factor and Student's t test. All statistical procedures were performed with a statistical software package (STAT VIEW J4.02; Abacus Concepts, Inc., Berkeley, CA).

RESULTS

Serum lipid, apolipoprotein (apo) A-I and B-100 concentrations, and LCAT activity in diabetic and healthy mothers and in their respective newborns are presented in Table 2. Serum triglyceride and apo B-100 levels were significantly higher (+63% and +53%, respectively) while serum apo A-I contents were 31% lower in diabetic mothers than in healthy mothers, although no

differences were observed with the other parameters determined. Similarly to their mothers, macrosomic newborns had increased serum triglyceride and apo B-100 concentrations compared to control newborns (+100%). But in contrast to their mothers, macrosomic newborns showed significantly higher serum phospholipid, total cholesterol, unesterified cholesterol, cholesteryl ester and apo A-I levels than in control newborns (+43%, +26%, +40% +17% and +35%, respectively). Apo B-100/apo A-I ratio was significantly high in diabetic versus healthy mothers, and in macrosomic versus control newborns. LCAT activity in diabetic mothers was similar to that found in healthy mothers. LCAT activity tended to be greater in macrosomic newborns than in control newborns, but the differences were not statistically significant.

Mass and composition of each lipoprotein fraction (VLDL, LDL, HDL₂ and HDL₃) are presented in Figure 1. In diabetic mothers, VLDL amounts were 57% higher ($P < 0.01$) while HDL₃ levels were 32% lower ($P < 0.05$) compared to healthy mothers. LDL and HDL₂ mass did not differ significantly between mothers. In macrosomic newborns, all lipoprotein amounts (VLDL, LDL, HDL₂, HDL₃) were higher than in control newborns. Diabetic mothers showed VLDL-total protein and -triglyceride contents significantly greater than those of healthy mothers (+58% and +82%, respectively). In addition, there was an increase in HDL₂ and HDL₃-triglyceride amounts (+100%), and a decrease in HDL₃-total protein, -phospholipid, -unesterified cholesterol and -cholesteryl ester contents (-41%, -35%, -40% and -53%, respectively) in diabetic versus healthy mothers. All lipid and total proteins of VLDL and LDL were high in macrosomic compared to control newborns. Macrosomic newborns had also greater HDL₂ and HDL₃-triglyceride and -protein amounts and lower HDL₂-cholesteryl ester levels (-31%) than control newborns. HDL₂-cholesteryl ester contents were therefore not related to LCAT activity in macrosomic newborns.

Apolipoprotein profiles of VLDL, HDL₂ and HDL₃ are presented in Figure 2. VLDL-apo B-100 and apo C-III contents were respectively 100% and 87% higher, while HDL₃-apo A-I and -apo A-II values were respectively 56% and 45% lower in diabetic mothers compared to healthy mothers. No significant differences were found in HDL₂-apolipoprotein levels between the two groups of mothers. VLDL-apo B-100 levels were threefold higher in macrosomic than in control newborns. HDL₂-apo A-I and -apo A-II contents were enhanced in macrosomic newborns (+46% and +80%, respectively). HDL₃-apo A-I and apo A-II were also higher in macrosomic than in control newborns (+32% and +76%, respectively).

DISCUSSION

To detect lipoprotein abnormalities at birth, in relation with maternal disorders, this study was performed on insulin-dependent diabetic mothers, and

their macrosomic newborns. During normal pregnancy, maternal serum triglyceride, cholesterol, phospholipid levels increased with a rise in all lipoprotein fractions [8]. High serum oestrogen concentrations and increasing insulin resistance in late gestation are considered to be responsible for hyperlipidaemia observed in normal pregnancy [8]. IDDM mothers showed high serum triglyceride, apo B-100, VLDL levels and low serum apo A-I and HDL₃ levels when compared to healthy mothers. These results differed from those of Montelongo et al. [10] who found no significant differences between serum lipoproteins in IDDM and normal pregnant women, despite high free fatty acid levels in IDDM patients. However, these authors hypothesized that the development of exaggerated hyperlipidaemia in diabetic pregnancy depends on the balance between the degree of glycaemic control and the plasma sex hormone levels during pregnancy [10]. In Knopp et al. study [9], IDDM pregnant women showed reduced serum total cholesterol, HDL₃ and apo A-I levels while triglyceride and VLDL concentrations were similar to those of normal pregnant subjects. Discrepancies with literature results could be accounted for by differences in maternal glycaemic control, in the timing for obtaining blood samples, in the birth weight of infants, or a combination of these factors. Indeed, in our study, maternal blood samples were taken from term deliveries (≥ 38 weeks) at the outset of labor, while in Knopp et al. [9] and in Montelongo et al. [10] studies, blood samples were drawn at specific weeks during gestation until 34 or 36 weeks. On the other hand, our diabetic mothers were poorly controlled as shown by their glycosylated haemoglobin and fasting glucose levels, and their infants were macrosomic at birth. In contrast, in previous studies [9,10], reasonably efficient glycaemic control was observed in diabetic pregnant women. In addition, Knopp et al. [9], showed that infants, including term and preterm newborns, born to IDDM mothers presented smaller weight (3277 ± 672 g, mean \pm SD).

Our results showed that IDDM mothers had increased serum triglyceride, apo B-100 and VLDL levels resulting probably from both overproduction induced by pregnancy [8], and decreased catabolism related to a failure in lipoprotein lipase (LPL) activity secondary to insulin deficiency. IDDM is associated to reduced LPL activity resulting in impaired triglyceride-rich lipoprotein clearance [17]. In addition, VLDL-apo C-III, an inhibitor of LPL action, was increased in our IDDM mothers.

These mothers also showed several modifications in HDL₂ and HDL₃ compositions and concentrations although LCAT activity, responsible for cholesterol esterification which modulates HDL composition, was similar to that found in healthy mothers. Although HDL₃-triglyceride levels were increased, HDL₃-phospholipid, -unesterified cholesterol, -cholesteryl ester,

-apo A-I and -apo A-II amounts were decreased in IDDM mothers. These data suggest a reduction in HDL₃ particle number with changes in their composition which could affect reverse cholesterol transport. Low HDL₃ particles could be the result of reduced synthesis or enhanced catabolism. In our study, we have used synthetic substrates related to optimum LCAT activity which provides a measure of LCAT mass. Since optimum LCAT activity, and therefore LCAT mass, were normal in IDDM mothers, HDL₃ catabolism did not seem impaired. Decreased nascent HDL synthesis or reduced VLDL catabolism which limit the availability of surface components from VLDL to HDL₃, could be factors that contribute to low HDL₃ levels in our IDDM mothers. However, HDL₂ and HDL₂-cholesteryl ester levels were normal despite low HDL₃ amounts. Defective HDL₂ catabolism might contribute to maintain HDL₂ levels despite low synthesis in IDDM mothers. In addition, HDL₂ and HDL₃ particles were triglyceride-enriched in IDDM mothers. This also might account for the impaired removal of VLDL-triglycerides or for a decrease in hepatic lipase (HL) activity. Further studies on LPL and HL activities in these IDDM mothers are needed to check our hypothesis.

In macrosomic newborns of IDDM mothers, serum lipid and apolipoprotein contents were higher than in control newborns. These data show that fat and protein synthesis were increased in the foetuses with overnutrition, and are in agreement with earlier reports [34-36]. In children and adults, obesity is associated with increased levels of plasma lipids [37,38]. In our study, macrosomic newborns showed higher serum VLDL accompanied with a concomitant increase in serum triglyceride and apo B-100 levels. An increase in glucose and free fatty acids transfer from the diabetic mother could explain enhanced foetal hepatic VLDL secretion and hypertriglyceridaemia, since glucose and free fatty acids are major substrate determinants for hepatic VLDL secretion [39].

Macrosomic newborns also showed high LDL amounts resulting from high VLDL concentrations, since the majority of LDL particles are derived from VLDL after LPL action.

Macrosomic newborns presented higher HDL₂ and HDL₃ levels accompanied with higher HDL -apo A-I and -apo A-II amounts suggesting an increase in the number of HDL particles resulting probably from their enhanced synthesis. In these newborns, LCAT activity was not significantly different from that found in control newborns, despite high levels of apo A-I (its major cofactor). We have previously found that LCAT activity is not correlated to apo A-I levels in newborns [23]. However, the levels of HDL₃-unesterified cholesterol (the preferential substrate for LCAT) and HDL₃-phospholipid (the fatty acid donor in cholesterol esterification by LCAT) in macrosomic newborns were similar to those of control newborns, and were related to normal LCAT activity in

macrosomic infants. HDL₂ and HDL₃ particles were enriched in triglycerides while HDL₂-cholesteryl ester contents were low. A possible increase in the interchange of lipids between lipoproteins resulting from high cholesteryl ester transfer protein (CETP) activity could contribute to the triglyceride increase in HDL₂ and HDL₃ and the decrease in HDL₂-cholesteryl ester levels. In adults, plasma CETP levels are mainly affected by the variation in adipose mass, since adipose tissue is a major source of CETP [40]. As fat mass is increased in macrosomic newborns [35,36], plasma CETP levels could also be enhanced. Further analysis of CETP activity in these macrosomic newborns is needed.

Lipoprotein profiles in macrosomic newborns are consistent with high atherogenic risk. Thus, persisting lipoprotein abnormalities in macrosomic infants could be one of the processes that link macrosomia with adult metabolic diseases [25].

In conclusion, lipoprotein metabolism was altered in IDDM mothers with poor glycaemic control and in their macrosomic newborns. Hypertriglyceridaemia with high VLDL concentrations, triglyceride enrichment of HDL particles and high apo B-100/A-I ratio were major changes in IDDM mothers and in their macrosomic newborns. Persistent macrosomic lipoprotein alterations might represent an important risk factor for later metabolic diseases. Macrosomia should be prevented in IDDM pregnancy in order to reduce risk factors for the development of later metabolic diseases. In addition, special health care for these macrosomic infants should be recommended including regular examinations, as well as and dietary advice.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by the French Foreign office (International Research Extension grants 95 MDU 318).

The authors thank A. Magnet, an ESP linguist at the University of Burgundy (France), for editing the manuscript.

REFERENCES

1. Rosenn B, Tsang RC (1991) The effects of maternal diabetes on the fetus and the neonate. *Ann Clin Labor Sci* 21: 153-168
2. Spellacy WA, Winegar A, Peterson PQ (1985) Macrosomia-maternal characteristics and infant complications. *Obstet Gynecol* 66: 158-161
3. Hill DE (1978) Effect of insulin on fetal growth. *Semin Perinatol* 2: 319-328
4. Kalkhoff RK, Kandaraki E, Morrow PG, Mitchell TH, Kelber S, Borkowf HI (1988) Relationship between neonatal birth weight and maternal plasma amino acid profiles in lean and obese nondiabetic women and in type 1 diabetic pregnant women. *Metabolism* 37: 234-239

5. Shafrir E, Barash V (1987) Placenta function in maternal fetal fat transport in diabetes. *Biol Neonate* 51: 102-112
6. Knopp RH, Bergelin RO, Wahl PW, Walden CE (1985) Relationships of infant birth size to maternal lipoproteins, apoproteins, fuels, hormones, clinical chemistries and body weight at 36 weeks' gestation. *Diabetes* 34: 71-77
7. Shafrir E, Khassis S (1982) Maternal-fetal fat transport versus new fat synthesis in the pregnant diabetic rat. *Diabetologia* 22: 111-117
8. Knopp RH, Montes A, Childs M, Li JR, Mabuchi H (1981) Metabolic adjustments in normal and diabetic pregnancy. *Clin Obstet Gynecol* 24: 21-49
9. Knopp RH, Van Allen MI, McNeely M, Walden CE, Plovie B, Shiota K, Brown Z (1993) Effect of Insulin-dependent diabetes on plasma lipoproteins in diabetic pregnancy. *J Reprod Med* 3809: 703-710
10. Montelongo A, Lasuncion MA, Pallardo LF, Herrera E (1992) Longitudinal study of plasma lipoproteins and hormones during pregnancy in normal and diabetic women. *Diabetes* 41: 1651-1659
11. Ohshima T (1984) The lipid metabolism in normal and diabetic pregnancy. *Nippon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi* 36 :1101-1110
12. Vohr BR, Lipsitt LP, Oh W (1980) Somatic Growth of children of diabetic mothers with reference to birth size. *J Pediatr* 97: 196-199
13. Pettitt DJ, Baird HR, Aleck KA, Bennett PH, Knowler WC (1983) Excessive obesity in offspring of Pima Indian women with diabetes during pregnancy. *N Engl J Med* 308: 242-245
14. Pettitt DJ, Bennett PH, Saad MF, Charles MA, Nelson RG, Knowler WC (1991) Abnormal glucose tolerance during pregnancy in Pima Indian women: long term effects on offspring. *Diabetes* 40: 126-130
15. Plagemann A, Harder T, Kohlhoff R, Rohde W, Dörner G (1997) Glucose tolerance and insulin secretion in children of mothers with pregestational IDDM or gestational diabete. *Diabetologia* 40: 1094-1100
16. Anderson AJ, Sobocinski KA, Freedman DS, Barboriak JJ, Rimm AA, Gruchow HW (1988) Body fat distribution, plasma lipids and lipoproteins. *Arteriosclerosis* 8: 88-94
17. Ginsberg HN (1991) Lipoprotein physiology in non diabetic and diabetic state. Relationship to atherosclerosis. *Diabetes Care* 14: 839-855
18. Kostner GM, Knipping G, Groener JE, Zechner R, Dieplinger H (1987) The role of LCAT and cholesteryl ester transfer proteins for HDL and LDL structure and metabolism. *Adv Exp Med Biol* 210: 79-86
19. Jauhiainen M, Dolphin PJ (1986) Human plasma lecithin: cholesterol acyltransferase. *J Biol Chem* 261:7032-7036
- 20 Marcel YL (1982) Lecithin:cholesterol acyltransferase and intravascular cholesterol transport. *Adv Lipid Res* 19: 85-136

21. Asayama K, Miyao A, Kato K (1990) High-density lipoprotein (HDL), HDL₂ and HDL₃ cholesterol concentrations determined in serum of newborns, infants, children, adolescents and adults by use of a micromethod for combined precipitation ultracentrifugation. *Clin Chem* 36: 129-131
22. Papadopoulos A, Hamosh M, Chowdhry P, Scanlon JW, Hamosh P (1988) Lecithin-cholesterol-acyl-transferase in the newborn: low activity levels in preterm infants. *J Pediatr* 113: 896-898
23. Merzouk H, Lamri MY, Meghelli-Bouchenak M, Korso N, Prost J, Belleville J (1997) Serum lecithin:cholesterol acyltransferase activity and HDL₂ and HDL₃ composition in small for gestational age newborns. *Acta Paediatr* 86: 528-532
24. Barker DJP (1995) Fetal origins of coronary heart disease. *BMJ* 311: 171-174
25. Dorner G, Plagemann A (1994) Perinatal hyperinsulinism as possible predisposing factor for diabetes mellitus, obesity and enhanced cardiovascular risk later life. *Horm Metab Res* 26: 213-221
26. Kaplan LA, Cline D, Gartside P, Burnstein S, Sperling M, Stein EA (1982) Hemoglobin A1 in hemolysates from healthy and insulin-dependent diabetic children as determined with a temperature controlled mini-column assay. *Clin Chem* 28: 13-18
27. Metzge BE (1990) Summary and recommendations of the third international workshop-conference on gestational diabetes mellitus. *Diabetes* 40: 197-201
28. Havel RJ, Eder HA, Bragdon JH (1955) The distribution and chemical composition of ultracentrifugally separated lipoproteins in human serum. *J Clin Invest* 34: 1345-1353
29. Bartlett GR (1958) Phosphorus assay in column chromatography. *J Biol Chem* 234: 466-469
30. Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL, Randal RJ (1951) Protein measurement with the folin reagent. *J Biol Chem* 193: 265-275
31. Irwin D, O'Lonney PA, Quinet E, Vahouny GV (1984) Application of SDS gradient polyacrylamide gel electrophoresis to analysis of apolipoprotein mass and radioactivity of lipoproteins. *Atherosclerosis* 53: 163-172
32. Glomset JA, Wright JL (1964) Some properties of cholesterol esterifying enzyme in human plasma. *Biochim Biophys Acta* 89: 266-271
33. Knipping G (1986) Isolation and properties of porcine lecithin-cholesterol-acyl-transferase. *Eur J Biochem* 154: 289-294
34. Fordyce MK, Duncan R, Chao R, Christakis M, Hsia SL, Robertson E, Kafatos A, Christakis G (1983) Cord blood serum in newborns of diabetic mothers. *J Chron Dis* 36: 263-268
35. Enzi G, Inelmen EM, Caretta F, Villani F, Zanardo V, Debiassi F (1980) Adipose tissue development in newborns of gestational and insulin-dependent diabetic mothers. *Diabetes* 29: 100-104

36. Cowett RM, Shwartz R (1982) The infant of the diabetic mother. *Pediatr Clin North Am* 29: 1213-1231
37. Despres JP, Moorjani S, Lupien PJ, Tremblay A, Nadeau A, Bouchard C (1990) Regional distribution of body fat, plasma lipoproteins and cardiovascular disease. *Arteriosclerosis* 10: 497-511
38. Morrison JA, Sprecher D, McMahon RP, Simon J, Schreiber GB, Khoury PR (1996) Obesity and high-density lipoprotein cholesterol in black and white 9- and 10-year-old girls: The National Heart, Lung and Blood Institute Growth and Health Study. *Metabolism* 45: 469-474
39. Sniderman AD, Cianflone K (1993) Substrate delivery as a determinant of hepatic apo B secretion. *Arterioscler Thromb* 13: 629-636
40. Jang XC, Moulin P, Quinet E, Golberg IJ, Yacoub LK, Agellon LB, Compton D, Schnitzer-Polokoff R, Tall AR (1991) Mammalian adipose tissue and muscle are major source of lipid transfer protein mRNA. *J Biol Chem* 266: 4631-4639

Table 1 . Maternal Characteristics

	Control mothers	Insulin-dependent diabetic mothers
Age (Years)	25 ± 3	25 ± 2.50
BMI (Kg/m ²)	21.80 ± 2.30	22.40 ± 1.90
Weight gain (Kg)	10.50 ± 0.64	11.87 ± 0.82
Parity	2 ± 1	2 ± 1
Hb A1 (%)	5.80 ± 0.20	8.90 ± 0.30 ^a
Glucose (mmol/L)	4.90 ± 0.21	8.72 ± 0.40 ^b
Birthweight (g)	3290 ± 45	4650 ± 90 ^b
Gestational age (weeks)	39.50 ± 0.80	38.50 ± 0.30

Values are means ± SEM. Comparison of means was performed by student's t test :

^a P<0.05 , ^b P<0.01

Table 2. Serum lipid (mmol/L), apolipoprotein (apo) A-I and B-100 (g/L) contents and LCAT activity in macrosomic newborns, control newborns and their mothers.

	Newborns		Mothers	
	Control	Macrosomic	Healthy	Diabetic
Triglycerides (mmol/L)	0.62±0.09	1.45±0.17 ^b	2.60±0.21	4.25±0.17 ^b
Phospholipids (mmol/L)	1.75±0.19	2.50±0.14 ^b	3.70±0.12	3.54±0.23
Total cholesterol (mmol/L)	1.79±0.05	2.25±0.03 ^a	6.46±0.63	6.65±0.31
Unesterified cholesterol (mmol/L)	0.70±0.03	0.98±0.04 ^a	1.55±0.14	1.50±0.10
Cholesteryl esters (mmol/L)	1.08±0.01	1.26±0.02 ^a	4.90±0.61	5.10±0.40
apo A-I (g/L)	0.68±0.01	0.92±0.03 ^a	1.60±0.04	1.10±0.03 ^a
apo B-100 (g/L)	0.18±0.02	0.46±0.05 ^b	1.10±0.06	1.68±0.04 ^a
apo B-100/A-I ratio	0.26±0.03	0.52±0.04 ^a	0.68±0.08	1.52±0.06 ^a
LCAT activity (nmol/mL/h)	110±55	160±41	252±39	269±48

Values are means ± SEM. Comparison of means was performed by Student's t test: Macrosomic newborns versus control newborns, or diabetic mothers versus control mothers: ^a p<0.05, ^b p<0.01.

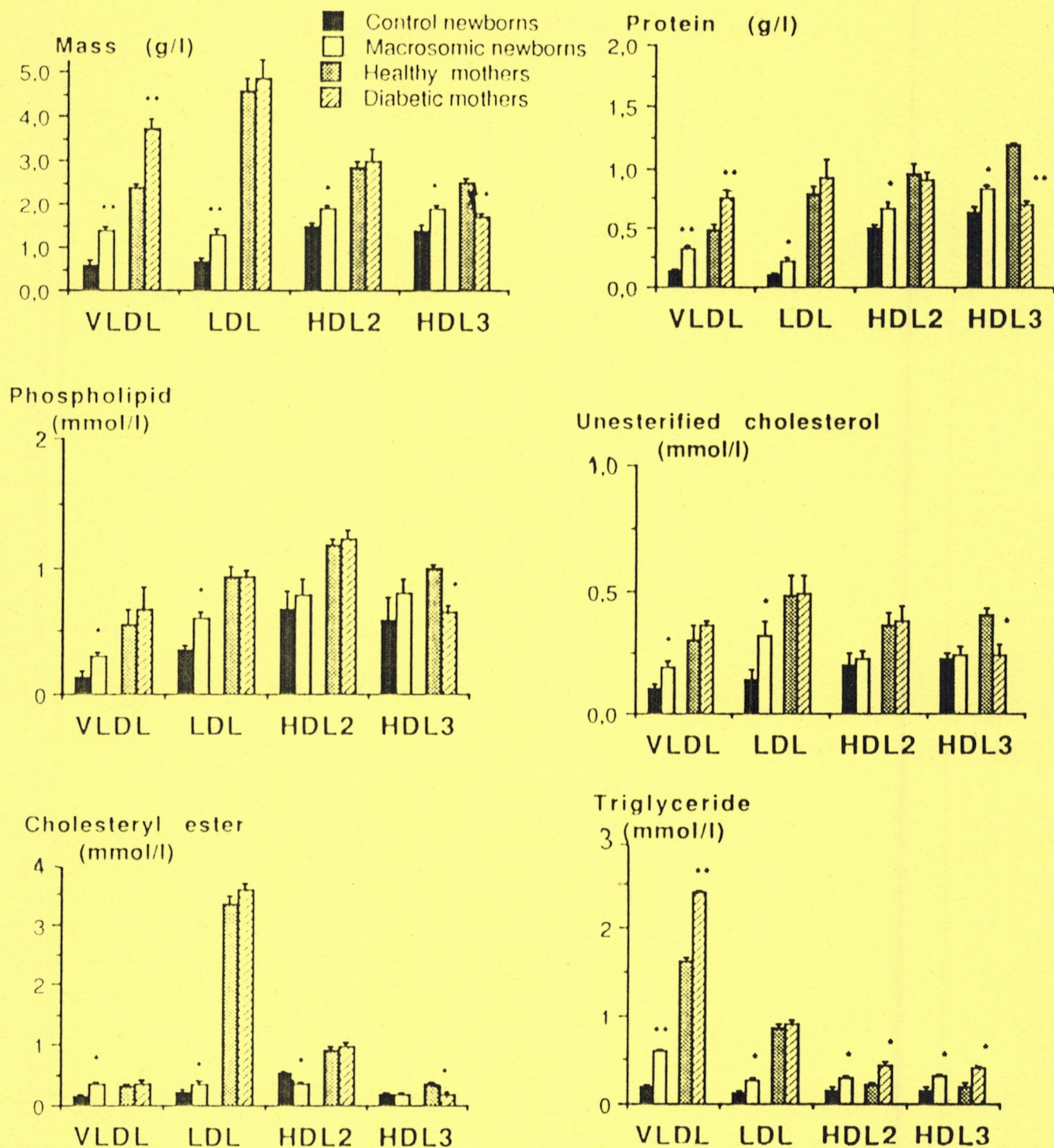


Fig.1. Serum lipoprotein concentrations and compositions in newborns and their mothers.

Values are means ± SEM. Lipoprotein mass was the sum of apolipoproteins, triglycerides, phospholipids, unesterified cholesterol and cholesteryl esters of each lipoprotein. Comparison of means was performed by Student's t test: Macrosomic newborns versus control newborns, or diabetic mothers versus control mothers: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

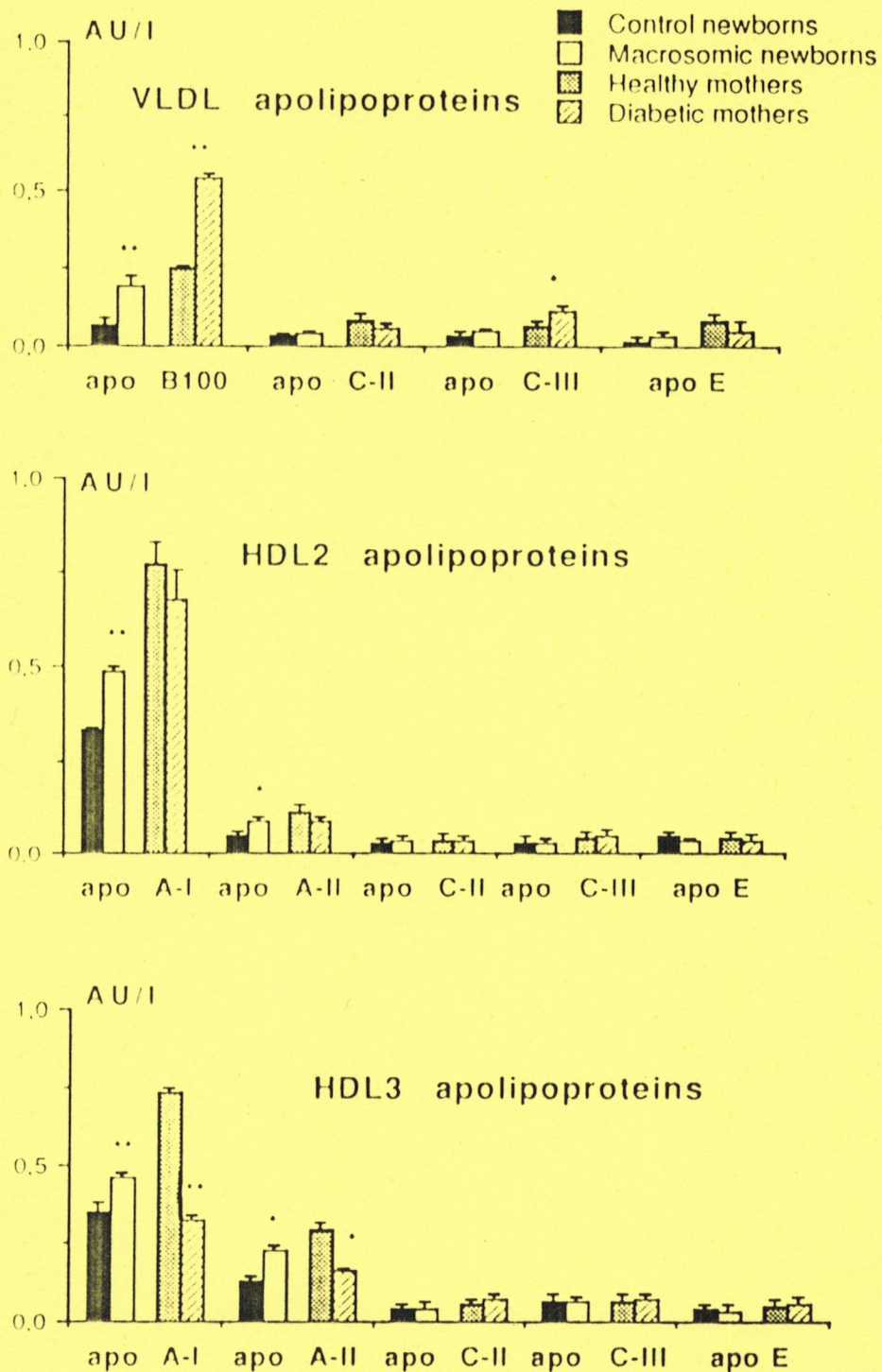


Fig.2. Serum VLDL, HDL₂ and HDL₃-apolipoprotein profiles (in arbitrary units, AU/L) in newborns and their mothers.

Values are means \pm SEM. Comparison of means was performed by Student's t test: Macrosomic newborns versus control newborns, or diabetic mothers versus control mothers : * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

Article 5: *Evolution des concentrations et des compositions des lipides et des lipoprotéines sériques au cours du premier mois de vie post-natale chez l'enfant macrosomique né de mère diabétique insulino-dépendante.*

Accepté et sous press à *Eur. J. Paediatr.*

CHANGES IN SERUM LIPID AND LIPOPROTEIN CONCENTRATIONS AND COMPOSITIONS AT BIRTH AND AFTER ONE MONTH OF LIFE IN MACROSOMIC INFANTS OF INSULIN-DEPENDENT DIABETIC MOTHERS

MERZOUK H. MD¹, MADANI S. MD², PROST J. PhD², LOUKIDI B. MD³, MEGHELLI-BOUCHENAK M. PhD⁴, BELLEVILLE J. PhD²

1 Laboratoire de Physiologie Animale, Université de Tlemcen, Tlemcen. ALGERIE.

2 Unité de Nutrition Cellulaire et Métabolique. Faculté des Sciences Mirande, Université de Bourgogne. BP 400, 21011 Dijon Cedex. FRANCE.

3 Service de Maternité, Centre Hospitalo-Universitaire de Tlemcen, Tlemcen. ALGERIE.

4 Laboratoire de Physiologie Animale et de la Nutrition, Université d'Oran, Es-Sénia. 31000. ALGERIE.

ABSTRACT

The aim of this study was to determine whether macrosomia related to maternal diabetes alters lipoprotein metabolism, and whether these abnormalities still persist or regress after one month of life. Serum lipoprotein compositions and concentrations as well as serum lipid fatty acid compositions were investigated in macrosomic infants (birthweight = 4840 ± 105 g at term) of insulin-dependent diabetic mothers at birth and after one month of life, and were compared to those of control infants (birthweight = 3400 ± 198 g at term) of healthy mothers.

Compared to controls, at birth, macrosomic newborns had higher serum lipids, apolipoprotein A-I and B-100, and lipoprotein (VLDL, LDL, HDL₂ and HDL₃) amounts. Higher percentages of C18:2n-6 in serum triacylglycerols, phospholipids and cholesteryl esters were also observed. At day 30, in macrosomics, serum triacylglycerol, Apo B-100, VLDL and LDL levels were still significantly higher. C18:2n-6 and C18:3n-3 contents in serum phospholipids, triacylglycerols and cholesteryl esters were reduced while C20:4n-6 and C22:6n-3 contents in serum phospholipids and cholesteryl esters were enhanced, compared to control values.

Therefore, macrosomia was associated with alterations in lipoprotein compositions and concentrations at birth, some of which persisted after one month of life, and might play a role in the pathogenesis of diabetes and atherosclerosis in adult life.

Key words: Apolipoproteins - diabetic mothers - Lipoproteins - Macrosomia - serum fatty acids.

INTRODUCTION

Overnutrition during uterine life alters foetal growth while increasing the risk for neonatal macrosomia [15]. Macrosomia is a common observation in diabetic pregnancies [3,30] and is a result of accelerated foetal growth in the presence of abundant substrates and anabolic hormones [15,30]. Several carbohydrate and lipid metabolism alterations are observed in infants of diabetic mothers, and are thought to be a consequence of maternal hyperglycaemia leading to fetal hyperglycaemia and hyperinsulinaemia [3,6,25]. Macrosomic infants of diabetic mothers have been shown to be prone to the development of glucose intolerance, obesity, diabetes mellitus and cardiovascular diseases in later life [5,23,33]. Obesity and diabetes mellitus in adulthood are associated, not only with abnormalities of serum glucose, lipid and lipoprotein concentrations, but also with compositional changes in serum lipoproteins. Since obesity and hyperinsulinaemia begin early in life in macrosomic infants of diabetic mothers [5], it is of interest to see if these infants present "at-risk" lipoprotein profile at birth and during the first month of life which might prepare for later metabolic diseases.

The epidemiological association described by Barker [1] between foetal lipid levels and adult cardiovascular disease has engendered great interest recently. However, these studies focus on the relationship between foetal undernutrition and later atherogenic risk, and pay only limited attention to overnutrition.

Plasma lipid and lipoprotein patterns in newborns are significantly different from those observed in adults, both in concentration and composition. Shortly after birth, the plasma-lipid-transport system is widely modified [19]. During the first month of life, lipoprotein concentrations increase to approximately the level noted in adults and their composition looks more like that of adults [19,28]. Lipid and lipoprotein levels as well as their compositions at one month of life are more meaningful than those from cord blood for screening lipid abnormalities which could lead to later metabolic diseases.

Numerous data are available on cord blood lipoprotein levels and postnatal changes in healthy full term infants [19,28,31]. However, little information has ever been provided about lipid and lipoprotein profiles in infants of insulin-dependent diabetic mothers (IDDM) [12,27].

The purpose of the present study was to determine whether macrosomia related to maternal diabetes alters lipoprotein metabolism, and whether these abnormalities persist or regress after one month of life. To this end, serum lipoprotein concentrations and compositions were investigated in macrosomic newborns of poorly controlled insulin-dependent diabetic mothers at birth and

after one month of life, and compared with those obtained in appropriate for gestational age newborns of healthy non diabetic mothers. The fatty acid composition of serum lipids was also analysed to assess foetus and neonate essential fatty acid status.

MATERIAL AND METHODS

1. Patients

The protocol was approved by the Tlemcen Hospital Committee for Research on Human Subjects. Two infant groups born at the maternity hospital of Tlemcen (Algeria) were studied :

Group 1 consisted of 15 macrosomic infants at term (birthweight = 4840 ± 105 g, gestational age = 39.2 ± 1.2 weeks, mean \pm SD) born to poorly controlled insulin-dependent diabetic mothers. Eight of the mothers were White's class B (duration of diabetes = 4 ± 0.4 years) and seven White's class C (duration of diabetes = 11 ± 1 years). All diabetic mothers were non obese (Pre-pregnancy body mass index, BMI = 22.5 ± 1.8 kg/m²), and were treated with insulin during pregnancy (self administration of multiple injections of short or long acting doses of insulin) but were poorly controlled as shown by their fasting glucose concentrations determined by a glucose oxidase procedure (Beckman glucose analyzer, Palo Alto, CA) 8.7 ± 0.4 mmol/L in diabetics versus 4.9 ± 0.2 mmol/L in normal pregnant women and by their glycosylated haemoglobin percentage (%Hb A1 determined by Isolab Column Chromatography [16]) $8.9 \pm 0.3\%$ in diabetics versus $5.8 \pm 0.2\%$ in normal pregnant women. Macrosomic newborns had significantly higher cord serum insulin (measured by radioimmunoassay method) and glucose levels compared to control newborns (40 ± 6.50 versus 9.85 ± 1.76 mU/L for insulin and 8.12 ± 0.95 versus 3.04 ± 0.73 for glucose, $P < 0.01$).

Group 2 used as control consisted of 20 appropriate for gestational age infants (birthweight = 3400 ± 198 g, gestational age = 39.4 ± 1.1 weeks) born to healthy non obese (BMI = 21.8 ± 2.3 kg/m²) and non diabetic mothers.

Gestational age was estimated by the last menstrual period and confirmed by ultrasound and newborn examination. Newborn weight was obtained immediately after delivery. Macrosomia was defined as birthweight over 4000 g. The diet has a strong influence on lipids from the first months of life, and to reduce this influence, only newborns that were same formula-fed (composition of formula: protein = 14 g/L, carbohydrate = 56.50 g/L, cholesterol = 0.2 g/L, fat = 28 g/L, milk fatty acid composition (in percent of total fatty acids) C8:0, 0.8; C10:0, 1.2; C12:0, 8.5; C14:0, 4.3; C16:0, 26.3; C18:0, 3.9; C16:1, 1.5; C18:1, 38.5; C18:2n-6, 12.4; C18:3n-3, 2; C20:4n-6, 0.3; C22:6n-3, 0.3) were chosen. All infants were followed up at one month after birth.

The purpose of this study was explained to the mothers and the investigation was carried out with their signed informed consent.

2. Blood samples

At delivery, cord blood samples were collected after umbilical cord clamping. At one month, blood was taken from peripheral veins of infants after an overnight's fast of 6h on the 30th day after birth. After clotting, sera were separated by centrifugation at 4°C and 600 x g, and preserved with 0.1% disodium EDTA and 0.02% sodium azide.

3. Laboratory methods

Lipoprotein isolation

Serum density was adjusted to 1.21 g/mL by addition of crystalline KBr (0.322 g/mL serum). Lipoproteins of density < 1.21 g/mL were isolated by single ultracentrifugation flotation (Model LE 80 Ultracentrifuge, 50 Ti rotor, Beckman Instruments, Palo Alto, CA), according to Havel et al. [11]. All centrifugations were performed at 122,000 x g at 15°C for 48 h. Lipoproteins were dialysed against 0.15 mol/L NaCl and 1 mmol/L Na₂EDTA, pH 7.4 at 4°C in Spectra/Por 2 dialysis tubing (Spectrum Medical Industries, Los Angeles, CA).

Lipoprotein fractions: very low density lipoprotein (VLDL) (1.006 < d < 1.019 g/mL), low density lipoprotein (LDL) (1.019 < d < 1.063 g/mL) and high density lipoprotein (HDL) (1.063 < d < 1.210 g/mL) were isolated from total lipoproteins by a single spin discontinuous gradient, centrifugation was performed at 274,000 x g at 15°C, according to the method of Redgrave et al. [26].

HDL₂ (1.063 < d < 1.125) were separated from HDL₃ (1.125 < d < 1.210 g/mL) by 4 h centrifugation at 160,000 x g [8].

Chemical analysis

Triacylglycerol (TG) contents of serum and each lipoprotein fraction were determined using a Boehringer Mannheim Gmb. H. kit, by the enzymatic method based on the measurement of glycerol released by lipase hydrolysis. Total cholesterol and unesterified cholesterol (UC) assays were performed by gas liquid chromatography using epicoprostanol as internal standard, according to Gambert et al. [9]. Esterified cholesterol (EC) concentrations were obtained by difference between total cholesterol and unesterified cholesterol values. Phospholipids (PL) in serum and lipoprotein fractions were assayed for phosphorus by the method of Bartlett [2]. Total protein contents of each lipoprotein were measured by the method of Lowry et al. [21], using bovine serum albumin as standard.

VLDL, LDL, HDL₂ and HDL₃ apolipoprotein separation and quantification

After concentration by partial lyophilization and rapid diethyl-ether delipidation of VLDL, LDL, HDL₂ and HDL₃, apolipoproteins of each lipoprotein

fraction were separated by sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) system, with 2.5%-20% acrylamide, at 25 V for 18 h, according to Irwin et al.[14] as we have previously described [22]. The data were expressed as arbitrary units (AU) per litre of serum. Immunoelectrophoresis using monoclonal antibodies and ready to use plates (Hydragel SEBIA kit, Issy Les Moulineaux, France) was performed to quantitate serum total apo A-I and B-100.

Serum fatty acid composition

Serum total lipids were extracted according to the method of Folch et al. [7]. Triacylglycerols, phospholipids and cholesteryl esters were isolated by thin layer chromatography. Each lipid fraction was transmethylated and fatty acids were analyzed by gas liquid chromatography [29], using a Becker gas chromatograph (Becker instruments, Downers grove, IL) equipped with a 50 m capillary glass column packed with carbowax 20M (Spiral-RD, Couternon, France). 17:0 methyl ester was used as an internal standard. Identification of different fatty acids was performed by comparison of relative retention times with those of commercial standards. Areas were calculated with an ENICA 21 integrator (DELSI Instrument, Suresnes, France).

4. Statistical analysis

Results were analysed using standard statistical procedures with a commercial statistical software package (STATVIEW 512, Brain Power, Calabasas, CA). After verification of homogeneity of variances (Hartley's test) and normality of distribution (Kolmogorov-Smirnov test), we used variance analysis and unpaired *t* test for comparing values of macrosomic and control groups, and the paired *t* test for comparing cord blood and blood at one month of life values.

RESULTS

Serum lipids, apo B-100, apo A-I and lipoprotein concentrations (Figure 1).

At birth, compared with controls, macrosomic infants had significantly higher serum lipid and apolipoprotein levels (+24%, +140%, +26% and +100%, respectively for serum total cholesterol, triacylglycerols, apos A-I and B-100). Lipoprotein amounts were also higher in macrosomic compared to control newborns (+100% for VLDL and LDL, +17% and +35% for HDL₂ and HDL₃, respectively).

At day 30, serum -TG, -apo B-100, -VLDL and -LDL concentrations were still significantly higher in macrosomic than in controls (+100%, +16%, +65%, and +33%, respectively). The total apo B-100/total A-I ratio, a marker of atherogenic risk, was higher in macrosomic than in control infants at birth (0.45

± 0.03 vs. 0.28 ± 0.02 , $P < 0.01$) and after one month of life (0.60 ± 0.03 vs. 0.50 ± 0.02 , $P < 0.05$).

From birth to day 30, serum triacylglycerol, cholesterol, apo A-1 and B-100, VLDL and LDL concentrations increased in control and in macrosomic infants. HDL₂ and HDL₃ amounts raised only in controls.

Lipid composition of each serum lipoprotein fractions (Figure 2).

At birth, all VLDL and LDL lipids, HDL₂- and HDL₃-triacylglycerol contents were higher, while HDL₂-cholesteryl ester amounts were lower in macrosomic than in control infants.

At day 30, compared with controls, VLDL and LDL lipids, HDL₂- and HDL₃-triacylglycerol amounts, in macrosomic infants, were still significantly higher.

From birth to day 30, VLDL- and LDL- lipids were increased in control and in macrosomic infants while HDL₂-cholesteryl esters were only increased in macrosomic infants.

Serum VLDL, LDL, HDL₂ and HDL₃ apolipoprotein profiles (Figure 3).

At birth, VLDL and LDL -apo B-100, HDL₂- and HDL₃-apo A-I and apoA-II levels were higher in macrosomic than in control newborns (+200%, +100%, +17%, +32%, +19% and +43%, respectively).

At day 30, macrosomic infants showed higher VLDL-apo levels compared to control values (+81%, +41%, +38% and +42%, respectively for apo-B-100, -C-II, -C-III and -E). LDL-apo B-100 levels were also significantly higher in macrosomic than in control infants (+50%).

From birth to day 30, in control and macrosomic infants, all VLDL-apos, LDL- apo B-100, HDL₂- and HDL₃- apo A-I were raised. HDL₂- apo A-II and HDL₃- apo C-III were also increased in control infants. Apo E in HDL₂- and HDL₃ was decreased in control and macrosomic infants.

Composition of serum fatty acids (Figure 4).

The most marked changes in fatty acid composition are shown.

At birth, in serum triacylglycerols, cholesteryl esters and phospholipids, linoleic acid (C18:2n-6) was higher in macrosomic than in control infants. In serum phospholipids only, arachidonic acid (20:4 n-6) was higher, while saturated fatty acids were lower in macrosomic compared with control infants (46.35 ± 1.98 vs. 42.27 ± 1.34 , $P < 0.05$).

At day 30, in serum cholesteryl esters and phospholipids, C18:2n-6 was lower whereas docosahexaenoic acid (C22:6n-3) was higher; in serum triacylglycerols, cholesteryl esters and phospholipids, α -linoleic acid (C18:3n-3) was diminished whereas C20:4n-6 was increased in macrosomic compared with control infants.

From birth to day 30, C18:2n-6 was significantly increased whereas C20:4n-6 was greatly decreased in serum triacylglycerols, cholesteryl esters and phospholipids in control infants. In macrosomic infants, C18:2n-6 was enhanced

whereas C18:3n-3 was diminished in serum triacylglycerols, cholesteryl esters and phospholipids; C20:4n-6 was depleted while C22:6n-3 was raised in serum cholesteryl esters and phospholipids.

DISCUSSION

The present study was focused on determining whether lipoprotein metabolism alterations found in macrosomic infants of IDDM at birth persist after one month of life, and whether lipoprotein abnormalities initiated in utero might be amplified or not with age. A one-month postnatal life was chosen because at this age, serum lipid and lipoprotein profiles normally approach those of adults.

Our results showed that at birth, serum lipid and apolipoprotein contents were higher in macrosomic than in control newborns. At day 30, several lipid, apolipoprotein and lipoprotein differences disappeared while others persisted.

Fat and protein syntheses were increased in the foetus with overnutrition, and our data are in agreement with earlier reports [3,6]. The concomitant presence of excess substrates and hyperinsulinaemia enhances foetal lipid and protein syntheses [15,30]. Insulin receptors may also play a role in the increased insulin effects in infants. Several authors found evidence of defective down-regulation of insulin receptors in the hyperinsulinaemic foetus which may have increased insulin binding and thus its metabolic effects [20,23]. In macrosomic infants, at birth and after one month of life, the high VLDL amounts were accompanied with a concomitant increase in serum triacylglycerol and apo B-100. An increase in serum insulin concentrations could explain enhanced hepatic VLDL secretion and hypertriglyceridaemia in macrosomic newborns. In addition, macrosomic newborns (at t0 and t30) also showed higher LDL amounts resulting probably from high VLDL concentrations, since the majority of LDL particles are derived from VLDL after lipoprotein lipase (LPL) action. These abnormalities are also common in adult diabetes and obesity [4,10,18]. However, the VLDL-apo C-II/C-III ratio, which modulates LPL activity, was similar in both infant groups at t0 and t30. High triacylglycerol and VLDL amounts in macrosomic infants suggested that their triacylglycerol production was increased even more than their removal.

Compared to controls, macrosomic newborns presented higher HDL₂ and HDL₃ levels accompanied by higher HDL-apo A-I and -apo A-II amounts, suggesting an increase in the number of HDL particles resulting probably from their enhanced synthesis. This might reflect an insulin-induced increase in LPL activity. Further investigations on LPL activity in these infants are needed. Moreover, at birth and after one month of life, macrosomic as compared to control infants had higher VLDL and LDL cholesteryl esters and enhanced HDL₂

and HDL₃ triacylglycerols. These findings might be related to the excess transfer of cholesteryl esters from HDL to VLDL and LDL, and of triacylglycerols in the opposite direction, probably related to an increased cholesteryl ester transfer protein (CETP) activity. High CETP activity leads to more atherogenic cholesteryl ester-rich VLDL which are catabolized in non hepatic sites such as arterial wall macrophages.

Consistent with previous reports [19,28,31], serum lipid and lipoproteins levels increased during the first month of life in control infants, while the concentrations of VLDL and LDL-apo and lipid components, HDL₂ and HDL₃ amounts were also raised with a concomitant increase in apo A-I and apo A-II levels. These lipoprotein changes are due to increased lipid and apolipoprotein syntheses after birth [28,31]. However, in macrosomic infants, despite a rise in apo A-I levels, HDL₂ and HDL₃ amounts increased weakly during the first month of life.

An important result was the elevated apo B-100/apo A-I ratio in macrosomic infants at birth and at one month of life. This is of considerable interest in view of the predictive value of this ratio for cardiovascular risk. Wang et al. [32] reported that infants with an initially high apo B-100/apo A-I ratio still had high values at the age of 8.5 months.

To obtain essential fatty acids (EFA), the foetus is dependent on EFA transport across the placenta from maternal circulation. Since there is little evidence that the foetus is able to meet the long chain polyunsaturated fatty acid requirement by desaturation-chain elongation of maternal EFA, foetal long chain polyunsaturated fatty acid also derived from maternal circulation [13,17]. C20:4n-6 and C22:6n-3 are chiefly the chain-elongated and desaturated products of C18:2n-6 and C18:3n-3, respectively. In our study, macrosomic newborns showed high proportions of C18:2n-6 in serum triacylglycerol, cholesteryl ester and phospholipid fractions compared to control values. This could be accounted for by maternal high levels of this fatty acid with enhanced placental transfer. A higher C18:2n-6 percentage was shown in serum lipids of diabetic subjects [24].

At one month of life, macrosomic infants as compared to controls, showed lower C18:2n-6 and C18:3n-3 contents in serum lipids accompanied by an increase in C20:4n-6 and C22:6n-3 levels in serum cholesteryl esters and phospholipids. As the two groups of infants were fed the same formula milk, fatty acid abnormalities in macrosomic infants could be due to metabolism-induced changes rather than diet-induced ones. This might result from the enhanced conversion of EFA to their long-chain derivatives, probably related to a higher $\Delta 6$ desaturase activity. Insulin is known to induce $\Delta 6$ desaturation activity.

During the first month, in controls as well as in macrosomic infants, the main changes were an increase in the proportion of C18:2n-6 and a decrease in C20:4n-6 in serum triacylglycerols, cholesteryl esters and phospholipids, which agrees with previous works [28,31].

In conclusion, macrosomia is associated with changes in serum lipid and lipoprotein amounts and compositions. Plagemann et al.[23] reported that infants of IDDM mothers had an increased insulin level at birth which persisted with rising age until 9 years. Persisting changes in insulin levels could explain fatty acid, lipid and lipoprotein alterations in macrosomic infants. Macrosomia should be considered as one of the potential risk factors for later metabolic diseases. Therefore, special health care for these macrosomic infants is recommended including regular examinations, and dietary guidelines.

Acknowledgements

The authors thank A. Magnet, an ESP linguist at the University of Burgundy (France) for editing the manuscript.

This work was supported by the International Research Extension grant 95 MDU 318.

REFERENCES

- 1 Barker DJP (1995) Fetal origins of coronary heart disease. *BMJ* 311: 171-174
- 2 Bartlett GR (1958) Phosphorus assay in column chromatography. *J Biol Chem* 234: 466-69
- 3 Cowett RM, Schwartz R (1982) The infant of the diabetic mother. *Pediatr Clin North Am* 29: 1213-1231
- 4 Desprès JP, Moorjani S, Lupien PJ, Tremblay A, Nadeau A, Bouchard C (1990) Regional distribution of body fat, plasma lipoproteins and cardiovascular disease. *Arteriosclerosis* 10: 497-511
- 5 Dorner G, Plagemann A (1994) Perinatal hyperinsulinism as possible predisposing factor for diabetes mellitus, obesity and enhanced cardiovascular risk later life. *Horm Metab Res* 26: 213-221
- 6 Enzi G, Inelmen EM, Caretta F, Villani F, Zanardo V, Debiasi F (1980) Adipose tissue development in newborns of gestational and insulin-dependent diabetic mothers. *Diabetes* 29: 100-104
- 7 Folch J, Lees M, Sloane-Stanley GH (1957) A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 226: 497-509
- 8 Gambert, P, Farnier, M, Bouzerand, C, Athias, A, Lallemand, C (1988) Direct quantification of serum high density lipoprotein subfractions separated by gradient gel electrophoresis. *Clin Chim Acta* 172: 183-190

- 9 Gambert P, Lallemand C, Archambault A, Maume BF, Padieu P (1979) Assessment of serum cholesterol by two methods : gas liquid chromatography on a capillary column and chemical ionization mass fragmentography with isotopic dilution of (3, 4-¹³C) cholesterol as internal standard. *J Chromatogr* 162:1-6
- 10 Ginsberg HN (1991) Lipoprotein physiology in nondiabetic and diabetic states. Relationship to atherosclerosis. *Diabetes Care* 14: 839-855
- 11 Havel RJ, Eder HA, Bragdon JH (1955) The distribution and chemical composition of ultracentrifugally separated lipoproteins in human serum. *J Clin Invest* 34: 1345-53
- 12 Hertel J, Kuhl C (1986) Metabolic adaptation during the neonatal period in infants of diabetic mothers. *Acta Endocrinol* 277: 136-140
- 13 Innis SM (1991) Essential fatty acids in growth and development. *Progr Lipid Res* 30: 39-103
- 14 Irwin D, O'Lonney PA, Quinet E, Vahouny GV (1984) Application of SDS gradient polyacrylamide gel electrophoresis to analysis of apolipoprotein mass and radioactivity of lipoproteins. *Atherosclerosis* 53: 163-72
- 15 Kalkhoff RK (1991) Impact of maternal fuels and nutritional state on fetal growth. *Diabetes* 40: 61-65
- 16 Kaplan LA, Cline D, Gartside P, Burnstein S, Sperling M, Stein EA (1982) Hemoglobin A1 in hemolysates from healthy and insulin-dependent diabetic children as determined with a temperature controlled mini-column assay. *Clin Chem* 28: 13-18
- 17 Kimura RE (1989) Fatty acid metabolism in the fetus. *Semin Perinatol* 13: 202-210
- 18 Laakso M, Sarlund H, Mykkanen L (1990) Insulin resistance is associated with lipid and lipoprotein abnormalities in patients with varying degrees of glucose tolerance. *Arteriosclerosis* 10: 223-231
- 19 Lane DM, Mc Conathy WJ (1986) Changes in the serum lipids and apolipoproteins in the first four weeks of life. *Pediatr Res* 20: 332-337
- 20 Lautala P, Puukka R, Knip M, Perkkila L (1988) Postnatal decrease in insulin binding to erythrocytes in infants of diabetic mothers. *J Clin Endocrinol Metab* 66: 696-701
- 21 Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randal RJ (1951) Protein measurement with the folin reagent. *J Biol Chem* 193: 265-75
- 22 Merzouk H, Meghelli-Bouchenak M, El-Korso N, Belleville J, Prost J (1998) Low birthweight at term impairs cord serum lipoprotein compositions and concentrations. *Eur J Pediatr* 157: 321-326
- 23 Plagemann A, Harder T, Kohlhoff R, Rohde W, Dörner G (1997) Glucose tolerance and insulin secretion in children of mothers with pregestational IDDM or gestational diabetes. *Diabetologia* 40: 1094-1100

- 24 Poisson JP (1989) Essential fatty acid metabolism in diabetes. *Nutrition* 4: 263-266
- 25 Raivio KO (1985) Carbohydrate and lipid abnormalities in infants of diabetic mothers. *Klin Pediatr* 197: 159-160
- 26 Redgrave TG, Robert DCK, West CE (1975) Separation of plasma lipoproteins by density gradient ultracentrifugation. *Anal Biochem* 65:42-49
- 27 Rovamo LM, Taskinen MR, Kuusi T, Raivo KO (1986) Postheparin plasma lipoprotein and hepatic lipase activities in hyperinsulinemic infants of diabetic mothers and in large for date infants at birth. *Pediatr Res* 20: 623-627
- 28 Sanchez-Pozo A, Ramirez M, Gil A, Maldonado J, Van Biervliet JP (1995) Dietary nucleotides enhance plasma lecithin:cholesterol acyltransferase activity and apolipoprotein A-IV concentration in preterm newborn infants. *Pediatr Res* 37: 328-333
- 29 Slover HT, Lanza E (1979) Quantitative analysis of food fatty acids by capillary gas chromatography. *J Am Oil Chem Soc* 56: 933-943
- 30 Small M, Cameron A, Lunan CB, Macuish AC (1987) Macrosomia in pregnancy complicated by insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes Care* 10: 594-599
- 31 Van Biervliet JP, Vinaimont N, Vercaemst R, Rosseneu M (1992) Serum cholesterol, cholesteryl ester and high density lipoprotein development in newborn infants: Response to formulas supplemented with cholesterol and α -linolenic acid. *J Pediatr* 120: 101-108
- 32 Wang XL, Wilcken DEL, Dudman NPB (1991) Apolipoproteins A-I and B and the B/A-I ratio in the first year of life. *Pediatr Res* 30: 544-549
- 33 Weintrob N, Karp M, Hod M (1996) Short- and long- range complications in offspring of diabetic mothers. *J Diabetes Complications* 10: 294-301

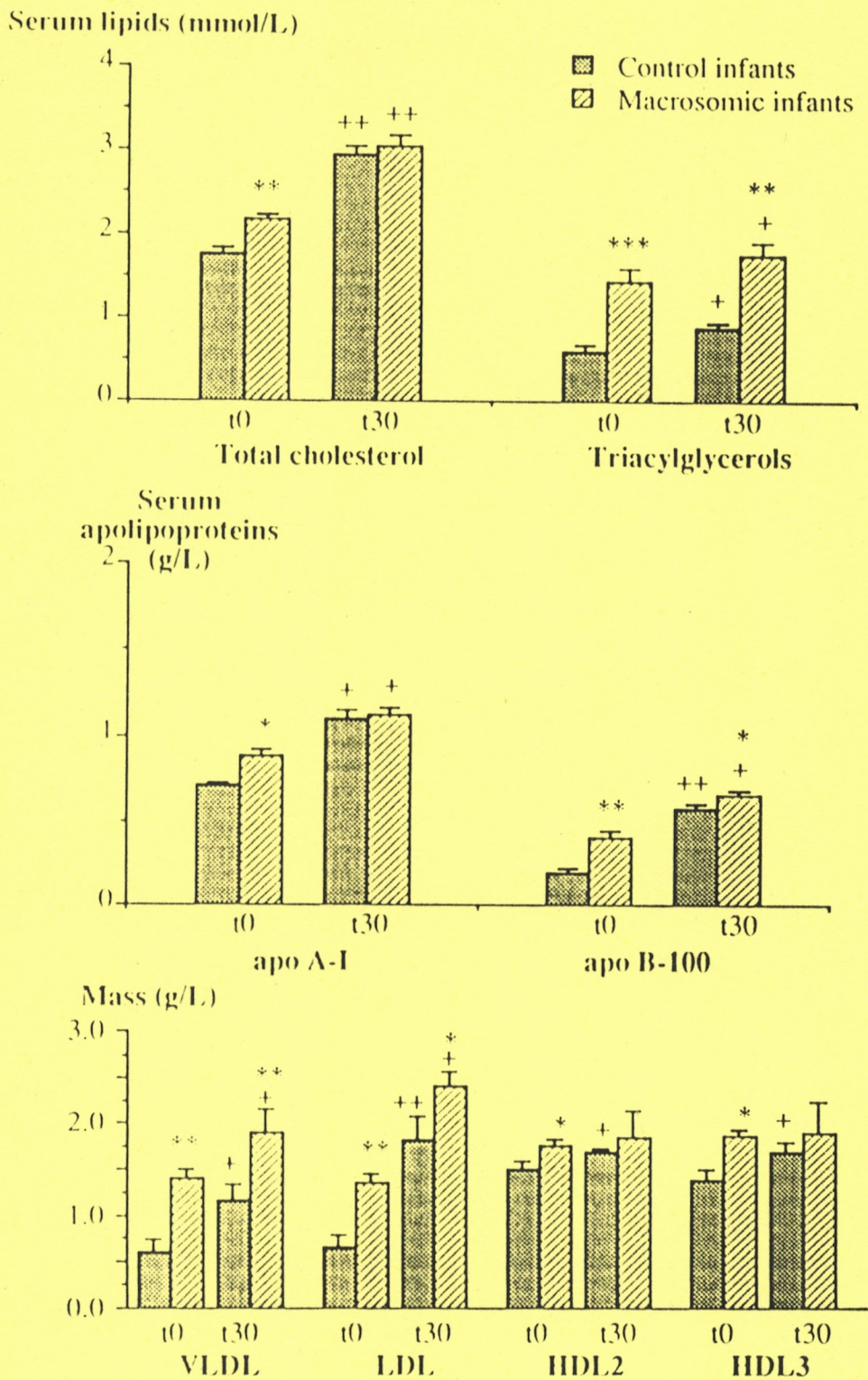


Fig 1: Serum lipid, apolipoprotein (apo A-I and B-100) and lipoprotein (VLDL, LDL, HDL₂ and HDL₃) concentrations in macrosomic and control infants at birth and after one month of life.

Values are means \pm SEM. Significant differences are indicated as: * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ when macrosomic values were compared to control values. + $P < 0.05$; ++ $P < 0.01$ when t30 values were compared to t0 values in the same infant group. t0, birth; t30 one month life; lipoprotein mass is the sum of protein, triacylglycerol, phospholipid, cholesteryl ester and unesterified cholesterol contents of each lipoprotein.

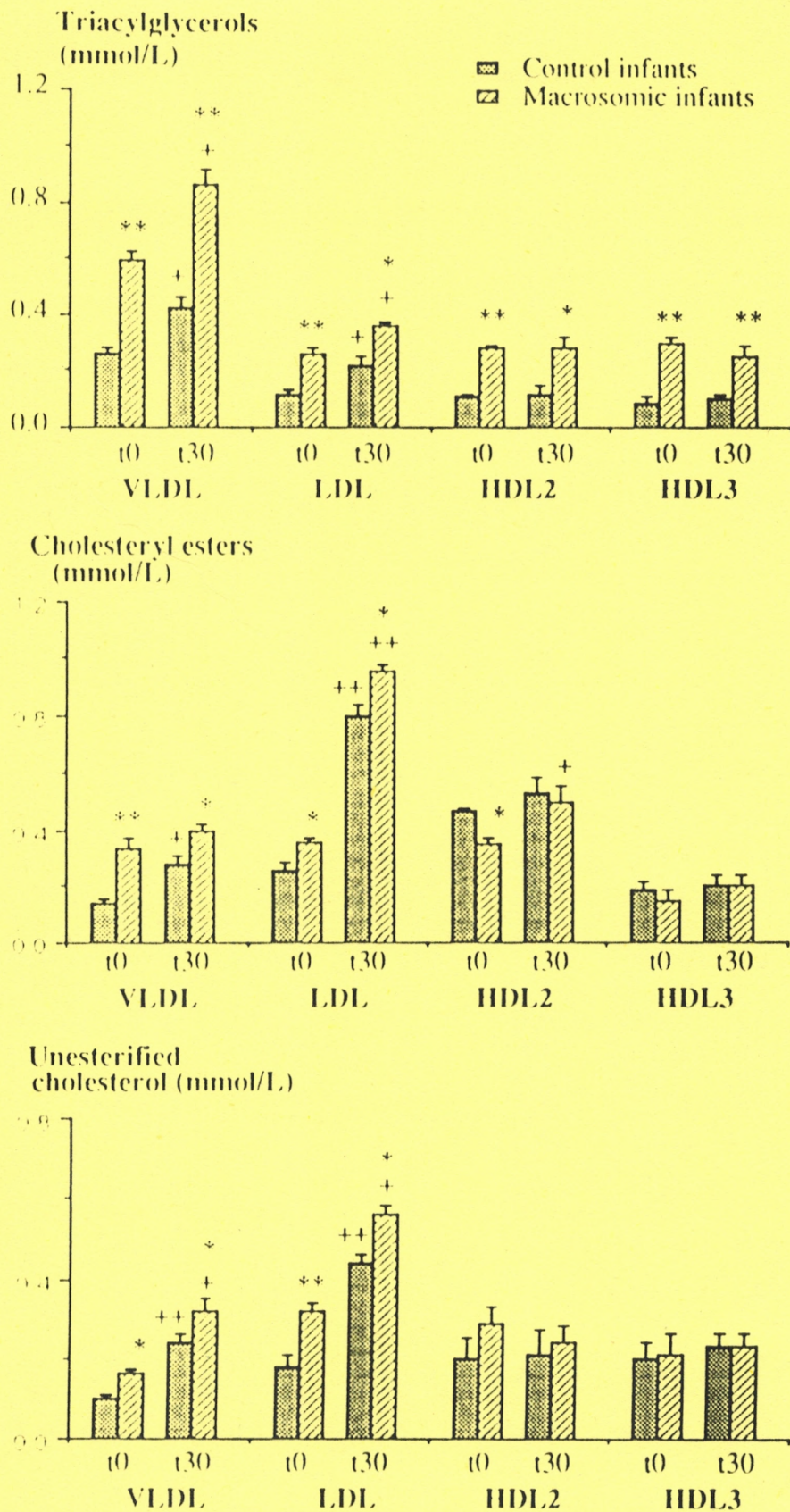


Fig 2: Lipid compositions of serum lipoproteins in macroscopic and control infants at birth and after one month of life.

Values are means \pm SEM. Significant differences are indicated as: * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ when macroscopic values were compared to control values. + $P < 0.05$; ++ $P < 0.01$ when t30 values were compared to t0 values in the same infant group. t0, birth; t30 one month life.

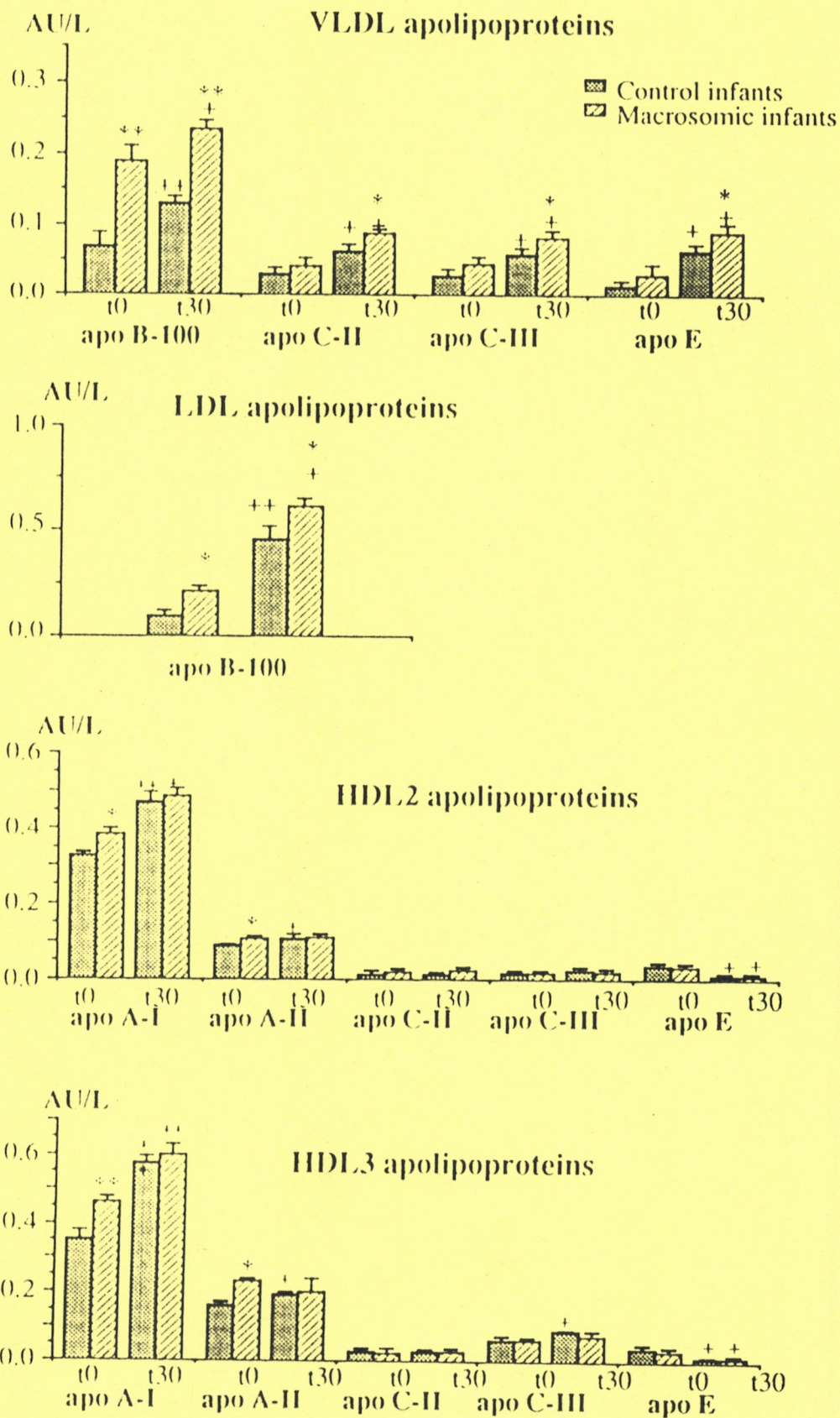


Fig 3: Serum VLDL-, LDL, HDL₂- and HDL₃- apolipoprotein profiles (AU/L) in macrosomic and control infants at birth and after one month of life. Values are means + SEM. Significant differences are indicated as: * P<0.05; ** P<0.01 when macrosomic values were compared to control values. + P<0.05; ++ P<0.01 when t30 values were compared to t0 values in the same infant group. t0, birth; t30, one month life.

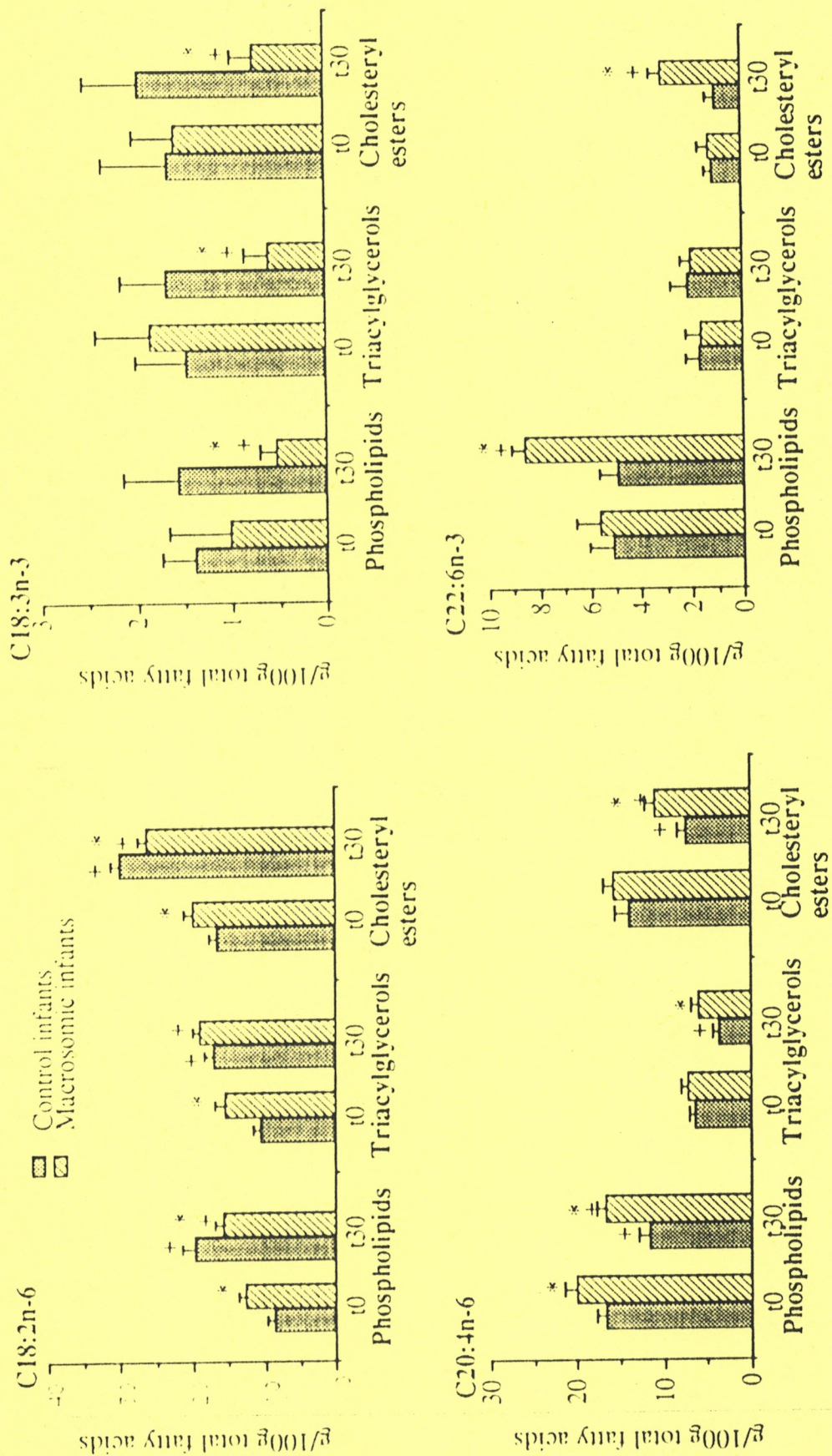


Fig 4: Selected fatty acid compositions of serum lipids in macrosomic and control infants at birth and after one month of life.

Values are means \pm SEM. Significant differences are indicated as: * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ when macrosomic values were compared to control values. + $P < 0.05$; ++ $P < 0.01$ when t30 values were compared to t0 values in the same infant group. t0, birth; t30, one month life.

DISCUSSION

Les nouveau-nés macrosomiques de mères diabétiques ou de mères obèses présentent un profil lipidique, apolipoprotéique et lipoprotéique différent de celui des nouveau-nés eutrophiques témoins de mères normales.

A la naissance, les teneurs sériques en lipides (TG, PL, CL, EC), en apos (A-I, A-II, B100) et en lipoprotéines (VLDL, LDL, HDL₂ et HDL₃) sont significativement plus élevées chez les macrosomiques comparées aux valeurs témoins. Une plus forte disponibilité en nutriments, combinée à l'hyperinsulinisme fœtal peut être responsable de l'augmentation de la lipogenèse et de la synthèse des protéines et des lipoprotéines chez les nouveau-nés macrosomiques (ENZI et al., 1980 et 1981; COWETT & SCHWARTZ, 1982; KALKHOFF, 1991; HOEGSBURG et al., 1993). Une élévation de l'apport en glucose et en acides gras, en provenance de la circulation maternelle, peut expliquer la production accrue par le foie fœtal de triglycérides, d'apo B et de VLDL, et par la suite celle des LDL, après action de la lipoprotéine lipase sur les VLDL sériques.

Les niveaux de l'activité de la lécithine : cholestérol acyltransférase sont semblables chez les témoins et les macrosomiques, alors que les concentrations et la composition des HDL₂ et HDL₃ sont modifiées. Chez les nouveau-nés macrosomiques, l'augmentation des teneurs en apo A-I et apo A-II suggère que le nombre de particules HDL₂ et HDL₃ est plus élevé. Ces particules sont riches en triglycérides et pauvres en esters de cholestérol. Ces modifications résultent probablement d'une augmentation du transfert des triglycérides des VLDL vers les HDL, et des esters de cholestérol dans le sens opposé, suite à une élévation de l'activité des protéines de transfert (CETP). Chez l'adulte, l'activité CETP est élevée chez les obèses, en relation avec l'importance du tissu adipeux qui est un lieu important de synthèse de la CETP (JIANG et al., 1991; ARAI et al., 1994). Comme les macrosomiques présentent un excès de tissu adipeux (ENZI et al., 1980 et 1981), ceci peut augmenter l'activité CETP chez ces nouveau-nés.

De plus, la composition en acides gras des TG, PL et EC sériques est modifiée chez les nouveau-nés macrosomiques de mères diabétiques. Le fœtus est complètement dépendant de la mère pour la couverture de ses besoins en AGE, ceux-ci sont transférés à travers le placenta (KIMURA, 1989). Ainsi, l'augmentation de la proportion de C18:2n-6 dans les différents lipides sériques chez les nouveau-nés macrosomiques peut être due à une élévation de son transfert à travers le placenta. En effet, les teneurs en C18:2n-6 sont généralement augmentées dans les lipides circulants des sujets diabétiques insulino-dépendants (HORROBIN, 1989).

Dans les phospholipides sériques, la proportion du C20 :4n-6 est élevée chez les nouveau-nés macrosomiques. Ceci peut résulter de l'augmentation de la conversion du C18 :2n-6 en C20 :4n-6. La demande en AGPI à longues chaînes, essentiellement le C20:4n-6 et le C22:6n-3, est très élevée chez le fœtus près du terme (INNIS, 1991). Ces AG sont transférés par le placenta et sont captés par l' α -foetoprotéine qui assure leur distribution aux différents tissus fœtaux (CALVO et al., 1988; INNIS, 1991). HOVING et al., (1994) rapportent que près du terme la synthèse des AGPI est active dans le foie fœtal après maturation des $\Delta 5$ et $\Delta 6$ désaturases microsomales. Par ailleurs, l'estérification préférentielle du C20 :4n-6 dans les PL plutôt que dans les autres lipides, est bien connue (HAGVE & CHRISTOPHERSEN, 1984), et peut expliquer l'augmentation de la proportion du C20 :4n-6 seulement dans les phospholipides.

Après 1 mois de vie post-natale, les teneurs et la composition des HDL₂ et HDL₃ chez les macrosomiques deviennent similaires à celles des témoins, tandis que les concentrations sériques en triglycérides, en apo B100, en VLDL et LDL restent plus élevées.

La composition en acides gras des TG, PL et EC reste aussi modifiée. Elle est caractérisée surtout par une diminution des proportions relatives du C18:2n-6 et du C18:3n-3 et une augmentation de celles de leurs produits d'élongation et de désaturation (C20:4n-6, C22:5n-6, C22:6n-3). Ces résultats sont en faveur d'une stimulation de la conversion des acides gras essentiels (AGE) en acides gras polyinsaturés (AGPI) plus longs. La persistance de l'hyperinsulinisme et la plus grande sensibilité des tissus à l'insuline peuvent expliquer ces modifications lipidiques chez les macrosomiques. En effet, l'insuline facilite la synthèse hépatique des VLDL et des triglycérides (SPARKS & SPARKS, 1994). De plus, elle stimule au niveau du foie non seulement l'acétyl-CoA carboxylase, et par conséquent la biosynthèse du malonyl-CoA et l'élongation des acides gras, mais aussi les activités désaturantes (ECK et al., 1979).

Nos résultats montrent aussi que les concentrations et les compositions des lipoprotéines sériques chez les mères diabétiques insulino-dépendantes et chez les mères obèses sont différentes de celles des mères témoins au cours du 3^{ème} trimestre de la grossesse.

La grossesse entraîne normalement une augmentation de tous les lipides et lipoprotéines sériques (KNOPP et al., 1981). Cette hyperlipidémie peut être exagérée par le diabète ou par l'obésité.

L'association diabète et grossesse entraîne des altérations métaboliques qui varient selon le contrôle glycémique et les teneurs sériques en hormones sexuelles.

MONTELONGO et al. (1992) montrent que, chez les femmes enceintes diabétiques bien contrôlées, les concentrations sériques en œstrogènes sont plus faibles que celles des femmes enceintes témoins, ce qui diminue les risques d'une hyperlipidémie. Dans notre travail, les mères diabétiques sont mal contrôlées, puisque leurs concentrations en hémoglobine glycosylée et en glucose sériques sont élevées, comparées aux valeurs témoins. De plus, ces mères diabétiques présentent des teneurs sériques élevées en TG, apo B100 et VLDL, résultant probablement d'une surproduction hépatique des VLDL et/ou d'une réduction du catabolisme de ces lipoprotéines par la LPL, dont l'activité est diminuée en cas de déficience en insuline. Ces anomalies sont classiques lors du diabète insulino-dépendant (GINSBERG, 1991). Les teneurs en VLDL-apoC-III (cofacteur inhibiteur de l'activité LPL) sont élevées chez les mères diabétiques, ce qui peut aussi contribuer à la réduction du catabolisme des VLDL. Cependant, les teneurs sériques en LDL sont augmentées chez les mères diabétiques comparées aux témoins. Comme les LDL dérivent des VLDL après l'action de la LPL, la réduction du catabolisme des VLDL entraîne normalement une diminution de la production des LDL. Toutefois, l'augmentation des VLDL-TG chez les diabétiques entraîne une élévation du transfert de ces TG vers les HDL, et du transfert des EC dans le sens opposé (RITTER & BAGDADE, 1994). Ces VLDL plus denses, appauvries en TG et enrichies en EC sont transformés en LDL par la lipase hépatique (HTGL), dont l'activité est élevée lors du diabète insulino-dépendant (GINSBERG, 1991 ; DULLAART, 1995). Ce mécanisme peut expliquer l'augmentation des teneurs sériques en LDL chez les mères diabétiques. Une synthèse hépatique directe des LDL peut aussi être majorée chez les diabétiques mal contrôlés (GINSBERG, 1991). De plus, le diabète insulino-dépendant est associé à une réduction du catabolisme des LDL puisque une déficience en insuline réduit l'activité des récepteurs LDL cellulaires (MAZZONE et al., 1984).

Chez les mères diabétiques, les HDL₂ et HDL₃ s'enrichissent en triglycérides, probablement à la suite d'une diminution du catabolisme des VLDL-TG. En effet, les altérations du métabolisme des VLDL sont d'une grande importance dans le métabolisme des HDL, puisqu'il y a transfert bidirectionnel des triglycérides et des esters de cholestérol entre ces deux lipoprotéines. En effet, l'action de la LCAT sur les HDL est généralement suivie par celle des protéines de transfert des lipides (FRANCONE et al., 1989). Ces dernières permettent le transfert des EC des HDL₂ vers les lipoprotéines légères VLDL ou LDL, et inversement des TG vers les HDL₂ (TALL, 1993). Ce phénomène s'accompagne d'un enrichissement en TG et d'un

appauvrissement en EC des HDL₂. Ces particules sont alors dégradées dans les capillaires hépatiques par la HTGL qui hydrolyse surtout les triglycérides et les phospholipides. Les HDL₂ sont alors transformées en HDL₃, plus denses et plus petites (PATCH et al., 1984; BARRANS et al., 1994). Lors du diabète, l'augmentation de ces transferts contribue à l'élévation du rapport EC/TG dans les VLDL et les LDL, et à la diminution de ce rapport dans les HDL (BAGDADE et al., 1991). Cependant, dans notre étude, malgré la diminution du rapport EC/TG dans les HDL₂ et les HDL₃, ce rapport n'est pas augmenté dans les VLDL et les LDL des mères diabétiques.

Chez les mères obèses, les teneurs sériques en triglycérides, apo B100 et VLDL sont élevées comparées aux valeurs témoins. Ces modifications sont classiques lors de l'obésité et sont la conséquence, soit d'une augmentation de la production hépatique des VLDL, soit d'une réduction du catabolisme de ces lipoprotéines (FOSTER et al., 1987; WINOCOUR et al., 1992; ECKEL et al., 1995; MOULIN & BERTEZENE, 1996; PORTE et al., 1998). Chez l'homme, le tissu adipeux est fonctionnellement hétérogène selon la localisation anatomique (BJORNTORP, 1984). Le tissu adipeux abdominal est très sensible aux agents lipolytiques par stimulation des récepteurs β adrénergiques. L'effet β adrénergique augmente parallèlement à l'accroissement de la taille des adipocytes intra-abdominaux, effet en partie dû à l'augmentation du nombre de récepteurs β (BJORNTORP, 1990). Ainsi, l'abondance de la graisse périphérique et surtout intra-abdominale entraîne une activité lipolytique élevée secondaire à l'augmentation des récepteurs β adrénergiques conduisant à un excès d'AGL au niveau hépatique. Cet afflux d'AGL au foie serait responsable de l'augmentation de la synthèse des TG, apo B100 et des VLDL (DEL PRATO et al., 1990; MOULIN & BERTHEZENE, 1996). La clairance métabolique des VLDL peut aussi être diminuée suite à la réduction de l'activité LPL en rapport avec l'insulino-résistance, conséquence du surpoids (ECKEL et al., 1995). De plus, ces mères obèses présentent une diminution des teneurs en apo A-I et HDL₂ – cholestérol, alors que celles en HDL₂ et HDL₃ – TG sont élevées. Ces modifications sont fréquentes chez les obèses, et reflètent des modifications de l'activité des enzymes LPL, LCAT, HTGL et des protéines de transfert, qui jouent un rôle important dans le métabolisme des HDL. Comme l'activité LCAT chez les mères obèses est similaire à celles des mères témoins, nos résultats sont probablement en relation avec des modifications de l'activité de la LPL et de la HTGL, ou à une augmentation du transfert des TG et des EC entre VLDL et HDL. En effet, la diminution du catabolisme des VLDL peut contribuer à réduire la formation des HDL. L'augmentation des quantités des VLDL est susceptible d'accroître les échanges avec

les HDL, d'où l'augmentation du contenu en TG des HDL (LAAKSO et al., 1990 ; BRINTON et al., 1994). L'augmentation de l'activité de la HTGL explique la réduction des concentrations en HDL2 sériques chez les obèses (MOULIN & BERTHEZENE, 1996).

Un grand nombre de perturbations du métabolisme des lipides observées chez les macrosomiques à la naissance sont comparables à celles observées chez leurs mères diabétiques ou obèses. Il s'agit en particulier de l'élévation des teneurs sériques en TG et en VLDL, de l'enrichissement en TG des particules HDL. L'hyperglycémie maternelle, observée, aussi bien lors du diabète insulino-dépendant que lors de l'obésité, est certainement un facteur majeur responsable de l'hyperglycémie et par la suite de l'hypertriglycéridémie fœtales. Cependant, les teneurs élevées en TG et en VLDL chez les mères diabétiques et chez les mères obèses peuvent aussi indirectement stimuler la synthèse des VLDL par le foie fœtal. Le placenta possède des récepteurs à apo B/E lui permettant de capter les VLDL de la circulation maternelle (NAOUM et al., 1987 ; COLEMAN, 1989). Les TG captés sont d'abord hydrolysés par la LPL placentaire, et les AG libérés sont soit utilisés par le placenta, soit transférés au fœtus (COLEMAN, 1989). Ainsi, les fortes concentrations en TG et en VLDL chez les mères peuvent entraîner une augmentation du flux d'AGL vers le fœtus qui sont captés par le foie pour la synthèse des TG, apo B100 et VLDL. Ceci peut aussi être à l'origine de l'enrichissement des HDL fœtales en triglycérides. De plus, chez les mères diabétiques et chez les mères obèses, les teneurs en apo A-I sont diminuées comparées à celles des mères témoins. Par contre chez leurs nouveau-nés, les teneurs en apo A-I sont plus élevées que celles obtenues chez les nouveau-nés témoins. Cependant, le rapport apo A-I/B, indicateur classique du risque athérogène, est diminué, aussi bien chez les mères diabétiques et chez les mères obèses que chez leurs nouveau-nés macrosomiques.

Les désordres du métabolisme des glucides sont probablement en grande partie responsables des conséquences à long terme de la macrosomie fœtale, à savoir l'obésité et le diabète. Cependant, les perturbations du métabolisme des lipides et des lipoprotéines sont aussi nombreuses dès la naissance, elles peuvent constituer un facteur prédisposant à l'apparition des maladies cardio-vasculaires à l'âge adulte. En effet, les nouveau-nés macrosomiques présentent une hyperlipidémie mixte, associée à un profil lipoprotéique très athérogène (augmentation des concentrations en VLDL et LDL, diminution des rapports apo A-I/B100, HDL-C/LDL-C et HDL₂-C/HDL₃-C). Les risques propres de cette dyslipoprotéinémie peuvent s'ajouter à ceux de l'hyperinsulinisme et des modifications du métabolisme des glucides.

Il est donc nécessaire de prendre en charge ces anomalies lipidiques associées à la macrosomie fœtale. Ces enfants doivent bénéficier d'un contrôle biologique sanguin régulier afin de vérifier le caractère permanent ou non des anomalies lipoprotéiques et d'organiser une prévention précoce, d'ordre nutritionnel en particulier.

**II. QUELLES SONT LES MODIFICATIONS DU
METABOLISME DES LIPIDES ET DES LIPOPROTEINES
CHEZ LES RATS MACROSOMIQUES, NES DE RATTES
RENDUES DIABETIQUES PAR LA STREPTOZOTOCINE
ET COMMENT EVOLUENT-ELLES AVEC L'AGE ?**

INTRODUCTION

La suralimentation et l'hyperinsulinisme in utero provoquent des modifications du métabolisme fœtal qui peuvent avoir des conséquences à long terme (DÖRNER & PLAGEMANN, 1994). Les nouveau-nés macrosomiques de mères diabétiques sont exposés dès la naissance à des complications respiratoires et métaboliques (COWETT & SCHWARTZ, 1982; MESHARI et al., 1990; ROSENN & TSANG, 1991), et à des risques accrus d'obésité et/ou de diabète à long terme (VOHR et al., 1980; PETTITT et al., 1983 et 1991; PURDY et al., 1996; PLAGEMANN et al., 1997).

Ainsi, l'étude des modifications du métabolisme chez l'individu né macrosomique, de la naissance jusqu'à l'âge adulte, devrait permettre de mieux comprendre la physiopathologie du développement de l'obésité et du diabète, et de mettre en place en particulier, une prévention d'ordre nutritionnel. Cependant, cette étude est difficile chez l'homme en raison de la durée des différentes étapes de la vie (gestation, enfance, adolescence, adulte), et des multiples facteurs qui peuvent influencer la croissance post-natale. Le choix d'un modèle animal est donc nécessaire pour raccourcir ces étapes et pour étudier les relations entre le métabolisme fœtal, la croissance fœtale et post-natale et le développement de l'obésité et/ou du diabète à l'âge adulte.

Plusieurs auteurs se sont intéressés à la macrosomie fœtale chez le rat, induite par l'hyperglycémie maternelle (KIM et al., 1980; CATLIN et al., 1985; AERTS et al., 1990; GELARDI et al., 1990; OH et al., 1991; HOLEMANS et al., 1991).

La streptozotocine, antibiotique oncolytique, extrait de cultures de streptomyces achromogenes, est formée par la condensation d'une molécule de glucose et de nitrométhylurée. Elle est largement utilisée pour provoquer un diabète expérimental chez l'animal, car elle détruit sélectivement les cellules β des îlots de Langherans du pancréas (MALDONATO et al., 1976). Le diabète, provoqué expérimentalement chez le rat, entraîne des symptômes comparables à ceux présents chez l'homme diabétique insulino-dépendant ; il constitue donc un moyen de compréhension de plusieurs phénomènes physiopathologiques liés à cette maladie (KUTSUMI & TAKEDA, 1984; WILSON et al., 1987; STRAPANS et al., 1992; TAVANGAR et al., 1992; SWAMI et al., 1996).

Cependant, l'utilisation de la streptozotocine demande des précautions d'emploi. En effet, certains auteurs montrent que l'injection de la streptozotocine, avant la gestation, affecte la fertilité de la ratte (ERICKSSON et al., 1980; OH et al., 1988; GELARDI et al., 1990). Selon VERCHEVAL et al. (1990), le diabète prégestationnel chez la ratte provoque un retard du développement et de la maturation des embryons, avant même

la nidation (stades morula et blastocytes). D'autres travaux montrent que la streptozotocine, injectée une semaine avant l'accouplement des rattes, provoque des lésions très importantes du placenta, avec altération du transfert des nutriments au fœtus (PRAGER et al., 1974). Comme la streptozotocine passe à travers le placenta, il a été établi que son administration, au cours de la gestation, peut provoquer des effets indésirables chez le fœtus. Cependant, une injection de streptozotocine, faite le 5^{ème} jour de la gestation, permet d'obtenir un diabète chez la mère, sans effet destructeur sur les cellules β du pancréas fœtal. Ce résultat est confirmé par l'augmentation des teneurs plasmatiques en insuline et en peptide C chez les nouveau-nés macrosomiques des rattes diabétiques (OH et al., 1988; CATLIN et al., 1985). L'administration de la streptozotocine au 12^{ème} jour de la gestation n'entraîne pas de différence dans le poids de naissance des rats, bien que les nouveau-nés de rattes diabétiques présentent des teneurs élevées en triglycérides sériques et hépatiques, comparées à celles des témoins (SHAFRIR et al., 1982 et 1987; GOLDSTEIN et al., 1985). De plus, plusieurs auteurs constatent que l'importance de l'hyperglycémie maternelle, qui dépend de la dose de streptozotocine utilisée, affecte différemment la croissance fœtale (AERTS & VAN ASSCHE, 1977; KIM et al., 1980 et 1981; OH et al., 1988; AERTS et al., 1990; GELARDI et al., 1990). Lorsque la concentration plasmatique maternelle en glucose est égale à 1g/L, la croissance fœtale est normale. Si elle dépasse 3g/L, le fœtus présente une hyperglycémie sévère, un hypoinsulinisme et un retard de croissance intra-utérin (HERRERA et al., 1985; AERTS et al., 1990). Pour des taux de glucose maternels situés entre 1 et 3g/L, le fœtus est hyperglycémique, hyperinsulinique et macrosomique (AERTS & VAN ASSCHE, 1977; GELARDI et al., 1990). Ces modifications de la croissance fœtale, au cours d'une grossesse diabétique, ont été attribuées à des modifications parallèles dans les teneurs fœtales circulantes en insuline. En effet, chez le fœtus de rattes rendues diabétiques par la streptozotocine, une glycémie élevée entraîne une hypertrophie et une hyperplasie des îlots de Langerhans. Quand l'hyperglycémie maternelle est importante, les cellules β du fœtus hyperstimulées se dégranulent (AERTS et al., 1990). Dans ce cas, au 20^{ème} jour de la gestation, les concentrations d'insuline pancréatiques et plasmatiques sont abaissées chez les fœtus des rattes rendues fortement diabétiques par la streptozotocine. Le diabète sévère de la ratte est alors associé à un retard de croissance du fœtus, lié à une sous-nutrition fœtale en partie due à l'hypoinsulinisme fœtal (HERRERA et al., 1985; AERTS et al., 1990).

Il faut cependant signaler que le milieu intra-utérin de la ratte gestante n'influence pas uniformément tous les fœtus de la même portée (KIM et al., 1981; OH et al., 1988; GELARDI et al., 1990). KIM et al., (1981) constatent qu'une augmentation du flux des substrats énergétiques de la mère vers le fœtus précède le développement de la macrosomie, et que seulement un petit nombre de fœtus d'une même portée de la ratte diabétique sont macrosomiques, les autres sont normaux. Ceci a été confirmé par d'autres études expérimentales (OH et al., 1988 et 1991; GELARDI et al., 1990).

L'utilisation de ce modèle expérimental de la macrosomie a permis une meilleure compréhension, non seulement des conséquences pour le fœtus des grossesses diabétiques, mais aussi des effets à long terme de la macrosomie. Une prédisposition au diabète est transmise aux fœtus, par la ratte gestante rendue diabétique par la streptozotocine, avec des effets qui persistent à l'âge adulte et même à la génération suivante (VAN ASSCHE & AERTS, 1985; GAUGUIER et al., 1990; DÖRNER & PLAGEMANN, 1994).

Les rats macrosomiques, nés de rattes diabétiques, présentent une croissance pondérale accélérée jusqu'à l'âge adulte (OH et al., 1988; GELARDI et al., 1990 et 1991). De plus, de nombreux troubles du métabolisme des glucides sont notés chez ces rats. La tolérance aux hydrates de carbone, étudiée lors d'une charge orale de glucose, est diminuée chez les rats macrosomiques adultes (CHA et al., 1987; OH et al., 1988; GELARDI et al., 1990 et 1991). Un hyperinsulinisme et une hyperglycémie sont notés lors de la charge orale en glucose chez ces rats âgés de 10 et 12 semaines, qui sont plus prononcés chez les macrosomiques femelles (CHA et al., 1987; OH et al., 1988; GELARDI et al., 1990 et 1991). Une résistance périphérique à l'action de l'insuline peut être à l'origine de ces anomalies. Les expériences de clamp euglycémique hyperinsulinique, permettent d'apprécier l'effet de l'insuline sur le métabolisme du glucose. Elles montrent que le taux de glucose exogène perfusé, nécessaire au maintien de l'euglycémie lors d'un débit fixe d'insuline, est réduit chez les macrosomiques à l'âge de 10 semaines comparés aux témoins, la réduction étant plus importante chez les femelles (GELARDI et al., 1991). Ces résultats indiquent que le métabolisme du glucose est moins sensible à l'insuline chez les macrosomiques comparé à celui des témoins. GELARDI et al., (1990) trouvent que l'interaction insuline-récepteur est normale chez les macrosomiques adultes, et suggèrent que l'insulino-résistance est de nature post-récepteur.

D'autres études expérimentales mettent en évidence une anomalie de la programmation intra-utérine des relations entre hypothalamus et pancréas endocrine

qui serait à l'origine de la prédisposition au diabète. En effet, l'administration d'insuline à des rats nouveau-nés entraîne une hypoplasie permanente du noyau ventro-médian de l'hypothalamus (VMH), avec diminution de la tolérance au glucose et augmentation de la susceptibilité au diabète à l'âge adulte (PLAGEMANN et al., 1992). La destruction expérimentale du VMH chez le rat s'accompagne d'un hyperinsulinisme, d'une hyperphagie, d'une obésité et d'une intolérance au glucose (BRAY et al., 1990). Lorsque les rats sont suralimentés avant le sevrage (portée ajustée à seulement 3 nouveau-nés), il en résulte un hyperinsulinisme précoce, suivi d'une hyperphagie et d'une obésité à l'âge adulte (YOU et al., 1990). De plus, les rats hyperinsuliniques, nés de rattes diabétiques, présentent une hypoplasie du VMH qui persiste après la naissance (PLAGEMANN et al., 1992). Ainsi, l'hyperinsulinisme précoce durant l'organogenèse du cerveau constitue un facteur prédisposant à l'obésité et au diabète à l'âge adulte (DÖRNER & PLAGEMANN, 1994).

Quelques études se sont intéressées aux troubles du métabolisme des lipides chez les rats macrosomiques. VIELIS & OH (1983) montrent que la lipogenèse est augmentée dans le foie et dans le tissu adipeux des rats nouveau-nés macrosomiques hyperinsuliniques. D'après CATLIN et al., (1985), les teneurs en lipides hépatiques et musculaires sont plus élevées chez les macrosomiques âgés de 15 jours, comparées aux valeurs témoins. GELARDI et al., (1990) notent un excès de masse grasse chez les rats macrosomiques âgés de 10 semaines, qui est plus important chez les femelles. Les adipocytes, dont le nombre reste inchangé, sont riches en lipides et sont de plus grande taille que les adipocytes des rats témoins. De plus, ces adipocytes, à l'âge adulte, deviennent moins sensibles à l'action de l'insuline ce qui entraîne une diminution de leur capacité à convertir le glucose en acides gras libres et en triglycérides. Cette diminution est considérée comme un mécanisme de rétrocontrôle de la lipogenèse dans ces cellules adipeuses déjà très riches en lipides (CHA et al., 1987; GELARDI et al., 1990). D'après ces auteurs, cette résistance des adipocytes à l'insuline est plus prononcée chez les macrosomiques femelles adultes.

Chez les macrosomiques, à côté de ces modifications métaboliques, les changements qualitatifs et quantitatifs des lipides et des lipoprotéines peuvent être nombreux. Les troubles du métabolisme des lipides et des lipoprotéines peuvent être initiés in utero et s'amplifient avec l'âge des rats nés macrosomiques. Il est de ce fait intéressant de suivre chronologiquement l'évolution du métabolisme des lipides et des lipoprotéines chez les macrosomiques, dans le but de voir si la macrosomie foetale expérimentale est associée à un profil lipoprotéique favorisant certaines maladies

métaboliques à l'âge adulte, notamment l'obésité et le diabète. De plus, chez les rats macrosomiques, l'étude du métabolisme hépatique des lipides est aussi très importante, vu le rôle du foie dans la synthèse et le catabolisme des lipoprotéines.

Par ailleurs, chez l'homme comme chez l'animal, l'apparition de l'obésité peut être associée à une hyperphagie. Ainsi, la détermination de la consommation alimentaire, chez les rats macrosomiques, permet de voir si la constitution de l'obésité chez ces derniers est d'origine alimentaire ou métabolique.

MATERIEL ET METHODES

I. Animaux rendus diabétiques par la streptozotocine

Après accouplement de rats Wistar adultes, le premier jour de la gestation est déterminé par la présence de spermatozoïdes sur le frottis vaginal des femelles. Par la suite, les femelles sont mises dans des cages individuelles, elles mangent à volonté un régime commercial (composé de 21% de protéines, 4% de lipides, 4,5% de cellulose brute, 5,5% de cendres, 53,5% de glucides et 11,5% d'humidité, 27,8 g/kg de minéraux, de vitamines dont 16 000 UI/kg de Vit A, 2 000 UI/kg de Vit D₃, 170 mg/kg de Vit E ; la composition en acides gras de ce régime, exprimée en % pondéral, est la suivante : 16% de C16:0 ; 1,08% de C16:1n-7 ; 3% de C18:0 ; 22% de C18:1n-9 ; 50% de C18:2n-6 ; 6% de C18:3n-3 ; 0,30% de C20:4n-6 ; 1,62% autres) et elles boivent de l'eau du robinet. Les rattes gestantes sont alors divisées en 2 groupes:

- Un lot expérimental constitué de 30 femelles qui reçoivent, au 5^{ème} jour de gestation une injection intrapéritonéale de streptozotocine diluée dans du tampon citrate (0,1 mol/L, pH 4,2) à une dose de 40 mg/kg de poids corporel.

La streptozotocine se présente sous forme lyophilisée (N-méthylnitrosocarbamyl glucosamine, C₈H₁₅N₃O₇, PM=265,2, Sigma, L'Isle d'Abeau Chesnes, France). 100 mg de streptozotocine sont dilués dans 5 ml de tampon citrate. La dose expérimentale (40 mg/kg) est donc de 2 ml/kg de poids corporel. Le choix de cette dose n'est pas quelconque, bien que différent de celui de la littérature. OH et al., (1988) et GELARDI et al., (1991) montrent qu'une injection de streptozotocine à une dose de 37 mg/kg, au 5^{ème} jour de la gestation, provoque une hyperglycémie moyenne entre 1,5 et 3 g/L chez 50 à 70% des rattes traitées. Ces rattes moyennement hyperglycémiques donnent des nouveau-nés macrosomiques et hyperinsuliniques. Nous avons d'abord utilisé la dose de streptozotocine employée par ces auteurs, à savoir 37 mg/kg. A cette dose, seulement 20% des rattes traitées ont une hyperglycémie moyenne (1,70±0,18 g/L versus 0,85±0,14 g/L chez les témoins au 13^{ème} jour de gestation), pourcentage très faible par rapport à celui donné par OH et al., (1988) et GELARDI et al., (1991) qui est de 50 à 70%. Cette différence peut être due au fait que ces auteurs ont utilisé dans leur protocole expérimental des rats Sprague-Dawley. Par la suite, la dose expérimentale de 40 mg/kg de poids corporel est utilisée. Cette dose est bien inférieure à celle employée (65 mg/kg) par SHAFRIR et al., (1982) au 12^{ème} jour de la gestation et par HERRERA et al., (1985) au 7^{ème} jour de la gestation chez des rattes Wistar. Dans notre cas, l'injection de 40 mg/kg de streptozotocine, au 5^{ème} jour de la gestation, provoque chez 60 % des rattes

traitées une hyperglycémie moyenne comprise entre 1,5 et 3 g/L et permet d'avoir un nombre suffisant de nouveau-nés macrosomiques pour la suite de l'expérimentation.

- Un lot témoin est constitué de 12 femelles gestantes qui reçoivent une injection intrapéritonéale de 2 mL de tampon citrate par kg de poids corporel (0,1 mol/L, pH 4,5) au 5^{ème} jour de la gestation.

Afin de voir si la streptozotocine a été efficace, un prélèvement sanguin à l'extrémité de la queue est effectué aux 13^{ème}, 15^{ème}, 18^{ème} et 20^{ème} jours de gestation, chez les rattes sous streptozotocine et chez les rattes témoins, pour mesurer la glycémie. Le sang est déposé sur une bandelette réactive BM-TEST GLYCEMIE 20-800 (méthode à la glucose oxydase, Boehringer Mannheim, Meylan, France). La lecture se fait à l'aide d'un glucomètre (Beckman glucose Analyser, Palo Alto, CA, USA). Au cours de cette période, la glycosurie est aussi déterminée. Pour cela, les rattes du lot expérimental sont placées dans des cages à métabolisme où l'urine est recueillie. Le taux de glucose dans les urines est déterminé grâce à des bandelettes réactives MULTISTIX AMES (Miles, Paris, France). Seules les rattes diabétiques présentant une hyperglycémie comprise entre 1,5 et 3 g/L (Tableau I) sont sélectionnées (soit 18 rattes sur les 30 sous streptozotocine).

Tableau I. Teneurs sériques en glucose (g/L) chez les rattes gestantes à différents temps de gestation.

	13 ^{ème} jour	15 ^{ème} jour	18 ^{ème} jour	20 ^{ème} jour
Rattes Témoins (n=12)	0,85±0,14	0,90±0,11	1,12±0,13	0,92±0,14
Rattes diabétiques (n=18)	1,70±0,25 *	1,65±0,15 *	1,73±0,22 *	1,98±0,20 *

Chaque valeur représente la moyenne ± ES. La comparaison des moyennes est effectuée par le test 't' de Student. * P < 0,05.

Un nouveau-né est macrosomique lorsque son poids de naissance est supérieur à 1,7 SD (écart type) de la moyenne des poids de naissance des nouveau-nés témoins. Le 1,7 SD correspond au 90^{ème} percentile des courbes humaines, ce qui correspond à 4 kg à terme (OH et al., 1988). Chez le lot témoin, 90% des nouveau-nés ont un poids de naissance inférieur à 1,7 SD de la moyenne des poids de naissance des témoins. Dans le lot expérimental, 70% des nouveau-nés de rattes diabétiques ont un poids de

naissance supérieur à 1,7 SD de la moyenne des poids de naissance des témoins. Les valeurs de la glycémie et de l'insulinémie chez ces nouveau-nés sont corrélées avec le poids corporel. Ce modèle animal se rapproche au maximum de la macrosomie humaine et de ses modifications métaboliques.

Une sélection des portées est effectuée dans les lots expérimental et témoin. Seules les portées entre six et huit naissances sont incluses dans ce travail. Comme le nombre de petits par portée influence la croissance postnatale (CHA et al., 1987), la sélection des portées est importante pour que les mères puissent fournir, jusqu'au sevrage (quatre semaines), une quantité de lait identique pour les différents lots étudiés.

Chaque semaine, le poids des rats est noté, la glycémie est déterminée. A quatre semaines, les petits sont séparés de leurs mères, et sont mis dans des cages par groupes de deux ou trois de même sexe, ils boivent et mangent à volonté le régime commercial.

II. Bilans nutritionnels

Après le sevrage, les deux lots de rats (témoins et macrosomiques) consomment le même régime commercial pendant une période de 2 mois; le but est d'étudier les effets à long terme de la macrosomie. La méthode des bilans permet de connaître l'utilisation métabolique de ce régime par les deux groupes de rats. Huit rats de chaque lot sont placés dans des cages individuelles à métabolisme.

La nourriture ingérée est pesée quotidiennement. Les urines et les fèces sont collectées durant des périodes de 7 jours, du 30^{ème} au 37^{ème} jour (BI), du 53^{ème} au 60^{ème} jour (BII), du 60^{ème} au 67^{ème} jour (BIII) et du 83^{ème} au 90^{ème} jour (BIV). Les urines sont recueillies sur un antiseptique (thymol/isopropanol à 10%) puis conservées à 4°C. Les fèces débarrassées de toute nourriture sont pesées, finement broyées et conservées à -20°C.

II.1. Détermination du contenu en azote

Le contenu en azote des régimes, des urines et des fèces est déterminé après minéralisation par la méthode de NESSLER.

Les bilans azotés (BA), les coefficients d'utilisation digestive apparente de l'azote (CUD_N) et le rapport d'efficacité nutritionnelle (REN) sont calculés aux quatre périodes de bilans (BI, BII, BIII et BIV).

II.2. Détermination des teneurs en urée

L'urée est dosée sur les urines par une méthode enzymatique utilisant une uréase qui transforme l'urée en carbonate d'ammonium (Kit Sera Pak, Miles, Milan, Italie).

II.3. Détermination des contenus en lipides

Les lipides des régimes et des fèces sont extraits selon la technique de DELSAL, (1944). Les coefficients d'utilisation digestive apparente des lipides (CUD_L) sont déterminés.

III. Echantillons sanguins

A la naissance (J0), 20 rats de chaque lot (Témoin et Macrosomique) sont décapités et le sang est recueilli par pool de 4 rats du même lot (GARCIA-MOLINA et al., 1996). Aux jours J30, J60 et J90 de l'expérimentation, 16 rats de chaque lot (8 mâles et 8 femelles) sont anesthésiés au pentobarbital sodique à 6,5% (0,1 mL par 100 g de poids corporel), après 12h de jeûne. Le sang est prélevé par ponction dans l'aorte abdominale, centrifugé à 600 x g pendant 20 min. Le sérum est conservé avec de l'azide de sodium à 0,02% et de l'EDTA- Na_2 à 0,1%, à $-20^\circ C$.

IV. Prélèvements d'organes

Dès la fin du prélèvement sanguin, le foie, le pancréas, le muscle gastrocnémien et le tissu adipeux entourant les reins, les testicules chez le mâle, et les ovaires chez la femelle sont soigneusement prélevés, rincés avec du NaCl à 9 ‰, puis immédiatement pesés. Une partie aliquote des différents organes est immédiatement utilisée pour la détermination des différentes activités enzymatiques. Les restes sont conservés à $-20^\circ C$, jusqu'à leur utilisation pour le dosage des lipides.

V. Analyses biochimiques

V.1. Séparation des lipoprotéines sériques

Les lipoprotéines totales sont isolées à partir de sérum, dont la densité est ajustée préalablement à 1,21 g/ml par addition de KBr sec, selon la méthode de HAVEL et al., (1955), par ultracentrifugation de flottation à 122,000 x g pendant 48 h (ultracentrifugeuse Beckman de type L8-55, rotor 50 Ti ; Beckman instruments, Palo Alto, CA, USA). Les différentes fractions de lipoprotéines (VLDL : $d < 1,006$ g/ml ; LDL-HDL₁ : $1,019 < d < 1,06$ g/ml ; HDL₂₋₃ : $1,063 < d < 1,2$ g/ml) sont séparées à partir des lipoprotéines totales ($d < 1,21$ g/ml) par ultracentrifugation en gradient de densité à 172,000 x g pendant 24 h (rotor SW41 Ti), selon la méthode de REDGRAVE et al., (1975). Chaque fraction de lipoprotéines est ensuite dessalée par passage sur colonne

PD 10, remplie de Sephadex G25M (Pharmacia Fine Chemicals AB, Uppsala, Sweden), équilibrée avec un tampon NaCl 150 mmol.L⁻¹, 0,04% Na₂ EDTA, pH 7,4.

V.2. Détermination des teneurs en protéines totales

Sur les différentes fractions de lipoprotéines, et sur les différents organes (foie, pancréas et muscle) sont dosées les protéines totales par la méthode de LOWRY et al., (1951) utilisant l'albumine sérique bovine comme standard (Sigma Chemical Company, St Louis, MO, USA).

V.3. Séparation et détermination des apolipoprotéines des VLDL et des HDL₂₋₃

La méthode d'électrophorèse des apolipoprotéines sur des plaques de gel de polyacrylamide à 3,5%, en présence de 18% de glycérol, permet la séparation en une seule étape de toutes les apolipoprotéines des différentes fractions de lipoprotéines (MAGUIRE et al., 1989). Cette technique ne nécessite pas la formation d'un gradient de gel, elle est rapide, et les quantités de protéines appliquées sont faibles, 25 µg pour les VLDL et 10 µg pour les HDL. La migration a lieu pendant 6 h à 60 mA et à 4°C. Après électrophorèse, les apolipoprotéines sont fixées à l'aide d'une solution de fixation (contenant 30 g d'acide trichloroacétique et 9 g d'acide sulfosalicylique, dans 200 ml H₂O), puis colorées avec du bleu de Coomassie Brillant G250. Après décoloration, les gels sont analysés à l'aide d'un densitomètre (modèle Profil 26, Sebia, Issy les Moulineaux, France) à 600 nm, afin de quantifier la proportion des différentes apolipoprotéines.

V.4. Détermination des teneurs en lipides totaux

Les lipides totaux de chaque fraction lipoprotéique, du foie, du tissu adipeux, du pancréas et du muscle sont extraits par un mélange chloroforme:méthanol (2:1, v:v) selon la technique de FOLCH et al., (1957). Après évaporation totale du chloroforme, l'extrait lipidique (lipides totaux) est pesé plusieurs fois, jusqu'à poids constant. Entre chaque pesée, l'extrait lipidique est maintenu sous vide au dessiccateur.

Une partie aliquote des lipides totaux, obtenus à partir du foie et des VLDL sériques, sert à la séparation des différents lipides par chromatographie sur couches minces, sur plaques de gel de silice comme précédemment décrite (page 41).

V.5. Analyse de la composition en acides gras des triglycérides, des phospholipides et des esters de cholestérol

Après saponification avec NaOH méthanolique 0,5 N et chauffage à 80°C pendant 15 minutes, les AG des différents lipides sont méthylés avec du BF₃ méthanol (14% en poids) (SLOVER & LANZA, 1979), puis analysés par chromatographie en phase gazeuse.

V.6. Détermination des teneurs en cholestérol, triglycérides et phospholipides

Le **Cholestérol total et libre** est dosé sur le sérum et sur les lipoprotéines par des méthodes enzymatiques (Kits Boehringer, Mannheim, Allemagne) et par chromatographie en phase gazeuse (GAMBERT et al., 1979 et 1982), pour le cholestérol du foie.

Les triglycérides sont dosés par des méthodes enzymatiques (Kits Boehringer, Mannheim, Allemagne). Leur quantité est aussi calculée à partir de leur composition en acides gras, déterminée par chromatographie gaz liquide, en présence d'une quantité connue d'étalon interne.

Les teneurs en phospholipides sont obtenus à partir du dosage de leur contenu en phosphore selon la méthode de BARTLETT(1958).

V.7. Dosage par ELISA de l'insuline (Enzyme Linked Immuno Sorbent, soit l'immunoenzymodosage en phase solide), mise au point dans notre laboratoire

On place dans les puits d'une plaque de microtitration (Immuno 96 F- Type I - NUNC, Kamstrup, Danemark), une quantité constante d'insuline (100 µl d'insuline à 1 mg/ml, dans un tampon carbonate, pH 9,6). Les sérums contenant l'insuline à doser et les anticorps anti-insuline sont mélangés et incubés une nuit à 4°C. Ces mélanges antigène-anticorps sont déposés dans les puits. L'anticorps anti-insuline non lié à l'insuline de l'échantillon, va se fixer sur le support. Après incubation à 37°C pendant 1h et lavage, un second anticorps spécifique marqué (anti IgG marqué à la peroxydase) se fixe à son tour sur l'anticorps anti-insuline. Après une 2^{ème} incubation à 37°C pendant 1heure puis lavage, seul le marqueur fixé au complexe persiste dans le milieu réactionnel. La coloration du milieu est obtenue par addition d'un colorant orthophénylène-diamine (OPD) en présence d'H₂O₂. La coloration est inversement proportionnelle à la concentration d'insuline de l'échantillon. Cette concentration est déterminée à l'aide d'une gamme étalon d'insuline (préparée à partir d'une solution mère de 1500 ng/ml).

V.8. Dosages des activités enzymatiques

V.8.1. Lécithine : cholestérol acyltransférase sérique (LCAT, EC 2.3.1.43)

L'activité de la LCAT est déterminée sur du sérum frais, par conversion du [³H] cholestérol en [³H] cholestérol estérifié, suivant la méthode de GLOMSET & WRIGHT (1964), modifiée par KNIPPING (1986), comme nous l'avons décrite en page 16.

V.8.2. Lipoprotéines lipases tissulaires (LPL, EC 3.1.1.34; HTGL, EC 3.1.1.3)

La LPL (enzyme fixée sur la membrane des cellules vasculaires endothéliales) hydrolyse les TG des chylomicrons et des VLDL. La HTGL (liée à l'endothélium vasculaire hépatique) hydrolyse les TG des remnants de chylomicrons, des IDL, des LDL et des HDL. L'activité LPL est déterminée à partir du niveau d'hydrolyse de TG marqués d'un substrat synthétique et par la mesure de la quantité d'AGL marqués libérés, selon la méthode de NILSSON-EHLE & EKMAN, (1977). Les homogénats (source lipolytique) sont préparés à partir de 100 mg de tissu (foie, muscle, tissu adipeux) selon la technique de TAVANGAR et al. (1992b). L'incubation de ces homogénats avec le substrat se fait en présence d'activateur (apo C-II), seulement pour la LPL des tissus extra-hépatiques (tissu adipeux, muscle). En effet, la lipase hépatique (HTGL) ne requiert pas la présence d'apo C-II comme activateur. Le substrat synthétique est une émulsion de trioléine froide (7 mg), de trioléine marquée ($9,10\text{-}^3\text{H}$; $5,4\ \mu\text{Ci}$ ou $199\ \text{KBq}$) et de lysophosphatidylcholine (0,3 mg) solubilisées dans 2,4 ml de tampon Tris HCl 0,2 M pH 8. Après sonication (3 fois 45 minutes), 300 μl d'une solution de sérum albumine bovine (à 4% dans du tampon Tris/HCl) et 300 μl de sérum humain chauffé à 56°C (source d'apo C-II seulement pour la LPL) sont ajoutés. 100 μl d'homogénats tissulaires sont incubés avec 100 μl de substrat synthétique, pendant 1h, à 30°C sous agitation permanente. La réaction est stoppée par addition de 3,25 ml de tampon d'extraction (chloroforme : heptane : méthanol, 1,25 : 1 : 1,41, v : v : v) et 1 ml de tampon tétraborate (30,55 g de tétraborate K et 13,82 g de carbonate K/L H_2O , pH 10,5). L'extraction des AGL se fait à la suite d'une forte agitation suivie d'une centrifugation pendant 20 minutes à $600 \times g$. Après addition du scintillant, la mesure de la radioactivité portée par les AGL permet de déterminer l'activité lipolytique, exprimée en nmoles AG libérés. $\text{min}^{-1}.\text{g}^{-1}$ de tissu.

V.8.3. Hydroxy méthyl glutaryl-coenzyme A (HMG-CoA) réductase (EC 1.1.1.34)

La HMG-CoA réductase permet la synthèse de l'acide mévalonique par réduction du HMG-CoA, première étape dans la synthèse du cholestérol. L'activité de la HMG-CoA réductase est déterminée à partir de microsomes hépatiques, selon la méthode de PHILLIP & SHAPIRO (1979), basée sur la transformation du HMG-CoA (substrat de la HMG-CoA réductase) en mévalonate (produit de la réaction enzymatique). L'activité totale de l'enzyme est mesurée sur des suspensions microsomales, d'un homogénat de foie, préparées selon la technique de AL-SHURBAJI et al. (1991). La forme active étant

la forme déphosphorylée, l'activité est donc mesurée après un traitement préliminaire des microsomes avec une phosphatase. Le milieu réactionnel contient 200 μ l de suspensions microsomales (0,5 à 1 mg de protéines microsomales), 55 μ l de tampon tris/HCl pH 7,4 et 20 μ l de phosphatase alcaline (0,5 UI). Après préincubation de 60 min à 37°C sous agitation, la réaction est déclenchée par addition de 60 μ l de tampon tris/HCl pH 7,4, 15 μ l de HMG-CoA froid (1,6 μ mol/ml), 20 μ l de [14 C] HMG-CoA (2 μ Ci/ml ou 74 K Bq) et 30 μ l de NADPH (23,3 mg/ml). L'incubation dure 20 min à 37°C sous agitation. Après réaction, l'acide mévalonique est transformé en mévalonolactone en milieu acide (addition de 50 μ l de HCl 5N). La séparation du [14 C] HMG-CoA non transformé et du [14 C] mévalonolactone produit par la réaction enzymatique est réalisée par chromatographie sur couches minces (gel de silice, Kieselgel G60, Merck). Afin d'évaluer les pertes possibles lors de la migration, un marqueur interne, marqué au tritium, le [3 H] mévalonolactone, est utilisé. Le comptage de la radioactivité à la fin de la manipulation est double 14 C et 3 H. L'activité HMG-CoA réductase est exprimée en pmol de [14 C] mévalonolactone formé.min $^{-1}$.mg $^{-1}$ protéines microsomales.

V.8.4. 7 α -hydroxylase (EC 1.14.13.17)

La 7 α -hydroxylase permet la formation du 7 α -hydroxycholestérol à partir du cholestérol, étape initiale dans la transformation du cholestérol en acides biliaires. Le dosage de l'activité 7 α -hydroxylase est réalisé sur des microsomes hépatiques, selon une méthode radioisotopique en utilisant du cholestérol [14 C], méthode décrite par JELINEK et al., 1990. Une prise aliquote de solution microsomale (préparée selon AL-SHURBAJI et al., 1991) est mis à incuber avec 5 à 10 μ g de [14 C] cholestérol (6 μ Ci/ml ou 231 KBq), 50 mM tris acétate, pH 7,5, 20% glycérol, 1 mM EDTA, 2 mM DTT, 0,06% triton X-100, 2 mM NADPH et 1000 U de NADPH réductase, dans un volume de 0,5 ml. L'incubation dure 20 min à 37°C sous agitation à l'abri de la lumière. La réaction est arrêtée en ajoutant 7,5 ml du mélange dichlorométhane :éthanol (5 :1, v :v). Après extraction des lipides, la séparation du 7 α -hydroxycholestérol et du cholestérol restant non transformé se fait par chromatographie sur couches minces ; la radioactivité est mesurée par comptage en scintillation liquide.

L'activité 7 α -hydroxylase est exprimée en pmol de cholestérol transformé.min $^{-1}$.mg $^{-1}$ protéines microsomales.

V.8.5. Acyl-Coenzyme A: Cholestérol Acyltransférase (ACAT) (EC 2.3.1.26)

L'ACAT, enzyme microsomale, catalyse l'estérification du cholestérol. L'activité ACAT est déterminée sur une préparation microsomale hépatique, selon la méthode de

GOODMAN et al., (1964) modifiée par BALASUBRAMANIAM et al., (1978), utilisant un substrat exogène contenant du cholestérol marqué et de l'acide oléique non marqué.

Le substrat exogène est une émulsion préparée par sonication d'une solution contenant 1,7 μmol de cholestérol froid, 3 μCi (111 KBq) de [^3H] cholestérol, 0,8 nmol de sérum albumine bovine, 4 mM MgCl_2 et 2 mM dithiothreitol (DTT) dans un ml de tampon phosphate (0,1 M phosphate, 1 mM EDTA, pH 7,4). Les microsomes sont préparés à partir de 1 g de foie homogénéisé avec 6 ml de tampon tris/saccharose (50 mM tris, 0,3 M saccharose, 1 mM EDTA, pH 7,4), puis centrifugé à 13000 x g pendant 15 min à 4°C (élimination du culot) et recentrifugé à 100000 x g pendant 60 min à 4°C (récupération du culot dans 1 ml de tampon phosphate, pH 7,4). Par la suite, 100 μl de microsomes sont mis à incuber avec 30 μl de substrat marqué, 2 mM d'ATP, 0,2 mM de coenzyme A et de tampon phosphate pH 7,4 dans un volume final de 0,2 ml. Après préincubation de 5 min à 37°C, la réaction est déclenchée par addition de 0,1 mM d'acide oléique. L'incubation dure 30 min à 37°C sous agitation constante. La réaction est arrêtée par addition de 3 ml de chloroforme :méthanol (2 :1, v :v) et 1 ml NaCl 0,9%. Après extraction des lipides, ces derniers sont séparés par chromatographie sur couches minces. La radioactivité mesurée sur les esters de cholestérol permet de déterminer l'activité ACAT.

L'activité ACAT est exprimée en pmol de cholestérol estérifié. $\text{min}^{-1}.\text{mg}^{-1}$ protéines microsomales.

V. Analyse Statistique

Les résultats obtenus à partir de 10 rats par groupe, sont présentés sous forme de moyenne \pm erreur standard. Après analyse de la variance, la comparaison des moyennes est réalisée:

- 1- par le test 't' de Student entre les 2 groupes de même sexe (témoin et macrosomique), au même âge. Les moyennes sont considérées comme significativement différentes quand $P < 0,05$.
- 2- par le test de rang multiple de Duncan (1955) dans un même groupe, en fonction de l'âge. Les valeurs portant des indices différents (a,b,c,d) sont significativement différentes ($P < 0,05$). (STAT VIEW 512+, Brain Power, Calabasas, CA).

RESULTATS

I. Evolution du poids corporel et bilans nutritionnels

I.1. Evolution du poids corporel (Fig. 1)

A J0, le poids des rats macrosomiques est plus élevé que celui des rats témoins ($8,10 \pm 0,30$ versus $5,65 \pm 0,29$ g; $P < 0,05$).

De la naissance (J0) à l'âge de un mois (J30), le poids des témoins mâles et femelles augmente de $3,07 \pm 0,46$ et $2,45 \pm 0,28$ g/j/rat, respectivement. L'augmentation de poids chez les macrosomiques est de $3,90 \pm 0,25$ g/j/rat chez les mâles et de $2,85 \pm 0,33$ g/j/rat chez les femelles. De J30 à l'âge de trois mois (J90), le gain pondéral est en moyenne de 4,5 g/j/rat chez les mâles, et de 3 g/j/rat chez les femelles pour les 2 lots.

A J30, J60 et J90, le poids des rats macrosomiques reste toujours plus élevé que celui des témoins de même sexe et de même âge (+27% et +18% à J30, puis +13% et +15% à J60 et J90 chez les mâles et les femelles, respectivement).

I.2. Bilans nutritionnels

I.2.1. Consommation alimentaire (Fig. 2)

La consommation alimentaire quotidienne (exprimée en g/j/rat) augmente avec l'âge des animaux. En effet, de BI à BIV, les rats témoins et macrosomiques ont une consommation alimentaire qui double pour les mâles, et qui augmente de 1,6 fois pour les femelles. Cependant, l'apport énergétique (exprimé en $\text{kJ/j/P}^{0,75}$) diminue légèrement dans les 4 lots de rats.

La quantité de nourriture consommée par jour, donc l'apport énergétique chez les rats macrosomiques aux différents bilans est semblable à celui des rats témoins.

I.2.2. Azote ingéré et excrété (Fig. 2 et Tableau II)

Une augmentation progressive et significative ($P < 0,05$) de l'ingéré azoté (exprimé en mg/j/rat) est notée du BI au BIV, dans les quatre lots de rats, et il est évidemment corrélé à l'ingéré global, puisque les animaux consomment le même régime (Fig. 2). L'azote ingéré par les rats macrosomiques et témoins est généralement semblable aux différents bilans.

De BI à BIV, l'azote urinaire, uréique et fécal (exprimé en mg/j/rat) augmente significativement chez les témoins et les macrosomiques des 2 sexes (Tableau II).

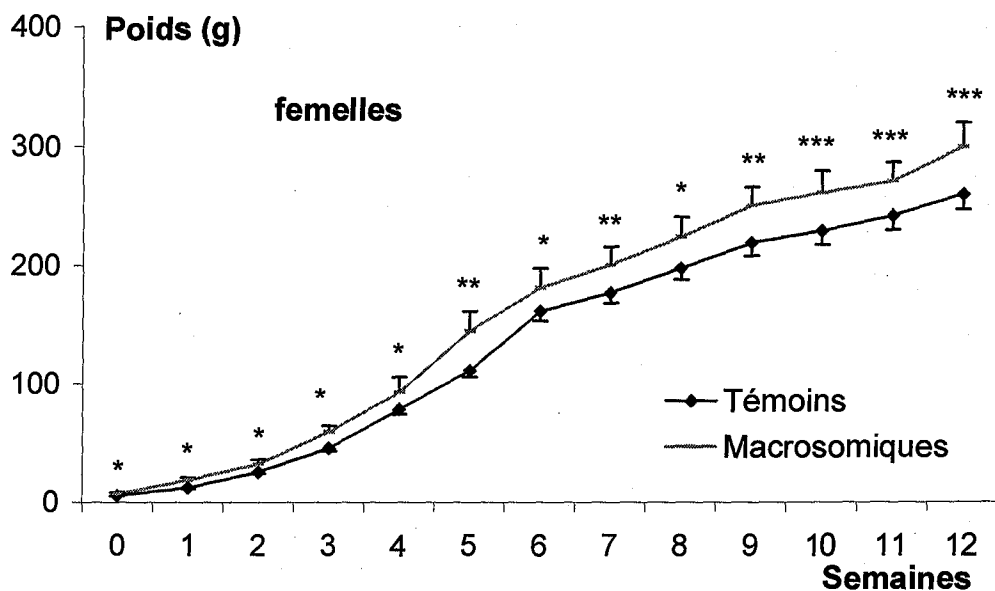
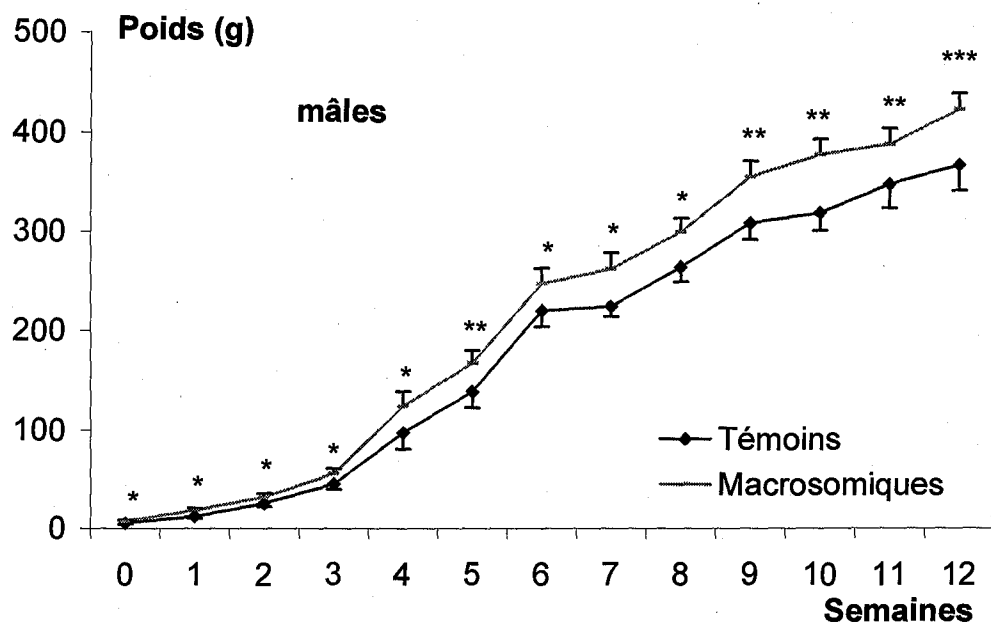


Fig. 1: Evolution du poids corporel (g) des rats mâles et femelles de la naissance jusqu'à l'âge de 3 mois.

Chaque valeur représente la moyenne + ES. La comparaison des moyennes est réalisée au même âge par le test t de Student, après analyse de la variance:

*P<0,05, **P<0,01, ***P<0,001

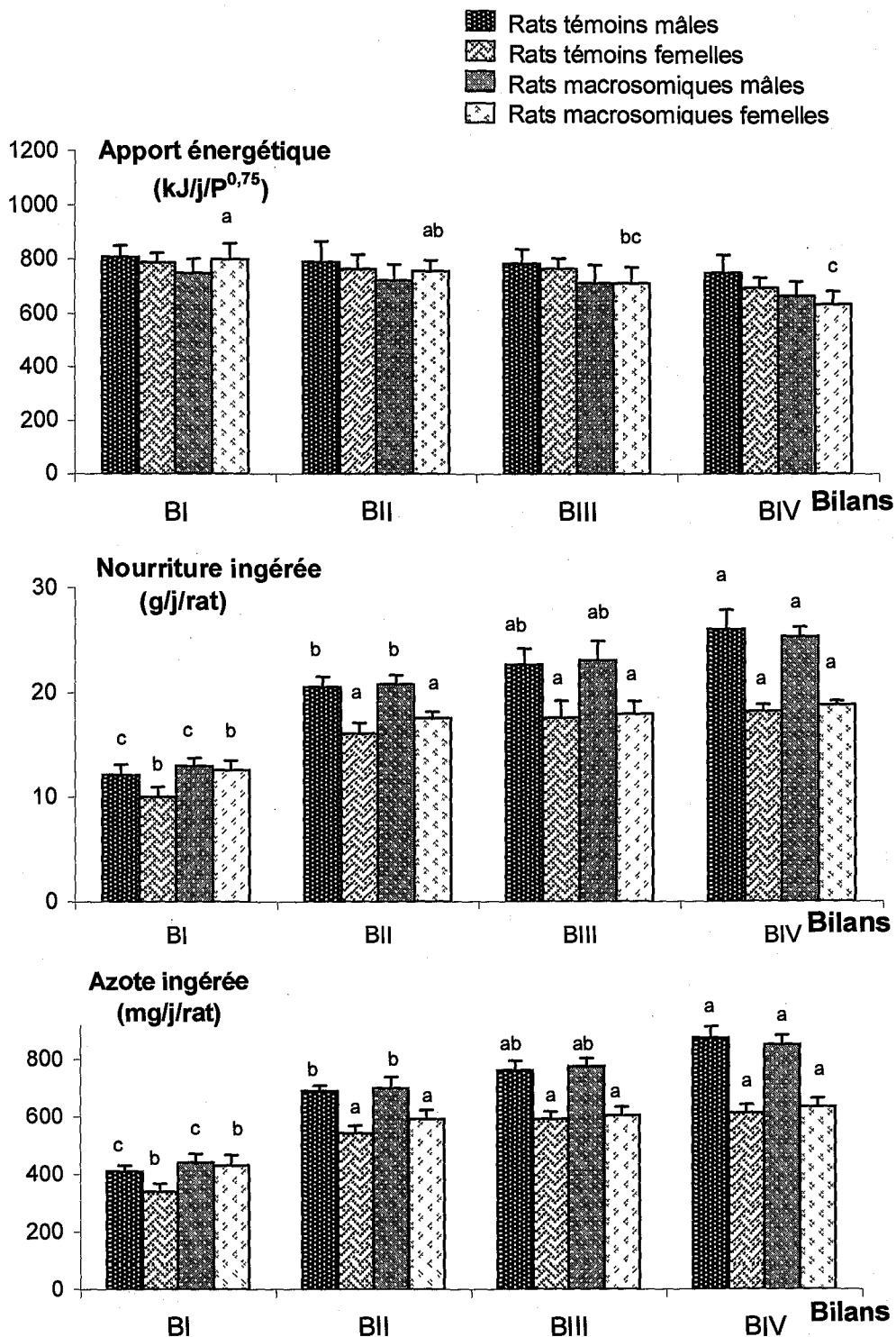


Fig. 2: Apport énergétique, nourriture et azote ingérés au cours des bilans nutritionnels.

Chaque valeur représente la moyenne + ES. BI: 30^{ème}-37^{ème} j; BII: 53^{ème}-60^{ème} j; BIII: 60^{ème}-67^{ème} j; BIV: 83^{ème}-90^{ème} j de l'expérimentation. La comparaison des moyennes entre les macrosomiques et les témoins de même sexe, au même âge, est réalisée par le test "t" de Student, après analyse de la variance. Dans chaque groupe, la classification des moyennes, en fonction de l'âge, est effectuée par le test de rang multiple de Duncan, après analyse de la variance à un facteur. Les moyennes portant des lettres différentes (a,b,c,d) sont significativement différentes (P<0,05).

L'azote urinaire et l'azote uréique sont plus faibles ($P < 0,05$) chez les macrosomiques aux bilans II, III et IV, les différences n'étant pas significatives au bilan I. L'azote excrété total, exprimé en mg/j/rat, chez les macrosomiques, aux bilans BII, BIII et BIV est significativement plus faible que celui obtenu chez les témoins pour les 2 sexes (Tableau II).

1.2.3. Coefficient d'utilisation digestive apparente de l'azote (CUD_N), bilan azoté (BA) et rapport d'efficacité nutritionnelle (REN) (Tableau III)

Les BA et les REN décroissent avec l'âge des animaux, dans les 4 lots de rats. Généralement, les BA et les REN sont plus élevés ($P < 0,05$) chez les macrosomiques, pour les 2 sexes, aux différents bilans.

Aux bilans BI, BII, BIII et BIV, les CUD_N des 4 lots de rats sont similaires.

1.2.4. Coefficient d'utilisation digestive apparente des lipides (CUD_L) (Tableau IV)

Les quantités de lipides ingérés par les rats macrosomiques (mg/j/rat) sont semblables à ceux des rats témoins aux différents bilans.

Au bilan BI, l'excrétion fécale des lipides (mg/j/rat) est similaire chez les macrosomiques et les témoins. Par contre, aux bilans BII, BIII et BIV, la quantité de lipides fécaux est significativement diminuée ($P < 0,05$) chez les macrosomiques, pour les 2 sexes.

Ainsi, les CUD_L chez les macrosomiques mâles et femelles sont plus élevés que ceux des témoins. Plus les animaux sont âgés, plus les différences deviennent importantes.

II. Evolution des teneurs sériques en insuline et en glucose (Fig. 3)

Les teneurs en insuline et en glucose augmentent de façon significative chez les témoins mâles et femelles, durant le premier mois de vie. Au delà, ces teneurs continuent d'augmenter mais de façon non significative. Chez les macrosomiques mâles et femelles, les teneurs en insuline s'accroissent régulièrement avec l'âge des animaux, de telle sorte que les valeurs obtenues à J90 sont 3 fois plus importantes que celles observées à J0.

Cependant, à J30 et J60 les teneurs sériques en glucose chez les macrosomiques, restent similaires à celles observées à J0. Par contre, à J90, une augmentation significative du glucose sérique chez les macrosomiques est notée, comparée aux valeurs observées à J0, J30 et J60.

Tableau II: Azote urinaire et fécal

(mg/j/rat)			BI (30 ^{ème} -37 ^{ème} j)	BII (53 ^{ème} -60 ^{ème} j)	BIII (60 ^{ème} -67 ^{ème} j)	BIV (83 ^{ème} -90 ^{ème} j)
Azote Urinaire	T	Mâles	98,04±18,64 ^d	179,58±20,78 ^c	237,96±28,64 ^b	292,58±20,87 ^a
		Femelles	70,56±15,04 ^d	148,62±13,59 ^c	185,59±18,70 ^b	218,05±17,04 ^a
	M	Mâles	86,62±15,77 ^d	138,76±11,16 ^{c *}	181,05±17,11 ^{b *}	224,87±14,65 ^{a *}
		Femelles	69,62±11,36 ^d	117,48±15,74 ^{c *}	140,55±16,11 ^{b *}	187,76±10,12 ^{a *}
Azote Uréique	T	Mâles	82,03±6,13 ^d	156,03±8,16 ^c	200,72±10,15 ^b	236,17±14,16 ^a
		Femelles	58,85±5,66 ^d	102,99±7,45 ^c	150,74±9,06 ^b	180,37±9,99 ^a
	M	Mâles	75,75±7,08 ^c	112,01±5,66 ^{b *}	130,53±11,08 ^{b *}	168,25±10,08 ^{a *}
		Femelles	51,82±9,12 ^d	84,25±8,05 ^{c *}	105,6±18,49 ^{b *}	125,86±10,04 ^{a *}
Azote Fécal	T	Mâles	54,48±6,08 ^c	67,71±7,05 ^{bc}	75,14±5,78 ^b	86,50±5,12 ^a
		Femelles	36,02±4,77 ^c	56,99±8,02 ^b	55,22±4,32 ^b	68,85±3,36 ^a
	M	Mâles	40,06±6,11 ^c	59,46±6,66 ^b	66,32±5,99 ^b	75,10±6,14 ^a
		Femelles	35,96±5,06 ^c	46,39±6,16 ^{bc}	50,07±4,48 ^b	58,76±3,09 ^a
Azote Excrété	T	Mâles	152,54±21,60 ^d	247,29±19,66 ^c	313,10±25,48 ^b	379,08±11,64 ^a
		Femelles	106,28±16,24 ^d	206,61±17,04 ^c	240,81±17,04 ^b	286,90±10,14 ^a
	M	Mâles	126,50±19,75 ^d	198,22±14,88 ^{c *}	247,37±16,04 ^{*b}	299,97±20,66 ^{*a}
		Femelles	105,58±10,08 ^d	163,87±10,01 ^{c *}	190,62±8,22 ^{b *}	244,52±6,83 ^{a *}

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 8 rats par groupe. T: Témoins; M: Macrosomiques. Après analyse de la variance, la comparaison des moyennes entre macrosomiques et témoins de même sexe, à chaque bilan, est réalisée par le test "t" de Student: * P< 0,05.

Dans chaque groupe, la classification des moyennes, en fonction de l'âge, est effectuée par le test de rang multiple de Duncan, après analyse de la variance à un facteur. Les moyennes d'un bilan à l'autre, portant des lettres différentes (a,b,c,d) sont significativement différentes (P<0,05).

Tableau III: Coefficient d'utilisation digestive apparente de l'azote (CUD_N), Bilan azoté (BA) et Rapport d'efficacité nutritionnelle (REN)

			BI (30 ^{ème} -37 ^{ème}))	BII (53 ^{ème} -60 ^{ème}))	BIII (60 ^{ème} -67 ^{ème}))	BIV (83 ^{ème} -90 ^{ème}))
CUD _N (%)	T	Mâles	86,80±3,58	89,90±1,04	90,06±1,83	89,10±2,12
		Femelles	89,27±2,13	89,61±1,69	90,68±1,88	89,78±2,16
	M	Mâles	87,96±2,07	91,44±1,22	91,40±1,67	91,16±2,08
		Femelles	88,96±1,66	92,21±2,14	92,04±1,98	91,19±1,69
BA (%)	T	Mâles	63 ±1,20 ^a	64 ±1,25 ^b	59 ±2,26 ^c	57 ±2,08 ^d
		Femelles	68 ±2,16 ^a	62 ±1,48 ^b	60 ±1,66 ^c	54 ±1,25 ^d
	M	Mâles	71 ±3,15 ^{a*}	72 ±1,33 ^{a*}	68 ±1,73 ^{b*}	65 ±1,13 ^{c*}
		Femelles	75 ±3,06 ^{a*}	72 ±1,55 ^{b*}	69 ±1,33 ^{c*}	62 ±1,06 ^{d*}
REN	T	Mâles	0,47±0,05 ^c	0,26±0,03 ^b	0,22±0,03 ^b	0,11±0,04 ^a
		Femelles	0,49±0,03 ^b	0,18±0,04 ^a	0,17±0,01 ^a	0,13±0,03 ^a
	M	Mâles	0,49±0,04 ^a	0,28±0,06 ^c	0,35±0,04 ^{b*}	0,21±0,01 ^{c*}
		Femelles	0,54±0,04 ^a	0,26±0,02 ^{b*}	0,29±0,02 ^{b*}	0,23±0,02 ^{b*}

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 8 rats par groupe. T: Témoins; M: Macrosomiques. Après analyse de la variance, la comparaison des moyennes entre Macrosomiques et Témoins de même sexe, à chaque bilan, est réalisée par le test "t" de Student: * P < 0,05.

Dans chaque groupe, la classification des moyennes, en fonction de l'âge, est effectuée par le test de rang multiple de Duncan, après analyse de la variance à un facteur. Les moyennes d'un bilan à l'autre portant des lettres différentes (a,b,c,d) sont significativement différentes (P < 0,05).

$$\text{CUD}_N (\%) = \frac{\text{N ingéré} - \text{N fèces}}{\text{N ingéré}} \times 100 \quad \text{BA} (\%) = \frac{\text{N ingéré} - (\text{N urines} + \text{N fèces})}{\text{N ingéré}} \times 100$$

$$\text{REN} = \frac{\text{Gain de poids (g)}}{\text{Nourriture consommée pour obtenir ce gain de poids (g)}}$$

Tableau IV: Lipides ingérés, lipides fécaux et coefficients d'utilisation digestive apparente des lipides (CUD_L)

			BI (30 ^{ème} -37 ^{ème} j)	BII (53 ^{ème} -60 ^{ème} j)	BIII (60 ^{ème} -67 ^{ème} j)	BIV (83 ^{ème} -90 ^{ème} j)
Lipides Ingérés (mg/j/rat)	T	Mâles	485,02±71,36 ^d	821,03±28,46 ^c	907,66±44,12 ^b	1040,50±66,08 ^a
		Femelles	401,01±68,32 ^c	645,06±50,64 ^b	705,04±39,08 ^{ab}	730,08±36,45 ^a
	M	Mâles	522,11±69,88 ^c	832,14±38,73 ^b	923,81±58,29 ^{ab}	1010,26±80,67 ^a
		Femelles	507,26±79,99 ^c	704,11±62,75 ^b	721,01±60,11 ^{ab}	754 ±42,68 ^a
Lipides Fécaux (mg/j/rat)	T	Mâles	203,15±30,20 ^b	340,62±19,64 ^a	335,21±26,73 ^a	372,58±30,04 ^a
		Femelles	175,57±25,22 ^b	277,37±20,50 ^a	249,22±16,63 ^a	250,92±26,95 ^a
	M	Mâles	208,84±26,57 ^b	249,64±22,31 ^{a *}	230,06±19,98 ^{a *}	252,17±20,11 ^{a *}
		Femelles	197,84±28,04 ^a	172,46±21,96 ^{a *}	194,02±18,95 ^{a *}	194 ±22,02 ^{a *}
CUD _L (%)	T	Mâles	58,12±1,64 ^b	58,26±1,68 ^b	63,08±1,55 ^a	64,01±1,07 ^a
		Femelles	56,49±2,86 ^b	57 ±1,63 ^b	64,65±1,08 ^a	65,22±1,62 ^a
	M	Mâles	60 ±1,97 ^c	70,03±1,97 ^{b *}	75,14±1,86 ^{a *}	75,07±1,44 ^{a *}
		Femelles	61,05±3,64 ^c	67,12±2,04 ^{b *}	73,09±2,43 ^{a *}	74,36±1,73 ^{a *}

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 8 rats par groupe. T: Témoins; M: Macrosomiques. Après analyse de la variance, la comparaison des moyennes entre Macrosomiques et Témoins de même sexe, à chaque bilan, est réalisée par le test "t" de Student: * P< 0,05.

Dans chaque groupe, la classification des moyennes, en fonction de l'âge, est effectuée par le test de rang multiple de Duncan, après analyse de la variance à un facteur. Les moyennes d'un bilan à l'autre portant des lettres différentes (a,b,c,d) sont significativement différentes (P<0,05).

$$\text{CUD}_L (\%) = \frac{\text{Lipides ingérés} - \text{Lipides fécaux}}{\text{Lipides ingérés}} \times 100$$

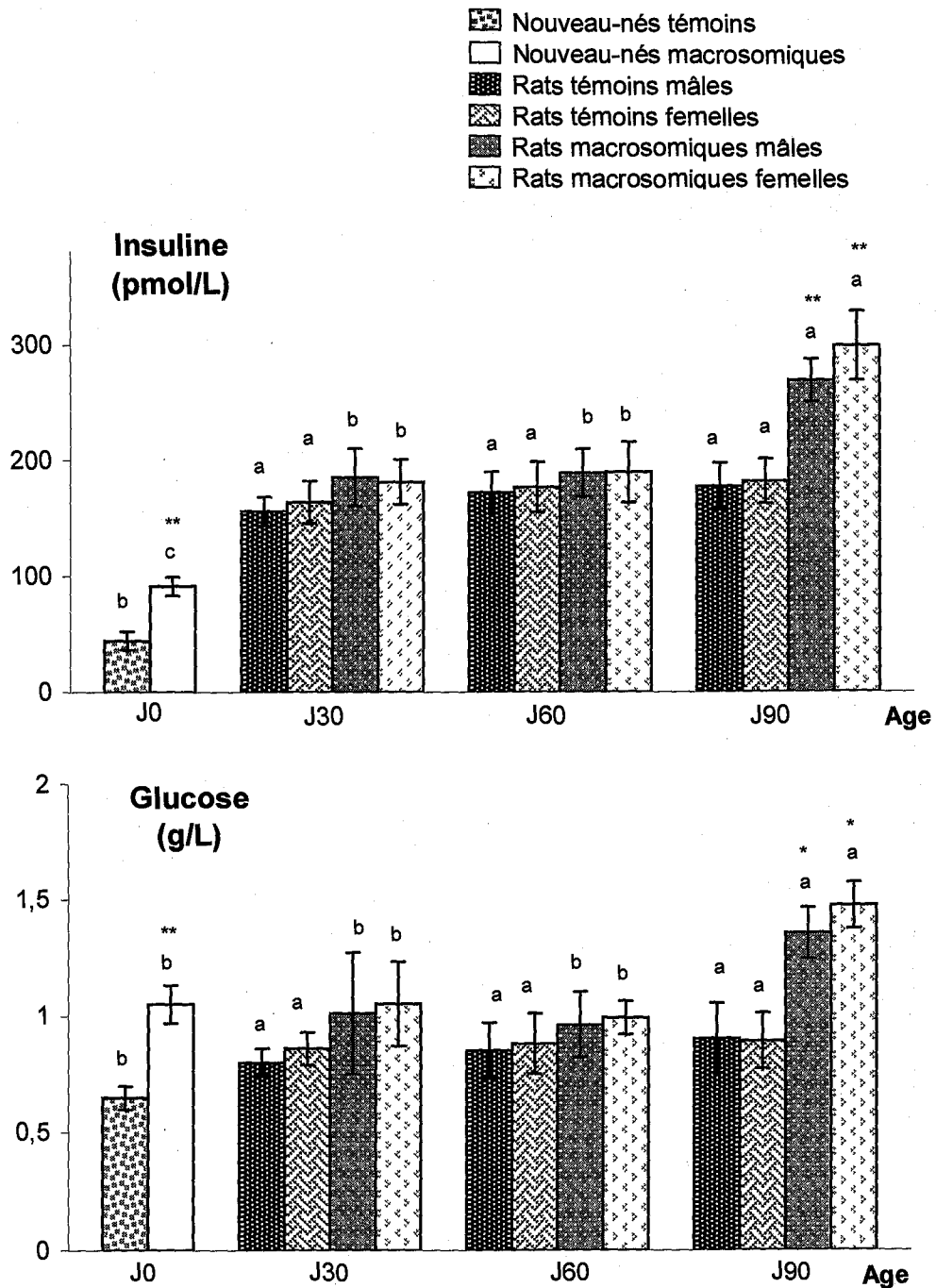


Fig. 3: Teneurs sériques en insuline et en glucose.

Chaque valeur représente la moyenne + ES de 10 rats par groupe. La comparaison des moyennes entre les macrosomiques et les témoins de même sexe, au même âge, est réalisée par le test "t" de Student, après analyse de la variance. * P < 0,05, ** P < 0,01.

Dans chaque groupe, la classification des moyennes, en fonction de l'âge, est effectuée par le test de rang multiple de Duncan, après analyse de la variance à un facteur. Les moyennes portant des lettres différentes (a,b,c,d) sont significativement différentes (P<0,05).

Les rats macrosomiques sont hyperglycémiques et hyperinsuliniques à la naissance. Les teneurs sériques en insuline et en glucose chez les nouveau-nés macrosomiques sont 2 et 1,6 fois plus élevées, respectivement, que celles mesurées chez les témoins. Cependant, à J30 et J60, les teneurs sériques en glucose et en insuline sont similaires dans les 4 groupes de rats. Par contre, à J90, les teneurs sériques en insuline et en glucose sont à nouveau plus élevées chez les macrosomiques mâles et femelles comparés aux témoins de même sexe ($P < 0,01$).

III. Evolution du poids, des teneurs en lipides totaux et en protéines des différents organes et des activités des LPL tissulaires

III.1. Poids relatifs des organes (Fig.4)

Le poids relatif des organes (poids de l'organe/poids du rat x100) renseigne sur la croissance pondérale de l'organe par rapport à celle de l'organisme entier. Alors que le poids relatif du pancréas reste stable au cours du temps, chez les témoins et chez les macrosomiques, le poids relatif du foie diminue significativement avec l'âge chez les rats témoins, mais de façon non significative avec l'âge chez les rats macrosomiques. Les poids relatifs du tissu adipeux et du muscle augmentent ($P < 0,05$) avec l'âge des animaux, dans les 4 groupes de rats.

A J30, J60 et J90, les poids relatifs du foie, du pancréas et du muscle gastrocnémien des rats macrosomiques sont semblables à ceux des rats témoins. Par contre, le poids relatif du tissu adipeux est significativement augmenté chez les macrosomiques. En effet, à J30, il est 2 fois plus élevé que celui des témoins. A J60 et J90, sa valeur est aussi plus élevée chez les macrosomiques comparés aux témoins (+53% et +40%, respectivement, chez les mâles; +63% et +71%, respectivement, chez les femelles).

III.2. Teneurs en protéines totales des différents tissus (Fig.5)

L'évolution au cours du temps montre une augmentation significative des teneurs en protéines du muscle, du pancréas et du foie avec l'âge des animaux, dans les 4 groupes de rats.

A J30, J60 et J90, les rats macrosomiques des 2 sexes présentent une élévation significative des teneurs en protéines, comparées aux valeurs témoins.

III.3. Teneurs en lipides totaux des différents tissus (Fig.6)

Les teneurs en lipides des différents tissus augmentent significativement, avec l'âge des animaux, dans les 4 groupes de rats.

■ Rats témoins mâles
 ▨ Rats témoins femelles
 ▩ Rats macrosomiques mâles
 ▤ Rats macrosomiques femelles

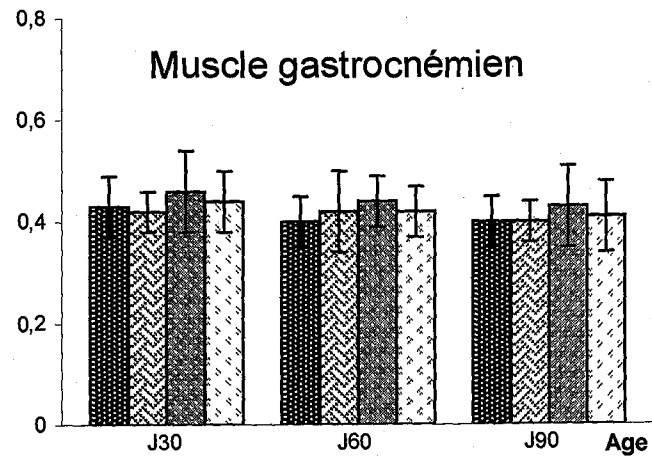
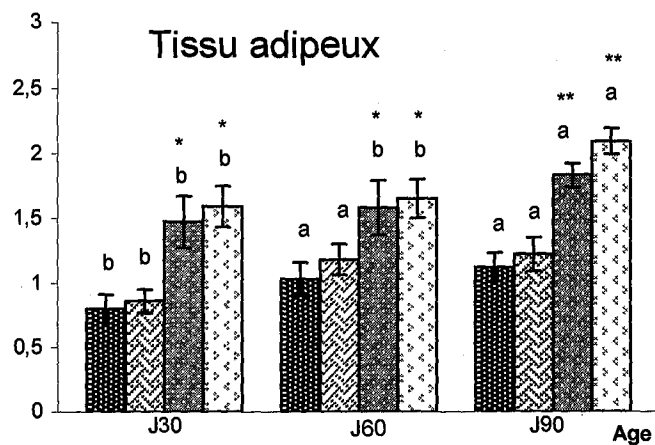
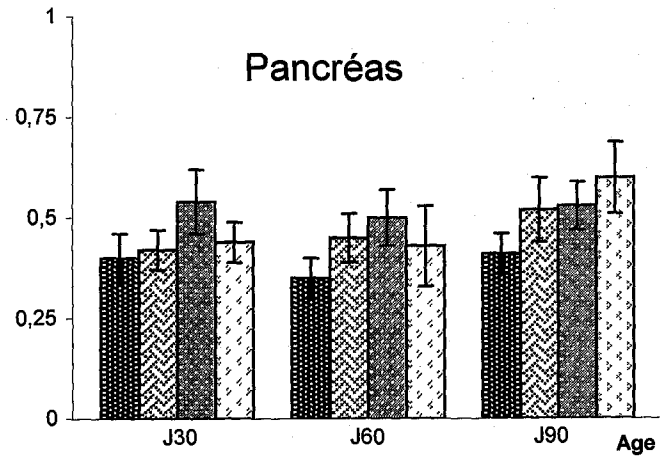
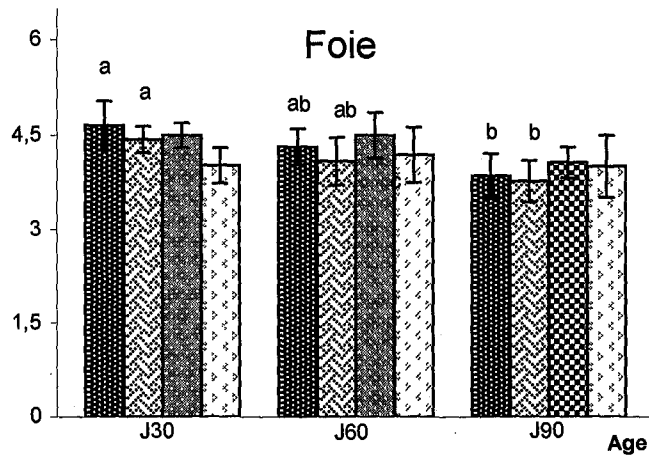


Fig. 4: Poids relatif des différents organes (poids organe (g)/poids corporel (g)x100).

Chaque valeur représente la moyenne + ES de 10 rats par groupe. La comparaison des moyennes entre les macrosomiques et les témoins de même sexe, au même âge, est réalisée par le test "t" de Student, après analyse de la variance. * P < 0,05, ** P < 0,01.

Dans chaque groupe, la classification des moyennes, en fonction de l'âge, est effectuée par le test de rang multiple de Duncan, après analyse de la variance à un facteur. Les moyennes portant des lettres différentes (a,b,c,d) sont significativement différentes (P<0,05).

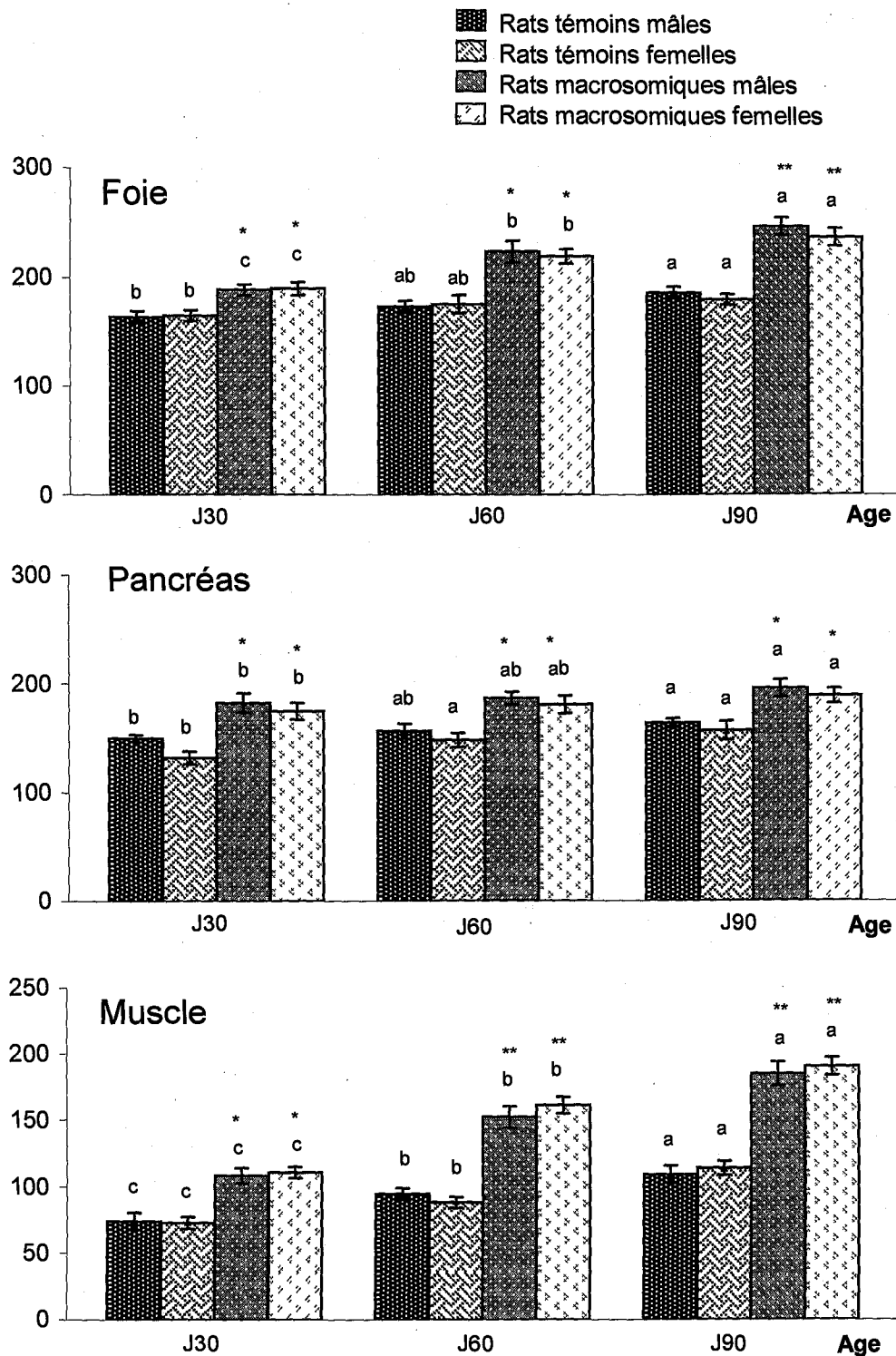


Fig. 5: Teneurs en protéines des différents organes (mg/g tissu).

Chaque valeur représente la moyenne + ES de 10 rats par groupe. La comparaison des moyennes entre les macrosomiques et les témoins de même sexe, au même âge, est réalisée par le test "t" de Student, après analyse de la variance. * P < 0,05, ** P < 0,01.

Dans chaque groupe, la classification des moyennes, en fonction de l'âge, est effectuée par le test de rang multiple de Duncan, après analyse de la variance à un facteur. Les moyennes portant des lettres différentes (a,b,c,d) sont significativement différentes (P<0,05).

■ Rats témoins mâles
 ▨ Rats témoins femelles
 ▩ Rats macrosomiques mâles
 □ Rats macrosomiques femelles

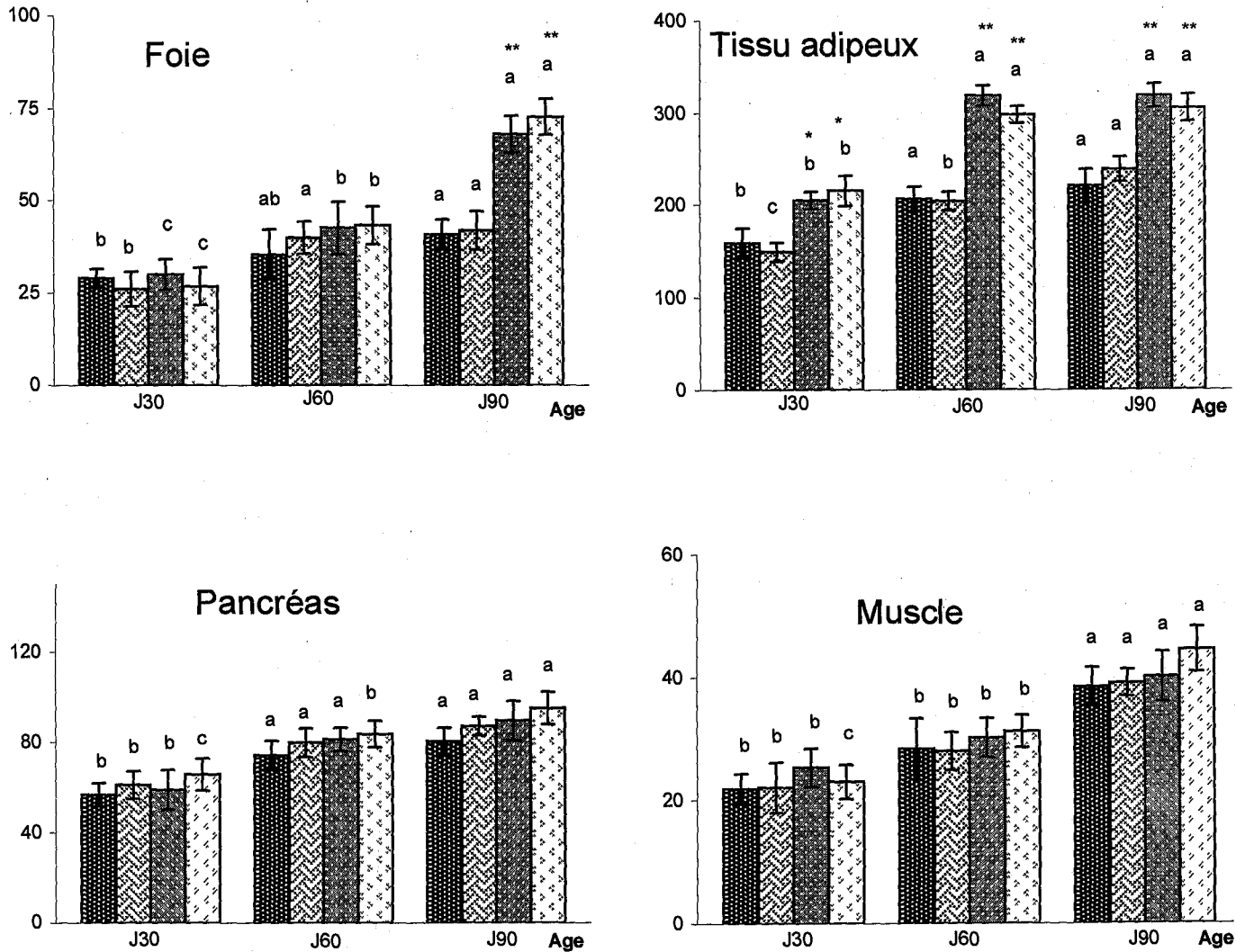


Fig. 6: Teneurs en lipides totaux des différents organes (mg/g tissu).

Chaque valeur représente la moyenne + ES de 10 rats par groupe. La comparaison des moyennes entre les macrosomiques et les témoins de même sexe, au même âge, est réalisée par le test "t" de Student, après analyse de la variance. * P < 0,05, ** P < 0,01.

Dans chaque groupe, la classification des moyennes, en fonction de l'âge, est effectuée par le test de rang multiple de Duncan, après analyse de la variance à un facteur. Les moyennes portant des lettres différentes (a,b,c,d) sont significativement différentes (P<0,05).

A J30, les contenus en lipides totaux du foie, du pancréas et du muscle chez les macrosomiques sont semblables à ceux obtenus chez les témoins, pour les 2 sexes. Par contre, les lipides totaux du tissu adipeux sont significativement plus élevés chez les macrosomiques (+29% chez les mâles et +44% chez les femelles).

De même, à J60, une augmentation ($P < 0,01$) du contenu en lipides totaux du tissu adipeux est notée chez les macrosomiques, alors que les valeurs restent semblables pour les autres organes chez les différents lots de rats.

A J90, les teneurs en lipides du foie et du tissu adipeux sont 1,7 et 1,4 fois plus importantes, respectivement, chez les macrosomiques comparés aux témoins, alors que celles du pancréas et du muscle restent similaires dans les 4 groupes de rats, pour les 2 sexes.

III.4. Evolution des activités des lipoprotéines lipases (LPL) tissulaires

III.4.1. Activité de la lipase hépatique (HTGL) (Fig. 7)

L'activité de la HTGL ($\text{nmol d'AG libérés} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ foie) chez les témoins mâles et femelles diminue avec le temps et passe de 190 ± 8 et 185 ± 9 respectivement, à J30, à 71 ± 5 et 65 ± 3 , respectivement, à J90. De même, l'activité HTGL chez les macrosomiques mâles et femelles varie de 219 ± 8 et 230 ± 10 , respectivement, à J30, à 96 ± 6 et 87 ± 8 , respectivement, à J90.

A J30, l'activité HTGL chez les macrosomiques est plus élevée ($P < 0,01$) que celle des rats témoins, pour les 2 sexes.

A J60 et J90, elle reste significativement plus élevée chez les macrosomiques.

Une augmentation significative de l'activité spécifique (exprimée en $\text{nmol d'AG libérés} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ protéine) est aussi notée chez les macrosomiques à J30, J60 et J90.

III.4.2. Activité de la LPL adipocytaire (Fig. 7)

L'activité LPL adipocytaire (exprimée en $\text{nmol d'AG libérés} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ tissu) chez les témoins mâles et femelles diminue au cours du temps et passe à J30 de 237 ± 8 et 175 ± 16 , respectivement, à 103 ± 7 et 102 ± 7 , respectivement, à J90. La diminution de l'activité LPL avec l'âge est plus prononcée chez les macrosomiques. En effet, elle passe de 289 ± 10 et 215 ± 12 à J30 chez les macrosomiques mâles et femelles, respectivement, à 99 ± 7 et 90 ± 10 , respectivement, à J90.

A J30, l'activité de la LPL du tissu adipeux (en $\text{nmol d'AG libérés} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ tissu) est augmentée de 22% chez les macrosomiques comparés aux témoins dans les 2 sexes.

Cependant, à J60 et J90, aucune différence significative n'est notée entre les différents lots de rats.

■ Rats témoins mâles
 ▨ Rats témoins femelles
 ▩ Rats macrosomiques mâles
 ▤ Rats macrosomiques femelles

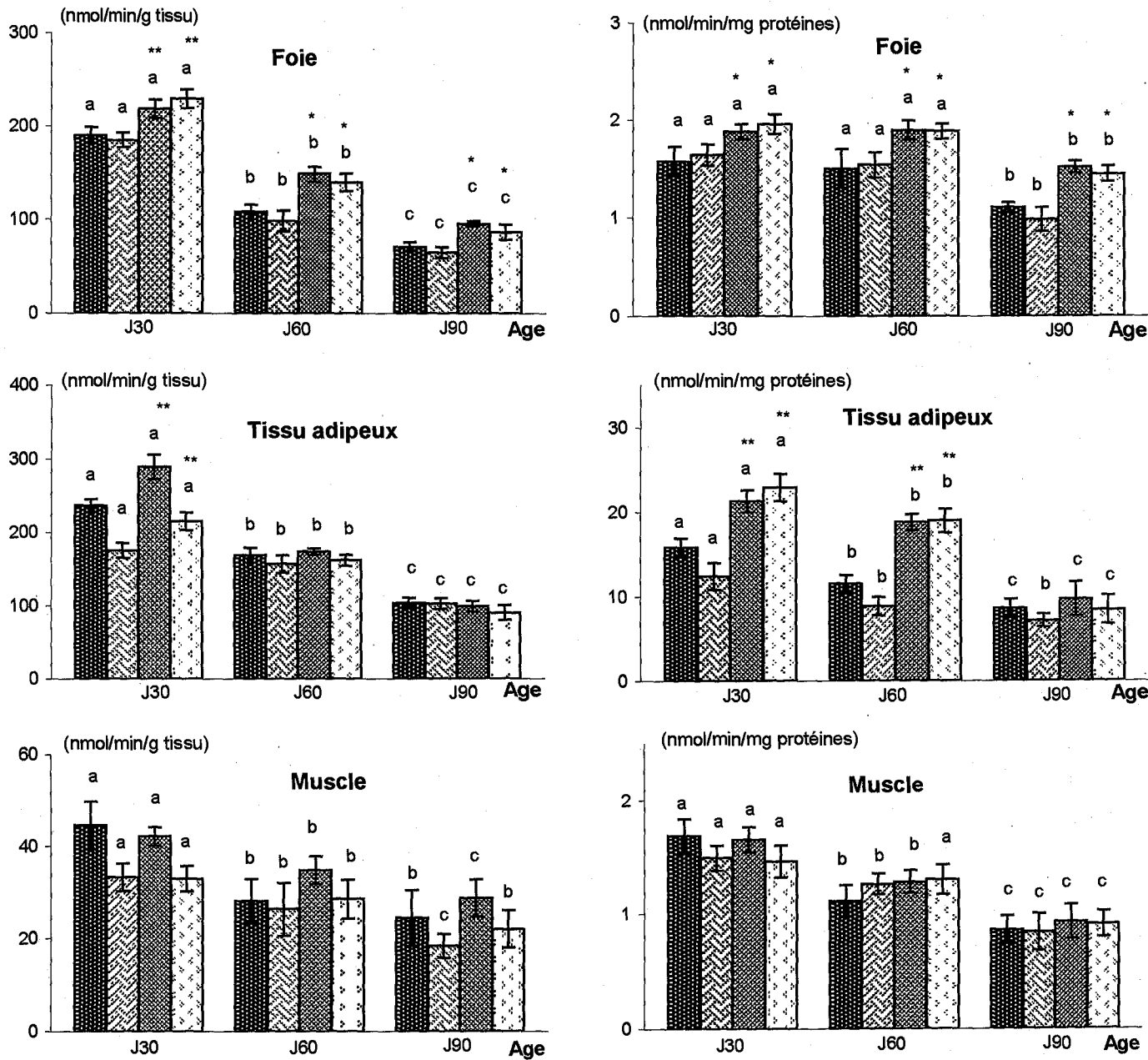


Fig. 7: Activités des lipoprotéines lipases (LPL) tissulaires.

Chaque valeur représente la moyenne + ES de 10 rats par groupe. La comparaison des moyennes entre les macrosomiques et les témoins de même sexe, au même âge, est réalisée par le test "t" de Student, après analyse de la variance. * P < 0,05, ** P < 0,01.

Dans chaque groupe, la classification des moyennes, en fonction de l'âge, est effectuée par le test de rang multiple de Duncan, après analyse de la variance à un facteur. Les moyennes portant des lettres différentes (a,b,c,d) sont significativement différentes (P<0,05).

L'activité spécifique de la LPL adipocytaire (en nmol d'AG libérés.min⁻¹. mg⁻¹ protéine) diminue (P<0,05) avec l'âge des animaux.

Par ailleurs, l'activité spécifique de la LPL adipocytaire chez les macrosomiques, à J30 et à J60, est plus élevée que celle des témoins (P<0,01). A J90, elle est semblable dans les 4 groupes de rats.

III.4.3. Activité de la LPL musculaire (Fig. 7)

L'activité de la LPL musculaire, exprimée en nmol d'AG libérés.min⁻¹.g⁻¹ tissu et en nmol d'AG libérés.min⁻¹. mg⁻¹ protéines, diminue au cours du temps aussi bien chez les témoins que chez les macrosomiques. A J90, elle est en moyenne 1,5 fois plus faible que la valeur obtenue à J30.

A J30, J60 et J90, l'activité de la LPL du muscle, chez les rats macrosomiques, est similaire à celles obtenues chez les rats témoins de même âge et de même sexe.

IV. Evolution des activités des enzymes intervenant dans le métabolisme hépatique du cholestérol

IV.1. Activité de la HMG-CoA réductase (Fig.8)

L'activité de l'enzyme hépatique HMG-CoA réductase diminue avec l'âge des rats. De J30 à J90, sa valeur diminue de 65% chez les mâles et de 62% chez les femelles, aussi bien chez les témoins que chez les macrosomiques.

A J30, J60 et J90, l'activité de la HMG-CoA réductase est significativement plus élevée chez les rats macrosomiques. Chez les macrosomiques mâles et femelles, cette activité est en moyenne 1,7 et 1,5 fois plus importante, respectivement, que celle obtenue chez les témoins de même sexe.

IV.2. Activité de la 7 α -hydroxylase (Fig.8)

L'activité de la 7 α -hydroxylase hépatique reste plus ou moins stable, avec une légère diminution avec l'âge dans les 4 lots de rats.

L'activité de la 7 α -hydroxylase est augmentée (P<0,01) chez les macrosomiques comparés aux témoins ; à J30, elle représente le double de celle mesurée chez les témoins, pour les 2 sexes.

A J60 et J90, cette activité chez les macrosomiques est 2,5 fois plus élevée que celle des témoins.

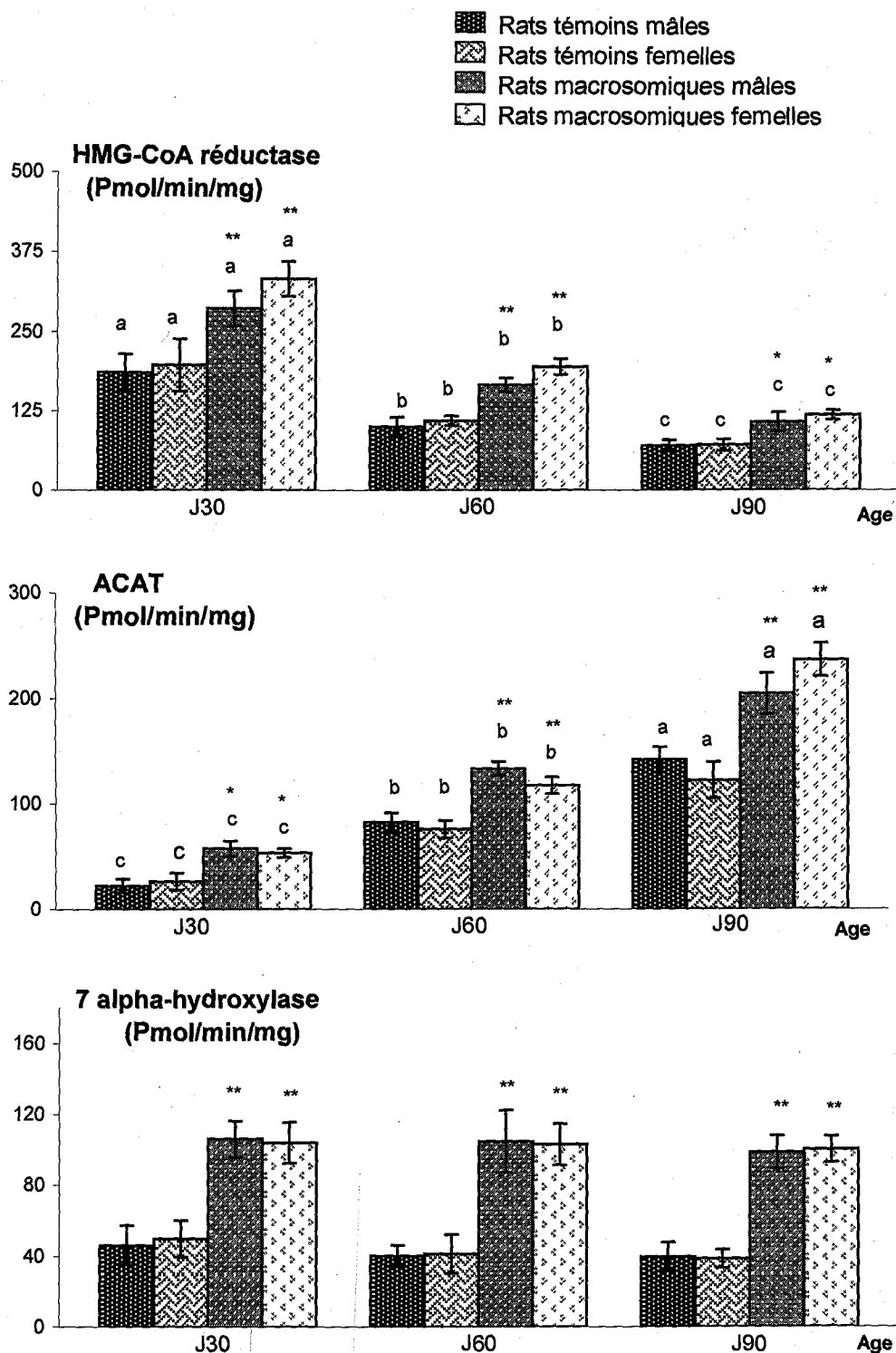


Fig. 8: Activités des enzymes hépatiques HMG-CoA réductase, 7alpha-hydroxylase et acyl CoA cholestérol acyltransférase (ACAT).

Chaque valeur représente la moyenne + ES de 10 rats par groupe. La comparaison des moyennes entre les macrosomiques et les témoins de même sexe, au même âge, est réalisée par le test "t" de Student, après analyse de la variance. * P < 0,05, ** P < 0,01.

Dans chaque groupe, la classification des moyennes, en fonction de l'âge, est effectuée par le test de rang multiple de Duncan, après analyse de la variance à un facteur. Les moyennes portant des lettres différentes (a,b,c,d) sont significativement différentes (P<0,05).

IV.3. Activité de l'ACAT (Fig. 8)

L'activité de l'ACAT augmente significativement avec l'âge des rats. A J90, sa valeur est en moyenne 4 fois plus élevée que celle obtenue à J30, pour les 4 lots de rats.

Une augmentation significative de l'activité ACAT est notée chez les macrosomiques comparés aux témoins, quel que soit l'âge. A J30, sa valeur est 2,5 fois plus élevée chez les macrosomiques, pour les 2 sexes. A J60, cette activité est augmentée de 64% chez les macrosomiques mâles et de 56% chez les macrosomiques femelles, comparée aux valeurs observées chez les témoins de même sexe. A J90, elle est 1,4 et 1,9 fois plus importante chez les macrosomiques mâles et femelles, respectivement, comparés aux témoins de même sexe.

V. Teneurs en lipides du foie et du sérum

V.1. Foie (Fig. 9)

Chez les rats témoins mâles, les teneurs en PL hépatiques augmentent ($P < 0,05$) avec l'âge. Chez les témoins femelles, les taux de PL hépatiques sont aussi corrélés positivement avec l'âge et les valeurs à J90 sont 1,6 fois plus élevées que celles notées à J30 ; les TG hépatiques restent stables, alors que les teneurs en cholestérol hépatiques augmentent de J30 à J60 ($P < 0,05$) pour se stabiliser ensuite.

Les rats macrosomiques mâles montrent une élévation progressive et significative des teneurs en PL et TG hépatiques en fonction du temps, et les valeurs à J90 sont 2 et 1,8 fois plus élevées, respectivement, que celles mesurées à J30.

Chez les macrosomiques femelles, tous les lipides hépatiques augmentent avec l'âge ($P < 0,05$), les teneurs hépatiques en PL, TG, CL et EC à J90 sont 2,5 , 1,8 , 1,7 et 3,3 fois plus élevées, respectivement que celles notées à J30.

A J30 et à J60, les rats macrosomiques ont des taux de PL, de TG, de CL et de EC hépatiques similaires à ceux des rats témoins. Cependant, une augmentation significative des TG hépatiques (+38%) est observée chez les macrosomiques femelles, comparés aux témoins femelles à J60.

A J90, les teneurs en TG et en PL hépatiques sont significativement plus élevées chez les macrosomiques mâles versus témoins mâles (+50% et +58%, respectivement). Les macrosomiques femelles âgées de 3 mois présentent des taux de TG, PL et EC hépatiques significativement plus importants que ceux obtenus chez les témoins femelles de même âge (+79%, +49% et +100%, respectivement).

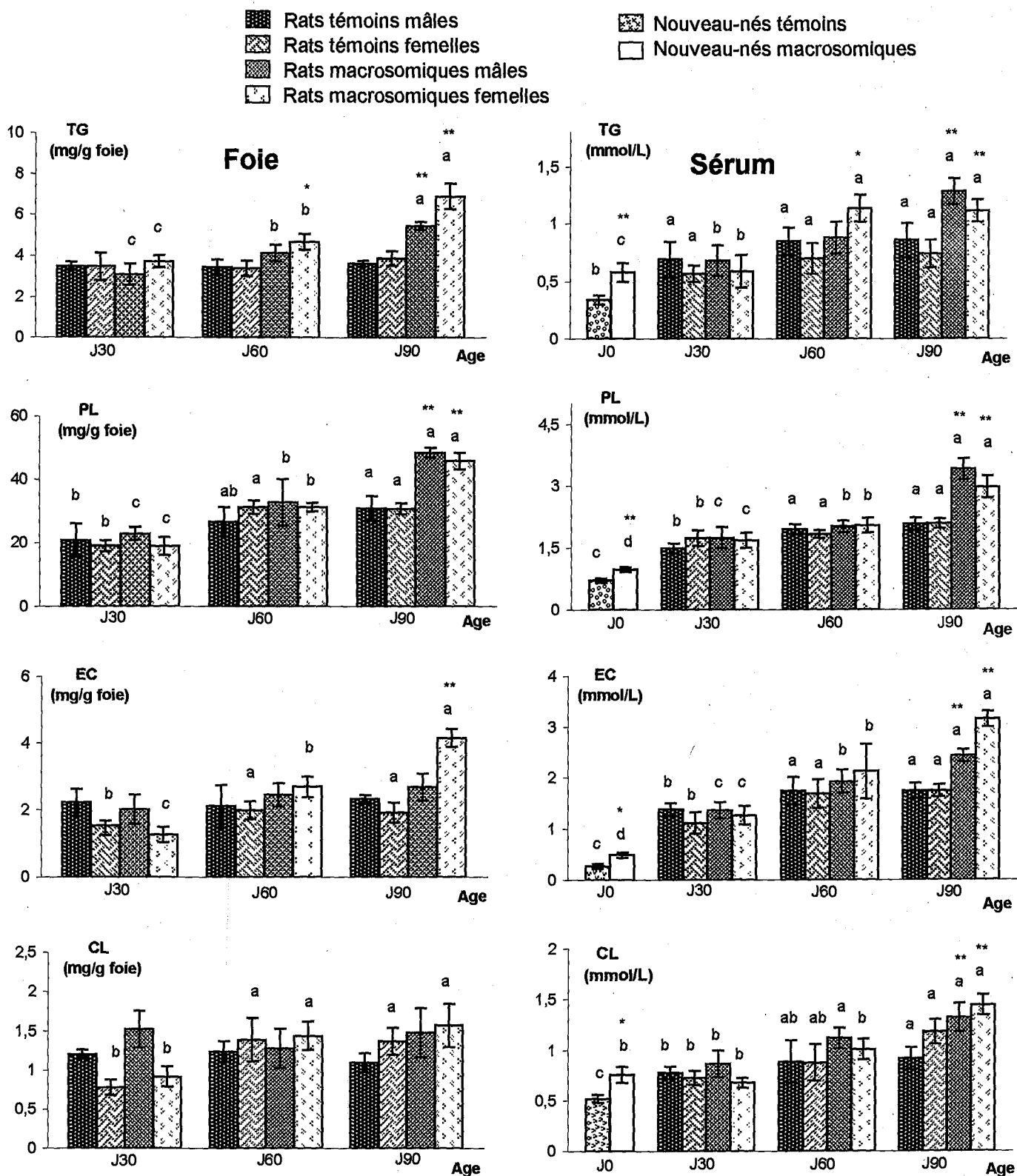


Fig. 9: Teneurs en lipides du foie et du sérum.

Chaque valeur représente la moyenne + ES de 10 rats par groupe. La comparaison des moyennes entre les macrosomiques et les témoins de même sexe, au même âge, est réalisée par le test "t" de Student, après analyse de la variance. * P < 0,05, ** P < 0,01.

Dans chaque groupe, la classification des moyennes, en fonction de l'âge, est effectuée par le test de rang multiple de Duncan, après analyse de la variance à un facteur. Les moyennes portant des lettres différentes (a,b,c,d) sont significativement différentes (P<0,05).

V.2. Sérum (Fig. 9)

Chez les témoins mâles et femelles, les teneurs sériques en PL, TG et cholestérol augmentent ($P < 0,05$) avec l'âge des animaux, jusqu'à 2 mois de vie, puis se stabilisent.

Chez les macrosomiques mâles, les teneurs sériques en lipides augmentent ($P < 0,05$) de la naissance jusqu'à 3 mois de vie. Les teneurs en PL, TG, CL et EC sont 3, 2, 2 et 5 fois plus élevées, respectivement chez les macrosomiques mâles à J90 comparées aux valeurs observées à J0.

Chez les macrosomiques femelles, les teneurs sériques en PL et en cholestérol montrent une évolution au cours du temps, similaire à celle des macrosomiques mâles; par contre, les teneurs en TG à J30 restent semblables à celles obtenues à J0, puis augmentent ($P < 0,05$) jusqu'à J60, pour se stabiliser ensuite.

A J0, les rats macrosomiques présentent des teneurs sériques élevées en PL, TG, CL et EC comparés aux rats témoins (+38%, +70%, +46%, et +81%, respectivement).

A J30, les teneurs sériques en lipides chez les rats macrosomiques se rapprochent de celles des rats témoins, pour les 2 sexes. A J60, aucune différence significative des teneurs sériques en lipides n'est notée chez les rats macrosomiques mâles versus témoins mâles, alors que les rats macrosomiques femelles montrent une élévation significative des teneurs sériques en triglycérides, comparées aux valeurs des témoins femelles (+63%).

A J90, tous les paramètres sériques lipidiques mesurés sont plus élevés ($P < 0,01$) chez les macrosomiques.

VI. Evolution des teneurs en lipides et en apolipoprotéines des VLDL et des LDL-HDL₁ sériques

VI.1. Teneurs et composition des VLDL sériques (Fig. 10 et 11)

L'évolution au cours du temps montre que tous les constituants des VLDL augmentent chez les rats témoins, avec une élévation significative durant le premier mois de vie post-natale. Chez les rats macrosomiques, l'augmentation de ces paramètres avec l'âge est progressive et significative.

A la naissance, les rats macrosomiques ont une masse de VLDL sériques (calculée par la somme de leurs contenus en apolipoprotéines et en lipides) et des teneurs en VLDL-TG plus élevées que celles des témoins (+50% et +60%, respectivement).

A J30, la masse et la composition des VLDL sériques sont semblables pour tous les groupes.

A J60, seules les macrosomiques femelles ont une masse des VLDL augmentée (+40%), suite à une élévation de leur contenu en TG, qui est alors le double de celui obtenu chez les témoins femelles de même âge. Le rapport des composants du cœur de la particule de VLDL (TG + EC) sur les composants de surface (apos + PL + CL) est plus élevé chez les macrosomiques femelles que celui des témoins femelles ($1,95 \pm 0,18$ versus $1,11 \pm 0,16$, $P < 0,01$). De plus, le rapport EC/TG des VLDL des macrosomiques femelles est diminué, comparé à celui des témoins femelles à J60 ($0,07 \pm 0,01$ versus $0,14 \pm 0,02$, $P < 0,05$), indiquant un enrichissement en triglycérides des VLDL aux dépens des esters de cholestérol.

A J90, les rats macrosomiques mâles ou femelles présentent une augmentation ($P < 0,01$) de la masse des VLDL, due à une augmentation de chaque constituant de ces lipoprotéines. Cependant, chez les macrosomiques mâles, l'importance relative de chaque constituant (exprimée en pourcentages) n'est pas modifiée comparée à la valeur obtenue chez les témoins mâles de même âge. Donc le nombre de particules de VLDL est augmenté. Le rapport composants du cœur / composants de surface (TG+EC/PL+apo+CL), ainsi que le rapport EC/TG, sont plus élevés chez les macrosomiques femelles, comparées aux témoins femelles âgées de 3 mois (rapport cœur / surface = $1,37 \pm 0,03$ chez les macrosomiques femelles versus $1,20 \pm 0,04$ chez les témoins femelles, $P < 0,05$; rapport EC/TG = $0,42 \pm 0,05$ versus $0,22 \pm 0,06$, $P < 0,01$). Il y a donc une augmentation du nombre des particules de VLDL, dont la composition est modifiée par un enrichissement en esters de cholestérol.

VI. 2. Teneurs et composition des LDL-HDL₁ sériques (Fig. 10 et 12)

Chez les rats témoins, au cours du 1^{er} mois de vie post-natale, la masse des LDL-HDL₁ sériques diminue ($P < 0,05$). Ceci s'accompagne d'un changement de leur composition, avec un enrichissement en EC et un appauvrissement en apos et en TG. Après ce premier mois de vie, la masse et la composition des LDL-HDL₁ restent plus ou moins stables au cours du temps chez les rats témoins des 2 sexes. Chez les macrosomiques, une évolution semblable à celle des témoins est notée pendant le 1^{er} mois de vie post-natale. Au-delà, tous les constituants apolipoprotéiques et lipidiques des LDL-HDL₁ augmentent ($P < 0,05$) avec l'âge des animaux, et à J90 les valeurs sont 2 fois plus élevées que celles observées à J30.

A J0, la masse des LDL-HDL₁ chez les macrosomiques est plus élevée que celle des témoins (+50%), suite à une élévation de leur contenu en apos et en lipides.

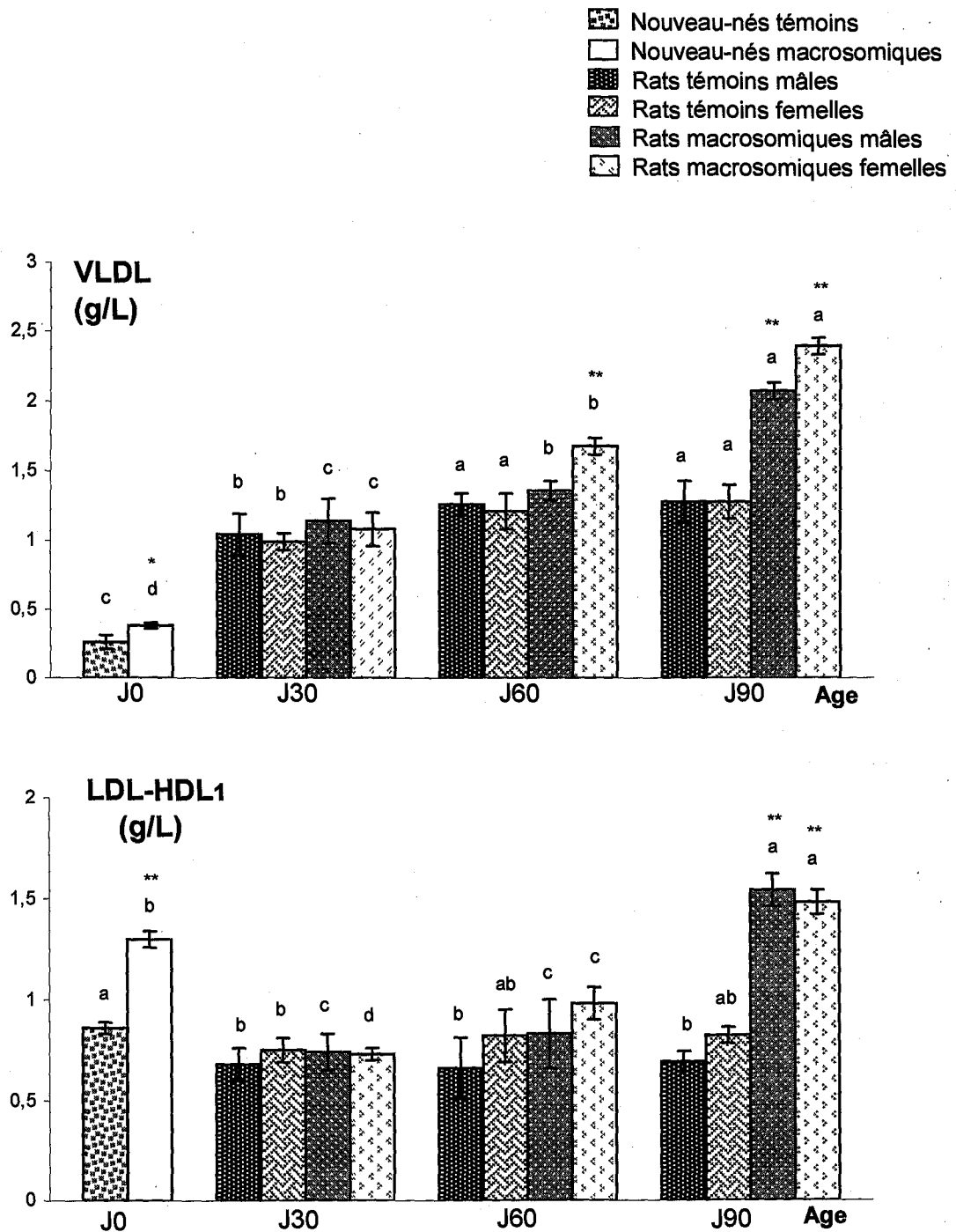


Fig. 10: Teneurs en VLDL et LDL-HDL1 sériques.

Chaque valeur représente la moyenne + ES de 10 rats par groupe. La masse des lipoprotéines est obtenue par la somme des teneurs en protéines totales, phospholipides, triglycérides, cholestérol libre et esters de cholestérol de chaque lipoprotéine. La comparaison des moyennes entre les macrosomiques et les témoins de même sexe, au même âge, est réalisée par le test "t" de Student, après analyse de la variance.

* P < 0,05, ** P < 0,01.

Dans chaque groupe, la classification des moyennes, en fonction de l'âge, est effectuée par le test de rang multiple de Duncan, après analyse de la variance à un facteur. Les moyennes portant des lettres différentes (a,b,c,d) sont significativement différentes (P<0,05).

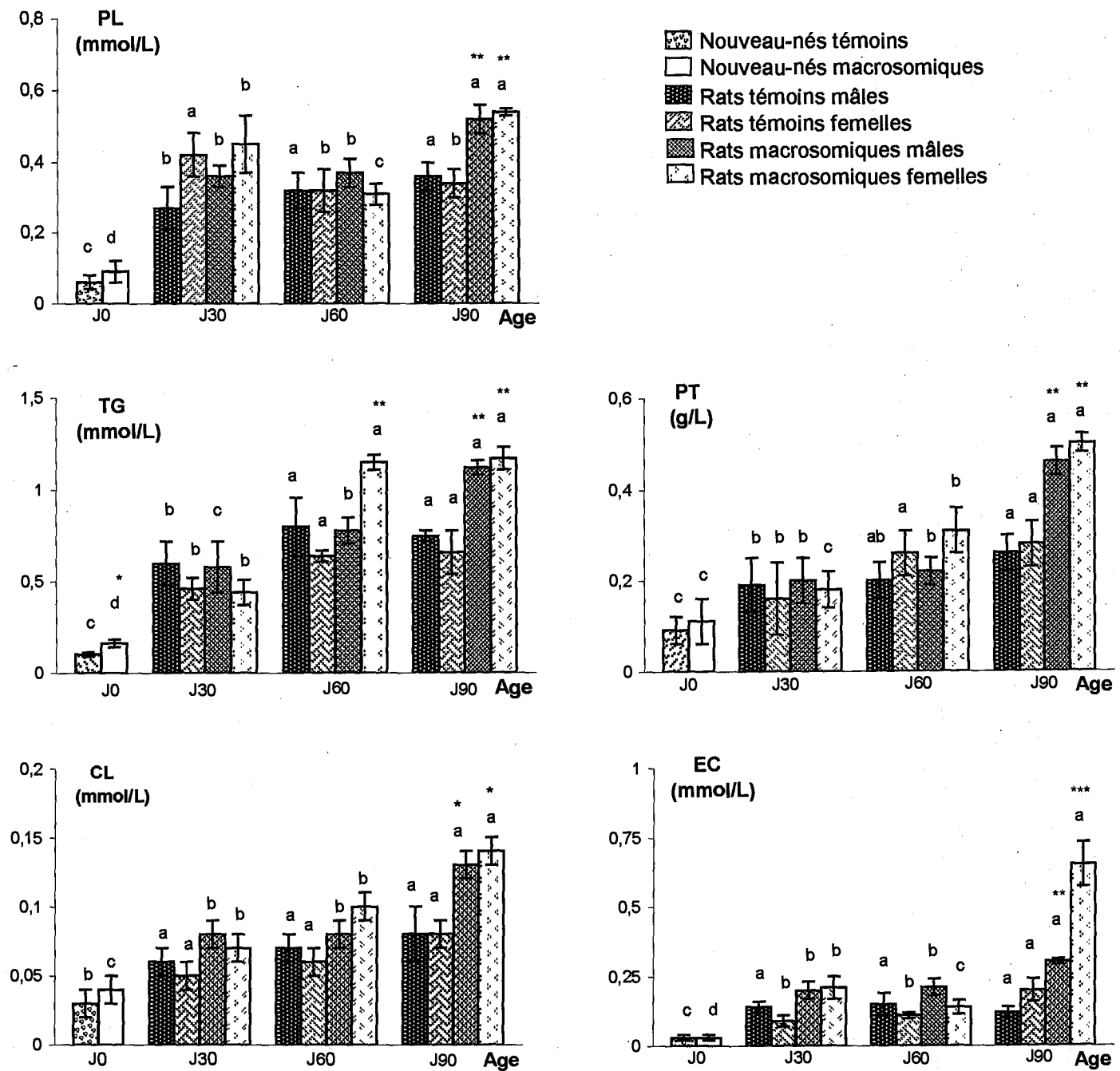


Fig. 11: Teneurs en apolipoprotéines totales (PT) et en lipides des VLDL sériques.
 Chaque valeur représente la moyenne + ES de 10 rats par groupe. La comparaison des moyennes entre les macrosomiques et les témoins de même sexe, au même âge, est réalisée par le test "t" de Student, après analyse de la variance. * P < 0,05, ** P < 0,01, ***P < 0,001.
 Dans chaque groupe, la classification des moyennes, en fonction de l'âge, est effectuée par le test de rang multiple de Duncan, après analyse de la variance à un facteur. Les moyennes portant des lettres différentes (a,b,c,d) sont significativement différentes (P < 0,05).

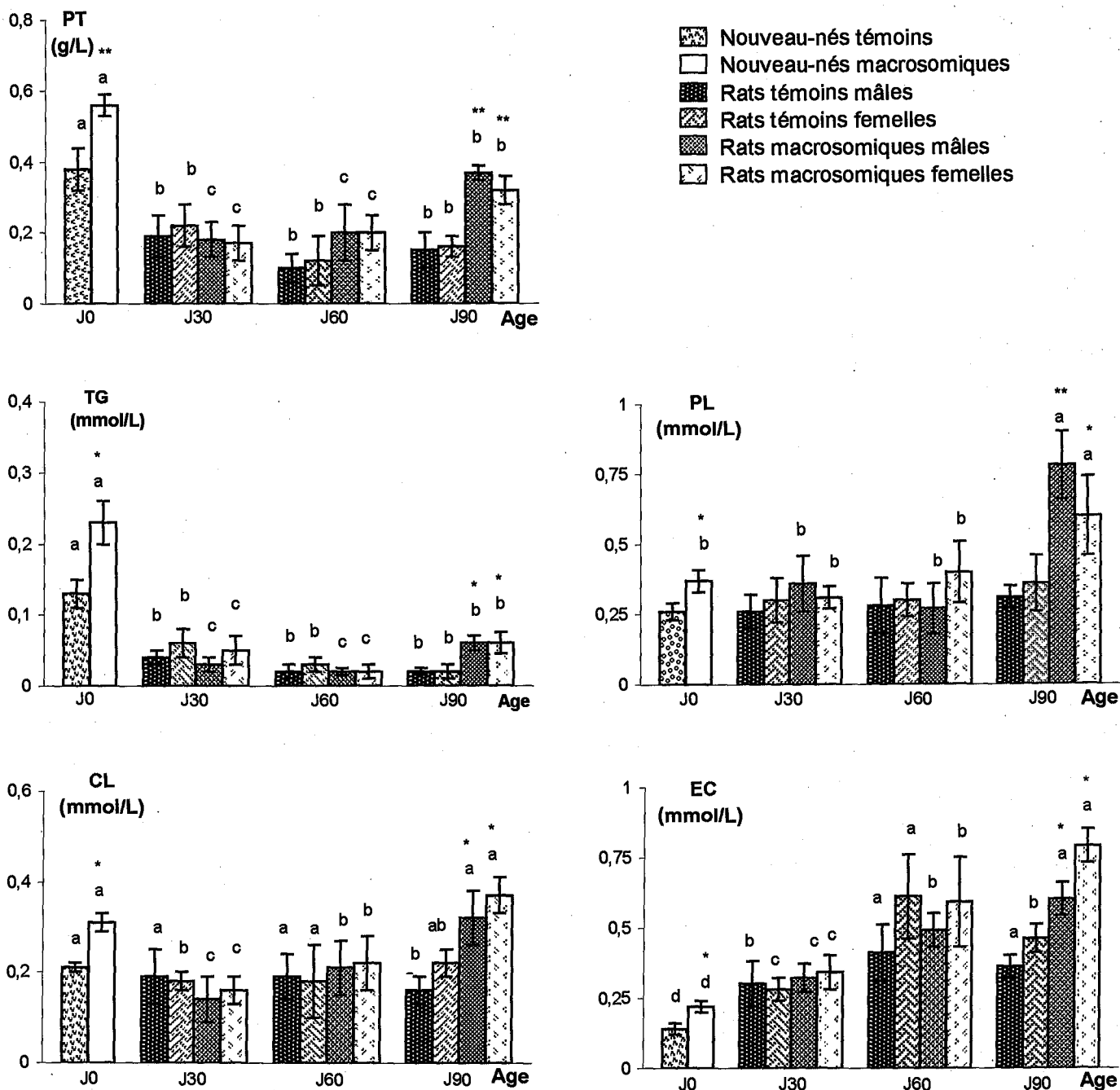


Fig. 12: Teneurs en apolipoprotéines totales (PT) et en lipides des LDL-HDL1 sériques.

Chaque valeur représente la moyenne + ES de 10 rats par groupe. La comparaison des moyennes entre les macrosomiques et les témoins de même sexe, au même âge, est réalisée par le test "t" de Student, après analyse de la variance. * P < 0,05, ** P < 0,01.

Dans chaque groupe, la classification des moyennes, en fonction de l'âge, est effectuée par le test de rang multiple de Duncan, après analyse de la variance à un facteur. Les moyennes portant des lettres différentes (a,b,c,d) sont significativement différentes (P < 0,05).

A J90, pour les 2 sexes, les teneurs en apos et en lipides des LDL-HDL₁ sont significativement plus élevées chez les macrosomiques, et représentent en moyenne le double des valeurs obtenues chez les témoins. Comme la valeur relative de chaque constituant des LDL-HDL₁ (exprimée en pourcentages) n'est pas modifiée, il s'agit d'une augmentation du nombre de particules LDL-HDL₁ chez les macrosomiques mâles ou femelles âgés de 3 mois.

VI.3. Profil apolipoprotéique des VLDL sériques (Fig. 13 et Tableau VI en annexe)

Toutes les apos des VLDL augmentent ($P < 0,05$) avec l'âge des animaux, aussi bien chez les rats témoins que chez les rats macrosomiques. Cependant, de J60 à J90, cette augmentation est plus prononcée chez les macrosomiques.

A J0, J30, et J60, les teneurs en apos des VLDL chez les macrosomiques ne diffèrent pas significativement de celles obtenues chez les témoins.

A J90, une augmentation significative des teneurs en apo B100, C-II et C-III des VLDL est notée chez les macrosomiques mâles comparés aux témoins mâles (+55%, +100% et +75%, respectivement), et chez les macrosomiques femelles comparées aux témoins femelles (+78%, +100% et +62%, respectivement) (Fig.13).

VII. Evolution de la composition en acides gras des lipides du foie et des VLDL sériques

Les teneurs en chaque AG sont exprimées en pourcentages pondéraux des acides gras totaux. Les propriétés et les fonctions des membranes cellulaires sont surtout influencées par la proportion des différents acides gras des lipides constituant les membranes. Le statut en acides gras essentiels est donc mieux mesuré par les pourcentages des différents AG présents, en particulier au niveau des PL (HOLMAN, 1986).

VII.1. Profil des acides gras des lipides du foie

VII.1.1. Composition en acides gras des TG hépatiques (Fig.14 et Tableau VIII en annexe)

Chez les témoins, il existe peu de modifications de la composition en AG des TG hépatiques en fonction de l'âge. Chez les macrosomiques mâles ou femelles, les AGS et les AGMI augmentent ($P < 0,05$), tandis que le C20:4n-6 et le rapport P/S (AGPI/AGS) diminuent ($P < 0,05$) avec l'âge.

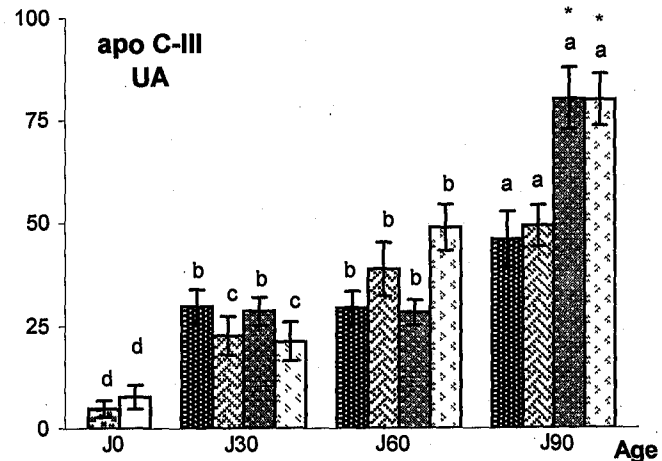
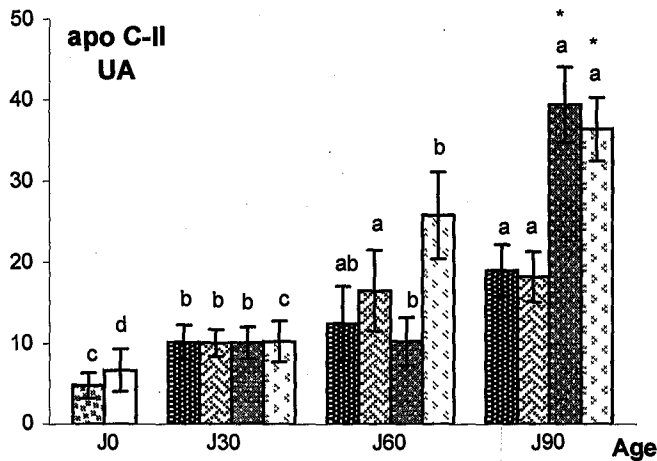
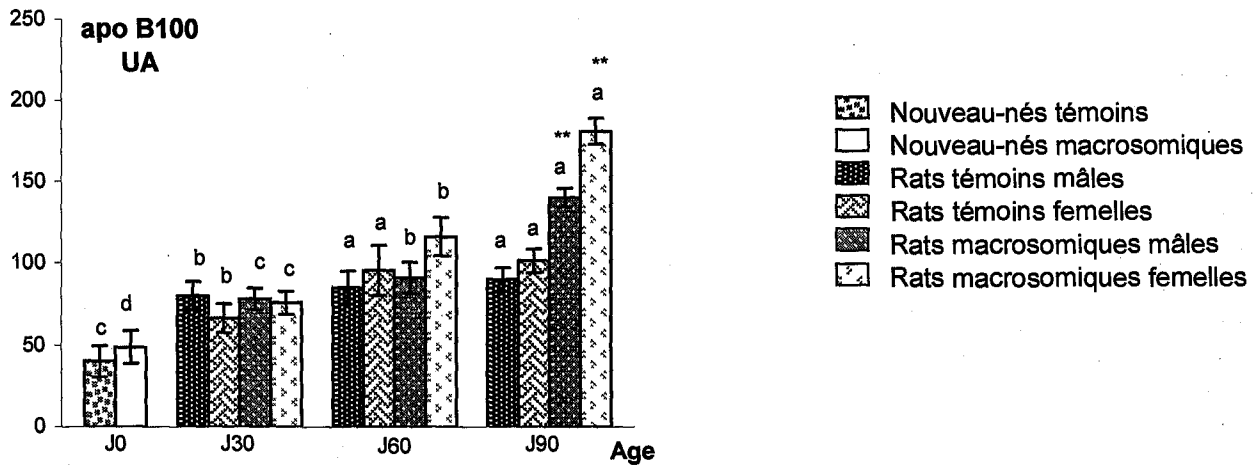


Fig. 13: Profil des apos B100, C-II et C-III des VLDL sériques.

Chaque valeur représente la moyenne + ES de 10 rats par groupe. La comparaison des moyennes entre les macrosomiques et les témoins de même sexe, au même âge, est réalisée par le test "t" de Student, après analyse de la variance. * P < 0,05, ** P < 0,01.

Dans chaque groupe, la classification des moyennes, en fonction de l'âge, est effectuée par le test de rang multiple de Duncan, après analyse de la variance à un facteur. Les moyennes portant des lettres différentes (a,b,c,d) sont significativement différentes (P<0,05).

■ Rats témoins mâles
 ▨ Rats témoins femelles
 ▩ Rats macrosomiques mâles
 ▤ Rats macrosomiques femelles

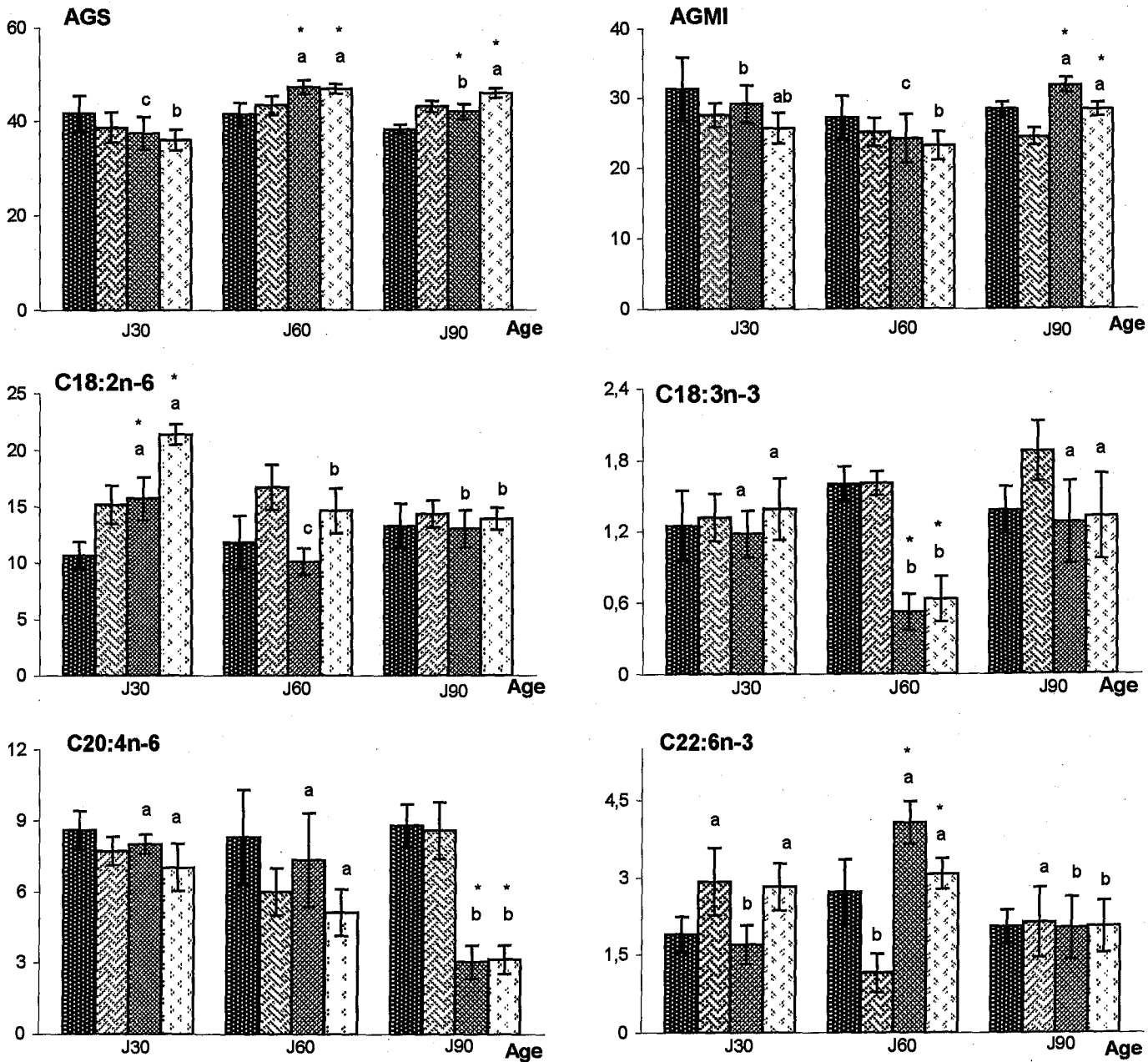


Fig. 14: Principaux acides gras des triglycérides hépatiques (% pondéraux).

Chaque valeur représente la moyenne + ES de 10 rats par groupe. La comparaison des moyennes entre les macrosomiques et les témoins de même sexe, au même âge, est réalisée par le test "t" de Student, après analyse de la variance. * P < 0,05.

Dans chaque groupe, la classification des moyennes, en fonction de l'âge, est effectuée par le test de rang multiple de Duncan, après analyse de la variance à un facteur. Les moyennes portant des lettres différentes (a,b,c,d) sont significativement différentes (P<0,05).

A J30, une augmentation significative du C18:2n-6 est observée chez les macrosomiques mâles comparés aux témoins mâles (+48%), et chez les macrosomiques femelles comparées aux témoins femelles (+41%). Le rapport P/S est alors plus élevé chez les macrosomiques par rapport à la valeur obtenue chez les témoins (+39% pour les macrosomiques mâles et +34% pour les macrosomiques femelles).

A J60, les taux d'AGS sont plus élevés ($P < 0,05$) chez les macrosomiques comparés aux témoins, pour les 2 sexes. Une diminution du C18:3n-3 et une augmentation du C22:6n-3 sont aussi notées chez les macrosomiques des 2 sexes. Le rapport P/S reste similaire dans les 4 lots de rats.

A J90, les macrosomiques des 2 sexes présentent une augmentation ($P < 0,05$) des pourcentages en AGS et en AGMI, et une diminution du pourcentage du C20:4n-6, comparés aux témoins de même âge. Le rapport P/S est diminué chez les macrosomiques mâles (-30%) et chez les macrosomiques femelles (-27%) comparés aux valeurs obtenues chez les témoins de même sexe.

VII.1.2. Composition en acides gras des PL hépatiques (Fig.15 et Tableau IX en annexe)

Le profil des AG des PL hépatiques varie peu au cours du temps chez les rats témoins. Par contre, chez les macrosomiques, les pourcentages en AGMI augmentent, ceux du C20:4n-6 et le rapport P/S diminuent ($P < 0,05$) avec l'âge des animaux.

A J30, les pourcentages du C18:2n-6, ainsi que le rapport P/S sont plus élevés dans les PL hépatiques, chez les macrosomiques mâles (+43% et +14%, respectivement) et chez les macrosomiques femelles (+37% et +26%, respectivement) comparés aux valeurs obtenues chez les témoins.

A J60, les proportions du C18:3n-3 sont plus faibles, alors que celles du C22:6n-3 sont plus élevées chez les macrosomiques comparées aux valeurs témoins pour les 2 sexes (-64% et +100%, respectivement)

A J90, les macrosomiques mâles et femelles ont des pourcentages en AGMI plus élevés et des pourcentages en C20:4n-6 plus faibles que ceux obtenus chez les témoins (+38% et -44%, respectivement, pour les macrosomiques mâles; +33% et -38% respectivement, pour les macrosomiques femelles). Dans les 2 sexes, la macrosomie augmente les pourcentages totaux d'AGMI et diminue le rapport P/S.

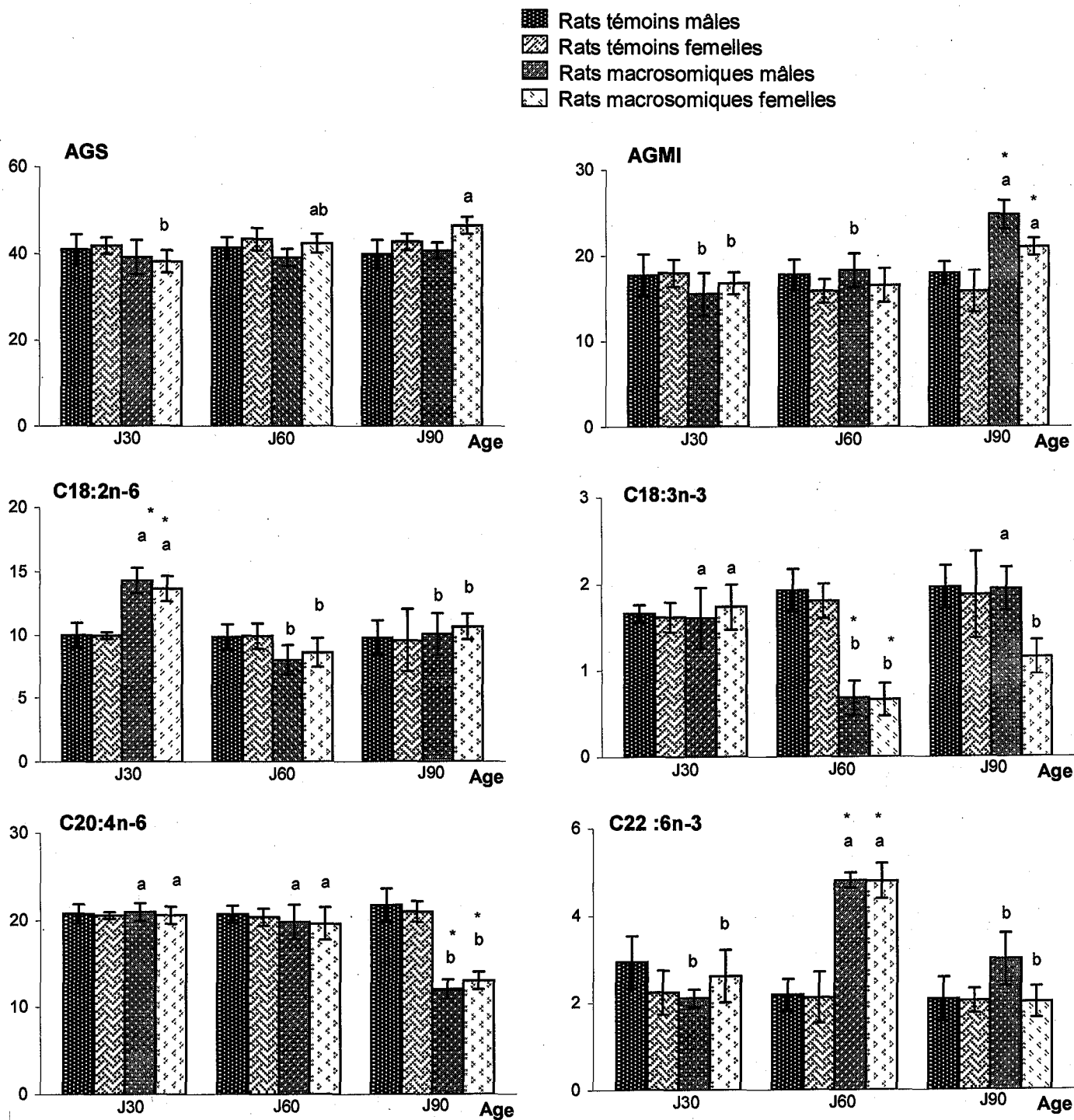


Fig. 15: Principaux acides gras des phospholipides hépatiques (% pondéraux).

Chaque valeur représente la moyenne + ES de 10 rats par groupe. La comparaison des moyennes entre les macrosomiques et les témoins de même sexe, au même âge, est réalisée par le test "t" de Student, après analyse de la variance. * P < 0,05.

Dans chaque groupe, la classification des moyennes, en fonction de l'âge, est effectuée par le test de rang multiple de Duncan, après analyse de la variance à un facteur. Les moyennes portant des lettres différentes (a,b,c,d) sont significativement différentes (P<0,05).

VII.1.3. Composition en acides gras des esters de cholestérol hépatiques (Fig. 16 et Tableau X en annexe)

Le profil en acides gras des esters de cholestérol hépatiques ne varie pas significativement avec l'âge des animaux.

A J30, les pourcentages de C18:2n-6 et le rapport P/S sont 1,3 et 1,2 fois plus élevés, respectivement, chez les macrosomiques des 2 sexes comparés aux valeurs témoins.

A J60 et J90, les profils en AG des EC hépatiques sont semblables dans les 4 lots de rats.

VII.2. Profil des acides gras des lipides des VLDL sériques

VII.2.1. Composition en acides gras des TG des VLDL (Fig. 17 et Tableau XI en annexe)

Chez les rats témoins, les variations les plus importantes, au cours du temps, sont observées pendant le premier mois de vie post-natale où une augmentation des AGMI et une diminution des C20:4n-6 et C22:6n-3 sont notées, par rapport aux valeurs obtenues à la naissance. Le rapport P/S reste stable. Après ce mois, les variations avec l'âge des animaux dans les 2 sexes sont faibles. Chez les rats macrosomiques des 2 sexes, une diminution des AGS et du C20:4n-6, accompagnée d'une augmentation des pourcentages d'AGMI, du C18:2n-6 et du rapport P/S est notée au cours du 1^{er} mois de vie post-natale. Après ce mois, les pourcentages d'AGMI augmentent ($P < 0,05$), ceux du C20:4n-6, ainsi que le rapport P/S diminuent ($P < 0,05$).

A J0, les rats macrosomiques ont des pourcentages d'AGS et de C20:4n-6 augmentés ($P < 0,05$), et des pourcentages de C18:2n-6 et C22:6n-3 diminués ($P < 0,05$) dans les TG des VLDL, comparés aux valeurs témoins. Ces changements conduisent à une réduction du rapport P/S qui est 1,4 fois plus faible chez les nouveau-nés macrosomiques comparés aux nouveau-nés témoins.

A J30, chez les macrosomiques des 2 sexes, les TG des VLDL s'enrichissent en C18:2 n-6, ce qui entraîne une augmentation significative du rapport P/S.

A J60, il n'y a pas de différence entre les profils des AG des TG des VLDL chez les 2 lots de mâles. Cependant, chez les macrosomiques femelles, une augmentation du pourcentage d'AGS est notée, comparé à la valeur trouvée chez les témoins femelles (+11%).

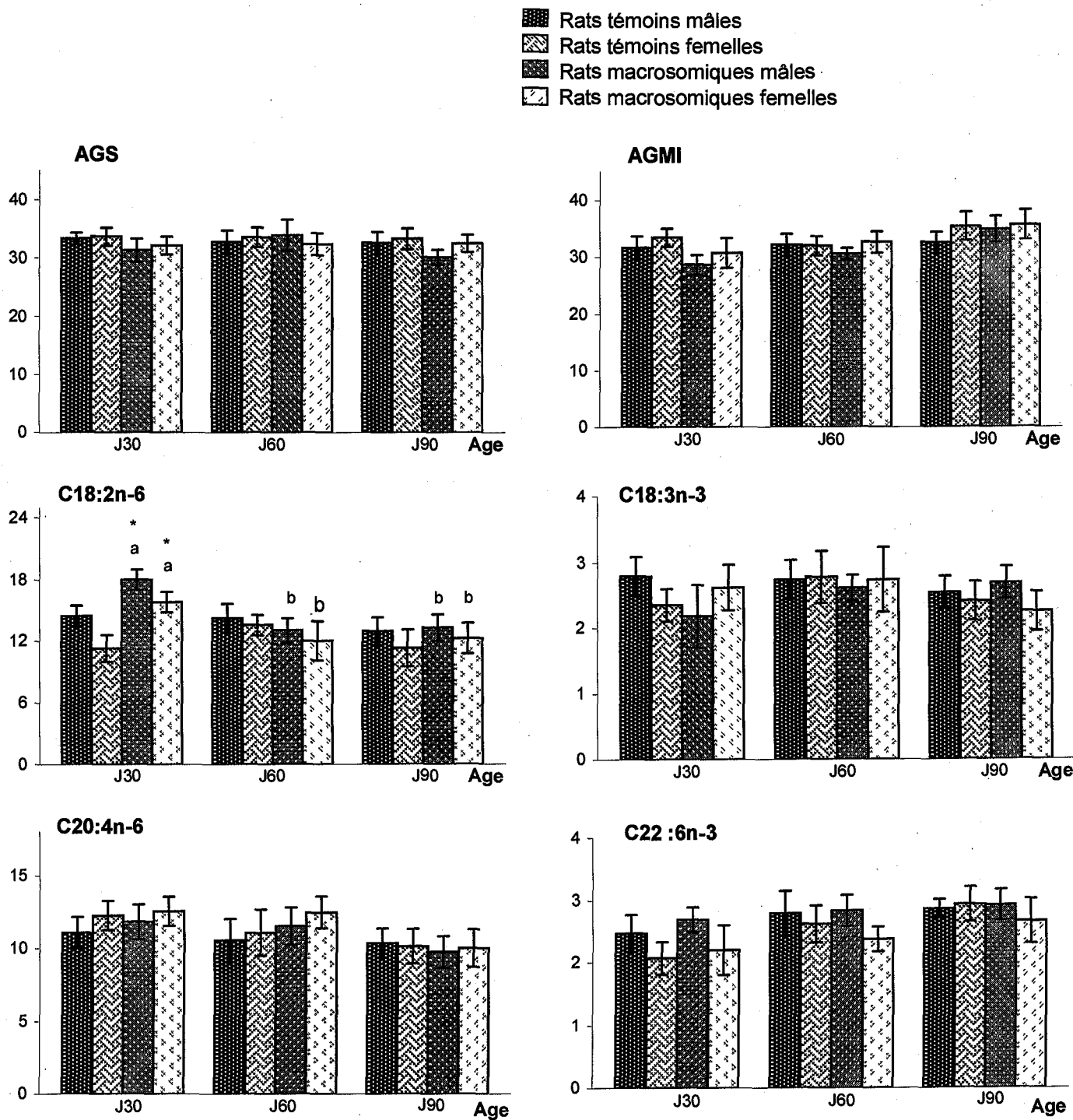


Fig. 16: Principaux acides gras des esters de cholestérol hépatiques (% pondéraux).

Chaque valeur représente la moyenne + ES de 10 rats par groupe. La comparaison des moyennes entre les macrosomiques et les témoins de même sexe, au même âge, est réalisée par le test "t" de Student, après analyse de la variance. * P < 0,05.

Dans chaque groupe, la classification des moyennes, en fonction de l'âge, est effectuée par le test de rang multiple de Duncan, après analyse de la variance à un facteur. Les moyennes portant des lettres différentes (a,b,c,d) sont significativement différentes (P<0,05).

■ Rats témoins mâles
 ▨ Rats témoins femelles
 ▩ Rats macrosomiques mâles
 □ Rats macrosomiques femelles

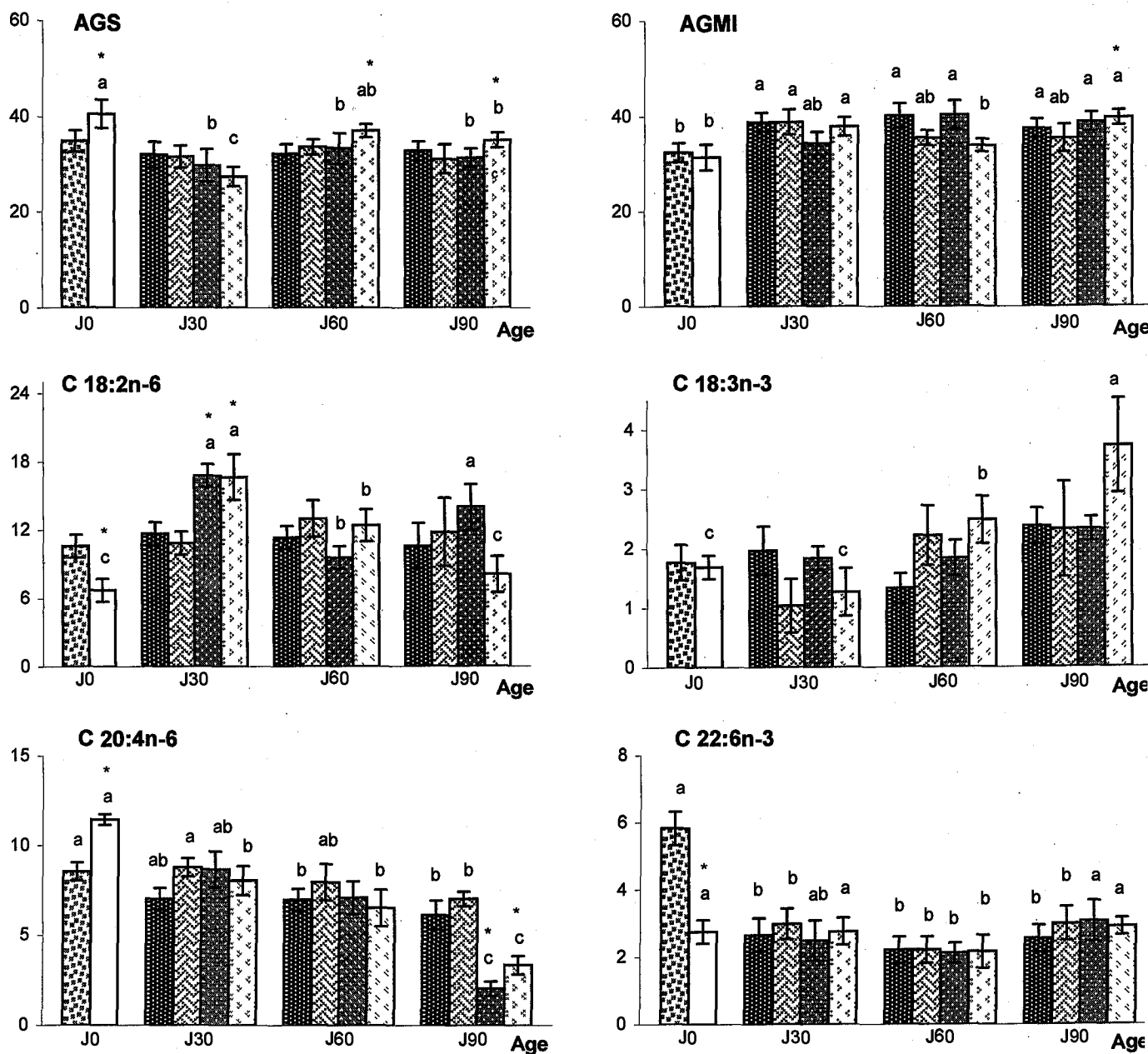


Fig. 17: Principaux acides gras des triglycérides des VLDL sériques (% pondéraux).

Chaque valeur représente la moyenne + ES de 10 rats par groupe. La comparaison des moyennes entre les macrosomiques et les témoins de même sexe, au même âge, est réalisée par le test "t" de Student, après analyse de la variance. * P < 0,05.

Dans chaque groupe, la classification des moyennes, en fonction de l'âge, est effectuée par le test de rang multiple de Duncan, après analyse de la variance à un facteur. Les moyennes portant des lettres différentes (a,b,c,d) sont significativement différentes (P<0,05).

A J90, les macrosomiques mâles montrent une diminution significative du C20:4 n-6 (-67%), mais le rapport P/S des TG des VLDL reste similaire à celui des témoins. Chez les macrosomiques femelles, non seulement une réduction du C20:4n-6 (-52%), mais aussi une augmentation des AGS et des AGMI ($P < 0,05$) sont observées, comparées aux valeurs des témoins femelles. Le rapport P/S est diminué de 35% chez les macrosomiques femelles comparé à la valeur des témoins femelles.

VII.2.2. Composition en acides gras des PL des VLDL (Fig. 18 et Tableau XII en annexe)

Durant le premier mois de vie post-natale, les rats témoins montrent une diminution des pourcentages d'AGS et une augmentation des AGPI et du rapport P/S ($P < 0,05$) comparés aux valeurs obtenues à la naissance.

Après 1 mois, les variations sont faibles, avec cependant une augmentation ($P < 0,05$) du rapport P/S avec l'âge des animaux.

Chez les macrosomiques des 2 sexes, l'évolution du profil d'acides gras des PL des VLDL au cours du 1^{er} mois de vie post-natale est similaire à celles des témoins. Cependant, après ce 1^{er} mois, les pourcentages en C18:2n-6 et en C20:4n-6, ainsi que le rapport P/S diminuent avec l'âge des animaux, et sont 1,3, 1,7 et 1,2 fois plus faibles, respectivement, à J90 que ceux obtenus à J30.

A J0, chez les macrosomiques, les proportions relatives des AGS et du C20:4n-6 sont augmentées ($P < 0,05$), alors que celles du C18:2n-6 sont diminuées ($P < 0,05$), comparées aux valeurs mesurées chez les nouveau-nés témoins. Dans ce cas, le rapport P/S est plus faible chez les nouveau-nés macrosomiques.

A J30, les macrosomiques des deux sexes montrent une augmentation du pourcentage du C18:2n-6 (+30%) et une élévation significative du rapport P/S.

A J60, les profils d'acides gras des PL des VLDL sont similaires dans les 4 lots de rats.

A J90, une diminution significative du C20:4n-6 et du rapport P/S est notée chez les macrosomiques des 2 sexes.

VII.2.3. Composition en acides gras des EC des VLDL (Fig. 19 et Tableau XIII en annexe)

Au cours du 1^{er} mois de vie post-natale, les pourcentages des AGMI et du C18:2n-6 augmentent, ceux des AGS et des AGPI diminuent ($P < 0,05$) par rapport aux valeurs obtenues à la naissance, chez les rats témoins et macrosomiques des deux sexes. Cependant, le rapport P/S reste stable.

■ Rats témoins mâles
 ▨ Rats témoins femelles
 ▩ Rats macrosomiques mâles
 □ Rats macrosomiques femelles

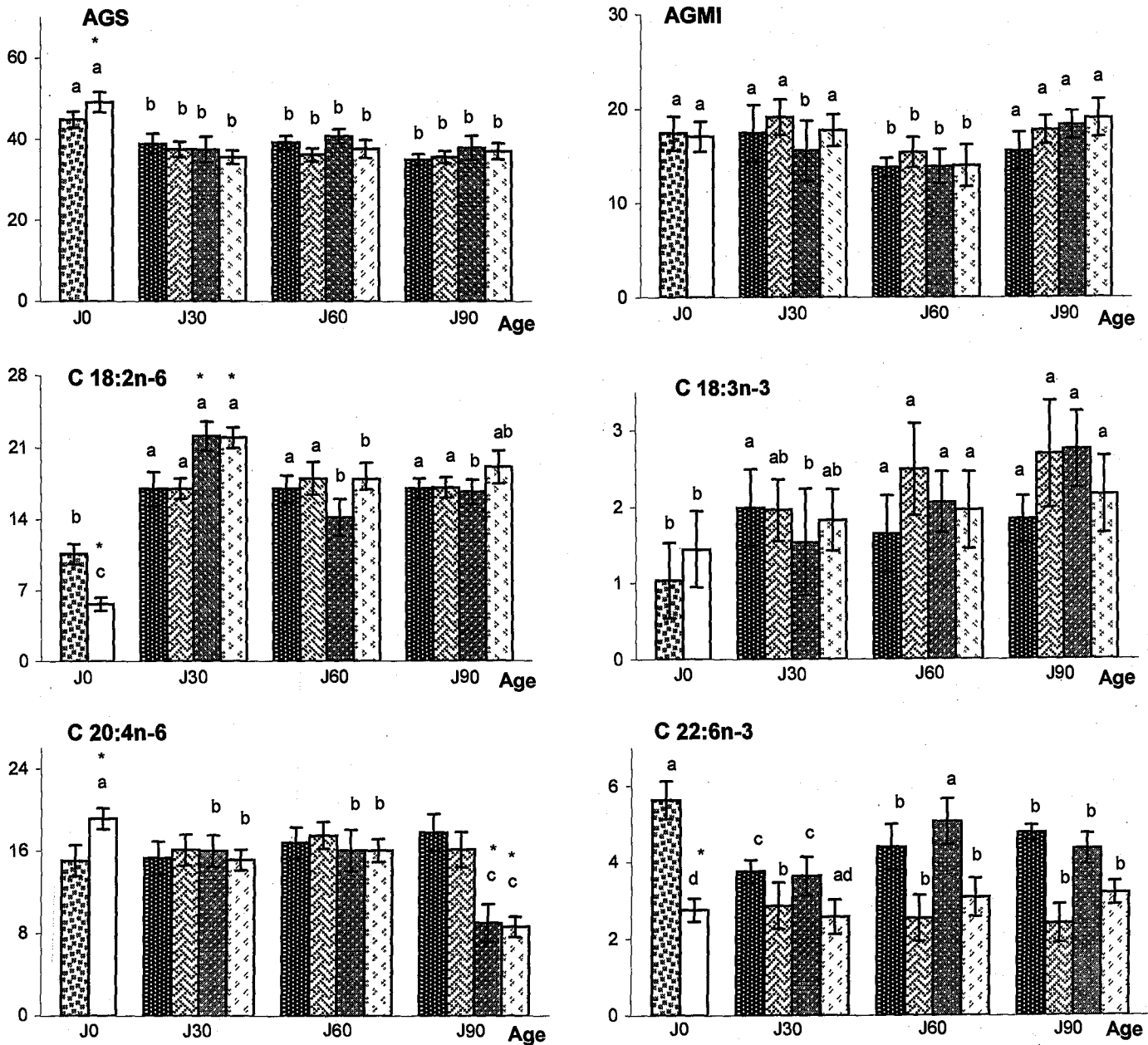


Fig. 18: Principaux acides gras des phospholipides des VLDL sérique (% pondéraux).

Chaque valeur représente la moyenne + ES de 10 rats par groupe. La comparaison des moyennes entre les macrosomiques et les témoins de même sexe, au même âge, est réalisée par le test "t" de Student, après analyse de la variance. * P < 0,05.

Dans chaque groupe, la classification des moyennes, en fonction de l'âge, est effectuée par le test de rang multiple de Duncan, après analyse de la variance à un facteur. Les moyennes portant des lettres différentes (a,b,c,d) sont significativement différentes (P<0,05).

■ Rats témoins mâles
 ▨ Rats témoins femelles
 ▩ Rats macrosomiques mâles
 □ Rats macrosomiques femelles

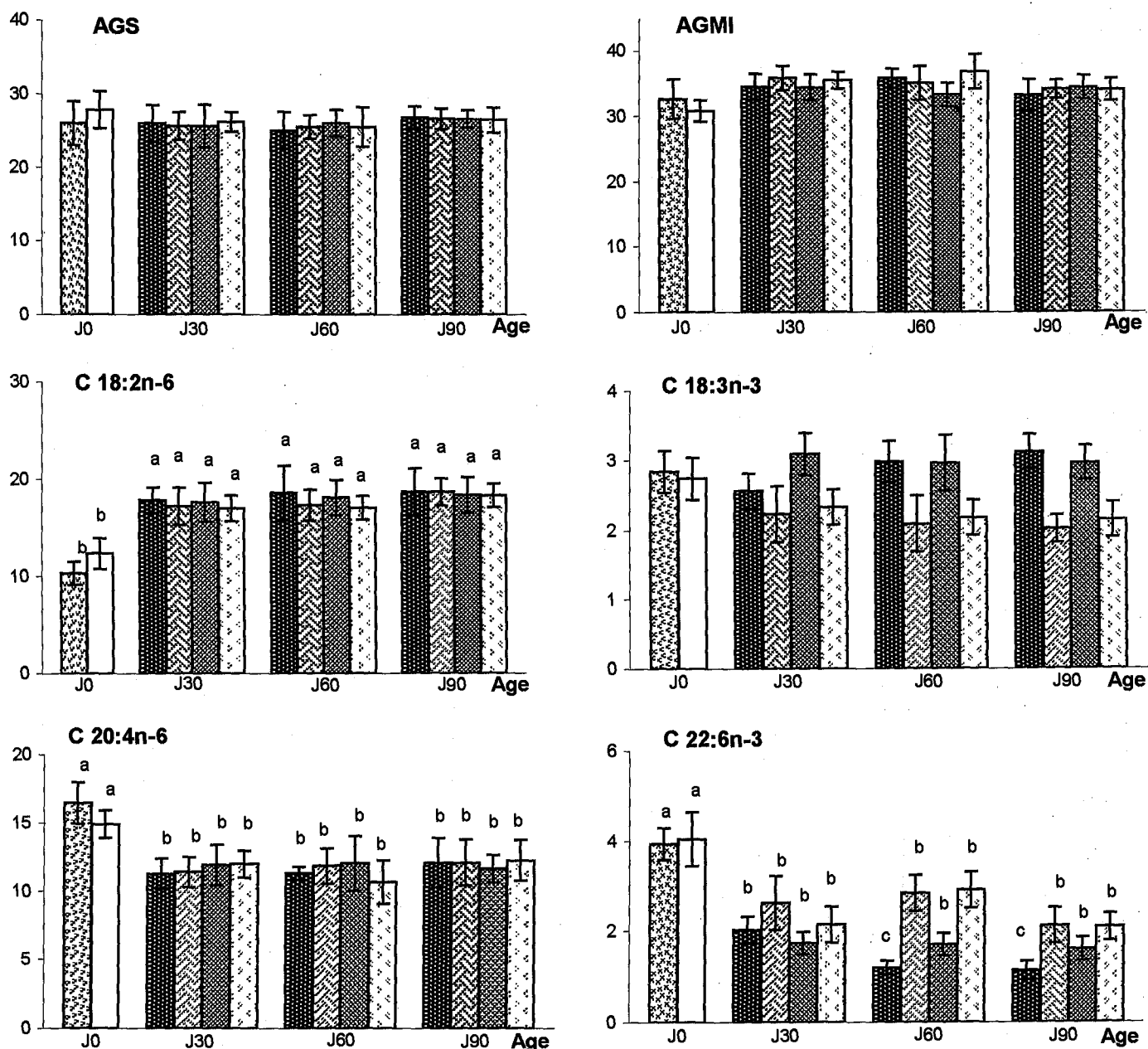


Fig. 19: Principaux acides gras des esters de cholestérol des VLDL sériques (% pondéraux).

Chaque valeur représente la moyenne + ES de 10 rats par groupe. La comparaison des moyennes entre les macrosomiques et les témoins de même sexe, au même âge, est réalisée par le test "t" de Student, après analyse de la variance. * P < 0,05.

Dans chaque groupe, la classification des moyennes, en fonction de l'âge, est effectuée par le test de rang multiple de Duncan, après analyse de la variance à un facteur. Les moyennes portant des lettres différentes (a,b,c,d) sont significativement différentes (P<0,05).

Après 1 mois, les variations sont faibles dans les 4 lots de rats.

Les profils d'acides gras des EC des VLDL sont similaires à J0, J30, J60 et J90 chez les différents lots de rats.

VIII. Evolution des concentrations et de la composition des HDL₂₋₃ sériques, et de l'activité de la lécithine: cholestérol acyltransférase (LCAT)

VIII.1. Teneurs et composition des HDL₂₋₃ sériques (Fig. 20 et 21)

La masse des HDL₂₋₃ augmente avec l'âge des animaux témoins et macrosomiques (Fig. 20). Au cours du 1^{er} mois de vie post-natale, une augmentation significative ($P < 0,05$) des teneurs en apos, PL, CL et EC des HDL₂₋₃ est notée, alors que les teneurs en HDL₂₋₃ - TG diminuent chez les témoins et chez les macrosomiques (Fig. 21). Après ce mois, les valeurs des apos, TG, CL et EC des HDL restent plus ou moins stables, tandis que les teneurs en HDL₂₋₃ - PL augmentent ($P < 0,05$) avec l'âge, chez les rats témoins. Chez les macrosomiques mâles, les quantités de HDL₂₋₃ - PL et - TG augmentent de façon significative avec l'âge. Chez les macrosomiques femelles, les teneurs en HDL₂₋₃ - PL, TG CL et EC sont corrélées positivement avec l'âge, et représentent à J90 le double des teneurs obtenues à J30.

A J0, les rats macrosomiques présentent des teneurs en HDL₂₋₃ plus élevées que celles des nouveau-nés témoins (+39%). De plus, tous les constituants des HDL (apos, PL, TG, CL et EC) sont augmentés ($P < 0,05$), traduisant une élévation du nombre de particules HDL₂₋₃ chez les nouveau-nés macrosomiques.

A J30 et J60, chez les macrosomiques, les quantités des HDL₂₋₃ sériques sont similaires à celles obtenues chez les témoins de même âge, dans les deux sexes.

A J90, la masse des HDL₂₋₃ est significativement plus élevée chez les macrosomiques mâles comparés aux témoins mâles (+32%), et chez les macrosomiques femelles comparées aux témoins femelles (+33%). De plus, les teneurs en PL, TG et EC des HDL sont plus élevées chez les macrosomiques mâles comparés aux valeurs obtenues chez les témoins mâles, âgés de 3 mois (+52%, +100% et +50%, respectivement). Les macrosomiques femelles montrent des teneurs en apos, PL, TG et EC des HDL₂₋₃ plus élevées que celles des témoins femelles âgées de 3 mois (+20%, +30%, +100%, et +58% respectivement). Le rapport constituants du coeur / constituants de surface est plus élevé chez les macrosomiques mâles comparés aux témoins mâles ($0,31 \pm 0,04$ versus $0,24 \pm 0,03$, $P < 0,05$), et chez les macrosomiques

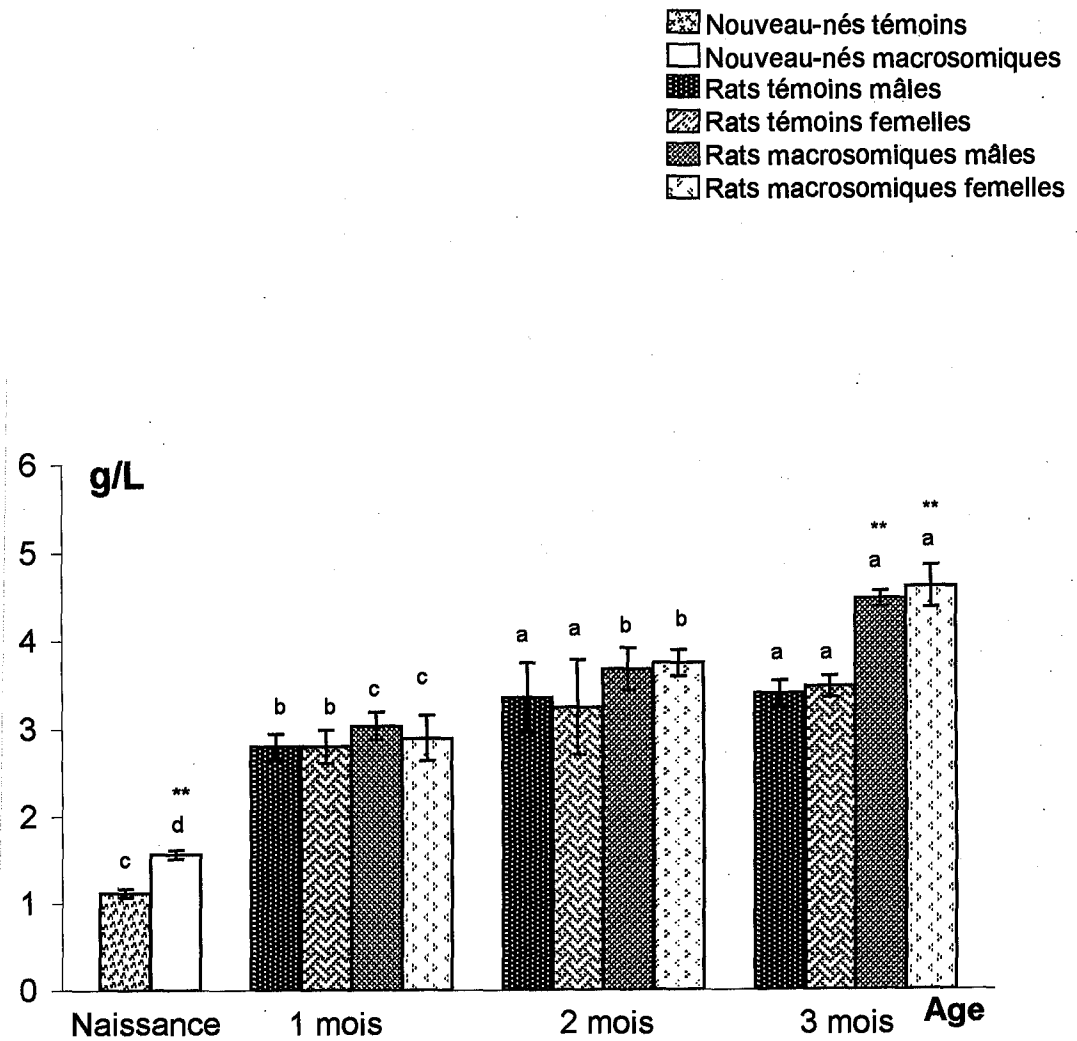


Fig. 20: Teneurs en HDL_{2,3} sériques.

Chaque valeur représente la moyenne + ES de 10 rats par groupe. La masse des lipoprotéines est obtenue par la somme des teneurs en apoprotéines totales, triglycérides, phospholipides, cholestérol libre et esters de cholestérol de la lipoprotéine. La comparaison des moyennes entre les macrosomiques et les témoins de même sexe, au même âge, est réalisée par le test "t" de Student, après analyse de la variance.

* P < 0,05, ** P < 0,01.

Dans chaque groupe, la classification des moyennes, en fonction de l'âge, est effectuée par le test de rang multiple de Duncan, après analyse de la variance à un facteur. Les moyennes portant des lettres différentes (a,b,c,d) sont significativement différentes (P<0,05).

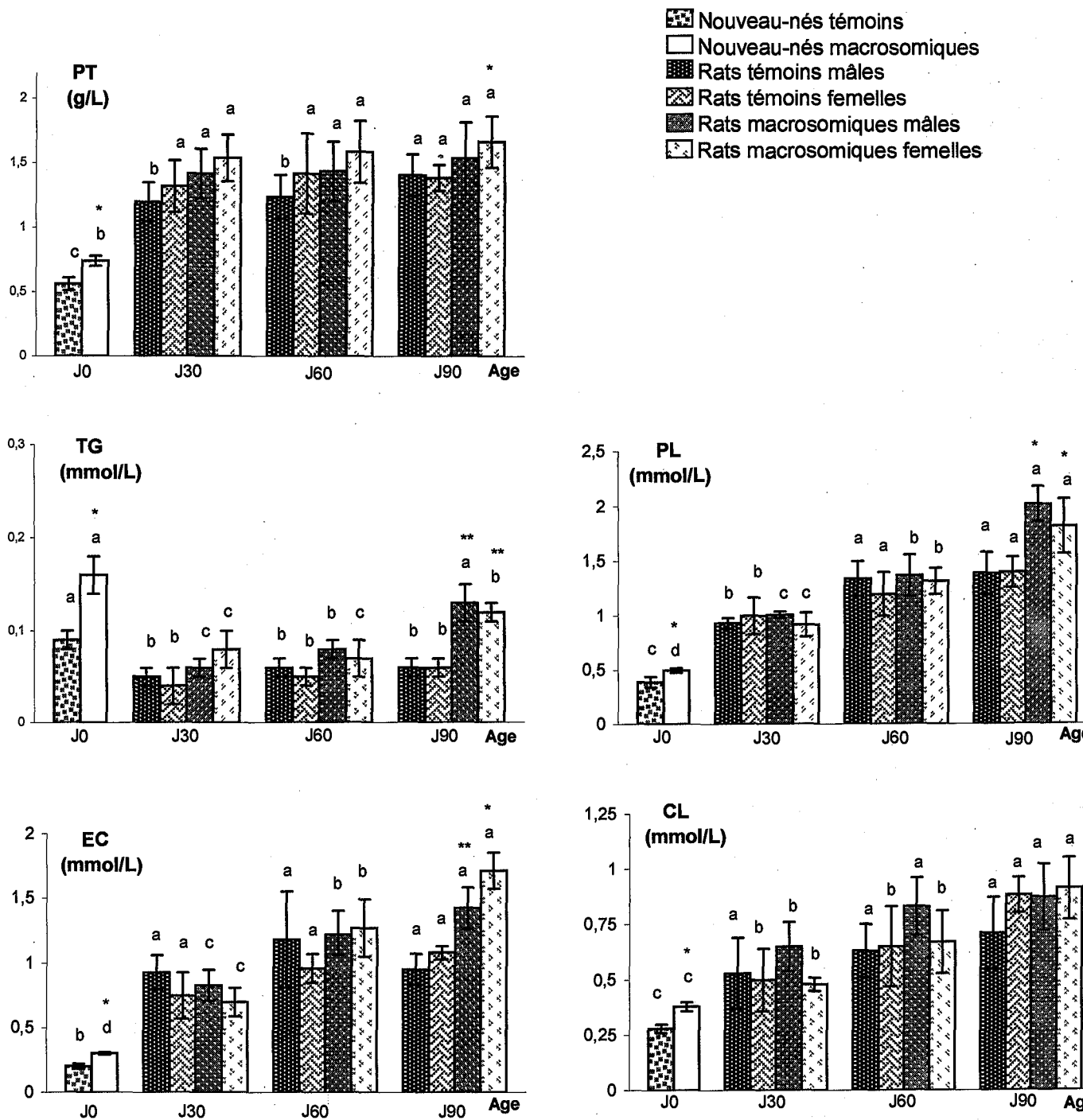


Fig. 21: Teneurs en apolipoprotéines totales (PT) et en lipides des HDL₂₋₃ sériques.
 Chaque valeur représente la moyenne + ES de 10 rats par groupe. La comparaison des moyennes entre les macrosomiques et les témoins de même sexe, au même âge, est réalisée par le test "t" de Student, après analyse de la variance. * P < 0,05, ** P < 0,01.
 Dans chaque groupe, la classification des moyennes, en fonction de l'âge, est effectuée par le test de rang multiple de Duncan, après analyse de la variance à un facteur. Les moyennes portant des lettres différentes (a,b,c,d) sont significativement différentes (P<0,05).

femelles versus témoins femelles ($0,35\pm 0,05$ versus $0,26\pm 0,04$, $P<0,05$). Ceci traduit une modification de la composition relative des HDL chez les macrosomiques à J90.

VIII.2. Profil apolipoprotéique des HDL₂₋₃ sériques (Fig. 22 et Tableau VII en annexe)

Durant le premier mois de vie post-natale, les teneurs des HDL₂₋₃ en apo A-I, A-II, A-IV, C-II et C-III augmentent ($P<0,05$) par rapport aux valeurs obtenues à la naissance, aussi bien chez les témoins que chez les macrosomiques. Par la suite, les variations au cours du temps sont faibles, sauf pour les teneurs en apo C-II qui augmentent ($P<0,05$) chez les macrosomiques à l'âge de 3 mois. Les teneurs en HDL₂₋₃ - apoE restent stables avec l'âge des animaux, chez les 4 lots de rats.

A J0, les teneurs en apo A-I, A-II, A-IV et E des HDL₂₋₃ sont significativement plus élevées chez les macrosomiques comparés aux témoins (+36%, +81%, +85% et +18%, respectivement). Les teneurs en apo C-II et - apo C-III des HDL₂₋₃ restent similaires dans les 2 groupes de rats.

A J30 et J60, le profil apolipoprotéique des HDL₂₋₃ chez les macrosomiques est comparable à celui des témoins, dans les 2 sexes.

A J90, les teneurs en apo C-II des HDL₂₋₃ sont significativement plus fortes chez les macrosomiques mâles comparés aux témoins mâles (+91%), et chez les macrosomiques femelles versus témoins femelles (+90%).

VIII.3. Evolution de l'activité LCAT sérique (Fig. 23)

L'activité LCAT augmente ($P<0,05$) de la naissance à 1 mois de vie post-natale chez les témoins et chez les macrosomiques. Par la suite, cette activité reste plus ou moins stable chez les témoins des deux sexes.







Par contre, chez les macrosomiques mâles et femelles, l'activité LCAT augmente ($P<0,05$) avec l'âge des animaux.

A J0, l'activité LCAT est significativement plus élevée chez les macrosomiques (+57%).

A J30, J60 et J90, les macrosomiques ont toujours une activité LCAT plus forte que celle des témoins, quel que soit le sexe, elle est en moyenne 1,6 fois plus élevée chez les macrosomiques par rapport à la valeur des témoins.

IX. Synthèse des résultats

Les différences entre macrosomiques et témoins pour les paramètres mesurés, à chaque âge, sont résumées dans le tableau V.

-  Nouveau-nés témoins
-  Nouveau-nés macrosomiques
-  Rats témoins mâles
-  Rats témoins femelles
-  Rats macrosomiques mâles
-  Rats macrosomiques femelles

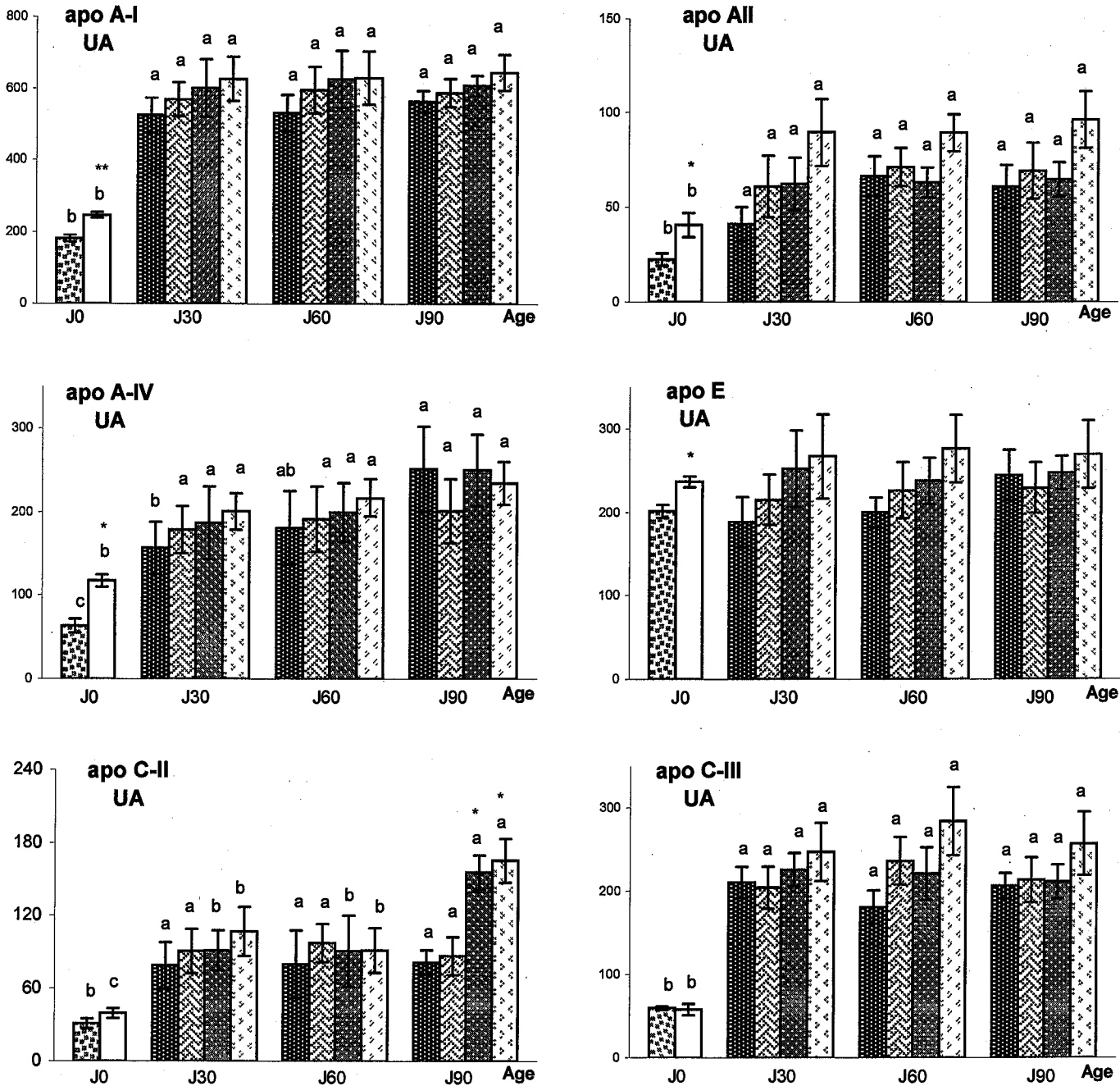


Fig. 22: Profils apolipoprotéiques des HDL₂₋₃ sériques.

Chaque valeur représente la moyenne + ES de 10 rats par groupe. La comparaison des moyennes entre les macrosomiques et les témoins de même sexe, au même âge, est réalisée par le test "t" de Student, après analyse de la variance. * P < 0,05, ** P < 0,01.

Dans chaque groupe, la classification des moyennes, en fonction de l'âge, est effectuée par le test de rang multiple de Duncan, après analyse de la variance à un facteur. Les moyennes portant des lettres différentes (a,b,c,d) sont significativement différentes (P<0,05)

- Nouveau-nés témoins
- Nouveau-nés macrosomiques
- Rats témoins mâles
- ▨ Rats témoins femelles
- Rats macrosomiques mâles
- ▨ Rats macrosomiques femelles

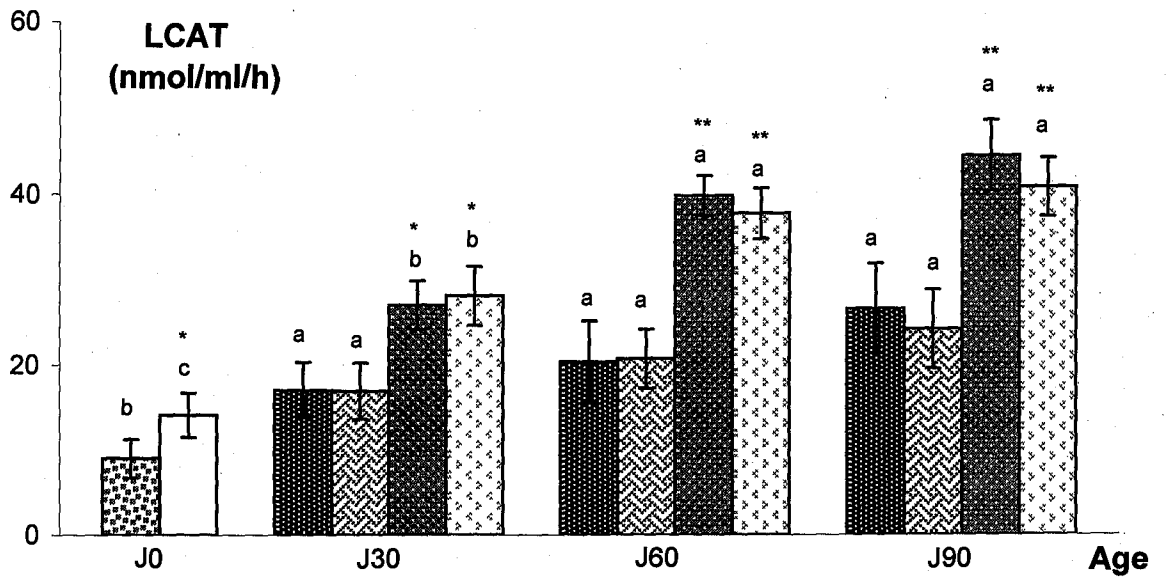


Fig. 23: Activité de la lécithine: cholestérol acyltransférase (LCAT).

Chaque valeur représente la moyenne + ES de 10 rats par groupe. La comparaison des moyennes entre les macrosomiques et les témoins de même sexe, au même âge, est réalisée par le test "t" de Student, après analyse de la variance. * P < 0,05, ** P < 0,01.

Dans chaque groupe, la classification des moyennes, en fonction de l'âge, est effectuée par le test de rang multiple de Duncan, après analyse de la variance à un facteur. Les moyennes portant des lettres différentes (a,b,c,d) sont significativement différentes (P<0,05).

Tableau Va. Variations des paramètres lipidiques et protéiques, les valeurs obtenues chez les rats macrosomiques étant comparées aux valeurs témoins.

	J0	J30		J60		J90	
		Mâles	Femelles	Mâles	Femelles	Mâles	Femelles
Sérum							
Insuline (pmol/L)	+	=	=	=	=	+	+
Glucose (g/L)	+	=	=	=	=	+	+
TG (mmol/L)	+	=	=	=	+	+	+
PL (mmol/L)	+	=	=	=	=	+	+
CL (mmol/L)	+	=	=	=	=	+	+
EC (mmol/L)	+	=	=	=	=	+	+
VLDL (g/L)	+	=	=	=	+	+	+
LDL-HDL ₁ (g/L)	+	=	=	=	=	+	+
HDL ₂₋₃ (g/L)	+	=	=	=	=	+	+
LCAT (nmol/ml/h)	+	+	+	+	+	+	+
Foie							
TG (mg/g)	ND	=	=	=	+	+	+
PL (mg/g)	ND	=	=	=	=	+	+
CL (mg/g)	ND	=	=	=	=	=	=
EC (mg/g)	ND	=	=	=	=	=	+
HTGL (nmol/min/g)	ND	+	+	+	+	+	+
HMG-CoA réductase (pmol/min/mg)	ND	+	+	+	+	+	+
7 α -hydroxylase (pmol/min/mg)	ND	+	+	+	+	+	+
ACAT (pmol/min/mg)	ND	+	+	+	+	+	+
Muscle							
Lipides totaux (mg/g)	ND	=	=	=	=	=	=
Protéines totales (mg/g)	ND	+	+	+	+	+	+
LPL (nmol/min/g)	ND	=	=	=	=	=	=
Tissu Adipeux							
Lipides totaux (mg/g)	ND	+	+	+	+	+	+
LPL (nmol/min/g)	ND	+	+	+	+	=	=

ND: non déterminé.

+ : augmenté chez les macrosomiques.

Tableau Vb. Variations des compositions en lipides et en apoprotéines des lipoprotéines sériques, les valeurs obtenues chez les rats macrosomiques étant comparées aux valeurs témoins.

	J0	J30		J60		J90	
		Mâles	Femelles	Mâles	Femelles	Mâles	Femelles
VLDL							
Apos totales (g/L)	=	=	=	=	=	+	+
TG (mmol/L)	+	=	=	=	+	+	+
PL (mmol/L)	=	=	=	=	=	+	+
CL (mmol/L)	=	=	=	=	=	+	+
EC (mmol/L)	=	=	=	=	=	+	+
Apo B100 (UA)	=	=	=	=	=	+	+
Apo C-II (UA)	=	=	=	=	=	+	+
Apo C-III (UA)	=	=	=	=	=	+	+
Apo E (UA)	=	=	=	=	=	+	+
LDL-HDL₁							
Apos totales (g/L)	+	=	=	=	=	+	+
TG (mmol/L)	+	=	=	=	=	+	+
PL (mmol/L)	+	=	=	=	=	+	+
CL (mmol/L)	+	=	=	=	=	+	+
EC (mmol/L)	+	=	=	=	=	+	+
HDL₂₋₃							
Apos totales (g/L)	+	=	=	=	=	=	+
TG (mmol/L)	+	=	=	=	=	+	+
PL (mmol/L)	+	=	=	=	=	+	+
CL (mmol/L)	+	=	=	=	=	=	=
EC (mmol/L)	+	=	=	=	=	+	+
Apo A-I (UA)	+	=	=	=	=	=	=
Apo A-II (UA)	+	=	=	=	=	=	=
Apo A-IV (UA)	+	=	=	=	=	=	=
Apo C-II (UA)	=	=	=	=	=	+	+
Apo C-III (UA)	=	=	=	=	=	=	=
Apo E (UA)	+	=	=	=	=	=	=

ND: non déterminé.

+ : augmenté chez les macrosomiques.

Tableau Vc. Variations de la composition en acides gras des lipides hépatiques et des VLDL, les valeurs obtenues chez les rats macrosomiques étant comparées aux valeurs témoins.

	J0	J30		J60		J90	
		Mâles	Femelles	Mâles	Femelles	Mâles	Femelles
VLDL- TG							
AGS (%)	+	=	=	=	+	=	+
AGMI (%)	=	=	=	=	=	=	+
C18 :2 n-6 (%)	-	+	+	=	=	=	=
C18 :3 n-3 (%)	=	=	=	=	=	=	=
C20 :4 n-6 (%)	+	=	=	=	=	-	-
C22 :6 n-3 (%)	-	=	=	=	=	=	=
VLDL- PL							
AGS (%)	+	=	=	=	=	=	=
AGMI (%)	=	=	=	=	=	=	=
C18 :2 n-6 (%)	-	+	+	=	=	=	=
C18 :3 n-3 (%)	=	=	=	=	=	=	=
C20 :4 n-6 (%)	+	=	=	=	=	-	-
C22 :6 n-3 (%)	-	=	=	=	=	=	=
VLDL- EC							
AGS	=	=	=	=	=	=	=
AGMI	=	=	=	=	=	=	=
C18 :2 n-6	=	=	=	=	=	=	=
C18 :3 n-3	=	=	=	=	=	=	=
C20 :4 n-6	=	=	=	=	=	=	=
Foie- TG							
AGS	ND	=	=	+	+	+	+
AGMI	ND	=	=	=	=	+	+
C18 :2 n-6	ND	+	+	=	=	=	=
C18 :3 n-3	ND	=	=	-	-	=	=
C20 :4 n-6	ND	=	=	=	=	-	-
C22 :6 n-3	ND	=	=	+	+	=	=
Foie- PL							
AGS	ND	=	=	=	=	=	=
AGMI	ND	=	=	=	=	+	+
C18 :2 n-6	ND	+	+	=	=	=	=
C18 :3 n-3	ND	=	=	-	-	=	=
C20 :4 n-6	ND	=	=	=	=	-	-
C22 :6 n-3	ND	=	=	+	+	=	=
Foie- EC							
AGS	ND	=	=	=	=	=	=
AGMI	ND	=	=	=	=	=	=
C18 :2 n-6	ND	+	+	=	=	=	=
C18 :3 n-3	ND	=	=	=	=	=	=
C20 :4 n-6	ND	=	=	=	=	=	=
C22 :6 n-3	ND	=	=	=	=	=	=

ND: non déterminé. + : augmenté chez les macrosomiques . - : diminué chez les macrosomiques

DISCUSSION

Cette partie du travail permet de connaître les effets à long terme de la macrosomie fœtale chez les rats nés de rattes rendues diabétiques par la streptozotocine. Les résultats obtenus, comparés à ceux de l'enfant macrosomique né de mère diabétique insulino-dépendante, permettent de mieux suivre l'évolution des modifications du métabolisme des lipoprotéines entraînées par la macrosomie.

Comme l'effet toxique de la streptozotocine est dose dépendant, nous avons choisi une dose de 40 mg/kg de poids corporel qui provoque une hyperglycémie moyenne (comprise entre 1,5 et 2,5 g/L). L'hyperglycémie de la mère entraîne chez le fœtus une hyperglycémie et un hyperinsulinisme, causes majeures de la macrosomie (PEDERSEN & OSLER, 1961; HILL, 1978; STEVENSON et al., 1982; BERK et al., 1989).

En effet, dans notre étude, les nouveau-nés de rattes rendues diabétiques par la streptozotocine présentent un poids plus élevé que celui des rats nés de rattes témoins. De plus, ces rats macrosomiques sont hyperglycémiques et hyperinsuliniques à la naissance. Nos résultats confirment ceux de OH et al., (1988) et GELARDI et al., (1990) montrant que la streptozotocine, injectée à la mère au 5^{ème} jour de la gestation, à la dose utilisée, n'a pas d'effet destructeur sur le pancréas fœtal.

Cette macrosomie est le reflet d'une augmentation de l'adiposité, mais également des masses musculaires et d'une organomégalie généralisée (HILL, 1978; COWETT & SHWARTZ, 1982). L'insuline, principale hormone anabolisante lors du développement fœtal, stimule la croissance, celle-ci est corrélée avec une augmentation de la synthèse protéique, du glycogène et des graisses chez le fœtus (HILL, 1978; SUSA & SCHWARTZ, 1985). De plus, nos résultats montrent que les nouveau-nés macrosomiques ont des teneurs sériques élevées en lipides (TG, PL, CL et EC), ce qui peut favoriser une lipogenèse accrue in utero. Ces résultats sont comparables à ceux obtenus chez les nouveau-nés macrosomiques de mères diabétiques insulino-dépendantes.

Après la naissance, ces rats macrosomiques maintiennent une croissance plus importante jusqu'à la fin de l'expérience, lorsque les rats sont âgés de 3 mois. Ces résultats, en accord avec ceux d'autres auteurs (OH et al., 1988; GELARDI et al., 1990 et 1991), montrent que le poids élevé des rats macrosomiques à la naissance reste plus important que celui des rats témoins, jusqu'à l'âge adulte. L'excès pondéral est dû en particulier à une augmentation de la masse grasse, puisque le poids relatif du tissu

adipeux est significativement plus élevé chez les macrosomiques comparés aux témoins, quels que soient leur âge et leur sexe.

La constitution de l'obésité dépend de l'apport nutritionnel et du bilan énergétique. La constitution d'une obésité nécessite un excès d'apport d'énergie par rapport aux besoins.

A l'âge de 1 mois (J30), chez les macrosomiques mâles et femelles, les poids relatifs du foie, du pancréas et du muscle sont similaires à ceux des témoins, alors que celui du tissu adipeux est significativement augmenté. Ceci souligne le caractère précoce de l'installation de l'obésité chez les macrosomiques. Cependant, à cet âge, les teneurs en lipides du foie, du pancréas, du muscle et du sérum ne varient pas significativement entre les 2 groupes de rats. Par contre, les teneurs en lipides du tissu adipeux sont plus élevées chez les macrosomiques.

Après le sevrage, la prise alimentaire, et par conséquent l'azote ingéré, ainsi que l'apport énergétique chez les macrosomiques sont similaires à ceux des témoins. Ces résultats sont en accord avec ceux de OH et al., (1991) qui notent que la prise alimentaire des macrosomiques mâles et femelles ne diffère pas de celle des témoins mâles et femelles. Ainsi, la persistance de l'obésité chez les macrosomiques ne semble pas liée à une suralimentation.

Au bilan BI (du 30^{ème} au 37^{ème} jour), qui correspond à la première semaine après le sevrage, quand les animaux sont âgés de 5 semaines, non seulement la prise alimentaire, mais aussi les pertes azotées et lipidiques sont similaires dans les 2 groupes de rats (macrosomiques et témoins). Cependant, les rats macrosomiques sont moins actifs que les témoins, ce qui contribue à la diminution de leurs dépenses énergétiques.

Aux bilans BII (53^{ème} au 60^{ème} j), BIII (60^{ème} au 67^{ème} j) et BIV (83^{ème} au 90^{ème} j), malgré une consommation alimentaire (g/j/rat) similaire à celle des témoins, les macrosomiques mâles et femelles montrent des pertes azotées et lipidiques plus faibles, ce qui entraîne un bilan azoté (BA) et des coefficients d'utilisation digestive (CUD) de l'azote et des lipides plus élevés. En effet, au cours des bilans BII, BIII et BIV, l'excrétion de l'azote urinaire est plus faible chez les macrosomiques comparés aux témoins, dans les 2 sexes. Chez les macrosomiques, la diminution des pertes urinaires d'azote peut être produite par une augmentation de l'efficacité de synthèse et / ou une diminution de la dégradation des protéines.

Aux bilans BII, BIII et BIV, la diminution du rapport azote urinaire/azote ingéré indique une meilleure rétention azotée chez les macrosomiques, ce qui est en faveur

d'une augmentation des synthèses protéiques. Ceci est confirmé par l'augmentation des teneurs en protéines des différents tissus. La diminution de l'azote urinaire chez les macrosomiques est due essentiellement à une réduction de l'azote uréique. Dans l'azote urinaire, l'azote uréique représente la fraction la plus importante. La diminution de l'azote uréique chez les macrosomiques résulte probablement de la réduction de la quantité de substrat (NH_3), issu de la désamination oxydative des acides aminés, ce qui est le signe de leur meilleure utilisation pour les synthèses protéiques.

Aux différents bilans nutritionnels, l'azote fécal ne varie pas significativement entre les macrosomiques et les témoins. Cette fraction azotée correspond à l'azote alimentaire non absorbé, mais aussi et surtout à l'azote endogène. Le coefficient d'utilisation digestive de l'azote (CUD_N) chez les macrosomiques est similaire à celui des témoins, quel que soit le bilan nutritionnel. Ceci montre que la fraction d'azote non absorbé et d'azote endogène restent proportionnelles à l'azote ingéré chez les 4 lots de rats.

Les macrosomiques ont toujours des valeurs plus importantes de BA, ce qui confirme leur meilleure utilisation métabolique de l'azote et leur meilleure capacité de rétention azotée.

Au bilan BI, la digestion des lipides n'est pas perturbée chez les macrosomiques, puisque le coefficient d'utilisation digestive apparente des lipides (CUD_L) est similaire dans tous les lots de rats. Cependant, lors des bilans BII, BIII et BIV, les lipides fécaux sont plus faibles chez les macrosomiques, ce qui augmente les valeurs des CUD_L . Chez les macrosomiques, l'absorption intestinale des lipides est donc majorée. Une meilleure efficacité nutritionnelle (REN) est obtenue alors chez les macrosomiques, ce qui favorise leur plus forte croissance pondérale.

Ces différents résultats, reliés à l'augmentation du poids corporel et de la masse adipeuse chez les macrosomiques, montrent que les nutriments sont mieux assimilés et que leur mise en réserve est augmentée, en dépit d'une consommation alimentaire non majorée.

Mais la macrosomie entraîne aussi de nombreuses modifications métaboliques qui varient selon l'âge et le sexe des animaux. Dans cette partie du travail, la discussion sur le métabolisme des lipides et des lipoprotéines est faite à chaque période étudiée (J0, J30, J60, J90), car les effets de la macrosomie aux différents âges ne sont pas semblables. De plus, ces modifications métaboliques, en fonction du temps, sont le fondement de ce travail expérimental.

A la naissance, les rats macrosomiques présentent une augmentation de la masse des VLDL sériques, en raison essentiellement de leur enrichissement en triglycérides. Cependant, les teneurs en apo B100 des VLDL chez les nouveau-nés macrosomiques sont similaires à celles des nouveau-nés témoins. Ces résultats sont en faveur d'une augmentation de la synthèse et de la sécrétion des triglycérides par le foie. De plus, ces nouveau-nés macrosomiques ont des teneurs élevées en LDL et HDL sériques, comparées aux valeurs trouvées chez les rats témoins. Ces résultats vont dans le même sens que ceux obtenus chez les nouveau-nés macrosomiques humains. L'augmentation significative de tous les constituants sériques des LDL et des HDL (apos, cholestérol, TG, PL) indique une élévation du nombre de particules de LDL et HDL chez les nouveau-nés macrosomiques. Ces modifications peuvent être la conséquence d'une augmentation de la synthèse des LDL et des HDL. L'hyperinsulinisme fœtal, et l'abondance de substrats provenant de la mère diabétique sont à l'origine d'une augmentation de la synthèse des apos et d'une lipogenèse exagérée dans le foie fœtal (DIAMANT & SHAFRIR, 1978; VILLIESIS & OH, 1983).

L'augmentation du transfert placentaire du glucose et des AGL de la ratte diabétique vers le fœtus, ainsi que l'hyperinsulinisme fœtal peuvent être à l'origine de la stimulation de la production hépatique des TG. Chez les nouveau-nés macrosomiques hyperglycémiques, le glucose capté par le foie en grande quantité, est soit stocké, sous forme de glycogène hépatique, soit dégradé par la voie de la glycolyse et la voie des pentoses. La dihydroxyacétone phosphate et le pyruvate, produits de la glycolyse, constituent des substrats pour la synthèse des AG et des lipides. La formation du NADPH par la voie des pentoses est aussi essentielle pour cette synthèse.

Plusieurs auteurs montrent que l'activité des enzymes hépatiques de la glycolyse et de la lipogenèse est élevée chez les fœtus hyperinsuliniques de rattes diabétiques (DIAMANT & SHAFRIR, 1978; VILEISIS & OH, 1983). SHAFRIR et al., (1982 et 1987) notent que les teneurs sériques en TG et en AGL sont augmentées chez la ratte gestante diabétique. Ceci entraîne une augmentation du transfert transplacentaire des acides gras vers le fœtus. D'autre part, les activités de la LPL et de la lipase intracellulaire placentaire sont élevées chez la ratte diabétique, ce qui augmente l'hydrolyse des TG maternels et la captation des AG par le placenta, et par la suite leur libération dans la circulation fœtale (SHAFRIR & BARASH, 1987). Ces acides gras sont alors captés par le foie où ils contribuent à la synthèse des TG. En effet, chez la ratte gestante diabétique, les teneurs sériques en TG et en AGL maternels sont corrélées

positivement avec les teneurs hépatiques fœtales en triglycérides (GOLDSTEIN et al., 1985).

Une diminution du catabolisme des LDL peut aussi contribuer à l'augmentation de leur taux circulant. Le catabolisme des LDL est surtout important au niveau du foie, après leur fixation aux récepteurs apo B/E et leur endocytose (ATTIE et al., 1982). Chez le rat fœtus à terme, les récepteurs hépatiques des LDL sont fonctionnels et jouent un rôle important dans la régulation de la concentration sérique en cholestérol (DURER et al., 1987). La synthèse du cholestérol hépatique peut être élevée chez le fœtus macrosomique, en raison d'un excès d'acétyl-CoA provenant du glucose et des acides gras. Ceci peut entraîner une diminution de la synthèse des récepteurs hépatiques des LDL, avec réduction de la captation des LDL sériques, phénomène de rétrocontrôle destiné à protéger le foie d'une surcharge éventuelle en cholestérol.

Chez le fœtus, les HDL représentent la fraction majeure des lipoprotéines, elles jouent un rôle important dans le transport du cholestérol aux différents tissus, aussi bien chez l'homme (ROSSENEN et al., 1983) que chez le rat (ARGILES & HERRERA, 1981; GARCIA-MOLINA et al., 1996). L'augmentation des HDL chez le fœtus macrosomique reflète certainement des besoins majorés en cholestérol pour assurer la croissance de ses différents tissus, sachant que la majorité des tissus sont hypertrophiés chez le fœtus hyperinsulinique macrosomique (HILL, 1978).

L'élévation des HDL₂₋₃ sériques chez les nouveau-nés macrosomiques est associée à une augmentation de l'activité LCAT. Cette augmentation d'activité enzymatique peut être due à une synthèse hépatique élevée, suite à la stimulation des synthèses protéiques par l'insuline. Ainsi, l'augmentation de l'activité LCAT chez les nouveau-nés macrosomiques est probablement due à une plus forte quantité d'enzyme. Cette activité LCAT est corrélée positivement avec les teneurs en EC des HDL chez les rats nouveau-nés macrosomiques. Cependant, chez l'homme, la macrosomie n'est pas associée à une augmentation de l'activité LCAT.

Les nouveau-nés macrosomiques présentent aussi des altérations de la composition en acides gras des lipides sériques. Les AGE et leurs dérivés (familles n-6 et n-3) présentent de nombreuses et très importantes propriétés biologiques qui expliquent leur importance nutritionnelle. Certains servent non seulement à l'élaboration des PL des membranes cellulaires, contribuant à la fluidité membranaire et régulant les activités des protéines membranaires intrinsèques (CHRISTON et al., 1988; LEGER et al., 1989), mais aussi constituent les substrats pour la synthèse des eicosanoïdes d'origine microsomale (endopéroxydes, prostaglandines, thromboxanes, prostacyclines et

leucotriènes) qui jouent de nombreux rôles physiologiques et qui sont impliqués dans différentes pathologies (SPECTOR et al., 1988).

Ainsi, toute perturbation de la composition en AG des lipides sériques peut entraîner des altérations métaboliques et modifier le fonctionnement des membranes cellulaires et intracellulaires.

Les pourcentages en acides gras saturés sont élevés dans les TG et les PL des VLDL chez les nouveau-nés macrosomiques. L'hyperinsulinisme observé chez les nouveau-nés macrosomiques peut être à l'origine de l'augmentation de la synthèse de ces AG à partir des glucides ou de la diminution de leur oxydation. En effet, l'insuline stimule la synthèse des acides gras, en augmentant la disponibilité de l'acétyl CoA (provenant du glucose et des acides aminés) et du NADPH, et en activant l'enzyme acyl CoA carboxylase, et elle inhibe l'oxydation des AG (SPARKS & SPARKS, 1994). Ces AGS sont donc plus élevés dans les TG et les PL hépatiques chez les nouveau-nés macrosomiques.

Les nouveau-nés macrosomiques présentent une diminution du C18:2n-6, associée à une augmentation du C20:4n-6 dans les TG et les PL des VLDL, ce qui est en faveur d'une élévation de la conversion microsomale du C18:2n-6 en C20:4n-6, suite à l'action des $\Delta 6$ et $\Delta 5$ désaturases et des élongases. L'insuline stimule les activités des désaturases, probablement en augmentant la synthèse de ces enzymes (ECK et al., 1979). De plus, les teneurs en C22:6n-3 dans les TG et les PL des VLDL sont diminuées chez les nouveau-nés macrosomiques, ce qui peut être dû à une augmentation de l'utilisation de cet AG par les macrosomiques. Il a été démontré que le tissu adipeux accumule une grande quantité d'AGPI chez le fœtus près du terme, et le dépôt d'AGPI de la série n-3 dans le tissu adipeux dépasse largement celles des autres tissus fœtaux (INNIS, 1991). L'excès de tissu adipeux chez le fœtus hyperinsulinique macrosomique peut augmenter l'accumulation du C22:6n-3 dans ce tissu, ce qui diminuerait sa teneur dans les lipides circulants.

Après un mois de vie post-natale, plusieurs modifications observées chez les macrosomiques à la naissance disparaissent. En effet, à J30, les concentrations sériques en glucose, insuline, lipides et lipoprotéines (VLDL, LDL-HDL₁ et HDL₂₋₃) chez les macrosomiques mâles et femelles deviennent similaires à celles des rats témoins de même sexe. Les teneurs en lipides hépatiques sont aussi semblables dans les différents lots. Cependant, les activités des enzymes, LPL adipocytaire, HTGL, HMG-CoA réductase, 7 α -hydroxylase, ACAT hépatiques et LCAT sérique sont

significativement plus élevées chez les macrosomiques âgés de 1 mois comparés aux témoins de même âge.

La LPL et la HTGL catalysent l'hydrolyse des TG et des PL et jouent un rôle important dans leur métabolisme intravasculaire (AILHAUD, 1990 ; OLIVECRONA & BENGTSSON, 1990 ; BARRANS et al., 1994). Les molécules de LPL sont fixées sur la membrane des cellules vasculaires endothéliales, elles hydrolysent les TG des chylomicrons et des VLDL (OLIVECRONA & BENGTSSON, 1990 ; BARRANS et al., 1994). L'apo C-II, présente à la surface des chylomicrons et des VLDL, sert de cofacteur activateur essentiel à l'activité de la LPL (BENGTSSON & OLIVECRONA, 1980). Les acides gras ainsi libérés sont utilisés comme source d'énergie par les cellules, ou sont mis en réserve sous forme de TG par les adipocytes. L'action de la LPL permet la transformation des chylomicrons en remnants, la conversion des VLDL en IDL puis en LDL, et le transfert de PL, de cholestérol et d'apos aux HDL discoïdales naissantes (SANTAMARINA-FOJO & DUGI, 1994). Chez l'homme, la plus grande partie des IDL est transformée en LDL (stade final de la dégradation des VLDL). Chez le rat, l'essentiel des IDL est dégradé par les hépatocytes, après endocytose, via les récepteurs à apo B/E (HAVEL, 1984). Cela entraîne une faible concentration en LDL dans le sérum de rat, et de plus la majeure partie de ces LDL est sécrétée directement par le foie. La HTGL, liée à l'endothélium vasculaire hépatique, hydrolyse les TG et les PL des remnants, des IDL, des LDL et des HDL. Cette enzyme ne requiert pas la présence d'apo C-II comme activateur (OLIVECRONA & BENGTSSON, 1990).

L'augmentation de l'activité de la LPL adipocytaire chez les macrosomiques à J30 facilite la synthèse de TG à partir des AGL au niveau des adipocytes, et participe ainsi à l'excès du tissu adipeux observé chez ces rats. De plus, comme l'activité de la LPL musculaire est normale, alors que celle de l'adipocyte est élevée, cela facilite la mise en réserve de graisse dans le tissu adipeux des macrosomiques. Ces résultats sont comparables à ceux obtenus chez le rat Zucker obèse (fa/fa) qui montre à l'âge de 4 semaines, un excès de tissu adipeux, avec une augmentation de l'activité de la LPL adipocytaire, alors que celle de la LPL musculaire reste similaire à celle des témoins (GRUEN et al., 1978; BOULANGE et al., 1981).

Plusieurs études ont montré une forte corrélation entre le stockage des lipides et l'activité LPL au niveau du tissu adipeux (TASKINEN & NIKKILA, 1977; ECKEL, 1989). Une augmentation des activités LPL et HTGL doit être associée à une élévation du catabolisme des VLDL, donc entraîner une diminution de leur taux circulants. Cependant, chez les macrosomiques à J30, malgré des activités lipolytiques élevées,

les concentrations en VLDL et LDL restent similaires à celles des témoins. A J30, l'augmentation du catabolisme des VLDL serait compensée par une augmentation de la synthèse et de la sécrétion par le foie de ces lipoprotéines, chez les macrosomiques.

A J30, les concentrations hépatiques en cholestérol libre et en esters de cholestérol chez les macrosomiques, sont similaires à celles des témoins, tandis que les activités des enzymes impliquées dans leur métabolisme (HMG-CoA réductase, 7 α -hydroxylase, ACAT) sont élevées.

La HMG-CoA réductase joue un rôle fondamental dans la régulation de la biosynthèse du cholestérol. Sa localisation est microsomale (CLINKENBEARD et al., 1975) et elle existe sous deux formes: phosphorylée (inactive) et déphosphorylée (active) (BOVE & HEGARDT, 1978). Elle régule la vitesse et l'importance de la biosynthèse du cholestérol. Un repas riche en cholestérol provoque une diminution de l'activité de la HMG-CoA réductase et une réduction de sa biosynthèse hépatique (RODWELL, 1976). Le fonctionnement de l'enzyme est régulé par le taux du produit final de la synthèse, le cholestérol.

Dans le foie, la transformation du cholestérol en acides biliaires implique une enzyme microsomale, la 7 α -hydroxylase qui est l'enzyme limitante de cette voie métabolique (BJORKHEM, 1985). Le 7 α -hydroxycholestérol formé subit une série de transformations aboutissant aux acides biliaires. Ces acides biliaires ont un effet rétrorégulateur sur l'activité de la 7 α -hydroxylase. Un régime riche en cholestérol est généralement à l'origine d'une augmentation de la production des acides biliaires (NESTEL & POYSER, 1976). L'augmentation du contenu en cholestérol libre de l'hépatocyte stimule l'activité de la 7 α -hydroxylase (EINARSSON et al., 1987). Le cholestérol libre hépatique est aussi stockée sous forme estérifiée, grâce à l'enzyme microsomale ACAT. Tout excès d'apport de cholestérol à la cellule entraîne l'activation de la ACAT qui permet la mise en réserve du cholestérol sous forme estérifiée (SUCKLING & STANGE, 1985). De plus, étant donné le rôle du foie dans la synthèse des lipoprotéines, la formation des esters de cholestérol sous l'action de la ACAT constitue une étape importante dans la synthèse et la sécrétion des lipoprotéines par le foie (THOMPSON et al., 1996). Ces enzymes hépatiques agissent de façon coordonnée afin de maintenir l'homéostasie du cholestérol à l'intérieur de l'hépatocyte.

Ainsi, à J30, l'augmentation de l'activité HMG-CoA réductase, chez les macrosomiques, entraîne une élévation de la synthèse hépatique du cholestérol qui stimule par la suite les activités de l'ACAT et de la 7 α -hydroxylase. L'augmentation de la synthèse du cholestérol hépatique, combinée à l'élévation de son excrétion sous

forme d'acides biliaires, et à son estérification, permettraient de garder un pool hépatique de cholestérol libre et estérifié similaire à celui des témoins chez les macrosomiques.

A J30, malgré l'augmentation de l'activité LCAT qui permet l'estérification du CL des HDL₃ les transformant en HDL₂, les quantités ainsi que la composition des HDL₂₋₃ chez les rats macrosomiques sont similaires à celles des témoins de même âge, pour les 2 sexes. L'augmentation de l'activité LCAT devrait être associée à une élévation des teneurs sériques en HDL₂. Chez le rat, comme le transfert des EC des HDL vers les autres lipoprotéines est très limité (HA & BARTER, 1982), les HDL₂ sont plus riches en EC que chez l'homme, ce qui donne naissance à des HDL₁ (particules très riches en EC et en apo E). Ces HDL₁ ont un comportement analogue à celui des LDL, elles sont capables de fournir le cholestérol aux tissus en se fixant sur les récepteurs apo B/E (OSCHRY & EISENBERG, 1982). Ces particules sont isolées par ultracentrifugation à une densité proche de 1.063 g/mL, et sont donc prélevées avec les LDL. Il est en effet très difficile d'isoler des LDL pures chez le rat (OSCHRY & EISENBERG, 1982).

Ainsi, chez les rats macrosomiques âgés de 1 mois, une augmentation de la synthèse des lipoprotéines, combinée à une élévation de leur catabolisme peuvent expliquer le maintien de taux normaux.

Tous ces résultats doivent être mis en relation avec l'augmentation de la sensibilité des tissus à l'insuline chez les macrosomiques âgés de un mois, malgré des taux circulants normaux de cette hormone.

Plusieurs auteurs montrent que le nombre de récepteurs à l'insuline, ainsi que leur affinité pour cette hormone, sont plus élevés chez les nouveau-nés macrosomiques de mères diabétiques (PEDERSEN et al., 1981; COWETT & SHWARTZ, 1982; KAPLAN, 1984), ce qui peut expliquer, non seulement l'excès de tissu adipeux, mais aussi la majorité des altérations métaboliques.

En effet, l'insuline accroît l'activité de la LPL adipocytaire en augmentant la transcription du gène et le taux de synthèse de l'enzyme (ECKEL, 1987; ONG et al., 1988; SANTAMARIA-FOJO & DUGI, 1994). La synthèse de la HTGL peut aussi être augmentée, suite à une stimulation générale de la synthèse hépatique des protéines par l'insuline. L'insuline stimule aussi la synthèse et la sécrétion des VLDL par le foie (LAKER & MAYES, 1984) et accroît l'épuration des VLDL en stimulant l'activité du récepteur apparenté au LDL-récepteur qui lie l'apo E (LRP), qui est exprimé par les adipocytes et les hépatocytes (DESCAMPS et al., 1993). De plus, l'insuline augmente l'activité des récepteurs extra hépatiques aux LDL, ce qui majore leur clairance

(MAZZONE et al., 1984). En effet, les résultats de SWAMI et al., (1996) mettent en évidence une réduction du nombre de récepteurs aux LDL localisés au niveau du tissu adipeux chez les rats rendus diabétiques par la streptozotocine, anomalie qui est rapidement corrigée par un traitement à l'insuline.

Une plus grande sensibilité des tissus à l'insuline chez les macrosomiques peut aussi expliquer l'augmentation des activités des enzymes HMG-CoA réductase, 7 α -hydroxylase, ACAT et LCAT suite à l'élévation de la synthèse hépatique de ces enzymes. En effet, chez les macrosomiques, les teneurs hépatiques en protéines totales sont élevées, ce qui est en faveur d'une stimulation de la synthèse protéique globale dans le foie.

A J30, le profil des acides gras des lipides hépatiques et des VLDL reflète probablement celui du lait maternel, puisque le sevrage est réalisé à cette période. Nos résultats montrent une augmentation des pourcentages pondéraux du C18:2n-6 dans les TG, PL et EC hépatiques et dans les TG et PL des VLDL chez les rats macrosomiques. Ceci est lié aux modifications de la composition en AG du lait de la mère diabétique. En effet, BITMAN et al., (1989) notent une plus forte concentration du C18:2n-6 dans le lait de la mère diabétique. Des études réalisées chez le rat montrent que le métabolisme des AG de la glande mammaire est régulé par l'insuline (MC NEILLIE & ZAMMIT, 1982; JONES et al., 1984). Ainsi, toute déficience en insuline de la mère induit des changements du métabolisme lipidique de la glande mammaire, et par la suite modifie la composition du lait (BITMAN et al., 1989).

A J60, chez les macrosomiques mâles, les teneurs en lipides hépatiques, ainsi que les concentrations sériques en glucose, insuline, lipides, VLDL, LDL-HDL₁ et HDL₂₋₃ sont similaires à celles des témoins de même âge, alors que les activités de la LPL adipocytaire, de la HTGL, de la LCAT, de la HMG-CoA réductase, de la 7 α -hydroxylase et de l'ACAT sont significativement plus élevées comparées aux valeurs témoins. Ces résultats sont du même ordre que ceux obtenus à J30. Cependant, contrairement aux macrosomiques mâles, les macrosomiques femelles âgés de 2 mois présentent, en plus, une élévation des TG hépatiques, avec un enrichissement concomitant en triglycérides des VLDL plasmatiques. Ces faits suggèrent qu'à J60, chez les macrosomiques femelles, malgré l'augmentation des activités lipolytiques favorisant l'hydrolyse des triglycérides des VLDL, ces particules gardent des teneurs plus élevées en TG. Cela suppose une forte augmentation de leur synthèse hépatique. Chez ces macrosomiques femelles, des concentrations sériques plus élevées en œstrogènes peuvent expliquer l'augmentation des triglycérides hépatiques et sériques, puisque les

œstrogènes stimulent leur synthèse hépatique (WEINSTEIN et al., 1979; SCHAEFER et al., 1983).

A J60, chez les macrosomiques mâles et femelles, les profils en AG des différents lipides hépatiques et des VLDL sont aussi modifiés. La composition en AG des lipides de l'organisme est influencée par celle des lipides consommés. Mais dans notre travail, les rats macrosomiques et témoins reçoivent le même régime et la quantité de nourriture ingérée par rat ne varie pas significativement entre les 2 groupes de rats. La qualité et la quantité des AG ingérés sont donc semblables chez les rats témoins et les rats macrosomiques. Il apparaît donc que les modifications dans la répartition en AG chez les macrosomiques, après sevrage, ne sont pas liées à l'alimentation, mais à d'autres facteurs, probablement hormonaux, en relation avec la macrosomie.

A J60, les TG hépatiques des rats macrosomiques mâles et femelles contiennent des pourcentages plus élevés en acides gras saturés. Ceci peut provenir de l'augmentation de la synthèse hépatique de ces AG à partir des glucides et/ou d'une réduction de leur oxydation.

La diminution du C18:3n-3 et l'augmentation concomitante du C22:6n-3 dans les TG et les PL hépatiques des macrosomiques sont en faveur d'une stimulation des étapes de désaturation et d'élongation du C18:3n-3, favorisée par une plus forte sensibilité à l'insuline, qui stimule les systèmes de désaturation et d'élongation (ECK, 1979 ; SPARK & SPARK, 1994).

A J60, la composition en AG des TG, PL et EC des VLDL n'est pas modifiée significativement chez les macrosomiques, bien que le profil en AG des lipides hépatiques le soit. Seuls les TG hépatiques chez les macrosomiques femelles âgées de 2 mois montrent une augmentation des pourcentages pondéraux des AGS, retrouvée dans les TG des VLDL.

A J90, Quelques anomalies métaboliques présentes à la naissance et qui avaient disparu à J30 et J60, réapparaissent et s'aggravent. En effet, les macrosomiques mâles et femelles adultes présentent des teneurs sériques élevées en glucose, insuline, lipides, VLDL, LDL-HDL₁ et HDL₂₋₃. De plus, ces macrosomiques ont des teneurs en lipides hépatiques et des activités enzymatiques (HTGL, HMG-CoA réductase, 7 α -hydroxylase, ACAT et LCAT) plus importantes que celles des témoins de même âge. De plus, ils ont toujours un excès de tissu adipeux.

Ces modifications peuvent être le résultat de la mise en place d'une résistance à l'insuline à l'âge de 3 mois chez les macrosomiques. En effet, plusieurs auteurs ont mis en évidence un hyperinsulinisme, associé à une résistance périphérique à l'insuline

chez les rats macrosomiques âgés de 12 semaines (OH et al., 1988; GELARDI et al., 1990 et 1991). De nombreux travaux, réalisés chez l'homme, rapportent que l'obésité, définie par un excès de masse grasse, s'accompagne très souvent d'une insulino-résistance et de son corollaire, l'hyperinsulinisme (KOLTERMAN et al., 1980; PRAGER et al., 1987; REAVEN, 1988; BJÖMTORP, 1991).

Chez l'homme, l'installation progressive de l'obésité est aussi associée à un état d'hypersensibilité à l'insuline, et le maintien de l'obésité entraîne une résistance à cette hormone (DEL PRATO et al., 1990; FRAYN & COPPACK, 1992). De plus, l'hyperinsulinisme s'accroît avec l'accroissement de l'obésité (KISSEBAH et al., 1989; DEL PRATO et al., 1990). Dans plusieurs modèles d'obésité (rat Zucker fa/fa, souris ob/ob, souris CBA/Ca, etc.), la résistance à l'insuline est retrouvée et elle est une conséquence du développement de l'obésité (DUBUC, 1976; SCLAFANI, 1984; CONNELLY & TABERNER, 1989).

Les mécanismes impliqués dans l'insulino-résistance chez l'obèse sont complexes. L'accumulation progressive des TG dans le tissu adipeux aboutit à une saturation lipidique des adipocytes qui deviennent moins sensibles à l'action principale de l'insuline, à savoir l'entrée du glucose et sa conversion en lipides (OLEFSKY, 1977; KISSEBAH et al., 1989). De plus, ces adipocytes montrent non seulement une diminution du nombre et de l'affinité des récepteurs à l'insuline, mais aussi une réduction des activités enzymatiques impliquées dans la conversion du glucose en AG et en TG (OLEFSKY, 1977; KOLTERMAN et al., 1980; KISSEBAH et al., 1989). Une réduction de l'activité de l'enzyme acyl CoA carboxylase et une inhibition de la voie des pentoses phosphates sont aussi observées, ce qui diminue la synthèse des AG dans les adipocytes déjà très riches en lipides (EGGLESTON & KREBS, 1974; RICHARDSON & CZECH, 1978). Ces mêmes mécanismes de rétrocontrôle de la lipogenèse adipocytaire ont été mis en évidence par GELARDI et al., (1990) chez les rats macrosomiques, ils apparaissent à l'âge de 10 semaines.

Il a été montré que chez les obèses, l'activité LPL adipocytaire, déjà très élevée, ne répond plus à une stimulation par l'insuline, limitant ainsi la pénétration des AG provenant des TG des VLDL (BOSELLO et al., 1984; ECKEL et al., 1995).

Nos résultats montrent qu'à J90, malgré l'hyperinsulinisme des macrosomiques, l'activité LPL adipocytaire est similaire à celle des témoins, alors qu'elle est significativement plus élevée que celle des témoins à J30 et J60. Ceci est en faveur d'une moindre induction de la LPL par l'insuline chez les macrosomiques âgés de 3 mois.

A J90, l'augmentation des teneurs sériques en VLDL chez les macrosomiques peut être due à une augmentation de leur synthèse hépatique. L'association hyperinsulinisme et hypertriglycéridémie a été bien établie chez l'homme et chez le rat. L'hyperinsulinisme chez les sujets obèses ou diabétiques non insulino-dépendant est à chaque fois lié à une surproduction hépatique des VLDL (STEINER et al., 1980 et 1982 ; REAVEN & CHEN, 1988 ; BJOMTORP, 1991 ; GINSBERG, 1991; WINOCOUR et al., 1992; TOMKIN & OWENS, 1994; TASKINEN, 1997). STEINER et al., (1984) montrent que le taux de sécrétion des TG par le foie est élevé chez les rats rendus hyperinsuliniques par injection sous-cutané d'insuline. Chez le rat obèse Zucker (*fa/fa*), l'hyperinsulinisme est aussi associé à une surproduction hépatique des VLDL (SCHONFELD et al., 1974; BOULANGE et al., 1981).

A J90, les macrosomiques répondent à l'augmentation de la lipogénèse hépatique par une augmentation de la production des VLDL. Cependant, ce processus n'est pas suffisant pour prévenir l'accumulation des lipides hépatiques (stéatose hépatique) chez les macrosomiques. De plus, l'augmentation de l'activité de la HTGL peut permettre de majorer la captation des AG par les hépatocytes, après hydrolyse des PL et des TG des lipoprotéines, contribuant aussi à l'élévation des lipides hépatiques chez les macrosomiques adultes.

Chez les macrosomiques femelles seulement, les VLDL sont enrichies en esters de cholestérol. Cette modification est souvent observée chez les sujets diabétiques non-insulinodépendants (GINSBERG, 1991), elle fait suite à une élévation des échanges de matériel, et en particulier d'EC, entre VLDL et HDL par les protéines de transfert (TALL, 1986). Cependant, chez le rat, le transfert des lipides entre les lipoprotéines étant très limité par absence de protéines de transfert, l'augmentation des VLDL-EC est probablement la conséquence de l'augmentation de leur synthèse hépatique. En effet, un enrichissement en EC est aussi noté au niveau du foie chez les macrosomiques femelles à J90.

A J90, l'augmentation des VLDL sériques peut expliquer l'élévation parallèle des LDL chez les macrosomiques adultes. Néanmoins, comme une faible partie des VLDL est convertie en LDL chez le rat, les teneurs élevées en LDL sont probablement dues à l'augmentation de leur synthèse hépatique. Cependant, une diminution du catabolisme de ces LDL peut aussi exister chez les macrosomiques âgés de 3 mois, en relation avec l'insulino-résistance.

A J90, les rats macrosomiques présentent une élévation des activités HMG-CoA réductase, 7 α -hydroxylase et ACAT hépatiques, avec des concentrations en cholestérol

hépatique similaires à celles des témoins. Ces modifications sont analogues dans les 2 sexes, à l'exception d'une augmentation des teneurs hépatiques en EC, concomitante à un enrichissement des VLDL en EC chez les macrosomiques femelles âgés de 3 mois, comparées aux témoins femelles. L'augmentation parallèle des activités des HMG-CoA réductase, 7α -hydroxylase et ACAT maintiennent l'homéostasie du cholestérol hépatique, du moins chez les macrosomiques mâles. Chez les macrosomiques femelles, une accumulation des esters de cholestérol est notée, parallèle à l'augmentation des activités HMG-CoA réductase et ACAT. Ces modifications peuvent être influencées par les hormones sexuelles. Les œstrogènes stimulent non seulement les récepteurs hépatiques aux LDL, mais aussi l'activité HMG-CoA réductase (WINDLER et al., 1980; SACKS & WALSH, 1994).

D'autre part, l'augmentation de l'activité de la 7α -hydroxylase favorise la transformation du cholestérol en acides biliaires et leur excrétion sous forme de sels biliaires dans la bile, puis dans l'intestin. Leur présence en plus grande quantité chez les macrosomiques peut favoriser l'absorption intestinale des lipides alimentaires. Ceci entraînerait la diminution des lipides fécaux chez les rats macrosomiques durant les différents bilans nutritionnels. De plus, 90% des acides biliaires sont normalement réabsorbés dans l'intestin et retournent au foie à travers un cycle entéro-hépatique. Ces acides biliaires contrôlent la synthèse du cholestérol hépatique qui se trouve freinée par leur retour en grande quantité au foie (BJORKHEM, 1985). Cet effet rétrorégulateur semble atténué chez les rats macrosomiques.

A J90, par rapport aux autres périodes, la composition en AG des lipides hépatiques et des VLDL est davantage modifiée. En général, une augmentation des AGS et des AGMI est notée, associée à une diminution des AGPI, dans les TG et les PL hépatiques, tandis que la composition des EC n'est pas modifiée. L'élévation des AGS et des AGMI hépatiques peut être due à une augmentation de leur synthèse hépatique à partir des glucides. A J90, les macrosomiques mâles et femelles montrent une diminution du C20:4n-6 dans les TG et les PL du foie et des VLDL. Plusieurs auteurs notent une diminution du C20:4n-6 dans les tissus et dans les lipides circulants des personnes diabétiques non insulino-dépendantes (TILVIS et al., 1988; DOBREV et al., 1989; EL-BOUSTANI et al., 1989; HORROBIN, 1989). Chez le rat obèse Zucker, la diminution du C20:4n-6 par rapport au C18:2n-6 dans les lipides tissulaires est expliquée par une altération du métabolisme des AGPI (WAHLE et al., 1991).

A J90, une diminution du rapport P/S est observée dans les PL du foie et des VLDL chez les macrosomiques. La diminution du rapport P/S dans les PL membranaires

entraîne une plus faible perméabilité, élasticité et fluidité, et une plus forte cohésion et viscosité des membranes (CHRISTON et al., 1988; LEGER et al., 1989). Les variations de la viscosité membranaire peuvent aussi modifier la capacité des protéines intrinsèques à répondre à des effecteurs externes comme les hormones.

Les interactions entre la composition en AG des différents lipides membranaires, la sécrétion de l'insuline et l'insulino-résistance sont bien connues (PELINKANOVA et al., 1989; SALOMAA et al., 1990). Il y a une importante interaction entre le degré de saturation des lipides de la membrane et le nombre de récepteurs à l'insuline présents sur la membrane. Il a été démontré que l'insaturation des AG des membranes augmente, alors que la saturation diminue le nombre des récepteurs à l'insuline, et par la suite l'action de l'insuline (GINSBERG et al., 1981; GRUNFELD et al., 1981).

A J90, les rats macrosomiques mâles et femelles ont des concentrations élevées en HDL, dont la composition est modifiée. Leurs teneurs en esters de cholestérol sont augmentées, parallèlement à l'élévation de l'activité LCAT. Les concentrations en TG et PL des HDL sont aussi élevées chez les macrosomiques adultes. L'activité de la HTGL, qui normalement hydrolyse les TG et les PL des HDL, est pourtant élevée chez les macrosomiques adultes. Il est donc possible que l'augmentation des TG et des PL des HDL, à J90, chez les macrosomiques soit la conséquence d'une synthèse accrue dépassant les capacités de clairance, elles même augmentées.

Nos résultats montrent aussi que les concentrations en HDL sériques sont corrélées positivement avec l'adiposité chez les macrosomiques adultes. Ceci est en contradiction avec les résultats notés chez l'homme obèse, mais en accord avec ceux observés chez plusieurs modèles animaux d'obésité. Plusieurs auteurs rapportent chez l'homme une diminution des concentrations de l'apo A-I et des HDL sériques dans l'obésité et le diabète non insulino-dépendant, anomalie liée à l'effet direct de l'insulino-résistance sur les étapes clés du métabolisme des HDL et liée aux conséquences des anomalies du métabolisme des lipoprotéines riches en TG (LAAKSO et al., 1990; BAYNES et al., 1991; GINSBERG, 1991; BRINTON et al., 1994). Chez les rats génétiquement ou expérimentalement obèses, l'association insulino-résistance et teneurs élevées en HDL sériques est très courante (SCHONFELD et al., 1974; COHN et al., 1987; MELA et al., 1987). Les travaux de COHN et al., (1987) sur les rats génétiquement obèses (SHR-N) montrent que les HDL circulantes sont élevées avec une augmentation de leur contenu en apos, en cholestérol, en TG et en PL. Les teneurs en apo C sont plus élevées, tandis que celles en apo A-I et E sont similaires à celles

des rats non obèses (COHN et al., 1987). Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus dans notre travail chez les rats macrosomiques adultes.

En conclusion, la macrosomie, provoquée expérimentalement chez le rat, entraîne des modifications du métabolisme, à la naissance et à l'âge adulte, comparables à celles observées chez l'homme et chez les modèles animaux atteints d'obésité ou de diabète non insulino-dépendant.

La suralimentation et l'hyperinsulinisme in utero favorisent le développement d'une adiposité importante. Les nouveau-nés macrosomiques de rattes rendues diabétiques par la streptozotocine présentent un hyperinsulinisme et un poids élevé. De plus, ces nouveau-nés macrosomiques ont des teneurs sériques en lipides et en lipoprotéines (VLDL, LDL-HDL₁, HDL₂₋₃) et une activité LCAT sérique élevées.

Les rats macrosomiques ont une croissance accélérée et un excès de tissu adipeux jusqu'à la fin de notre expérimentation, soit 3 mois de vie. La persistance de l'obésité ne semble pas liée à une suralimentation post-natale, mais à une meilleure utilisation des nutriments, et à une réduction des dépenses énergétiques.

De la naissance à l'âge de 2 mois, une plus grande sensibilité des tissus à l'insuline, acquise in utero, paraît exister en dépit de taux circulants normaux de cette hormone. Ceci peut expliquer l'hypertrophie du tissu adipeux, l'augmentation des teneurs en protéines tissulaires, l'élévation des activités LPL, HTGL, LCAT, 7 α -hydroxylase, HMG-CoA réductase et ACAT.

A l'âge de 2 mois chez les macrosomiques femelles, et à 3 mois chez les macrosomiques mâles, une résistance à l'insuline apparaît et peut expliquer la majorité des troubles du métabolisme observés, à savoir l'hyperglycémie, l'hyperinsulinisme, l'hyperlipoprotéïnémie, la stéatose hépatique et les altérations de la composition en acides gras des lipides hépatiques et des VLDL. Le métabolisme des lipides et des lipoprotéines paraît plus fortement perturbé chez les macrosomiques femelles. Les altérations de ce métabolisme s'accroissent avec l'âge dans les deux sexes. Les macrosomiques représentent un modèle original d'hyperlipoprotéïnémie. L'élévation parallèle des VLDL et des HDL est intéressante, puisqu'il y a normalement une corrélation inverse entre ces deux familles de lipoprotéines.

En plus de l'insuline, il est fort possible que d'autres hormones soient impliquées et jouent un rôle dans l'apparition des troubles lipidiques chez les macrosomiques. Mais la relation de cause à effet est difficile à prouver. En effet, les troubles du métabolisme

des lipides et des lipoprotéines peuvent jouer un rôle causal ou être une conséquence de l'apparition de l'hyperinsulinisme et de la résistance périphérique à l'insuline à l'âge adulte chez les rats macrosomiques.

Ces résultats nous paraissent établir définitivement que la macrosomie fœtale est associée à des altérations du métabolisme des lipides et des lipoprotéines qui s'accroissent avec l'âge. Il apparaît clairement qu'un contrôle métabolique rigoureux pendant la grossesse chez la diabétique permettrait de réduire non seulement la prévalence de la macrosomie fœtale, mais aussi les altérations du métabolisme des lipides de l'âge adulte. Il est ainsi nécessaire de prendre en charge les anomalies lipidiques dès la naissance. Cela peut se faire par une alimentation appropriée qui doit tenir compte de l'hyperlipoprotéïnémie mixte de la naissance.

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Nos résultats mettent en évidence que le métabolisme des lipoprotéines est profondément perturbé par l'hypotrophie et la macrosomie fœtales.

Les profils lipoprotéiques, lipidiques et apolipoprotéiques chez les nouveau-nés hypotrophes sont différents de ceux des nouveau-nés témoins eutrophiques. A la naissance, chez les hypotrophes, les teneurs sériques en VLDL sont plus élevées, tandis que les concentrations sériques en LDL et HDL sont diminuées. L'augmentation des VLDL sériques est parallèle à celle des TG et de l'apo B, alors que la diminution des HDL est concomitante de celles des EC, de l'apo A-I et de l'apo A-II. De plus, chez les hypotrophes, la réduction de l'activité LCAT est associée à des modifications qualitatives et quantitatives des sous-fractions HDL₂ et HDL₃.

Ainsi, une dyslipoprotéïnémie, avec essentiellement une hypertriglycémie liée aux VLDL, et une baisse du HDL-cholestérol, est notée chez l'hypotrophe à la naissance.

Les nouveau-nés macrosomiques de mères diabétiques ou obèses présentent aussi des variations de leurs profils lipoprotéiques, lipidiques et apolipoprotéiques comparés aux nouveau-nés témoins de mères normales. En effet, à la naissance, les macrosomiques présentent des teneurs sériques élevées en TG, PL, cholestérol, apo A-I, apo A-II et apo B, accompagnées d'une augmentation de toutes les lipoprotéines sériques (VLDL, LDL, HDL₂ et HDL₃). Une abondance de substrats fournis par la mère et l'hyperinsulinisme fœtal peuvent expliquer l'élévation de la synthèse des lipides et des lipoprotéines chez ces macrosomiques. Ces derniers montrent aussi des altérations de la composition des HDL₂ et des HDL₃, alors que l'activité LCAT est normale. L'hyperglycémie et l'hypertriglycémie de la mère diabétique ou obèse jouent un rôle important dans l'apparition des altérations du métabolisme des lipides chez le nouveau-né macrosomique, suite à l'élévation du transfert du glucose et des acides gras à travers le placenta. De plus, la composition en acides gras des lipides sériques est aussi modifiée chez le nouveau-né macrosomique de mère diabétique. Une augmentation de la proportion du C18:2n-6 dans les TG, PL et EC sériques peut être le résultat d'une élévation de son transfert de la circulation maternelle vers le fœtus.

Au cours du 1^{er} mois de vie post-natale, qui coïncide avec la prise alimentaire lactée, plusieurs altérations lipidiques chez le nouveau-né macrosomique de mère diabétique disparaissent, alors que d'autres persistent. En effet, à l'âge de 1 mois, les macrosomiques présentent encore des teneurs élevées en TG, apo B, VLDL et LDL sériques, alors que les concentrations et compositions des HDL deviennent semblables

à celles des témoins. De plus, la composition en acides gras des lipides sériques est modifiée à 1 mois de vie post-natale.

Ainsi, la macrosomie fœtale modifie le métabolisme des lipides et des lipoprotéines à la naissance, et représente un bon modèle d'obésité précoce. Le nouveau-né macrosomique présente à la naissance une hyperlipidémie mixte (augmentation des TG et du CT) associée à un profil lipoprotéique athérogène (augmentation des VLDL et des LDL sériques, diminution des rapports HDL-C/LDL-C, HDL₂/HDL₃ et apo A-I/B). Certaines altérations lipidiques et lipoprotéiques sont encore présentes après 1 mois de vie post-natale chez le macrosomique, à savoir une augmentation des TG, des VLDL et des LDL sériques.

L'utilisation d'un modèle animal, le rat macrosomique né de ratte rendue diabétique par la streptozotocine, permet d'établir définitivement que la macrosomie fœtale est associée à des troubles du métabolisme, non seulement à la naissance (J0) et après 1 mois de vie post-natale (J30), mais aussi et surtout à l'âge adulte (J90).

En effet, les rats nouveau-nés macrosomiques montrent un hyperinsulinisme, une hyperlipidémie et une hyperlipoprotéïnémie qui sont en faveur d'une stimulation de la lipogenèse et de la synthèse des protéines in utero. Ces rats macrosomiques maintiennent une croissance accélérée et un excès de tissu adipeux jusqu'à 3 mois de vie. Il apparaît que le facteur primaire d'induction de l'obésité est la suralimentation subie in utero. Cependant, la persistance de cette obésité n'est pas liée à une augmentation de la consommation alimentaire post-natale, mais plutôt à une meilleure utilisation des nutriments et à une augmentation de la capacité de mise en réserve. De plus, de nombreuses modifications qualitatives et quantitatives des lipides hépatiques et des lipoprotéines sériques, et des activités des enzymes jouant un rôle dans le métabolisme des lipides (LCAT, LPL, HTGL, ACAT, 7 α -hydroxylase, HMG-CoA réductase) sont observées à chaque temps de l'expérimentation chez les rats macrosomiques. Elles semblent être initialement liées à une plus grande sensibilité des tissus à l'insuline acquise in utero. Cette sensibilité à l'insuline paraît diminuer progressivement, puis s'installe une résistance à l'insuline ; les désordres lipidiques deviennent alors significativement plus intenses.

La majorité des troubles lipidiques chez les rats macrosomiques adultes peuvent être rapprochés de ceux observés lors de l'obésité ou du diabète non insulino-dépendant.

Ainsi, la macrosomie fœtale peut être considérée comme un facteur prédisposant au développement de l'obésité et du diabète à l'âge adulte. Par ailleurs, chez l'homme,

les facteurs génétiques aussi bien qu'environnementaux peuvent soit aggraver soit atténuer les conséquences à long terme de la macrosomie.

Toutes ces données tendent à prouver que les troubles nutritionnels (sous-nutrition et suralimentation) in utero provoquent des déviations de la croissance fœtale (hypotrophie et macrosomie) associées à des altérations hormonales et métaboliques à l'origine d'une prédisposition à certaines maladies métaboliques à l'âge adulte (obésité, diabète, athérosclérose).

C'est dire tout l'intérêt d'identifier les femmes enceintes à haut risque d'hypotrophie ou de macrosomie. Dans le cas de l'hypotrophie, la prévention par l'amélioration du statut nutritionnel de la mère paraît recommandée. Dans le cas de la macrosomie, il est nécessaire de réaliser un bon contrôle du diabète et du poids des mères avant et pendant la grossesse, afin de diminuer la prévalence de la macrosomie fœtale. De plus, un contrôle métabolique rigoureux est nécessaire chez toute femme enceinte diabétique, car les effets délétères pour la descendance, engendrés par le diabète maternel, ne sont pas limités à la période fœtale ou néonatale, mais persistent à l'âge adulte.

De plus, un suivi des nouveau-nés hypotrophes et des nouveau-nés macrosomiques est nécessaire dans le but de voir si les perturbations lipoprotéiques persistent ou non. Ceci permettra un dépistage plus précoce des risques athérogènes, et nécessitera une prise en charge nutritionnelle dès le jeune âge.

**REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES**

- AERTS L., VAN ASSCHE F. (1977). Rat foetal endocrine pancreas in experimental diabetes. *J. Endocrinol.* **73**:339-346.
- AERTS L., HOLEMANS K., VAN ASSCHE F. (1990). Maternal diabetes during pregnancy: Consequences for the offspring. *Diabetes Metab. Rev.* **6**:147-167.
- AILHAUD G. (1990). Cellular and secreted lipoprotein lipase revisited. *Clin. Biochem.* **23**:343-347.
- AILHAUD G., GRIMALDI P., NEGREL R. (1992). Cellular and molecular aspects of adipose tissue development. *Ann. Rev. Nutr.* **12**:207-233.
- AL-JAFARI A., CRYER A. (1986). The lipoprotein lipase of white adipose tissue. Changes in the adipocyte cell-surface content of enzyme in response to extracellular effectors in vitro. *Biochem. J.* **238**:239-246.
- AL-SHURBAJI A., LARSSON-BACKSTROM C., BERGLUND L., EGGERTSEN G., BJORKHEM I. (1991). Effect of n-3 fatty acids on the key enzymes involved in cholesterol and triglyceride turnover in rat liver. *Lipids.* **26** : 385-389.
- ANDERSEN GE., FRIIS-HANSEN B. (1977). Cord serum lipid and lipoprotein-cholesterol values in normal and betamethasone-treated newborns of varying gestational age. *Acta. Paediatr. Scand.* **66**:355-360.
- ANDERSEN GE., LOUS P., FRIS-HANSEN B. (1979). Hyperlipoproteinemia in newborns. A study of 1025 families. *Acta Paediatr. Scand.* **68**:683-690.
- ARAI T., YAMASHITA S., MATSUZAWA Y. (1994). Increased plasma cholesteryl ester transfer protein in obese subjects. *Am. Heart.* **7**:1129-1136.
- ARGILES J., HERRERA E. (1981). Lipids and lipoproteins in maternal and foetus plasma in the rat. *Biol. Neonate.* **39**:37-44.
- ATHENS M., VALDEZ R., STERN M. (1993). Effect of birthweight on future development of « syndrome X » in adult life. *Diabetes.* **42**(suppl 1):A61.
- ATTIE AD., PITTMAN RC., STEINBERG D. (1982). Hepatic catabolism of low density lipoprotein: Mechanisms and metabolic consequences. *Hepatology.* **2**:269-273.
- AVERNA MR., BARBAGALLO CM., PAOLO GD. (1991). Lipids, lipoproteins and apolipoproteins AI, AII, B, CII, CIII and E in newborns. *Biol. Neonate.* **60**:187-195.
- BAGDADE JD., RITTER MC., SUBBAIAH PV. (1991). Accelerated cholesteryl ester transfer in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Eur. J. Clin. Invest.* **21**:161-167.
- BAILEY E, LOCKWOOD E (1973). Some aspects of fatty oxidation and ketone body formation and utilization during development of the rat. *Enzyme.* **15**:239-253.

- BALASUBRAMANIAM S., MITROPOULOS KA., VENKATESAN S. (1978). Rat-liver acyl CoA cholesterol acyltransferase. *Eur. J. Biochem.* **90**:377-383.
- BAO W., SRINIVASAN SR., BERENSON GS. (1993). Tracking of serum apolipoproteins A-I and B in children and young adults: The bogalusa heart Study. *J. Clin. Epidemiol.* **46**:609-616.
- BARKER DJP., BULL AR., OSMOND C., SIMMONDS SJ. (1990). Fetal and placental size and risk of hypertension in adult life. *Br. Med. J.* **301**:259-262.
- BARKER DJP., MEADE TW., FALL CHD., LEE A., OSMOND C., PHIPPS K. (1992). Relation of fetal and infant growth to plasma fibrinogen and factor VII concentrations in adult life. *Br. Med. J.* **304**:148-152.
- BARKER DJP., GLUCKMAN PD., GODFREY KM., HARDING JE., OWENS JA., ROBINSON JS. (1993a). Fetal nutrition and cardiovascular disease in adult life. *Lancet.* **341**:938-941.
- BARKER DJP., HALES CN., FALL CHD., OSMOND C., PHIPPS K., CLARK PMS. (1993b). Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus, hypertension and hyperlipidaemia (syndrome X): relation to reduced fetal growth. *Diabetologia.* **36**:62-67.
- BARKER DJP., MARTYN CN., OSMOND C., HALES CN., FALL CHD. (1993c). Growth in utero and serum cholesterol concentrations in adult life. *Br. Med. J.* **307**:1524-1527.
- BARKER DJP., OSMOND C., SIMMONDS SJ., WIELD G. (1993d). The relation of small head circumference and thinness at birth to death from cardiovascular disease in adult life. *Br. Med. J.* **306**:472-476.
- BARKER DJP. (1994a). Outcome of low birthweight. *Horm. Res.* **42**:223-230.
- BARKER DJP. (1994b). Maternal and fetal origins of coronary heart disease. *J. Royal. Coll. Phys. Lond.* **28**:544-550.
- BARKER DJP. (1995). Fetal origins of coronary heart disease. *Br. Med. J.* **311**:171-174.
- BARRANS A., COLLET X., BARBARAS R., JASPARD B., MANENT J., VIEU C., CHAP H., PERRET B. (1994). Hepatic lipase induces the formation of pre-beta high density lipoprotein (HDL) from triacylglycerol-rich HDL- A study comparing liver perfusion to in vitro incubation with lipases. *J. Biol. Chem.* **269**:11572-11577.
- BARTLETT GR. (1958). Phosphorus assay in column chromatography. *J. Biol. Chem.* **234**: 466-468.
- BAYNES C., HENDERSON V., ANYAOKU V., RICHMOND W., HUGHES CL., JOHNSON DG., ELKELES RS. (1991). The role of insulin insensitivity and hepatic lipase in the dyslipidaemia of type 2 diabetes. *Diabetic Med.* **8**:560-566.

- BENEDIKTSSON R., LINDSAY RS., NOBLE J., SECKL JR., EDWARDS CRW. (1993). Glucocorticoid exposure in utero: New model for adult hypertension. *Lancet*. **341**: 339-341.
- BENGTSSON G., OLIVECRONA T. (1980). Lipoprotein lipase some effects of activator proteins. *Eur. J. Biochem.* **106**:549-555.
- BERK MA., MIMOUNI F., MODOVNIK M., HERTZBERG V., VALUCK J. (1989). Macrosomia in infants of insulin-dependent diabetic mothers. *Pediatrics*. **83**:1029-1034.
- BITMAN J., HAMOSH M., HAMOSH P., LUTES V., NEVILLE MC., SEACAT J., WOOD DL. (1989). Milk composition and volume during the onset of lactation in a diabetic mothers. *Am. J. Clin. Nutr.* **50**:1364-1369.
- BJÖMTORP P. (1991). Metabolic implication of body fat distribution. *Diabetes*. **14**:1132-1143.
- BJÖRKHEM I. (1985). Mechanism of bile acid biosynthesis in mammalian liver. In new comprehensive biochemistry. H. Danielsson and J. Sjövall, Editors. Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam. 231-278.
- BJORNTORP P. (1984). Morphological classifications of obesity : what they tell us, what they don't. *Int. J. Obes.* **8** :525-533.
- BJORNTORP P. (1990). Portal adipose tissue as a generator of risk factors for cardiovascular disease and diabetes. *Arterioscler. Thromb.* **10** :493-496.
- BLOOM SR., JOHNSTON DT. (1972). Failure of glucagon release in infants of diabetic mothers. *Br. Med. J.* **4**:453-457.
- BONET B., BRUNZELL JD, GOWN AM., KNOPP RH. (1992). Metabolism of VLDL triglyceride by human placental cells: The role of lipoprotein lipase. *Metabolism*. **41**:596-603.
- BOSELLO O., CIGOLINI M., BATTAGLIA A., FERRARI F., MICCIOLO R., OLIVETTI R., CORSATO M. (1984). Adipose tissue lipoprotein lipase activity in obesity. *Int. J. Obesity*. **8**:213-220.
- BOULANGE A., PLANCHE E., GASQUET P. (1981). Onset and development of hypertriglyceridemia in the Zucker rat (*falga*). *Metabolism*. **30**:1045-1052.
- BOVE J, HEGARDT FG (1978). Reversible modulation of rat liver 3-hydroxy-3 methylglutaryl coenzyme A reductase. Evidence for an enzyme catalyzed phosphorylation-dephosphorylation system. *Febs. Lett.* **90**:198-202.
- BRAY GA., FISLER J., YORK DA. (1990). Neuroendocrine control of the development of obesity: Understanding gained from studies of experimental animal models. *Front. Neuroendocrinol.* **12**:128-171.

- BRESCHI MC., SEGHERI G., BARTOLOMEI G., GIRONI A., BALDI S., FERRANNINI E. (1993). Relation of birthweight to maternal plasma glucose and insulin concentrations during normal pregnancy. *Diabetologia*. **36**:1315-1321.
- BRINTON EA., EISENBERG S., BRESLOW JL. (1994). Human HDL cholesterol levels are determined by apo A-I fractional catabolic rate, which correlated inversely with estimates of HDL particle size. Effects of gender, hepatic and lipoprotein lipases, triglyceride and insulin levels, and body fat distribution. *Arterioscler. Thromb.* **14**:707-720.
- CALANDRA C., ABELL DA., BEISHER NA. (1981). Maternal obesity in pregnancy. *Obstet. Gynecol.* **57**:8-12.
- CALVO M., NAVAL J., LAMPREAVE F., URIEL J., PINEIRO A. (1988). Fatty acids bound to α -fetoprotein and albumin during rat development. *Biochim. Biophys. Acta.* **959**:238-246.
- CATLIN EA., CHA CJM., OH W. (1985). Postnatal growth and fatty acid synthesis in insulin-induced macrosomic rat pups. *Metabolism*. **34**:1110-1114.
- CHA CHJ., GELARDI NL., OH W. (1987). Accelerated growth and abnormal glucose tolerance in young female rats exposed to fetal hyperinsulinemia. *Pediatr. Res.* **21**:83-87.
- CHRISTON R., FERNANDEZ Y., CAMBON-GROS C., PERIQUET A., DELTOUR P., LEGER CL., MITJAVILLAS S. (1988). The effect of dietary essential fatty acid deficiency on the composition and properties of the liver microsomal membrane of rats. *J. Nutr.* **118**:1311-1318.
- CLINKENBEARD KD., REED WD., MOONEY RA., LANE MD. (1975). Intracellular localization of the 3-hydroxy-3 methylglutaryl coenzyme A cycle enzymes in liver. *J. Biol. Chem.* **250**:3108-3116.
- COHN JS., NESTEL PJ., TURLEY SD. (1987). Metabolism of high density lipoprotein in the hyperlipidemic diabetic SHR-N-Corpulent rat. *Metab. Clin. Exp.* **36**:230-236.
- COLEMAN RA. (1989). The role of the placenta in lipid metabolism and transport. *Semin. Perinatol.* **13**:180-191.
- CONNELLY DM., TABERNER PV. (1989). Characterization of the spontaneous diabetes obesity syndrome in mature male CBA/Ca mice. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **34**:255-259.
- COWETT RM., SHWARTZ R. (1982). The infant of the diabetic mother. *Pediatr. Clin. North. Am.* **29**:1213-1231.

DAUGHADAY WH., PHILLIPS LS., MUELLER MC. (1976). The effects of insulin and growth hormone on the release of somatomedin by the isolated rat liver. *Endocrinology*. **98**:1214-1219.

DELMIS J., DRAZANCIC A., IVANISEVIC M., SUCHANEK E. (1992). Glucose, insulin, HGH and IGF-I levels in maternal serum, amniotic fluid and umbilical venous serum: A comparison between late normal pregnancy and pregnancies complicated with diabetes and fetal growth retardation. *J. Perinat. Med.* **20**:47-56.

DEL-PRATO S., ENZI G., VIGILLI DE KREUTZENBERG S., LISATO G., RICCIO A., MAIFRENI L., IORI E., ZURLO F., SERGI G., TIENGO A. (1990). Insulin regulation of glucose and lipid metabolism in massive obesity. *Diabetologia*. **33**:228-236.

DELSAL J. (1944). Nouveau procédé d'extraction des lipides du sérum par le méthylal. Application aux microdosages du cholestérol, des phosphoaminolipides et des protéines. *Bull. Soc. Chim.* **26**:99-105.

DESAI M., CROWTHER N., LUCAS A., HALES CN. (1994). Programming of hepatic metabolism by low protein diet during early life. *Diabet. Med.* **11**: 537-538.

DESCAMPS O., BILHEIMER D., HERZ J. (1993). Insulin stimulates receptor-mediated uptake of apoE-enriched lipoproteins and activated α 2-macroglobulin in adipocytes. *J. Biol. Chem.* **268**:974-981.

DEVILLIERS TJ., MAC FARLANE CM., TSAKALAKOS N., TALJAARD JF. (1984). Neonatal pancreatic function in infants born to mothers with gestational and overt diabetes. *S. Afr. Med. J.* **66**:690-693.

DIAMANT YZ., SHAFRIR E. (1978). Placental enzymes of glycolysis, gluconeogenesis and lipogenesis in the diabetic rat and in starvation. *Diabetologia*: **15**:481-485.

DOBREV D., TERZIEVA T., KRUSTEV I., SVINAROV D., PETROVA V. (1989). Fatty acids in diabetes mellitus. *Vutr. Boles.* **28**:70-74.

DÖRNER G., PLAGEMANN A. (1994). Perinatal hyperinsulinism as possible predisposing factor for diabetes mellitus, obesity and enhanced cardiovascular risk in later life. *Horm. Metab. Res.* **26**:213-221.

DOYLE W., CRAWFORD MA., WYNN AHA., WYNN SW. (1989). Maternal nutrient intake and birthweight. *J. Hum. Nutr. Diet.* **2**:415-422.

DOYLE W., CRAWFORD MA., WYNN AHA., WYNN SW. (1990). The association between maternal diet and birth dimensions. *J. Nutr. Med.* **1**:9-17.

DUBUC PU. (1976). The development of obesity, hyperinsulinemia and hyperglycemia in ob/ob mice. *Metabolism*. **25**:1567-1574.

- DULLAART RPF. (1995). Plasma lipoprotein abnormalities in type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Neth. J. Med.* **46**:44-54.
- DUMONT M. & MAZUEZ M. (1985a). Etude des facteurs étiologiques de l'hypotrophie foétale, à propos de 600 observations. *J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod.* **14**:439-448.
- DUMONT M. & MAZUEZ M. (1985b). L'hypotrophie foétale à répétition. *Rev. Fr. Gyn. Obstet.* **80**:647-650.
- DUNCAN DB. (1955). Multiple range and multiple F tests. *Biometrics.* **11**:1-42.
- DURER U., FRANKE H., SOMMER M., SCHLAG B., DARGEL R. (1987). Binding and internalization of low density lipoproteins in fetal rat liver at term under in vivo and in vitro conditions. *Biomed. Biochim. Acta.* **46**:695-703.
- ECK MG., WYNN JO., CARTER WJ., FAAS FH. (1979). Fatty acid desaturation in experimental diabetes mellitus. *Diabetes.* **28**:479-485.
- ECKEL RH. (1987). Adipose tissue lipoprotein lipase. In: *Borensztajn J. (ed): lipoprotein lipase. Chicago, Evener.* pp79-132.
- ECKEL RH. (1989). Lipoprotein lipase. A multifunctional enzyme relevant to common metabolic diseases. *N. Engl. J. Med.* **320**:1060-1068.
- ECKEL RH., YOST TJ., JENSEN DR. (1995). Alterations in lipoprotein lipase in insulin resistance. *Int. J. Obesity.* **19**(suppl 1):S16-S21.
- EDWARDS CRW., BENEDIKTSSON R., LINDSAY RS., SECKL JR. (1993). Dysfonction of placental glucocorticoid barrier: Link between fetal environment and adult hypertension? *Lancet.* **341**:355-357.
- EGGLESTON LV., KREBS HA. (1974). Regulation of the pentose phosphate cycle. *Biochem. J.* **138**:425-435.
- EINARSSON K., AKERLUND JE., BJÖRKHEM I. (1987). The pool of free cholesterol is not of major importance for regulation of the cholesterol 7 α -hydroxylase activity in rat liver microsomes. *J. Lipid. Res.* **28**:253-256.
- EL BOUSTANI S., CAUSSE JE., DESCAMPS B., MONNIER L., MENDY F., CRASTES DE PAULET A. (1989). Direct in vivo characterization of delta 5 desaturase activity in humans by deuterium labelling: Effect of insulin. *Metabolism.* **38**:315-321.
- ENZI G., INELMEN EM., CARETTA F., VILLANI F., ZANARDO V., DEBIASI F. (1980). Adipose tissue development in newborns of gestational and insulin-dependent diabetic mothers. *Diabetes.* **29**:100-104.
- ENZI G., ZANARDO V., CARETTA F., INELMEN EM., RUBALTELLI F. (1981). Intrauterine growth and adipose tissue development. *Am. J. Clin. Nutr.* **34**:1785-1790.

ERIKSSON U., ANDERSSON A., EFENDIC S. (1980). Diabetes in pregnancy : Effects on the foetal and newborn rat with particular regard to body weight, serum insulin concentration and pancreatic contents of insulin, glucagon and somatostatin. *Acta Endocrinol.* **94**:354-364.

FAICHNEY GJ. & WHITE GA. (1987). Effects of maternal nutritional status on fetal and placental growth and on fetal urea synthesis. *Austr. J. Biol. Sci.* **40**:365-377.

FALL CHD., BARKER DJP., OSMOND C., WINTER PD., CLARK PMS., HALES CN. (1992). Relation of infant feeding to adult serum cholesterol concentration and death from ischaemic heart disease. *Br. Med. J.* **304**: 801-805.

FARQUHARSON RG. (1983). The fetus and cigarette smoke. *Pediatrics.* **71**:462-463.

FEDRICK J. & ADELSTEN P. (1978). Factors associated with low birthweight of infants delivered at term. *Brit. J. Obstet. Gynecol.* **85**:1-7.

FOLCH J., LEES M., SLOANE-STANLEY GH. (1957). A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* **226**:497-509.

FONNEBO V., DAHL LB., MOE PJ., INGEBRETSEN OC. (1991). Does VLDL-LDL-cholesterol in cord serum predict future level of lipoproteins ? *Acta. Paediatr. Scand.* **80**:780-785.

FOSBROOKE AS., WHARTON BA. (1973). Plasma lipids in umbilical cord blood from infants of normal and low birth weight. *Biol. Neonate.* **23**:330-339.

FOSTER CJ., WEINSIER RL., BIRCH R., NORRIS DJ., BERNSTEIN RS., WANG J., PIERSON RN., VAN ITALLIE TB. (1987). Obesity and serum lipids : An evaluation of the relative contribution of body fat and fat distribution to lipid levels. *Int. J. Obes.* **11**:151-161.

FORDYCE MK., DUCAN R., CHAO R., CHRISTAKIS M., HSIA SL., ROBERTSON E., KAFATOS A., CHRISTAKIS G. (1983). Cord blood serum in newborns of diabetic mothers. *J. Chron. Dis.* **36**:263-268.

FOWDEN AL. (1989). The role of insulin in prenatal growth. *J. Dev. Physiol.* **12**: 173-182.

FRANCONE OL., GURAKAR A., FIELDING CJ. (1989). Distribution and functions of lecithin:cholesterol acyltransferase and cholesteryl ester transfer protein in plasma lipoproteins. *J. Biol. Chem.* **264**:7066-7072.

FRAYN KN., COPPACK SW. (1992). Insulin resistance, adipose tissue and coronary heart disease. *Clinical Science.* **82**:1-8.

GAMBERT P., LALLEMANT C., ARCHAMBAULT A., MAUME BF., PADIEU P. (1979). Assessment of serum cholesterol by two methods: Gas liquid chromatography on a

- capillary column and chemical ionization mass fragmentography with isotopic dilution of (3,4-¹³C) cholesterol as internal standard. *J Chromatogr.* **162**:1-6.
- GAMBERT P., LALLEMANT C., ATHIAS A., PADIEU P. (1982). Alterations of HDL-cholesterol distribution induced by incubation of human serum. *Biochim. Biophys. Acta.* **713**:1-9.
- GARCIA-MOLINA V., AGUILERA JA., GIL A., SANCHEZ-POZO A. (1996). Changes in plasma lipoproteins and liver lipids in neonatal rats. *Comp. Biochem. Physiol.* **113B**:789-793.
- GAUGUIER D., BIHOREAU MT., KTORZA A., BERTHAULT MF., PICON L. (1990). Inheritance of diabetes mellitus as a consequence of gestational hyperglycemia in rats. *Diabetes.* **49**:734-739.
- GAYLE HD., DIBLEY MJ., MARKS JS., TROWBRIDGE FL. (1987). Malnutrition in the first two years of life. *Am. J. Dis. Child.* **141**:531-534.
- GELARDI NL., CHA CJ., OH W. (1990). Glucose metabolism in adipocytes of obese offspring of mild hyperglycemic rats. *Pediatr. Res.* **28**:641-645.
- GELARDI NL., CHA CJ., OH W. (1991). Evaluation of insulin sensitivity in obese offspring of diabetic rats by hyperinsulinemic-euglycemic clamp technique. *Pediatr. Res.* **30**:40-44.
- GHADIMI H., PECORA P. (1981). Free amino acids of cord plasma as compared with maternal plasma during pregnancy. *Clin. Obstet. Gynecol.* **24**:65-71.
- GIDEZ KI., SWANEY JB., MURNANE S. (1977). Analysis of rat serum apolipoproteins by isoelectric focusing. Part 1: Studies on the middle molecular weight subunits. *J. Lipid. Res.* **18**:59-68.
- GINSBERG HN. (1991). Lipoprotein physiology in non diabetic and diabetic states. Relationship to atherogenesis. *Diabetes Care.* **14**:839-855.
- GINSBERG BH., THOMAS J., SIMON I., SPECTOR AA. (1981). Effect of membrane lipid environment on the properties of insulin receptors. *Diabetes.* **30**:773-780.
- GLOMSET JA., WRIGHT JL. (1964). Some properties of cholesterol esterifying enzyme in human plasma. *Biochim. Biophys. Acta.* **89**:266-271.
- GLUCKMAN PD., GUNN AJ., WRAY A., CUTFIELD W., CHATELIN PG., GUILBAUD O. (1992). Congenital idiopathic growth hormone deficiency is associated with prenatal and early postnatal growth failure. *J. Pediatr.* **121**: 920-923.
- GODFREY KM., REDMAN CWG., BARKER DJP., OSMOND C. (1991). The effect of maternal anaemia and iron deficiency on the ratio fetal weight/placental weight. *Br. J. Obstet. Gynecol.* **98**: 886-891.

- GOLDSTEIN R., LEVY E., SHAFRIR E. (1985). Increased maternal-fetal transport of fat in diabetes assessed by polyunsaturated fatty acid content in fetal lipids. *Biol. Neonate*. **47**:343-349.
- GOODMAN DS., DEYKIN D., SHIRATORI T. (1964). The formation of cholesterol esters with rat liver enzymes. *J. Biol. Chem.* **239**:1335-1345.
- GRUEN R., HIETANEN E., GREENWOOD MRC. (1978). Increased adipose tissue lipoprotein lipase activity during the development of genetically obese rat (fa/fa). *Metabolism*. **27**:1955-1966.
- GRUNFELD C., BAIRD KL., KAHN CN. (1981). Maintenance of 3T3-Li cells in culture media containing saturated fats decreases insulin binding and insulin action. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **103**:219-226.
- HA YC., BARTER PJ. (1982). Differences in plasma cholesteryl ester transfer activity in sixteen vertebrate species. *Comp. Biochem. Phys.* **71**:265-269.
- HAGVE TA. & CHRISTOPHERSEN BO. (1984). Effect of dietary fats on arachidonic acid and eicosapentaenoic acid biosynthesis and conversion to C22 fatty acids in isolated rat liver cells. *Biochim. Biophys. Acta.* **796**:205-221.
- HALL K., HANSSON U., LUNDIN G., LUTHMAN M., PERSSON B., POVOA G., STANGENBERG M., OFVERHOLM U. (1986). Serum levels of somatomedins and somatomedin-binding protein in pregnant women with type I or gestational diabetes and their infants. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **63**:1300-1306.
- HAVEL RJ. (1984). The transformation of LDL: Mechanisms and regulation. *J. Lipid. Res.* **25**:1570-1576.
- HAVEL RJ., EDER HA., BRAGDON JH. (1955). The distribution and chemical composition of ultracentrifugally separated lipoproteins in human serum. *J. Clin. Invest.* **34**:1345-1353.
- HAWORTH JC., VIDYASAGAR D. (1971). Hypoglycemia in the newborn. *Clin. Obstet. Gynecol.* **14**:821-827.
- HAY WW. (1991). Energy and substrate requirements of the placenta and fetus. *Proc. Nutr. Sec.* **50**:321-336.
- HERRERA E., PALACIN M., MARTIN A., LASUNCION MA. (1985). Relationship between maternal and fetal fuels and placental glucose transfer in rats with maternal diabetes of varying severity. *Diabetes*. **34** (suppl2):42-46.
- HERTEL J., ANDERSEN GE., CHRISTENSEN NJ. (1980). Plasma noradrenaline in infants of diabetic mothers. *Diabetologia*. **19**:484-485.
- HILL DE. (1978). Effect of insulin on fetal growth. *Semin. Perinatol.* **2**:319-328.

- HILL W., PELLE-DOY G., KITZMILLER JL., SPENCER ME. (1989). Insulin-like growth factors in fetal macrosomia with and without maternal diabetes. *Horm. Res.* **32**:178-182.
- HOEGSBERG B., GRUPPUSO PA., COUSTAN DR. (1993). Hyperinsulinemia in macrosomic infants of non diabetic mothers. *Diabetes Care.* **16**:32-36.
- HOLEMANS K., AERTS L., VAN ASSCHE FA. (1991). Evidence for an insulin resistance in adult offspring of pregnant streptozotocin-diabetic rats. *Diabetologia.* **34**:81-84.
- HORROBIN DF. (1989). Essential fatty acids and the complications of diabetes mellitus. *Vein. Klin. Wochenschr.* **10**:289-293.
- HOVING EB., VAN BEUSEKOM CM., NIJEBOER HJ., MUSKIET FAJ. (1994). Gestational age dependency of essential fatty acids in cord plasma cholesterol esters and triglycerides. *Pediatr. Res.* **35**:461-469.
- HUTER O., BREZINKA C., KOELLE D., DREXEL H., PATSCH JR. (1997). Cord blood lipids and lipoproteins in small-, appropriate-, and large-for-gestational age neonates born to non-diabetic mothers. *J. Matern. Fetal. Invest.* **7**:172-174.
- INNIS SM. (1991). Essential fatty acids in growth and development. *Prog. Lipid. Res.* **30**:39-103.
- IRWIN D., O'LOONEY PA., QUINET E., VAHOUNY GV. (1984). Application of SDS gradient polyacrylamide gel electrophoresis to analysis of apolipoprotein mass and radioactivity of lipoproteins. *Atherosclerosis.* **53**:163-172.
- JELINEK DF., ANDERSSON S., SLAUGHTER CA., RUSSEL DW. (1990). Cloning and regulation of 7 α -hydroxylase, the rate-limiting enzyme in bile acid biosynthesis. *J Biol. Chem.* **265**:8190-8197.
- JIANG XC., MOULIN P., QUINET E., GOLBERG IJ., YACOUB LK., AGELLON LB., COMPTON D., SCHNITZET-POLOKOFF R., TALL AR. (1991). Mammalian adipose tissue and muscle are major source of lipid transfer protein mRNA. *J. Biol. Chem.* **266**:4631-4639.
- JOHNSON SR., KOLGERG BH., VARNER MW. (1987). Maternal obesity and pregnancy. *Surg. Gynecol. Obstet.* **164**:431-437.
- JONAS A., SWEENEY SA., HERBERT PN. (1984). Discoidal complexes of A and C apolipoproteins with lipids and their reactions with lecithin:cholesterol acyltransferase. *J. Biol. Chem.* **259**:6369-6375.
- JONES RG., ILIC V., WILLIAMSON DH. (1984). Regulation of lactating-rat mammary gland lipogenesis by insulin and glucagon in vivo. *Biochem. J.* **223**:345-351.

- JUREVICS HA., KIDWAI FZ., MORELL P. (1997). Sources of cholesterol during development of the rat fetus and fetal organs. *J. Lipid. Res.* **38**:723-733.
- KALKHOFF RK., KANDARAKI E., MORROW PG., MITCHELL TH., KELBER S., BORKOWF HI. (1988). Relationship between neonatal birthweight and maternal plasma amino acid profiles in lean and obese nondiabetic women and in type 1 diabetic pregnant women. *Metabolism.* **37**:234-239.
- KALKHOFF RK. (1991). Impact of maternal fuels and nutritional state on fetal growth. *Diabetes.* **40**:61-65.
- KAPLAN LA., CLINE D., GARTSIDE P., BURNSTEIN S., SPERLING M., STEIN EA. (1982). Hemoglobin A1 in hemolysates from healthy and insulin-dependent diabetic children as determined with a temperature controlled mini-column assay. *Clin. Chem.* **28**:13-20.
- KAPLAN SA. (1984). The insulin receptor. *J. Pediatr.* **104**:327-336.
- KATHER H. (1981). Hormonal regulation of adipose tissue lipolysis in man: Implications for the pathogenesis of obesity. *Triangle.* **20**:131-143.
- KHROUF FN., BARKALLAH N., BENMILED S., GASTLI H. (1983). Twin pregnancies: Incidence, fetal development and perinatal mortality. *J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod.* **12**:619-623.
- KIM YS., JATOI I., KIM Y. (1980). Neonatal macrosomia in maternal diabetes. *Diabetologia.* **18**:407-411.
- KIM YS., YOON Y., JATOI I., KIM Y. (1981). Fetal macrosomia in experimental maternal diabetes. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **139**:27-32.
- KIMURA RE. (1989). Fatty acid metabolism in the fetus. *Semin. Perinatol.* **13**:202-210.
- KISSEBAH AH. (1987). Low density lipoprotein metabolism in non insulin dependent diabetes mellitus. *Diabetes Metab. Rev.* **3**:619-651.
- KISSEBAH AH., FREEDMAN DS., PEIRIS AN. (1989). Health risks of obesity. *Med. Clin. N. Am.* **73**:111-138.
- KLIEGMAN R., GROST T., MORTON S., DUNNINGTON R. (1984). Intrauterine growth and postnatal fasting metabolism in infants of obese mothers. *J. Pediatr.* **104**:601-607.
- KNIPPING G. (1986). Isolation and properties of porcine lecithine:cholesterol acyltransferase. *Eur. J. Biochem.* **154**:289-294.
- KNOPP RH., MONTES A., CHILDS M., LI JR., MABUCHI H. (1981). Metabolic adjustments in normal and diabetic pregnancy. *Clin. Obstet. Gynecol.* **24**:21-49.

- KNOPP RH., BERGELIN RO., WAHL PW., WALDEN CE. (1985). Relationships of infant birth size to maternal lipoproteins, apoproteins, fuels, hormones, clinical chemistries and body weight at 36 weeks gestation. *Diabetes*. **34**:71-76.
- KNOPP RH., WARTH MR., CHARLES D., CHILDS M., LI JR., MABUCHI H., VAN ALLEN MI. (1986). Lipoprotein metabolism in pregnancy, fat transport to the fetus, and the effects of diabetes. *Biol. Neonate*. **50**:297-317.
- KNOPP RH., VAN ALLEN MI., MC NEELY M., WALDEN CE., PLOVIE B., SHIOTA K., BROWN Z. (1993). Effect of insulin-dependent diabetes on plasma lipoproteins in diabetic pregnancy. *J. Reprod. Med.* **3809**:703-710.
- KOLTERMAN OG., INSEL J., SAEKOW M., OLEFSKY JM. (1980). Mechanisms of insulin resistance in human obesity, evidence for receptor and post-receptor defects. *J. Clin. Invest.* **65**:1272-1284.
- KÜHL C., ANDERSEN GE., HERTEL J., MOLSTED-PEDERSEN L. (1982). Metabolic events in infants of diabetic mothers during first 24 hours after birth. I: Changes in plasma glucose, insulin and glucagon. *Acta Paediatr. Scand.* **71**:19-25.
- KURISHITA M., NAKASHIMA K., KOSU H. (1994). A retrospective study of glucose metabolism in mothers of large babies. *Diabetes Care*. **17**:649-652.
- KUTSUMI R., TAKEDA R. (1984). Lipoprotein lipase activities in heart muscle of streptozotocin-induced diabetic rats. *Horm. Metab. Res.* **16**:76-70.
- LAAKSO M., SARLUND H., MYKKÄNEN L. (1990). Insulin resistance is associated with lipid and lipoprotein abnormalities in subjects with varying degrees of glucose tolerance. *Arteriosclerosis*. **10**:223-231.
- LABRUNE B, ROBIN M., BENICHOU JJ. (1988). Diagnostic d'une hypotrophie du nourisson. *Encycl. Med. Chir. Pédiatrie*. **4050**:1-6.
- LAKER ME., MAYES PA. (1984). Investigation into the direct effects of insulin on hepatic ketogenesis, lipoprotein secretion and pyruvate deshydrogenase activity. *Biochem. Biophys. Acta*. **795**:427-430.
- LANDON MB., OSEI K., PLATT M., O'DORISIO T., SAMUELS P., GABBE SG. (1994). The differential effects of body fat distribution on insulin and glucose metabolism during pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **171**:875-884.
- LANE DM., MC CONATHY WJ. (1983). Factors affecting the lipid and apolipoprotein levels of cord sera. *Pediatr. Res.* **17**:83-91.
- LARSEN CE., SERDUAL MK., SULLIVAN KM. (1990). Macrosomia: Influence of maternal overweight among a low-income population. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **162**:490-494.

- LARSSON B., VAARA I. (1992). Cholesterol screening of seven-year-old children. How to identify children at risk? *Acta Paediatr.* **81**:315-318.
- LASSARRE C., HARDOUIN S., DAFFOS F., FORESTIER F., FRANKENNE F., BINOUX M. (1991). Serum insulin-like growth factors and insulin-like growth factor binding proteins in normal subjects and in subjects with intrauterine growth retardation. *Pediatr. Res.* **29**:219-225.
- LAUNER L.J., HOFFMAN A., GROBBEE DE. (1993). Relation between birthweight and blood pressure: Longitudinal study of infants and children. *Br. Med. J.* **307**:1451-1454.
- LAUTALA P., PUUKKA R., KNIP M., PERKKILA L., PUUKKA M. (1988). Postnatal decrease in insulin binding to erythrocytes in infants of diabetic mothers. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **66**:696-701.
- LAW CM., BARKER DJP., BULL AR., OSMOND C. (1991). Maternal and fetal influence on blood pressure. *Arch. Dis. Child.* **66**:1291-1295.
- LAW CM., DE SWIET M., OSMOND C., FAYERS PM., BARKER DJP., CRUDDAS AM. (1993). Initiation of hypertension in utero and its amplification throughout life. *Br. Med. J.* **306**:24-27.
- LEAF AA., LEIGHFIELD MJ., COSTELOE KL., CRAWFORD MA. (1992). Factors affecting long-chain polyunsaturated fatty acid composition of plasma choline phosphoglycerides in preterm infants. *J. Pediatr. Gastroenter. Nutr.* **14**:300-308.
- LEBOVITZ HE. (1984). Etiology and pathogenesis of diabetes mellitus. *Pediatr. Clin. North. Am.* **31**:521-530.
- LECHTIG A., HABICHT JP., DELGADO H. (1975). Effect of food supplementation during pregnancy on birthweight. *Pediatrics.* **56**:508-520.
- LEEUW R., VRIES IJ. (1976). Hypoglycemia in small for dates newborn infants. *Pediatrics.* **58**:18-22.
- LEGER CL., CHRISTON R., VIRET J., DAVELOOSE D., MITJAVILA S., EVEN V. (1989). Nutrition and biomembranes: Additional information concerning the incidence of dietary polyunsaturated fatty acids on membrane organization and biological activity. *Biochimie.* **71**:159-165.
- LEGRAS B., DUROU MR., RUELLAND A., GALLOU G., JEZEQUEL C., CLOAREC L. (1995). Serum lipid, apolipoprotein and lipoparticle levels in the human fetus. *Prenat. Diagn.* **15**:225-228.
- LI BJ. & WASSNER SJ. (1984). Effect of food deprivation and refeeding on total protein and octomyosin degradation. *Am. J. Physiol.* **246**:32-39.

- LIGHT IJ., SUTHERLAND JM., LOGGIE JM. (1967). Impaired epinephrine release in hypoglycemic infants of diabetic mothers. *N. Engl. J. Med.* **277**:394-398.
- LOW JA., GALBRAITH RS., MUIR D., KILLEN H., PATER B., KARCHMAR J. (1982). Intrauterine growth retardation: A study of long-term morbidity. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **142**:670-677.
- LOWRY OH., ROSEBROUGH NJ., FARR AL., RANDALL RI. (1951). Protein measurement with folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**:265-275.
- MAGUIRE GF., LEE M., CONNELLY PW. (1989). Sodium dodecyl sulfate glycerol polyacrylamide slab gel electrophoresis for the resolution of apolipoproteins. *J. Lipid. Res.* **30**:757-761.
- MALDONATO A., TRUEHEART PA., RENOLD AE., SHARP GW. (1976). Effects of streptozotocin in vitro on proinsulin biosynthesis, insulin release and ATP content of isolated rat islets of Langerhans. *Diabetologia.* **12**:471-481.
- MARTYN CN., BARKER DJP., JESPERSEN S., GREENWALD S., OSMOND C., BERRY C. (1995). Growth in utero, adult blood pressure and arterial compliance. *Br. Heart. J.* **73**:116-121.
- MAYHEW TM., JACKSON MR., HAAS JD. (1990). Oxygen diffusive conductances of human placentae from term pregnancies at low and high altitudes. *Placenta.* **11**:493-503.
- MAZZONE T., FOSTER D., CHAIT A. (1984). In vivo stimulation of low density lipoprotein degradation by insulin. *Diabetes.* **33**:333-338.
- Mc CANCE RA., WIDDOWSON EM. (1974). The determinants of growth and form. *Proc. R. Soc. Lond. Biol.* **185**:1-17.
- Mc CANCE DR., PETTITT DJ., HANSON RL., JACOBSON LTH., BENNETT PH., KNOWLER WC. (1994). Glucose, insulin concentrations and obesity in childhood and adolescence as predictors of NIDDM. *Diabetologia.* **37**:617-623.
- Mc CRABB GJ., EGAN AR., HOSKING BJ. (1991). Maternal undernutrition during mild-pregnancy in sheep. Placental size and its relationship to calcium transfer during late pregnancy. *Br. J. Nutr.* **65**:157-168.
- Mc NEILLIE EM., ZAMMIT VA. (1982). Regulation of acetyl-CoA carboxylase in rat mammary gland. *Biochem. J.* **204**:273-280.
- MELA DJ., COHEN RS., KRIS-ETHERTON PM. (1987). Lipoprotein metabolism in a rat model of diet-induced adiposity. *J. Nutr.* **117**:1655-1662.
- MESHARI AA., DESILVA S., RAHMAN I. (1990). Fetal macrosomia-maternal risks and fetal outcome. *Int. J. Gynecol. Obstet.* **32**:215-222.

- METZGE BE. (1991). Summary and recommendations of the third international workshop-conference on gestational diabetes mellitus. *Diabetes*. **40**:197-203.
- MILLER JD., SINHA MK., SPERLING MA. (1986). Insulin stimulates amino acid and lipid metabolism in isolated fetal rat hepatocytes. *Pediatr. Res*. **20**:609-612.
- MILNER RDG., ASHWORTH MA., BARSON AJ. (1972). Insulin release from human fetal pancreas in response to glucose, leucine and arginine. *J. Endocrinol*. **52**:497-505.
- MONTELONGO A., LASUNCION MA., PALLARDO LF., HERRERA E. (1992). Longitudinal study of plasma lipoproteins and hormones during pregnancy in normal and diabetic women. *Diabetes*. **41**:1651-1659.
- MORILLAS JM., MALTO L., ROBLES R., GIL A., SANCHEZ-POZO A. (1992). Lipoproteins in preterm and small-for-gestational-age infants during the first week of life. *Acta Paediatr*. **81**:774-778.
- MOULIN P., BERTHEZENE F. (1996). Dyslipoprotéinémie et insulino-résistance lors de l'obésité. *Cah. Nutr. Diét*. **31**: 109-118.
- MUNOZ A., UBEROS J., MOLINA A., VALENZUELA A., CANO D., RUIZ C., MOLINAFONT JA. (1995). Relationship of blood rheology to lipoprotein profile during normal pregnancies and those with intrauterine growth retardation. *J. Clin. Pathol*. **48**:571-574.
- NAEYE RL. (1965). Infants of diabetic mother: A quantitative morphologic study. *Pediatrics*. **35**:980-988.
- NAOUM HG., DE CHAZAL RCS., EATON BM., CONTRACTOR SF. (1987). Characterization and specificity of lipoprotein binding to term human placental membranes. *Biochim. Biophys. Acta*. **902**:193-199.
- NESTEL PJ., POYSER A. (1976). Changes in cholesterol synthesis and excretion when cholesterol intake is increased. *Metabolism*. **25**:1591-1599.
- NILSSON-EHLE P., EKMAN R. (1977). Rapid, simple and specific assay for lipoprotein lipase and hepatic lipase. *Artery*. **3**:194-209.
- OGATA ES., FRIENKEL N., METZGER BE., PHELPS RL., DEPP R., BOEHM JJ., DOOLEY SL. (1980). Perinatal islet function in gestational diabetes: Assessment by cord plasma C-peptide and amniotic fluid insulin. *Diabetes Care*. **3**:425-429.
- OH W., GELARDI NL., CHA CJ. (1988). Maternal hyperglycemia in pregnant rats: Its effect on growth and carbohydrate metabolism in the offspring. *Metabolism*. **37**:1146-1151.
- OH W., GELARDI NL., CHA CJ. (1991). The cross-generation effect of neonatal macrosomia in rats pups of streptozotocin-induced diabetes. *Pediatr. Res*. **29**:606-610.

- OLEFSKY JM. (1977). Mechanism of decreased insulin responsiveness of large adipocytes. *Endocrinology*. **100**:1169-1177.
- OLIVECRONA T., BENGTSSON-OLIVECRONA G. (1990). Lipoprotein lipase and hepatic lipase. *Curr. Opin. Lipidol.* **1**:222-230.
- ONG JM., KIRCHGESSNER TG., SCHOLZ MC., KERN PA. (1988). Insulin increases the synthetic rate and messenger RNA level of lipoprotein lipase in isolated rat adipocytes. *J. Biol. Chem.* **263**:12933-12938.
- ONGARI MA., RITTER JM., PHIL D., ORCHARD MA., WADDEL KA., BLAIR IA., LEWIS PJ. (1984). Correlation of prostacyclin synthesis by human umbilical artery with status of essential fatty acid. *Am. Obstet. Gynecol.* **149**:455-460.
- OSCHRY Y., EISENBERG S. (1982). Rat plasma lipoproteins: Re-evaluation of a lipoprotein system in an animal devoid of cholesteryl ester transfer activity. *J. Lipid. Res.* **23**:1099-1106.
- O'SHAUGHNESSY R. (1981). Role of glycohemoglobins (hemoglobin A1) in the evolution and management of diabetic pregnancy. *Clin. Obstet. Gynecol.* **24**:65-71.
- OSMOND C., BARKER DJP., WINTER PD., FALL CHD., SIMMONDS SJ. (1993). Early growth and death from cardiovascular disease in women. *Br. Med. J.* **307**:1519-1524.
- OWENS JA., FALCONER J., ROBINSON JS. (1987). Effect of restriction of placental growth on fetal and utero-placental metabolism. *J. Devel. Physiol.* **9**:225-238.
- PANETH N., SUSSER M. (1995). Early origins of coronary heart disease (the Barker hypothesis). *Br. Med. J.* **310**:411-412.
- PATCH JR., PRASAD S., GOTTO JAM., BENGTSSON-OLIVECRONA T. (1984). Postprandial lipemia. A key for the conversion of high density lipoprotein 2 into high density lipoprotein 3 by hepatic lipase. *J. Clin. Invest.* **74**:2017-2023.
- PATEL ST., NEWMAN HAI., YATES AJ., THIBERT P., FALKO JM. (1984). Serum lipids and lipoprotein composition in spontaneously diabetic BB Wistar rats. *J. Lipid. Res.* **25**:1072-1083.
- PECILE A., MÜLLER EE. (1966). Suppressive actions of corticosteroids on the secretion of growth hormone. *J. Endocr.* **36**:401-408.
- PEDERSEN J., OSLER M. (1961). Hyperglycemia as the cause of characteristic features of the fetus and newborn of diabetic mothers. *Dan. Med. Bull.* **8**:78-83.
- PEDERSEN O., BECK-NIELSEN H., KLEBE JG. (1981). Insulin receptors in the pregnant diabetic and her newborn. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **53**:1160-1169.

- PELINKANOVA T., KOHOUT M., VALEK J. (1989). Insulin secretion and insulin action related to the serum phospholipid fatty acid pattern in healthy men. *Metabolism*. **38**:188-192.
- PERSSON B., GENTZ J. (1966). The pattern of blood lipids, glycerol and ketonbodies during the neonatal period, infancy and childhood. *Acta. Paediatr. Scand.* **55**:352-362.
- PERSSON B., PSCHERA H., LUNELL NO., BARLEY J., GUMAA KA. (1986). Amino acid concentrations in maternal plasma and amniotic fluid in relation to fetal insulin secretion during the last trimester of pregnancy in gestational and type I diabetic women and women with small-for-gestational-age infants. *Am. J. Perinatol.* **3**:98-103.
- PETERSON EM., JOVANOVIC-PETERSON L., MILLS JL. (1992). The diabetes in early pregnancy study: Changes in cholesterol, triglycerides, body weight, and blood pressure. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **166**:513-520.
- PETERSON JL., PETERSON CM., REED GF., METZGER BE., MILLS JL., KNOPP RH., AARONS JH. (1991). Maternal post prandial glucose levels and infant birthweight: The diabetes in early pregnancy study. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **164**:103-111.
- PETTITT DJ., BAIRD HR., ALECK KA., BENNETT PH., KNOWLER WC. (1983). Excessive obesity in offspring of Pima Indian women with diabetes during pregnancy. *N. Engl. J. Med.* **308**:242-245.
- PETTITT DJ., BENNETT PH., SAAD MF., CHARLES MA., NELSON RG., KNOWLER WC. (1991). Abnormal glucose tolerance during pregnancy in Pima Indian women ; long term effects on offspring. *Diabetes*. **40** (suppl 2):126-130.
- PHILLIPS DIW., BARKER DJP., HALES CN., HIRST S., OSMOND C. (1994). Thinness at birth and insulin resistance in adult life. *Diabetologia*. **37**:150-154.
- PHILLIPS S., SHAPIRO R. (1979). Improved methods for the assay and activation of 3-hydroxy-3 methylglutaryl coenzyme A reductase. *J. Lipid. Res.* **20**:588-593.
- PHIPPS K., BARKER DJP., HALES CN., FALL CHD., OSMOND C., CLARK PMS. (1993). Fetal growth and impaired glucose tolerance in men and women. *Diabetologia*. **36**:225-228.
- PICON L. (1967). Effect of insulin on growth and biochemical composition of the rat fetus. *Endocrinology*. **81**:1419-1426.
- PLAGEMANN A., HEIDRICH I., ROHDE W., GÖTZ F., DÖRNER G. (1992). Hyperinsulinism during differentiation of the hypothalamus is a diabetogenic and obesity risk factor in rats. *Neuroendocrinol. Letters*. **14**:373-378.

- PLAGEMANN A., HARDER T., KOHLHOFF R., ROHDE W., DÖRNER G. (1997). Glucose tolerance and insulin secretion in children of mothers with pregestational IDDM or gestational diabetes. *Diabetologia*. **40**:1094-1100.
- PORTE D., SEELEY RJ., WOODS SC., BASKIN DG., FIGLEWICZ DP., SCHWARTZ MW. (1998). Obesity, diabetes and the central nervous system. *Diabetologia*. **41**:863-881.
- PRAGER R., ABRAMOVICI A., LIBAN E., LARON Z. (1974). Histopathological changes in the placenta of streptozotocin induced diabetic rats. *Diabetologia*. **10**:89-91.
- PRAGER R., WALLACE P., OLEFSKY JM. (1987). Hyperinsulinemia does not compensate for peripheral insulin resistance in obesity. *Diabetes*. **36**:327-334.
- PURDY LP., SILVERMAN BL., METZGER BE. (1996). Long-term follow-up of offspring of type I diabetic mothers: Status in adolescence. *Diabetes (Abs)*. **45** (suppl 2):205.
- RADHAKRISHNAN S., SRIVASTAVA AH., MODI VJ. (1989). Maternal determinants of intra-uterine growth retardation. *J. Indian. Med. Assoc.* **87**:130-132.
- RAVIO KO. (1985). Carbohydrate and lipid abnormalities in infants of diabetic mothers. *Clin. Pediatr.* **197**:159-162.
- REAVEN GM. (1988). Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes*. **37**:1595-1607.
- REAVEN GM., CHEN YD. (1988). Role of insulin in regulation of lipoprotein metabolism in diabetes. *Diabetes Metab. Rev.* **4**:639-652.
- REDGRAVE TG., ROBERT DCK., WEST CE. (1975). Separation of plasma lipoproteins by density-gradient ultracentrifugation. *Anal. Biochem.* **65**:42-49.
- RITTER MC., BAGDADE JD. (1994). Contribution of glycaemic control, endogenous lipoproteins and cholesteryl ester transfer protein to accelerated cholesteryl ester transfer in IDDM. *Eur. J. Clin. Invest.* **24**:607-614.
- RICHARDSON D., CZECH MP. (1978). Primary role of decreased fatty acid synthesis in insulin resistance of large rat adipocytes. *Am. J. Physiol.* **234**:182-189.
- ROBINSON S., WALTON RJ., CLARK PM., BARKER DJP., HALES CN., OSMOND C. (1992). The relation of fetal growth to plasma glucose in young men. *Diabetologia*. **35**:444-446.
- RODWELL VW., NORDSTROM JL., MITSCHELEN JJ. (1976). Regulation of HMG-CoA reductase. *Adv. Lipid. Res.* **14**:1-74.
- ROSENN B., TSANG R. (1991). The effects of maternal diabetes on the fetus and neonate. *Ann. Clin. Lab. Sci.* **21**:153-170.

- ROSSENEU M., VAN BIERVLIET JP., BURY J., VINAMOINT N. (1983). Isolation and characterization of lipoprotein profiles in newborns by density gradient ultracentrifugation. *Pediatr. Res.* **17**:788-794.
- ROVAMO LM., TASKINEN MR., KUUSI J., RAIVIO KO. (1986). Postheparin plasma lipoprotein and hepatic lipase activities in hyperinsulinemic infants of diabetic mothers and in large-for-date infants at birth. *Pediatr. Res.* **20**:623-626.
- RUDOLF MCJ., SHERWIN RS. (1983). Maternal ketosis and its effects on the fetus. *Clin. Endocrinol. Metab.* **12**:413-428.
- RUYLE M., CONNOR WE., ANDERSON GJ., LOWENSHON RL. (1990). Placental transfer of essential fatty acids in humans: Venous-arterial differences for docosahexaenoic acid in fetal umbilical erythrocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **87**:7902-7904.
- SACKS FM., WALSH BW. (1994). Sex hormones and lipoprotein metabolism *Curr. Opin. Lipidol.* **5**:236-240.
- SALOMAA V., AHOLA I., TUOMILEHTO J., ARO A., PIETINEN P., KORHONEN HJ., PENTTILA I. (1990). Fatty acid composition of serum cholesterol esters in different degrees of glucose intolerance: A population-based study. *Metabolism.* **39**:1285-1291.
- SANTAMARINA-FOJO S., DUGI KA. (1994). Structure, function and role of lipoprotein lipase in lipoprotein metabolism. *Curr. Opin. Lipidol.* **5**:117-125.
- SCHAEFER EJ., FOSTER DM., ZECH LA., LINDGREN FT., BREWER HB., LEVY RI. (1983). The effects of estrogen administration on plasma lipoprotein metabolism in premenopausal females. *J. Clin. Endocr. Metab.* **57**:262-267.
- SCHONFELD G., FELSKI C., HOWALD MA. (1974). Characterization of the plasma lipoproteins of the genetically obese hyperlipoproteinemic Zucker fatty rat. *J. Lipid. Res.* **15**:457-564.
- SCHWANDT P. (1981). Lipolytic effects of ACTH and lipotrophins. *Front. Horm. Res.* **8**:107-121.
- SCLAFANI A. (1984). Animal models of obesity: Classification and characterization. *Int. J. Obesity.* **8**:491-508.
- SHAFRIR E., KHASSIS S. (1982). Maternal-fetal fat transport versus new fat synthesis in the pregnant diabetic rat. *Diabetologia.* **22**:111-117.
- SHAFRIR E., BARASH V. (1987). Placental function in maternal-fetal fat transport in diabetes. *Biol. Neonate.* **51**:102-112.
- SILBERMANN M., MAOR G. (1978). Mechanisms of glucocorticoid induced growth retardation: Impairment of cartilage mineralization. *Acta Anat.* **101**:140-149.

- SILVERMAN BL., METZGER BE., CHO NH., LOEB CA. (1995). Impaired glucose tolerance in adolescent offspring of diabetic mothers. *Diabetes Care*. **18**:611-617.
- SIMMONS D. (1994). Differences in umbilical cord insulin and birthweight in non-diabetic pregnancies of women from different ethnic groups in New Zealand. *Diabetologia*. **37**:930-936.
- SLOVER HT., LANZA E. (1979). Quantitative analysis of food fatty acids by capillary gas chromatography. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* **56**:933-943.
- SMALL M., CAMERON A., LUNAN CB., MACCUISH AC. (1987). Macrosomia in pregnancy complicated by insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes Care*. **10**:594-599.
- SPARKS JD., SPARKS CE. (1994). Insulin regulation of triacylglycerol-rich lipoprotein synthesis and secretion. *Biochem. Biophys. Acta*. **1215**: 9-32.
- SPECTOR AA., GORDON JA., MOORE SA. (1988). Hydroxyeicosatetraenoic acids (HETES). *Prog. Lipid. Res.* **27**:271-323.
- SPELLACY WN., MILLER S., WINEGAR A., PETERSON P. (1985). Macrosomia maternal characteristics and infant complication. *Obstet. Gynecol.* **66**:158-161.
- SPORIK R, JOHNSTONE JH, COGSWELL JJ (1991). Longitudinal study of cholesterol values in 68 children from birth to 11 years of age. *Arch. Dis. Child.* **66**:134-137.
- STANNER SA., BULMER K., ANDRES C., LANTSEVA OE., BORODINA V., POTEEN VV., YUDKIN JS. (1997). Does malnutrition in utero determine diabetes and coronary heart disease in adulthood? Results from the Leningrad siege study, a cross sectional study. *Br. Med. J.* **315**:1342-1348.
- STEINER G., MORITA S., VRANIC M. (1980). Resistance to insulin but not to glucagon in lean human hypertriglyceridemics. *Diabetes*. **29**:899-905.
- STEINER G., VRANIC M. (1982). Hyperinsulinemia and hypertriglyceridemia, a vicious cycle with atherogenic potential. *Int. J. Obesity*. **6**:117-124.
- STEINER G., HAYNES FJ., YOSHINO G., VRANIC M. (1984). Hyperinsulinemia and in vivo very low density lipoprotein triglyceride kinetics. *J. Am. Phys. Soc.* **18**:187-192.
- STEVENSON DK., HOPPER AD., COHEN RS., BUCALO LR., KERNER JA. (1982). Macrosomia: Causes and consequences. *J. Pediat.* **100**:515-520.
- STRAPANS I., PAN X-M., RAPP JH., FEINGOLD KR. (1992). Chylomicron and chylomicron remnant metabolism in STZ-induced diabetic rats. *Diabetes*. **41**:325-333.
- SUCKLING KE., STANGE EF. (1985). Role of acyl CoA:cholesterol acyltransferase in cellular cholesterol metabolism. *J. Lipid. Res.* **26**:647-671.

- SUSA JB., NEAVE C., SEHGAL P., SINGER DB., ZELLER WP., SCHWARTZ R. (1984). Chronic hyperinsulinemia in the fetal rhesus monkey: Effects of physiologic hyperinsulinemia on fetal growth and composition. *Diabetes*. **33**:656-660.
- SUSA JB., WIDNESS JA., HINTZ R., LIU F., SEHGAL O., SCHWARTZ R. (1984b). Somatomedins and insulin in diabetic pregnancies. Effects of fetal macrosomia in the human and rhesus monkey. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **58**:1099-1105.
- SUSA JB., SCHWARTZ R. (1985). Effects of hyperinsulinemia in the primate fetus. *Diabetes*. **34**:36-41.
- SWAMI S., SZTALRYD C., KRAEMER BF. (1996). Effects of streptozotocin-induced diabetes on low density lipoprotein receptor expression in rat adipose tissue. *J. Lipid. Res.* **37**:229-236.
- TALL AR. (1986). Plasma lipid transfer proteins. *J. Lipid. Res.* **27**:361-367.
- TALL AR. (1993). Plasma cholesteryl ester transfer protein. *J. Lipid. Res.* **34**:1255-1274.
- TANGALAKIS K., LUMBERS ER., MORITZ KM., TOWSTOLESS MK., WINTOUR EM. (1992). Effect of cortisol on blood pressure and vascular reactivity in the ovine fetus. *Exp. Physiol.* **77**:709-717.
- TASKINEN MR., NIKKILA EA. (1977). Lipoprotein lipase activity in adipose tissue and in postheparin plasma in human obesity. *Acta Med. Scand.* **202**:399-408.
- TASKINEN MR. (1990). Hyperlipidaemia in diabetes. *Clin. Endocrinol. Metab.* **4**:743-775.
- TASKINEN MR. (1997). Triglyceride is the major atherogenic lipid in NIDDM. *Diabetes. Metab. Rev.* **13**:93-98.
- TAVANGAR K., MURATA Y., PEDERSEN ME., GOERS JF., HOFFMAN A., KRAEMER FB. (1992a). Regulation of lipoprotein lipase in the diabetic rat. *J. Clin. Invest.* **90**:1672-1678.
- TAVANGAR K., MURATA Y., PATEL S., KALINYAK JE., PEDERSEN ME., GOERS JF., HOFFMAN A., KRAEMER FB. (1992b). Developmental regulation of lipoprotein lipase in rats. *Am. J. Physiol.* **262**:330-337.
- THOMPSON GR., NAOUMOVA RP., WATTS GF. (1996). Role of cholesterol in regulating apolipoprotein B secretion by the liver. *J. Lipid. Res.* **37**:439-447.
- TILVIS RS., TASKINEN MR., MIETTINEN TA. (1988). Effect of insulin treatment on fatty acids of plasma and erythrocyte membrane lipids in type 2 diabetes. *Clin. Chim. Acta.* **171**:293-304.

- TOMKIN GH., OWENS D. (1994). Insulin and lipoprotein metabolism with special reference to the diabetic state. *Diabetes Metab. Rev.* **10**:225-252.
- TOTH P, KLUJBER L, ZSUZSA B, MOLNAR E (1984). Serum lipid and lipoprotein cholesterol values in cord blood and on the sixth postnatal day in newborns of varying maturity. *Acta Paediatr. Hung.* **25**:275-281.
- TSANG R., GLUECK CJ., EVANS G., STEINER PM. (1974). Cord blood hypertriglyceridemia. *Am. J. Dis. Child.* **127**:78-82.
- VAN ASSCHE FA., DE PRINS F., AERTS L., VERJANS M. (1977). The endocrine pancreas in the small for dates infants. *Br. J. Obstet. Gynecol.* **84**:751-753.
- VAN ASSCHE FA., AERTS L. (1985). Long-term effects of diabetes and pregnancy in the rat. *Diabetes.* **34**:116-118.
- VAN BIERVLIET JP., ROSSENEU M., BURY J., CASTER H., STUL MS., LAMOTE R. (1986). Apolipoprotein and lipid composition of plasma lipoproteins in neonates during the first month of life. *Pediatr. Res.* **20**:324-328.
- VAN BIERVLIET JP., VINAIMONT N., VERCAEMST R., ROSSENEU M. (1992). Serum cholesterol, cholesteryl ester and high density lipoprotein development in newborn infants: Response to formulas supplemented with cholesterol and gamma linolenic acid. *J. Pediatr.* **120**:S101-S108.
- VERCHEVAL M., DE HERTOOGH R., PAMPFER S., VANDERHEYDEN I., MICHIELS B., DE BERNARDI P., DE MEYER R. (1990). Experimental diabetes impairs rat development during the preimplantation period. *Diabetologia.* **33**:187-191.
- VILLAR J., BELIZAN JM., SPALDING J. (1982). Postnatal growth of intrauterine growth retarded infants. *Early Hum. Dev.* **6**:265-271.
- VILLAR J., RIVERA J. (1988). Nutritional supplementation during two consecutive pregnancies and the interim lactation period: Effect on birth weight. *Pediatrics.* **81**:51-57.
- VILEISIS RA., OH W. (1983). Enhanced fatty acid synthesis in hyperinsulinemic rat fetuses. *J. Nutr.* **113**:246-252.
- VOHR BR., LIPSITT LP., OH W. (1980). Somatic growth of children of diabetic mothers with reference to birth size. *J. Pediatr.* **97**:196-199.
- WAHLE KWJ., MILNE L., MCINTOSH G. (1991). Regulation of polyunsaturated fatty acid metabolism in tissue phospholipids of obese (fa/fa) and lean (Fa/-) Zucker rats. Effects of dietary lipids on cardiac tissue. *Lipids.* **26**:16-22.
- WANG XL., WILCKEN DEL., DUDMAN NPB. (1991). Apolipoproteins A-I and B and the B/A-I ratio in the first year of life. *Pediatr. Res.* **30**:544-549.

- WEINSTEIN I., SOLER-ARGILAGA C., WERNER HV., HEIMBERG M. (1979). Effects of ethylnoestradiol on metabolism of (^{1-14}C)-oleate by perfused livers and hepatocytes from female rats. *Biochem. J.* **180**:265-266.
- WESTWOOD M., KRAMER MS., MUNZ D. (1983). Growth and development of full-term nonasphyxiated small for gestational age newborns: Follow-up through adolescence. *Pediatrics.* **71**:376-382.
- WIDDOWSON EM., MC CANCE RA. (1975). A review: New thoughts on growth. *Pediatr. Res.* **9**:154-156.
- WILSON D., ZEIKUS R., CHAN IF. (1987). Relationship of organ lipoprotein lipase activity and ketonuria to hypertriglyceridemia in starved and streptozocin-induced diabetic rats. *Diabetes.* **36**:485-490.
- WINDLER EET., KOVANEN PT., CHAO YS., BROWN MS., HAVEL RJ., GOLDSTEIN JL. (1980). The estradiol-stimulated lipoprotein receptor of rat liver. A binding site that mediates the uptake of rat lipoproteins containing apoproteins B and E. *J. Biol. Chem.* **255**:10464-10471.
- WINICK M. (1971). Cellular growth during early malnutrition. *Pediatrics.* **47**:959-978.
- WINOCOUR PH., KALUVYA S., RAMAIYA K., BROWN L., MILLAR JP., FARRER M., NEIL HAW., LAKER MF., ALBERTI KM. (1992). Relation between insulinemia, body mass index, and lipoprotein composition in healthy, non diabetic men and women. *Arterioscler. Throm.* **12**:393-402.
- YOU S., GÖTZ F., ROHDE W., DÖRNER G. (1990). Early postnatal overfeeding and diabetes susceptibility. *Exp. Clin. Endocrinol.* **96**:301-306.
- YUDILEVICH DL., SWEIRY JH. (1985). Transport of amino-acids in the placenta. *Biochim. Biophys. Acta.* **882**:169-201.

ANNEXES

Tableau VI. Profil apolipoprotéique des VLDL sériques.

		J0		J30	J60	J90
Apo B100 UA	T	40,31± 9,48 ^c	Mâles	80,04± 8,73 ^b	85,11±10,08 ^a	90 ± 7,43 ^a
			Femelles	66,40± 8,94 ^b	95,63±15,54 ^a	101,60± 7,42 ^a
	M	48,90± 9,96 ^d	Mâles	78,11± 6,64 ^c	91,08± 9,63 ^b	140 ± 5,68 ^{a **}
			Femelles	75,83± 7,16 ^c	116,31±11,70 ^b	181,12± 8,15 ^{a **}
Apo B48 UA	T	16,40± 4,63 ^c	Mâles	30 ± 3,1 ^b	32,06± 5,11 ^b	43,12± 4,90 ^a
			Femelles	29,11± 5,14 ^b	48,03± 4,22 ^a	48,83± 5,53 ^a
	M	18,90± 5,18 ^d	Mâles	35,50± 5,68 ^c	41,80± 6,08 ^b	91,92± 6,81 ^{a *}
			Femelles	31,47± 6,73 ^c	55,66± 6,19 ^b	95,33± 4,93 ^{a *}
Apo E UA	T	21,30± 4,77 ^c	Mâles	40,13± 5,25 ^b	41,02± 3,04 ^b	62,15± 4,15 ^a
			Femelles	31,61± 5,11 ^b	61,14± 2,18 ^a	62,10± 5,61 ^a
	M	26,92± 5,63 ^d	Mâles	47,80± 6,44 ^b	48,50± 6,13 ^b	108,40± 6,53 ^{a *}
			Femelles	41,12± 6,23 ^c	63,32± 5,26 ^b	108,21± 6,30 ^{a *}
Apo CII UA	T	4,80± 1,57 ^c	Mâles	10,20± 2,14 ^b	12,50± 4,61 ^{ab}	19,01± 3,15 ^a
			Femelles	10,10± 1,67 ^b	16,52± 5,97 ^a	18,22± 3,08 ^a
	M	6,70± 2,64 ^d	Mâles	10,13± 1,98 ^b	10,30± 3,08 ^b	39,42± 4,66 ^{a *}
			Femelles	10,30± 2,55 ^c	25,10± 5,36 ^b	36,40± 3,94 ^{a *}
Apo CIII UA	T	4,80± 1,97 ^d	Mâles	29,81± 4,11 ^b	29,46± 4,06 ^b	45,93± 6,75 ^a
			Femelles	22,75± 4,76 ^c	38,87± 6,45 ^b	49,27± 5,11 ^a
	M	7,73± 2,89 ^d	Mâles	28,69± 3,38 ^b	28,40± 3,14 ^b	80,30± 7,48 ^{a *}
			Femelles	21,38± 4,81 ^c	48,92± 6,63 ^b	80,01± 6,32 ^{a *}

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 10 rats par groupe. T: rats témoins ; M: rats macrosomiques.

Après analyse de la variance, la comparaison des moyennes entre macrosomiques et témoins, de même sexe, au même âge, est réalisée par le test " t " de Student. *P<0,05 ; **P<0,01.

Dans chaque groupe, la classification des moyennes, en fonction de l'âge, est effectuée par le test de rang multiple de Duncan, après analyse de la variance à un facteur. Les moyennes portant des lettres différentes (a,b,c,d) sont significativement différentes (P<0,05).

Tableau VII. Profil apolipoprotéique des HDL₂₋₃ sériques chez les rats macrosomiques et chez les témoins.

		J0		J30	J60	J90
Apo A-I UA	T	181,31± 9,42 ^b	Mâles	524,10±50,14 ^a	531,20±52,11 ^a	564,81±30,11
			Femelles	569,70±48,15 ^a	596,79±66,08 ^a	589,70±40,18
	M	246,90±7,64 ^b **	Mâles	601,00±81,64 ^a	627,50±80,24 ^a	609,88±28,70
			Femelles	627,80±62,20 ^a	631,28±75,04 ^a	646,87±50,20
Apo A-II UA	T	22,40± 3,18 ^c	Mâles	41,20± 8,85 ^b	66,51±10,40 ^a	61,10±11,43
			Femelles	61,09±16,18 ^a	71,28±10,04 ^a	69,31±14,78
	M	40,61± 6,43 ^b *	Mâles	62,40±13,87 ^a	63,24± 7,88 ^a	64,80± 9,11
			Femelles	89,58±17,84 ^a	89,43± 9,77 ^a	96,47±15,16
Apo A-IV UA	T	63,54± 8,14 ^c	Mâles	156,60±31,47 ^b	181,10±44,67 ^b	251,80±50,64
			Femelles	178,78±28,66 ^b	191,44±39,63 ^b	201,10±38,64
	M	117,38± 7,38 ^c *	Mâles	187,01±44,11 ^b	199,60±35,58 ^a	250,55±42,33
			Femelles	201,10±22,14 ^b	217,30±22,41 ^a	234,81±25,36
Apo E UA	T	201,68± 8,11 ^b	Mâles	188,80±30,45 ^b	200,40±18,16 ^a	244,78±30,14
			Femelles	215,60±30,15	226,58±33,67	229,60±30,26
	M	237,24±6,48 [*]	Mâles	252,50±45,68	238,10±27,40	247,70±20,10
			Femelles	267,40±50,28	276,41±40,50	269,50±40,50
Apo C-II UA	T	31,20± 4,15 ^b	Mâles	78,60±19,14 ^a	79,87±27,85 ^a	81,30±10,06
			Femelles	90,50±18,26 ^a	97,38±15,68 ^a	86,70±15,64
	M	39,76± 3,98 ^c	Mâles	91,10±16,53 ^b	90,60±29,47 ^b	155,60±14,11 [*]
			Femelles	106,89±20,11 ^b	91,31±18,35 ^b	165,31±18,11 [*]
Apo C-III UA	T	59,87± 2,14 ^b	Mâles	210,80±18,64 ^a	180,78±20,13 ^a	206,20±15,38
			Femelles	204,30±25,26 ^a	236,40±28,57 ^a	213,58±26,95
	M	58,11± 6,73 ^b	Mâles	225,90±20,15 ^a	221,04±31,64 ^a	211,40±20,14
			Femelles	247,18±34,75 ^a	284,02±40,64 ^a	256,90±37,86

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 10 rats par groupe. T: témoins; M: macrosomiques. La comparaison des moyennes entre les rats macrosomiques et les rats témoins de même sexe, au même âge est réalisée par le test 't' de Student, après analyse la variance: P < 0,05; ** P < 0,01. Dans chaque groupe, la classification des moyennes en fonction de l'âge est effectuée par le test de rang multiple de Duncan, après analyse de la variance à un facteur. Les moyennes portant des lettres différentes (a,b,c,d) sont significativement différentes (P < 0,05).

Tableau VIIIa. Composition en acides gras des triglycérides hépatiques des rats macrosomiques et des témoins mâles (en % pondéraux des AG totaux).

AG	J30		J60		J90	
	T	M	T	M	T	M
14 :0	1,28±0,22 ^b	1,14±0,33 ^c	2,67±0,35 ^a	2,45±0,28 ^b	3,22±0,84 ^a	7,32±0,31 ^a
16 :0	33,82±2,52	29,87±1,78 ^b	33,17±1,02	37,08±1,03 ^{a *}	30,76±2,27	30,11±2,16 ^b
16 :1n-7	5,03±1,89 ^a	4,30±0,21 ^a	3,90±0,15 ^a	2,19±0,28 ^b	2,40±0,21 ^b	2,69±0,37 ^b
18 :0	6,54±1,84	6,46±1,28 ^{ab}	5,65±0,49	8,87±0,57 ^{a *}	4,44±0,59	4,64±1,63 ^b
18 :1n-9	26,25±1,79	24,79±0,93 ^b	24 ±1,36	21,02±3,46 ^b	25,98±1,07	29,13±1,11 ^a
18 :2n-6	10,62±1,25	15,75±1,96 ^{a *}	11,80±2,45	10,08±2,03 ^b	13,30±2,23	13,02±1,56 ^b
18 :3n-3	1,25±0,78	1,18±0,26 ^a	1,60±0,27	0,52±0,14 ^{b *}	1,38±0,44	1,28±0,35 ^a
20 :3n-6	0,59±0,18	0,67±0,25	0,42±0,13	0,43±0,15	0,44±0,06	0,49±0,07
20 :4n-6	8,60±0,88	8,01±0,47 ^a	8,30±2,75	7,33±1,66 ^a	8,79±0,98	3,01±0,71 ^b
20 :5n-3	1,14±0,16	1,38±0,19	1,20±0,16	1,42±0,15	1,11±0,21	1,08±0,29
22 :5n-3	1,30±0,25	1,51±0,22	1,50±0,29	1,10±0,30	1,10±0,32	1,00±0,28
22 :5n-6	1,69±0,29	1,66±0,13 ^c	1,45±0,24	3,66±0,13 ^{a *}	2,18±0,65	2,18±0,57 ^k
22 :6n-3	1,89±0,34	1,69±0,37 ^b	2,72±0,63	4,06±0,41 ^{a *}	2,03±0,33	2,01±0,68 ^k
AGS	41,64±3,75	37,47±3,46 ^c	41,49±2,31	47,39±1,45 ^{a *}	38,32±1,04	42,07±1,08 ^k
AGMI	31,28±4,66	29,09±2,76 ^b	27,09±3,24	24,11±3,50 ^c	28,38±1,03	31,82±1,16 ^l
AGPI	26,95±2,42 ^c	33,44±1,98 ^{a *}	31,41±2,14 ^b	28,55±2,32 ^b	33,20±1,17 ^a	26,11±1,09 ^l
P/S	0,64±0,06 ^b	0,89±0,05 ^{a *}	0,75±0,06 ^{ab}	0,60±0,14 ^b	0,86±0,06 ^a	0,62±0,05 ^k

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 10 rats par groupe. T: témoins ; M : macrosomiques ; AGS : acides gras saturés ; AGMI : acides gras monoinsaturés ; AGPI : acides gras polyinsaturés. La comparaison des moyennes entre les rats macrosomiques et les rats témoins, au même âge, est réalisée par le test 't' de Student, après analyse de la variance : * P < 0,05. Dans chaque groupe, la classification des moyennes en fonction de l'âge est effectuée par le test de rang multiple de Duncan, après analyse de la variance à un facteur. Les moyennes portant des lettres différentes (a,b,c,d) sont significativement différentes (P < 0,05).

Tableau VIIIb. Composition en acides gras des triglycérides hépatiques des rats macrosomiques et des témoins femelles (en % pondéraux des AG totaux)

AG	J30		J60		J90	
	T	M	T	M	T	M
14:0	1,24±0,33 ^b	1,83±0,18 ^c	2,67±0,48 ^a	2,65±0,29 ^b	3,20±0,59 ^a	8,06±0,87 ^a *
16:0	31,78±1,78	28,55±1,71 ^b	34,69±1,55	37,48±0,63 ^a *	33,42±0,58	32,40±1,36 ^b
16:1n-7	3,66±0,59 ^a	3,16±0,16 ^a	2,92±0,11 ^a	2,46±0,38 ^b	2,36±0,11 ^b	2,80±0,71 ^b
18:0	5,66±1,26	5,36±2,73	6,05±0,91	6,78±1,34	6,59±0,54	5,65±1,09
18:1n-9	23,82±1,92	22,47±3,11 ^a	22,14±1,08	20,65±2,96 ^a	22,00±1,08	26,05±1,16 ^a *
18:2n-6	15,21±1,71	21,43±0,92 ^a *	16,75±2,48	14,68±2,15 ^b	14,38±1,26	13,94±1,55 ^b
18:3n-3	1,32±0,69	1,39±0,35 ^a	1,61±0,27	0,63±0,22 ^b *	1,88±0,66	1,33±0,46 ^a
20:3n-6	0,63±0,14	0,76±0,23	0,83±0,16	0,66±0,29	0,87±0,18	0,61±0,29
20:4n-6	7,73±0,64	7,03±1,78 ^a	6 ±1,16	5,11±1,11 ^a	8,58±1,55	3,12±0,63 ^b *
20:5n-3	1,61±0,49	1,38±0,37	1,31±0,45	1,27±0,34	1,98±0,39	1,64±0,38
22:5n-3	1,28±0,38	1,34±0,15	1,81±0,57	1,45±0,39	1,11±0,20	1,03±0,33
22:5n-6	2,05±0,39	2,48±0,49 ^b	2,07±0,38	3,11±0,04 ^a *	1,51±0,47	1,33±0,21 ^c
22:6n-3	2,92±0,66 ^a	2,82±0,46 ^b	1,15±0,37 ^b	3,07±0,31 ^a *	2,12±0,52 ^a	2,04±0,56 ^b
AGS	38,67±3,24	36,12±2,16 ^b	43,41±1,64	47,01±1,01 ^a *	43,21±1,36	46,11±1,03 ^a *
AGMI	27,48±1,76	25,63±2,24 ^{ab}	25,06±1,78	23,11±2,09 ^b	24,36±1,29	28,85±1,16 ^a *
AGPI	33,75±1,04	40,67±1,12 ^a *	31,53±1,86	29,89±1,53 ^b	32,43±1,11	25,04±1,08 ^c *
P/S	0,86±0,06	1,15±0,05 ^a *	0,73±0,08	0,63±0,10 ^b	0,75±0,07	0,55±0,03 ^b *

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 10 rats par groupe. T: témoins ; M : macrosomiques ; AGS : acides gras saturés ; AGMI : acides gras monoinsaturés ; AGPI : acides gras polyinsaturés. La comparaison des moyennes entre les rats macrosomiques et les rats témoins, au même âge, est réalisée par le test 't' de Student, après analyse de la variance : * P < 0,05. Dans chaque groupe, la classification des moyennes en fonction de l'âge est effectuée par le test de rang multiple de Duncan, après analyse de la variance à un facteur. Les moyennes portant des lettres différentes (a,b,c,d) sont significativement différentes (P < 0,05).

Tableau IXa. Composition en acides gras des phospholipides hépatiques des rats macrosomiques et des témoins mâles (en % pondéraux des AG totaux)

AG	J30		J60		J90	
	T	M	T	M	T	M
14 : 0	2,20±0,33 ^b	2,07±0,48 ^b	2,81±0,44 ^{ab}	2,98±0,50 ^{ab}	3,47±0,63 ^a	3,24±0,83 ^a
16 : 0	26,72±2,24	25,71±2,47	26,25±2,06	23,95±1,09	22,04±2,64	23,18±1,19
16 : 1n-7	6,83±0,59	5,48±1,32	6,05±0,96	6,25±0,56	5,50±0,97	7,95±1,32
18 : 0	12,09±0,99	11,48±2,88	12,40±2,46	12,36±1,75	14,60±2,48	14,58±1,22
18 : 1n-9	10,88±1,50	10,05±1,94 ^b	11,76±1,45	12,11±1,67 ^b	12,56±0,89	16,99±1,06 ^a
18 : 2n-6	10,00±0,96	14,30±1,03 ^a *	9,84±1,06	8,04±1,23 ^b	9,78±1,38	10,08±1,65 ^b
18 : 3n-3	1,66±0,12	1,61±0,48 ^a	1,93±0,59	0,68±0,58 ^b *	1,97±0,49	1,95±0,53 ^a
20 : 3n-6	1,89±0,24	1,81±0,64	1,64±0,15	1,81±0,44	1,41±0,24	1,06±0,38
20 : 4n-6	20,79±1,10	21,01±1,07 ^a	20,72±1,11	19,82±1,91 ^a	21,75±1,92	12,05±1,11 ^b
20 : 5n-3	0,79±0,24	0,89±0,18 ^b	1,60±0,45 ^a	1,17±0,31 ^b	1,54±0,38 ^a	1,66±0,24 ^a
22 : 5n-3	1,36±0,27	1,53±0,35	1,34±0,28	1,53±0,39	1,61±0,40	1,96±0,56
22 : 5n-6	1,86±0,45	1,95±0,36 ^b	1,48±0,11	3,49±0,25 ^a	1,99±0,54	1,41±0,66 ^b
22 : 6n-3	2,93±0,68	2,11±0,67 ^b	2,18±0,36	4,81±0,18 ^a *	2,08±0,56	2,99±0,62 ^b
AGS	41,04±3,39	39,26±4,11	41,46±2,45	39,28±2,16	40,11±3,24	41 ±2,53
AGMI	17,71±2,75	15,53±3,05 ^b	17,81±1,93	18,36±2,08 ^b	18,06±1,29	24,94±1,39 ^a
AGPI	41,28±1,29	45,21±1,09 ^a *	40,73±3,11	42,45±2,16 ^a	41,83±1,08	34,06±1,12 ^b
P/S	1,01±0,02	1,15±0,03 ^a *	0,98±0,06	1,06±0,06 ^a	1,05±0,04	0,82±0,03 ^b

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 10 rats par groupe. T: témoins ; M : macrosomiques ; AGS : acides gras saturés ; AGMI : acides gras monoinsaturés ; AGPI : acides gras polyinsaturés. La comparaison des moyennes entre les rats macrosomiques et les rats témoins, au même âge, est réalisée par le test 't' de Student, après analyse de la variance : * P < 0,05. Dans chaque groupe, la classification des moyennes en fonction de l'âge est effectuée par le test de rang multiple de Duncan, après analyse de la variance à un facteur. Les moyennes portant des lettres différentes (a,b,c,d) sont significativement différentes (P < 0,05).

Tableau IXb. Composition en acides gras des phospholipides hépatiques des rats macrosomiques et des témoins femelles (en % pondéraux des AG totaux)

AG	J30		J60		J90	
	T	M	T	M	T	M
14 : 0	3,51±0,26 ^a	3,09±0,35	2,40±0,50 ^b	2,41±0,56	2,77±0,36 ^b	3,09±0,44
16 : 0	26,92±1,55	25,10±1,36	26,93±1,96	25,82±1,53	25,15±2,49	28,11±2,66
16 : 1n-7	7,59±1,04 ^a	6,36±0,49 ^a	4,24±0,98 ^b	4,46±0,85 ^b	4,04±0,48 ^b	4,18±0,36 ^b
18 : 0	11,49±1,93 ^b	10,00±1,67 ^b	14,17±1,64 ^{ab}	14,45±1,84 ^a	15,06±2,76 ^a	15,64±2,58 ^a
18 : 1n-9	10,45±1,94	10,43±1,86 ^b	11,65±1,02	12,14±1,15 ^b	11,84±1,20	16,98±0,66 ^a *
18 : 2n-6	9,97±0,28	13,66±1,05 ^a *	9,93±1,14	8,63±1,26 ^b	9,56±2,47	10,66±1,11 ^b
18 : 3n-3	1,62±0,17	1,74±0,26 ^a	1,81±0,39	0,66±0,19 ^b *	1,88±0,43	1,16±0,36 ^a
20 : 3n-6	1,86±0,15	1,69±0,38	1,96±0,58	1,84±0,68	1,93±0,57	1,04±0,39
20 : 4n-6	20,60±0,34	20,62±1,05 ^a	20,41±1,06	19,64±0,97 ^a	21 ±1,16	13,03±1,04 ^b *
20 : 5n-3	1,54±0,22	1,83±0,37	1,77±0,39	1,93±0,47	1,60±0,30	1,90±0,48
22 : 5n-3	1,49±0,54	1,61±0,39	1,55±0,12	1,84±0,22	1,67±0,38	1,15±0,40
22 : 5n-6	0,72±0,27	0,76±0,34 ^b	1,06±0,42	3,02±0,41 ^a *	1,46±0,28	1,05±0,36 ^b
22 : 6n-3	2,24±0,53	2,61±0,66 ^b	2,12±0,58	4,80±0,47 ^a *	2,04±0,24	2,01±0,38 ^b
AGS	41,92±1,98	38,29±2,65 ^b	43,50±2,64	42,60±2,14 ^{ab}	42,98±1,96	46,84±2,14 ^a
AGMI	17,99±1,66	16,79±1,29 ^b	15,89±1,39	16,60±2,10 ^b	15,88±1,66	21,16±1,08 ^a *
AGPI	40,04±1,03	44,92±1,14 ^a *	40,61±2,34	40,73±1,98 ^b	41,14±1,03	32,01±1,01 ^c *
P/S	0,94±0,04	1,19±0,05 ^a *	0,93±0,08	0,95±0,06 ^b	0,96±0,06	0,68±0,03 ^c *

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 10 rats par groupe. T: témoins ; M : macrosomiques ; AGS : acides gras saturés ; AGMI : acides gras monoinsaturés ; AGPI : acides gras polyinsaturés. La comparaison des moyennes entre les rats macrosomiques et les rats témoins, au même âge, est réalisée par le test ' t ' de Student, après analyse de la variance : * P < 0,05. Dans chaque groupe, la classification des moyennes en fonction de l'âge est effectuée par le test de rang multiple de Duncan, après analyse de la variance à un facteur. Les moyennes portant des lettres différentes (a,b,c,d) sont significativement différentes (P < 0,05).

Tableau Xa. Composition en acides gras des esters de cholestérol hépatiques des rats macrosomiques et des témoins mâles (en % pondéraux des AG totaux)

AG	J30		J60		J90	
	T	M	T	M	T	M
14 :0	3,65±0,80	3,09±0,62	3,80±0,37	4,21±0,87	3,89±0,65	4,07±0,84
16 :0	22,89±2,61	22,02±2,65	20,41±1,29	20,87±1,44	19,90±1,55	18,25±2,61
16 :1n-7	10,52±1,16	10,34±1,11	8,65±0,78	9,39±1,03	7,37±1,27	8,64±1,39
18 :0	6,81±1,37	6,25±1,21	8,63±1,46	8,92±1,24	8,98±1,24	7,97±1,62
18 :1n-9	21,14±1,62 ^b	18,34±2,35 ^b	23,53±1,15 ^{ab}	21,25±2,86 ^b	25,27±2,77 ^a	26,35±2,89 ^a
18 :2n-6	14,49±1,35	18,05±1,07 ^a *	14,28±1,19	13,08±1,95 ^b	12,99±1,83	13,33±1,54 ^b
18 :3n-3	2,79±0,68	2,18±0,54	2,74±0,88	2,61±0,49	2,54±0,83	2,69±0,46
20 :3n-6	0,69±0,12	0,43±0,24	0,59±0,12	0,63±0,24	0,98±0,49	0,89±0,25
20 :4n-6	11,09±1,85	11,84±1,05	10,54±1,64	11,52±1,13	10,35±1,32	9,72±1,81
20 :5n-3	0,75±0,23	0,89±0,28	0,88±0,38	1,03±0,42	1,02±0,15	1,16±0,33
22 :5n-3	1,25±0,45	1,28±0,35	1,31±0,37	1,56±0,34	1,36±0,47	1,43±0,24
22 :5n-6	1,46±0,62	1,60±0,54 ^b	1,85±0,39	2,11±0,48 ^a	2,49±0,66	2,58±0,81 ^a
22 :6n-3	2,47±0,26	2,69±0,41	2,79±0,48	2,83±0,37	2,86±0,28	2,92±0,33
AGS	33,35±0,98	31,36±1,74	32,84±1,95	34 ±2,67	32,77±1,97	30,29±2,16
AGMI	31,66±2,19	28,68±1,78	32,18±2,11	30,63±1,04	32,64±1,74	34,99±2,25
AGPI	34,99±1,11	39,96±1,04 ^a *	34,98±1,87	35,37±1,15 ^b	34,59±1,06	34,72±1,14 ^b
P/S	1,05±0,04	1,28±0,06 ^a *	1,06±0,04	1,04±0,05 ^b	1,05±0,05	1,14±0,10 ^{ab}

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 10 rats par groupe. T: témoins ; M : macrosomiques ; AGS : acides gras saturés ; AGMI : acides gras monoinsaturés ; AGPI : acides gras polyinsaturés. La comparaison des moyennes entre les rats macrosomiques et les rats témoins, au même âge, est réalisée par le test ' t ' de Student, après analyse de la variance : * P < 0,05. Dans chaque groupe, la classification des moyennes en fonction de l'âge est effectuée par le test de rang multiple de Duncan, après analyse de la variance à un facteur. Les moyennes portant des lettres différentes (a,b,c,d) sont significativement différentes (P < 0,05).

Tableau Xb. Composition en acides gras des esters de cholestérol hépatiques des rats macrosomiques et des témoins femelles (en % pondéraux des AG totaux)

AG	J30		J60		J90	
	T	M	T	M	T	M
14 :0	3,10±0,49	2,99±0,33	3,35±0,36	3,11±0,25	3,93±0,43	3,49±0,48
16 :0	22,07±2,45	21,42±0,69	21,72±1,49	21,02±1,89	20,69±1,68	20,35±1,97
16 :1n-7	9,99±1,02	9,69±1,15	9,65±1,08	9,34±0,93	8,87±1,47	8,83±1,12
18 :0	8,53±1,18	7,79±1,67	8,62±1,27	8,39±1,86	8,87±1,53	8,85±1,66
18 :1n-9	23,48±2,74	21,09±2,40	22,39±2,36	23,35±2,27	26,64±2,65	26,98±3,29
18 :2n-6	11,34±1,03	15,84±1,09 ^a *	13,61±1,40	12,05±1,18 ^b	11,35±1,54	12,30±1,38 ^b
18 :3n-3	2,35±0,35	2,62±0,44	2,78±0,32	2,74±0,57	2,41±0,26	2,25±0,47
20 :3n-6	0,82±0,14	0,84±0,23	0,64±0,13	0,86±0,33	0,74±0,14	0,75±0,20
20 :4n-6	12,28±1,01	12,56±1,85	11,08±1,52	12,47±1,35	10,12±1,97	9,98±1,75
20 :5n-3	0,68±0,12	0,61±0,26	0,98±0,27	1,17±0,38	1,17±0,43	1,11±0,29
22 :5n-3	1,05±0,36	1,13±0,27	1,19±0,26	1,25±0,29	1,26±0,27	1,35±0,33
22 :5n-6	1,34±0,18	1,22±0,33 ^b	1,37±0,14	1,88±0,36 ^a	1,02±0,28	1,10±0,37 ^b
22 :6n-3	2,07±0,35	2,20±0,39	2,62±0,30	2,37±0,40	2,93±0,57	2,66±0,48
AGS	33,70±1,63	32,20±1,58	33,69±1,68	32,52±1,59	33,49±1,48	32,69±1,56
AGMI	33,47±1,41	30,78±2,64	32,04±2,16	32,69±1,65	35,51±2,45	35,81±2,63
AGPI	32,83±1,64	37,02±1,06 ^a *	34,27±2,97	34,79±1,11 ^b	31 ±2,08	31,50±2,46 ^b
P/S	0,96±0,02	1,16±0,04 ^a *	1,01±0,06	1,06±0,06 ^{ab}	0,92±0,05	0,96±0,05 ^b

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 10 rats par groupe. T: témoins ; M : macrosomiques ; AGS : acides gras saturés ; AGMI : acides gras monoinsaturés ; AGPI : acides gras polyinsaturés. La comparaison des moyennes entre les rats macrosomiques et les rats témoins, au même âge, est réalisée par le test 't' de Student, après analyse de la variance : * P < 0,05. Dans chaque groupe, la classification des moyennes en fonction de l'âge est effectuée par le test de rang multiple de Duncan, après analyse de la variance à un facteur. Les moyennes portant des lettres différentes (a,b,c,d) sont significativement différentes (P < 0,05).

Tableau Xla. Composition en acides gras des triglycérides des VLDL sériques des rats macrosomiques et des témoins mâles (en % pondéraux des AG totaux)

	J0		J30		J60		J90	
	T	M	T	M	T	M	T	M
14 :0	3,09±0,88 ^a	2,83±0,39 ^a	1,06±0,45 ^b	1,36±0,58 ^b	1,84±0,58 ^b	1,77±0,53 ^b	2,06±0,48 ^b	1,98±0,67 ^b
16 :0	24,34±1,64	29,19±1,08 ^{ax}	26,59±3,66	24,04±2,54 ^b	24,17±2,74	24,91±1,84 ^b	24,94±2,75	24,97±1,97 ^b
16 :1n-7	6,26±1,97	6,72±1,73 ^a	6,97±1,74	5,56±1,04 ^{ab}	4,75±0,85	4,32±0,75 ^b	4,35±0,85 ^a	4,84±0,99 ^b
18 :0	7,38±1,84	8,60±1,87 ^a	6,28±1,73	4,34±1,88 ^b	6,18±1,63	6,68±1,97 ^{ab}	5,84±1,64	4,44±1,58 ^b
18 :1n-9	26,14±1,23 ^c	24,65±1,94 ^d	31,93±2,52 ^b	28,81±1,67 ^c	35,55±2,11 ^a	36,23±2,66 ^a	33,24±1,73 ^{ab}	34,18±1,43 ^b
18 :2n-6	10,63±0,97	6,74±1,09 ^{Cx}	11,71±1,08	16,82±1,16 ^{ax}	11,36±1,05	9,60±1,13 ^b	10,62±2,01	14,03±2,02 ^a
18 :3n-3	1,77±0,32	1,69±0,23	1,97±0,47	1,84±0,23	1,33±0,53	1,84±0,47	2,37±0,69	2,32±0,58
20 :3n-6	0,80±0,26 ^b	1,04±0,34 ^b	0,98±0,36 ^b	0,91±0,37 ^b	0,93±0,24 ^b	0,85±0,34 ^b	2,44±0,51 ^a	2,47±0,62 ^a
20 :4n-6	8,55±0,44 ^a	11,45±1,51 ^{ax}	7,04±0,61 ^{ab}	8,66±1,68 ^{ab}	6,98±0,57 ^b	7,09±0,85 ^b	6,12±0,88 ^b	2,04±0,59 ^{Cx}
20 :5n-3	1,05±0,3 ^b	1,11±0,26 ^b	1,64±0,39 ^a	1,85±0,50 ^a	1,78±0,41 ^a	1,36±0,28 ^b	2,11±0,63 ^a	2,26±0,88 ^a
22 :5n-3	1,38±0,22	1,23±0,24	1,67±0,44	1,61±0,51	1,26±0,23	1,14±0,36	2,08±0,84	2,01±0,87
22 :5n-6	2,69±0,5 ^a	2,29±0,68 ^a	1,57±0,39 ^b	1,91±0,48 ^a	1,66±0,38 ^b	2,09±0,67 ^a	1,28±0,25 ^b	1,40±0,55 ^b
22 :6n-3	5,83±0,43 ^a	2,76±0,88 ^{ax}	2,66±0,78 ^b	2,49±0,53 ^{ab}	2,21±0,44 ^b	2,12±0,24 ^b	2,55±0,47 ^b	3,06±0,67 ^a
AGS	34,81±2,14	40,62±2,68 ^{ax}	31,93±2,18	29,74±3,14 ^b	32,19±2,15	33,36±2,63 ^b	32,84±2,15	31,39±3,28 ^b
AGMI	32,38±2,53 ^b	31,37±2,74 ^b	38,90±1,92 ^a	34,37±1,74 ^b	40,30±3,14 ^a	40,55±2,28 ^a	37,59±2,12 ^a	39,02±2,64 ^a
AGPI	32,79±1,62 ^a	28,01±1,07 ^{bx}	29,17±2,02 ^b	35,89±1,75 ^{ax}	27,51±2,17 ^b	26,09±1,15 ^b	29,59±1,11 ^b	29,58±2,03 ^b
P/S	0,94±0,06	0,69±0,03 ^{Cx}	0,91±0,04	1,22±0,05 ^{ax}	0,86±0,06	0,79±0,08 ^b	0,89±0,04	0,94±0,08 ^b

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 10 rats par groupe. T: témoins ; M : macrosomiques ; AGS : acides gras saturés ; AGMI : acides gras monoinsaturés ; AGPI : acides gras polyinsaturés. La comparaison des moyennes entre les rats macrosomiques et les rats témoins au même âge est réalisée par le test ' t ' de Student, après analyse de la variance : * P < 0,05.

Dans chaque groupe, la classification des moyennes en fonction de l'âge est effectuée par le test de rang multiple de Duncan, après analyse de la variance à un facteur. Les moyennes portant des lettres différentes (a,b,c,d) sont significativement différentes (P < 0,05).

Tableau Xlb. Composition en acides gras des triglycérides des VLDL sériques des rats macrosomiques et des témoins femelles (en % pondéraux des AG totaux).

AG	J30		J60		J90	
	T	M	T	M	T	M
14 : 0	2,86±0,68	1,02±0,44 ^b	3,90±0,64	3,47±0,43 ^a	4,56±0,85	4,06±0,79 ^a
16 : 0	23,17±2,67	20,89±1,11 ^b	22,70±2,06	26,93±1,33 ^{a *}	20,84±2,11	25,97±1,66 ^a
16 : 1n-7	7,96±1,63	8,85±1,95 ^a	6,31±0,99	5,05±0,87 ^b	5,19±0,98	4,19±1,73 ^b
18 : 0	5,53±1,91	5,53±1,63 ^b	7,03±1,14	6,76±1,69 ^{ab}	5,73±1,50	5,11±1,67 ^b
18 : 1n-9	31,01±1,62 ^a	29,16±1,48 ^b	29,25±1,05 ^b	28,89±1,79 ^b	30,53±1,04 ^a	35,77±1,08 ^a
18 : 2n-6	10,89±1,10	16,67±1,07 ^{a *}	13,02±2,26	12,43±1,64 ^b	11,81±2,94	8,11±1,64 ^c
18 : 3n-3	1,04±0,39	1,27±0,45 ^c	2,22±0,58	2,48±0,53 ^b	2,32±0,87	3,73±0,84 ^a
20 : 3n-6	0,66±0,28 ^b	1,05±0,48 ^b	0,79±0,29 ^b	0,77±0,25 ^b	1,99±0,69 ^a	2,05±0,45 ^a
20 : 4n-6	8,78±0,49 ^a	8,04±0,83 ^b	7,94±1,05 ^{ab}	6,53±1,11 ^b	7,02±0,33 ^b	3,35±0,26 ^c
20 : 5n-3	1,07±0,77 ^b	1,02±0,56	1,52±0,4 ^b	1,15±0,48	2,92±0,84 ^a	1,07±0,59
22 : 5n-3	1,28±0,66	1,63±0,48	1,85±0,37	1,61±0,23	2,33±0,47	1,89±0,67
22 : 5n-6	1,69±0,45 ^b	2,02±0,79 ^a	1,25±0,48 ^b	1,78±0,51 ^b	1,77±0,33 ^b	1,70±0,58 ^b
22 : 6n-3	2,99±0,88 ^b	2,77±0,9 ^a	2,22±0,39 ^b	2,16±0,4 ^b	2,99±0,55 ^b	2,91±0,4 ^a
AGS	31,56±2,85	27,44±1,66 ^a	33,63±1,18	37,16±1,09 ^{ab*}	31,13±1,67	35,14±1,18 ^b
AGMI	38,97±2,68 ^a	38,01±1,65 ^a	35,56±2,67 ^{ab}	33,93±2,26 ^b	35,52±1,76 ^{ab}	39,96±1,09 ^a
AGPI	29,47±1,66	34,56±1,14 ^{a *}	30,81±3,11	28,88±4,29 ^b	33,15±2,64	34,89±1,48 ^a
P/S	0,93±0,03	1,25±0,04 ^{a *}	0,91±0,08	0,81±0,08 ^b	1,08±0,09	0,70±0,03 ^c

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 10 rats par groupe. T: témoins ; M: macrosomiques ; AGS: acides gras saturés ; AGMI: acides gras monoinsaturés ; AGPI: acides gras polyinsaturés. La comparaison des moyennes entre les rats macrosomiques et les rats témoins, au même âge, est réalisée par le test 't' de Student, après analyse de la variance: * P < 0,05. Dans chaque groupe, la classification des moyennes en fonction de l'âge est effectuée par le test de rang multiple de Duncan, après analyse de la variance à un facteur. Les moyennes portant des lettres différentes (a,b,c,d) sont significativement différentes (P < 0,05).

Tableau XlIIa. Composition en acides gras des phospholipides des VLDL sériques des rats macrosomiques et des témoins mâles (en % pondéraux des AG totaux).

	J0		J30		J60		J90	
	T	M	T	M	T	M	T	M
14 :0	1,67±0,34 ^b	1,53±0,28 ^b	2,45±0,60 ^a	2,35±0,49 ^a	2,34±0,15 ^a	2,84±0,36 ^a	2,64±0,37 ^a	2,48±0,57 ^a
16 :0	27,43±1,07 ^a	29,64±1,17 ^{a*}	17,98±1,73 ^b	17,15±2,06 ^b	19,11±2,17 ^b	19,94±2,16 ^b	16,38±1,65 ^a	17,49±1,62 ^b
16 :1n-7	5,18±1,84 ^{ab}	5,93±0,65 ^{ab}	7,99±1,74 ^a	6,49±0,84 ^a	4,07±0,81 ^b	4,99±0,64 ^b	6,08±1,63 ^a	6,75±0,98 ^a
18 :0	15,75±0,57 ^b	18,05±1,11 [*]	18,44±1,62 ^a	17,93±1,11	17,78±1,64 ^a	17,99±1,54	16,64±1,55 ^a	17,96±1,62
18 :1n-9	12,23±1,6 ^a	10,14±1,9 ^a	9,45±1,8 ^b	9,08±1,1 ^a	9,76±1,1 ^b	8,96±0,9 ^b	9,48±1,7 ^b	11,61±1,8 ^a
18 :2n-6	10,62±1,04 ^b	5,65±0,65 ^{c*}	16,95±1,65 ^a	22,11±1,44 ^{a*}	16,96±1,34 ^a	14,16±1,86 ^b	16,96±1,12 ^a	16,63±1,24 ^b
18 :3n-3	1,04±0,5 ^b	1,45±0,5 ^b	1,99±0,3 ^a	1,54±0,48 ^b	1,65±0,33 ^a	2,06±0,59 ^a	1,84±0,35 ^a	2,75±0,73 ^a
20 :3n-6	1,11±0,4 ^b	1,88±0,4 ^b	1,69±0,5 ^a	1,85±0,5 ^b	1,74±0,6 ^a	2,59±0,8 ^a	1,96±0,3 ^a	2,54±0,5 ^a
20 :4n-6	15,08±1,57	19,16±1,05 ^{a*}	15,35±1,74	16,02±1,63 ^b	16,78±1,47	16,04±1,01 ^b	17,75±1,84	9,04±1,22 ^{c*}
20 :5n-3	0,73±0,3 ^b	0,64±0,27 ^b	0,68±0,34 ^b	0,79±0,38 ^b	1,68±0,33 ^a	1,53±0,59 ^a	1,53±0,47 ^a	2,64±0,73 ^a
22 :5n-3	1,38±0,2 ^b	1,19±0,4 ^c	1,38±0,4 ^b	1,22±0,1 ^c	1,43±0,5 ^b	1,94±0,81 ^b	2,02±0,48 ^a	2,55±0,57 ^a
22 :5n-6	2,14±0,44	1,98±0,63	1,69±0,54	2,47±0,74	2,21±0,64	1,93±0,58	1,96±0,52	2,22±0,64
22 :6n-3	5,63±0,52 ^a	2,76±0,66 ^{d*}	3,76±0,62 ^c	3,64±0,59 ^c	4,39±0,63 ^b	5,06±0,72 ^a	4,76±0,21 ^b	4,34±0,52 ^b
AGS	44,85±1,68 ^a	49,22±1,79 ^{a*}	38,87±2,57 ^b	37,43±1,63 ^b	39,23±2,64 ^b	40,77±2,19 ^b	34,96±3,24 ^b	37,93±2,66 ^b
AGMI	17,41±1,85 ^a	17,07±1,66 ^a	17,44±2,97 ^a	15,57±2,26 ^b	13,83±1,16 ^b	13,92±1,14 ^c	15,56±2,03 ^{ab}	18,36±1,24 ^a
AGPI	37,72±1,17 ^c	34,71±1,02 ^{c*}	43,69±1,15 ^b	47 ±1,03 ^{a*}	46,94±2,08 ^{ab}	45,31±2,94 ^{ab}	49,44±1,01 ^a	43,71±1,04 ^{b*}
P/S	0,84±0,04 ^c	0,70±0,03 ^{d*}	1,12±0,04 ^b	1,26±0,03 ^{a*}	1,19±0,04 ^b	1,11±0,06 ^b	1,41±0,03 ^a	1,15±0,06 ^{b*}

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 10 rats par groupe. T: témoins ; M :macrosomiques ; AGS : acides gras saturés ; AGMI : acides gras monoinsaturés ; AGPI : acides gras polyinsaturés. La comparaison des moyennes entre les rats macrosomiques et les rats témoins au même âge est réalisée par le test ' t ' de Student, après analyse de la variance : * P < 0,05.

Dans chaque groupe, la classification des moyennes en fonction de l'âge est effectuée par le test de rang multiple de Duncan, après analyse de la variance à un facteur. Les moyennes portant des lettres différentes (a,b,c,d) sont significativement différentes (P < 0,05).

Tableau XIIb. Composition en acides gras des phospholipides des VLDL sériques des rats macrosomiques et des témoins femelles (en % pondéraux des AG totaux).

AG	J30		J60		J90	
	T	M	T	M	T	M
14:0	2,66±0,51 ^a	2,47±0,38 ^a	2,74±0,48 ^a	1,94±0,67 ^{ab}	2,84±0,38 ^a	3,05±0,74 ^a
16:0	16,06±1,65 ^b	16,02±1,81 ^b	17,14±1,75 ^b	19,16±2,53 ^b	16,04±1,74 ^b	17,01±1,48 ^b
16:1n-7	8,48±0,51 ^a	6,72±1,42 ^b	5,98±0,63 ^b	5,49±0,79 ^b	7,22±0,64 ^a	7,99±0,87 ^a
18:0	18,75±1,58 ^a	17,09±1,29	16,32±1,39 ^{ab}	16,54±1,46	16,76±1,43 ^{ab}	17,03±1,84
18:1n-9	10,66±1,87 ^a	11,03±1,13 ^a	9,43±0,67 ^b	8,53±1,09 ^b	10,59±1,58 ^a	11,10±1,79 ^a
18:2n-6	16,97±1,09 ^a	21,96±1,16 ^a *	17,96±1,49 ^a	17,89±1,67 ^b	17,04±1,19 ^a	19,06±1,86 ^{ab}
18:3n-3	1,96±0,65 ^{ab}	1,83±0,52 ^{ab}	2,49±0,82 ^a	1,96±0,48 ^a	2,69±0,82 ^a	2,16±0,88 ^a
20:3n-6	1,81±0,51 ^b	1,82±0,66 ^b	2,46±0,71 ^a	2,66±0,64 ^a	1,95±0,54 ^{ab}	2,94±0,63 ^a
20:4n-6	16,11±1,88	15,15±1,07 ^b	17,49±1,34	16,04±1,96 ^b	16,12±1,75	8,64±1,11 ^c *
20:5n-3	1,38±0,58 ^{ab}	1,16±0,56 ^b	1,36±0,55 ^{ab}	1,67±0,48 ^a	1,99±0,52 ^a	1,99±0,55 ^a
22:5n-3	1,14±0,47 ^b	1,13±0,46 ^c	2,03±0,61 ^{ab}	2,11±0,31 ^b	2,33±0,51 ^a	2,99±0,56 ^a
22:5n-6	1,08±0,66	1,04±0,59	2,06±0,88	2,93±0,98	2,01±0,53	2,85±0,74
22:6n-3	2,87±0,64 ^b	2,58±0,56 ^d	2,54±0,56 ^b	3,08±0,47 ^b	2,40±0,56 ^b	3,19±0,65 ^b
AGS	37,47±1,66 ^b	35,58±1,95 ^b	36,20±1,59 ^b	37,64±1,88 ^b	35,64±2,16 ^b	37,09±1,88 ^b
AGMI	19,14±2,15 ^a	17,75±2,69 ^a	15,41±2,66 ^b	14,02±1,63 ^b	17,81±2,24 ^a	19,09±2,85 ^a
AGPI	43,39±1,01 ^b	46,67±1,05 ^a *	48,39±1,01 ^a	48,34±1,04 ^a	46,51±1,12 ^a	43,82±1,33 ^b *
P/S	1,16±0,04 ^b	1,33±0,03 ^a *	1,32±0,04 ^a	1,28±0,04 ^b	1,33±0,03 ^a	1,17±0,04 ^c *

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 10 rats par groupe. T: témoins ; M: macrosomiques ; AGS: acides gras saturés ; AGMI: acides gras monoinsaturés ; AGPI: acides gras polyinsaturés. La comparaison des moyennes entre les rats macrosomiques et les rats témoins, au même âge, est réalisée par le test 't' de Student, après analyse de la variance: * P < 0,05. Dans chaque groupe, la classification des moyennes en fonction de l'âge est effectuée par le test de rang multiple de Duncan, après analyse de la variance à un facteur. Les moyennes portant des lettres différentes (a,b,c,d) sont significativement différentes (P < 0,05).

Tableau Xllla. Composition en acides gras des esters de cholestérol des VLDL sériques des rats macrosomiques et des témoins mâles (en % pondéraux des AG totaux).

	J0		J30		J60		J90	
	T	M	T	M	T	M	T	M
14 : 0	1,28±0,57 ^b	1,60±0,4 ^b	2,58±0,86 ^a	2,07±0,68 ^a	1,68±0,61 ^b	1,44±0,28 ^b	2,79±0,68 ^a	2,15±0,38 ^a
16 : 0	20,04±1,16 ^a	19,59±1,25 ^a	17,11±1,29 ^b	16,08±1,57 ^b	16,78±1,24 ^b	16,10±1,08 ^b	17,95±1,05 ^b	16,33±2,26 ^b
16 : 1n-7	8,98±1,36	10,58±2,55	7,28±1,03	8,43±1,48	7,39±1,70	7,99±1,88	6,01±1,89	7,40±1,75
18 : 0	4,64±1,66	6,61±1,67	6,25±1,62	7,44±1,22	6,58±1,81	8,51±2,16	6,10±1,96	8,17±2,35
18 : 1n-9	23,66±1,98 ^b	20,25±1,80 ^b	27,30±2,16 ^a	26,01±1,33 ^a	28,49±2,15 ^a	25,39±1,39 ^a	27,31±1,73 ^a	27,14±1,52 ^a
18 : 2n-6	10,29±1,22 ^b	12,36±1,66 ^b	17,83±1,34 ^a	17,63±2,16 ^a	18,58±2,89 ^a	18,11±1,55 ^a	18,70±2,40 ^a	18,39±1,87 ^a
18 : 3n-3	2,84±0,47	2,74±0,33	2,56±0,48	3,09±0,95	2,98±0,33	2,96±0,48	3,12±0,45	2,96±0,66
20 : 3n-6	1,07±0,29	0,95±0,34 ^b	1,40±0,68	1,45±0,59 ^{ab}	1,56±0,42	1,85±0,47 ^a	1,42±0,27	1,39±0,33 ^b
20 : 4n-6	16,43±1,76 ^a	14,88±1,12 ^a	11,25±1,15 ^b	11,89±1,36 ^b	11,26±0,04 ^b	12,01±1,85 ^b	12,03±1,60 ^b	11,58±1,08 ^b
20 : 5n-3	1,62±0,44 ^a	1,46±0,30 ^a	1,04±0,19 ^b	1,57±0,47 ^a	0,87±0,36 ^b	0,66±0,27 ^c	1,45±0,48 ^a	1,08±0,41 ^b
22 : 5n-3	2,23±0,26 ^a	2,26±0,35 ^a	1,48±0,36 ^b	1,05±0,62 ^b	1,08±0,54 ^b	1,61±0,49 ^b	1,06±0,29 ^b	1,08±0,37 ^b
22 : 5n-6	2,99±0,41 ^a	2,68±0,32 ^a	1,97±0,47 ^b	1,57±0,48 ^b	1,57±0,58 ^b	1,69±0,44 ^b	0,94±0,38 ^c	0,75±0,36 ^c
22 : 6n-3	3,93±0,53 ^a	4,04±0,56 ^a	2,01±0,68 ^b	1,72±0,65 ^b	1,18±0,44 ^c	1,68±0,57 ^b	1,12±0,57 ^c	1,58±0,48 ^b
AGS	25,96±2,14	27,80±2,47	25,94±2,49	25,59±2,89	25,04±2,06	26,05±2,48	26,84±1,06	26,65±1,17
AGMI	32,64±2,96	30,83±2,88	34,52±1,98	34,44±2,11	35,88±1,33	33,38±1,58	33,32±1,27	34,54±1,38
AGPI	41,40±1,37	41,37±2,14	39,54±2,06	39,97±2,97	39,08±2,27	40,57±2,52	39,84±2,16	38,81±2,05
P/S	1,56±0,31	1,50±0,10	1,54±0,13	1,56±0,14	1,56±0,18	1,56±0,11	1,50±0,10	1,48±0,15

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 10 rats par groupe. T: témoins ; M : macrosomiques ; AGS : acides gras saturés ; AGMI : acides gras monoinsaturés ; AGPI : acides gras polyinsaturés. La comparaison des moyennes entre les rats macrosomiques et les rats témoins au même âge est réalisée par le test ' t ' de Student, après analyse de la variance : * P < 0,05. Dans chaque groupe, la classification des moyennes en fonction de l'âge est effectuée par le test de rang multiple de Duncan, après analyse de la variance à un facteur. Les moyennes portant des lettres différentes (a,b,c,d) sont significativement différentes (P < 0,05).

Tableau XIIIb. Composition en acides gras des esters de cholestérol des VLDL sériques des rats macrosomiques et des témoins femelles (en % pondéraux des AG totaux).

AG	J30		J60		J90	
	T	M	T	M	T	M
14 :0	2,83±0,36 ^a	3,04±0,86 ^a	1,95±0,46 ^b	2,05±0,83 ^{ab}	2,85±0,38 ^a	3,08±0,79 ^a
16 :0	16,69±1,38 ^b	16,75±1,18 ^b	17,09±2,15 ^b	16,10±2,67 ^b	16,95±1,07 ^b	16,87±1,84 ^b
16 :1n-7	7,96±1,56	8,08±1,79	7,66±1,04	7,99±1,76	7,01±1,49	7,74±1,85
18 :0	6,10±1,34	6,38±1,55	6,49±2,11	7,39±1,46	6,90±1,96	6,58±1,26
18 :1n-9	27,93±1,11 ^a	27,46±1,26 ^a	27,49±1,78 ^a	28,93±1,62 ^a	27,21±1,76 ^a	26,41±1,04 ^a
18 :2n-6	17,24±1,99 ^a	17,01±1,34 ^a	17,35±1,52 ^a	17,05±1,24 ^a	18,70±1,40 ^a	18,32±1,25 ^a
18 :3n-3	2,23±0,48	2,33±0,57	2,09±0,34	2,18±0,52	2,02±0,45	2,15±0,53
20 :3n-6	0,83±0,16	0,99±0,26 ^b	1,04±0,48	1,01±0,33 ^b	1,14±0,27	1,28±0,38 ^a
20 :4n-6	11,39±1,12 ^b	11,96±1,08 ^b	11,81±1,12 ^b	10,62±1,64 ^b	12,03±1,60 ^b	12,18±1,57 ^b
20 :5n-3	0,76±0,24 ^b	0,69±0,27 ^b	0,85±0,35 ^b	1,02±0,22 ^b	1,05±0,38 ^b	1,27±0,34 ^a
22 :5n-3	1,87±0,53 ^{ab}	1,74±0,26 ^b	1,57±0,28 ^b	1,19±0,44 ^b	1,05±0,29 ^c	1,19±0,56 ^b
22 :5n-6	1,56±0,47 ^b	1,44±0,51 ^b	1,79±0,59 ^b	1,58±0,47 ^b	0,99±0,18 ^c	0,86±0,25 ^c
22 :6n-3	2,61±0,58 ^b	2,13±0,89 ^b	2,82±0,47 ^b	2,89±0,55 ^b	2,10±0,42 ^b	2,07±0,33 ^b
AGS	25,62±1,54	26,17±1,38	25,53±1,05	25,54±1,16	26,70±1,46	26,53±1,85
AGMI	35,89±1,53	35,54±2,22	35,15±2,54	36,92±2,68	34,22±1,87	34,15±1,39
AGPI	36,49±1,87	38,29±2,74	39,32±1,97	37,54±2,27	39,08±1,11	39,32±1,38
P/S	1,50±0,06	1,48±0,08	1,54±0,05	1,47±0,10	1,48±0,06	1,50±0,04

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 10 rats par groupe. T: témoins ; M :macrosomiques ; AGS : acides gras saturés ; AGMI : acides gras monoinsaturés ; AGPI : acides gras polyinsaturés. La comparaison des moyennes entre les rats macrosomiques et les rats témoins, au même âge, est réalisée par le test ' t ' de Student, après analyse de la variance : * P < 0,05. Dans chaque groupe, la classification des moyennes en fonction de l'âge est effectuée par le test de rang multiple de Duncan, après analyse de la variance à un facteur. Les moyennes portant des lettres différentes (a,b,c,d) sont significativement différentes (P < 0,05).

RESUME

Le but de ce travail est d'étudier les effets de l'hypotrophie et de la macrosomie fœtales sur le métabolisme des lipides et des lipoprotéines. Les teneurs sériques en lipides, lipoprotéines, la composition en acides gras des triglycérides, phospholipides et esters de cholestérol, et l'activité de la lécithine : cholestérol acyltransférase (LCAT) sont déterminées chez trois populations de nouveau-nés à terme: des nouveau-nés hypotrophes (PN < 2500 g), des nouveau-nés macrosomiques (PN > 4000 g) nés de mères diabétiques ou de mères obèses, et sont comparées dans chaque cas à celles obtenues chez des nouveau-nés témoins de mères normales (PN entre 2600 et 3800 g). Pour déterminer l'évolution de ces paramètres, la même étude comparative est réalisée chez les macrosomiques à la naissance et après 1 mois de vie post-natale. L'utilisation d'un modèle animal, le nouveau-né macrosomique de ratte rendu diabétique par la streptozotocine, a permis de mieux cerner les conséquences de la macrosomie pour le fœtus et la durée de ses effets à long terme.

A la naissance, chez les hypotrophes, les teneurs sériques en triglycérides (TG) et VLDL sont plus élevées, tandis que celles en phospholipides (PL), cholestérol, LDL, HDL₂ et HDL₃ sont plus faibles, comparées aux valeurs des nouveau-nés témoins. Les teneurs en apo B et E des VLDL sont augmentées chez les hypotrophes, celles en PL, apo A-I, A-II, C-III et E des HDL₃ sont plus faibles. Les teneurs en PL, esters de cholestérol (EC), apo A-I, A-II et E des HDL₂ sont aussi diminuées, ainsi que l'activité de la LCAT.

On note, chez les nouveau-nés macrosomiques de mères diabétiques ou obèses, une augmentation des lipides sériques et des lipoprotéines. De plus, la composition en acides gras des TG, PL et EC sériques est modifiée avec une augmentation des pourcentages du C18:2n-6 et du C20:4n-6 et une diminution de ceux des acides gras saturés. L'hypertriglycéridémie, l'enrichissement des HDL en triglycérides et la réduction du rapport apo A-I/B chez les macrosomiques à la naissance sont aussi présents chez leurs mères. Après 1 mois de vie post-natale, les profils lipidiques et apolipoprotéiques des HDL₂ et HDL₃ chez les macrosomiques deviennent similaires à ceux des témoins, alors que les teneurs en TG, VLDL et LDL restent plus élevées et le rapport apo A-I/B reste diminué chez les macrosomiques. Les pourcentages du C18:2n-6 et du C18:3n-3 sont diminués tandis que ceux des C20:4n-6, C22:5n-6 et C22:6n-3 sont élevés dans les lipides sériques des macrosomiques âgés de 1 mois.

Tout comme les nouveau-nés macrosomiques humains, les rats macrosomiques (PN > 1,7SD de la moyenne des PN des témoins) montrent, à la naissance, un hyperinsulinisme, une hyperglycémie, une hyperlipidémie et une hyperlipoprotéïnémie, ce qui est en faveur d'une stimulation de la lipogenèse et de la synthèse des protéines in utero. Ces rats ont une croissance accélérée et un excès de tissu adipeux, qui entraîne une obésité jusqu'à 3 mois de vie. La persistance de l'obésité n'est pas liée à l'hyperphagie mais à une meilleure utilisation des nutriments et à une augmentation du stockage des lipides, associée à une élévation de l'activité de la lipoprotéine lipase adipo-cytaire. Les activités des enzymes LCAT, 7 α -hydroxylase, hydroxy méthyl glutaryl-CoA réductase, acyl-CoA :cholestérol acyltransférase et lipase hépatique sont augmentées chez les macrosomiques. A l'âge de 1 mois, les teneurs en lipides hépatiques et en lipoprotéines sériques chez les rats macrosomiques sont similaires à celles des témoins. A l'âge de 2 mois, une augmentation des triglycérides hépatiques et des VLDL est notée chez les macrosomiques femelles. A l'âge de 3 mois, les macrosomiques mâles et femelles présentent une élévation des teneurs en lipides hépatiques, associée à une augmentation des teneurs en VLDL, LDL et HDL sériques.

En conclusion, l'hypotrophie perturbe le métabolisme des lipoprotéines, de la même façon que le marasme chez les enfants plus âgés. La macrosomie fœtale est associée à des altérations du métabolisme des lipides et des lipoprotéines, qui peuvent prédisposer à certaines maladies métaboliques à l'âge adulte (diabète, obésité, athérosclérose).

Mots clés: Nouveau-né - Rat - Hypotrophie - Macrosomie - Lipides - Lipoprotéines - Apolipoprotéines - LCAT - HMG-CoA réductase - 7 α -hydroxylase - ACAT - LPL - Acides gras - Diabète - Obésité - Streptozotocine.

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the effects of intrauterine growth retardation (low birthweight) and intrauterine overnutrition (macrosomia) on lipid and lipoprotein metabolism. Serum lipid and lipoprotein compositions and concentrations and lecithin: cholesterol acyltransferase (LCAT) activity were investigated in low birthweight newborns (BW < 2500 g at term), in macrosomic newborns of diabetic or obese mothers (BW > 4000 g at term) and were compared to those in eutrophic full-term newborns of healthy mothers (2600 g < BW < 3800 g). The same study was done after one month of postnatal life in macrosomic infants to determine nutritional rehabilitation effects. The use of an animal model, macrosomic offspring of streptozotocin-induced diabetic rats, has yielded an improved understanding of macrosomic pre-natal and long term consequences.

At birth, in low birthweight (LBW) newborns, serum triglyceride and VLDL amounts were high, while phospholipid, cholesterol, LDL, HDL₂ and HDL₃ values were low compared to those of eutrophic newborns. Increased VLDL-apo B and apo E, reduced HDL₃-phospholipids, apo A-I, A-II, C-III and E, and decreased HDL₂-phospholipids, -cholesteryl esters, -apo A-I, A-II and E concentrations were noted in LBW newborns. Serum LCAT activity was significantly lower in LBW than in eutrophic newborns.

In macrosomic newborns of diabetic or of obese mothers, the most predominant lipid alterations included an increase in serum lipid and lipoprotein levels. Fatty acid composition was also impaired as showed by an increased proportion of C18:2n-6 and C20:4n-6 with reciprocal decrease in saturated fatty acids in macrosomic compared to eutrophic values. Hypertriglyceridemia, HDL-triglyceride enrichment and reduced apo A-I/B ratio were observed in macrosomic newborns and also in their respective mothers. After one month of life, serum triglyceride, VLDL and LDL levels were still significantly higher whereas apo A-I/B ratio was reduced in macrosomic compared to eutrophic infants. The C18:2n-6 and C18:3n-3 contents were decreased while C20:4n-6, C22:5n-6 and C22:6n-3 amounts were enhanced in macrosomic lipids compared to eutrophic values.

Like in humans, macrosomic pups (BW > 1.7SD than the mean of the control pups) of streptozotocin-induced mild hyperglycemic rats were, at birth, hyperinsulinemic, hyperglycemic and hyperlipidemic with an increase in all serum lipoproteins. These macrosomic rats maintained accelerated post-natal growth combined with high adipose tissue mass through the three months of age. These macrosomic rats were not hyperphagic; however, high food efficiency and fat storage capacity with high adipocyte lipoprotein lipase activity contributed to persisting obesity in these rats. LCAT, hepatic lipase, 7 α -hydroxylase, hydroxy methyl glutaryl-CoA reductase and acyl-CoA:cholesterol acyltransferase activities were increased in macrosomic rats at any age studied. At one month, hepatic lipids and serum lipoprotein amounts were similar in control and macrosomic rats. At two months, hepatic triglyceride and serum VLDL levels were increased in macrosomic females. At three months, macrosomic rats males and females showed high levels of hepatic lipids, and serum VLDL, LDL and HDL compared to controls.

In conclusion, intrauterine growth retardation, like marasmus, impaired lipoprotein metabolism. Macrosomia is associated with alterations in lipoprotein compositions and concentrations and represents a risk factor for the development of metabolic diseases in adulthood (diabetes mellitus, obesity, atherosclerosis).

Key Words : Newborns – Rat – Intrauterine growth retardation – Macrosomia – Lipids – Lipoproteins – Apolipoproteins – LCAT – HMG-CoA reductase – LPL – 7 α -hydroxylase – ACAT – Fatty acids – Diabetes – Obesity - Streptozotocin.