

# SÉPARATIONS CHROMATOGRAPHIQUES DES STÉROLS TISSULAIRES ET VARIATIONS DU TAUX DE CHOLESTÉROL AU COURS DE L'OVULATION CHEZ *ACANTHIAS VULGARIS* (L.)

par J.M. GASTAUD (1)

L'étude de l'insaponifiable des lipides a fait, actuellement, de grands progrès. A côté du groupe des  $\Delta^7$  stérols (7-déhydrocholestérol, ergostérol) ou des stérols 7  $\alpha$ - ou  $\beta$ -hydroxycholestérol, le cholestérol est, généralement, un des principaux constituants des lipides tissulaires. Bien que les avis soient très partagés, on a tendance à considérer le cholestérol comme un des précurseurs des hormones stéroïdes.

Pour cela, il ne suffit pas de constater les rapports étroits entre la structure chimique du  $\Delta^5$  cholestène-3  $\beta$ -01 et certains stéroïdes, mais il est nécessaire d'envisager l'intervention de systèmes enzymatiques capables de faire subir à la molécule du cholestérol différentes modifications, soit au niveau de sa chaîne latérale, soit une déméthylation du carbone dix, soit par un changement de la position des doubles liaisons des cycles A et B.

Par ailleurs, les physiologistes ont remarqué d'importantes variations du taux de cholestérol sanguin au cours de la gestation. A la suite de ces résultats et des données que nous avons précédemment obtenues, il nous a paru intéressant d'étudier les variations des chromogènes Libermann positifs et du taux de cholestérol au cours de l'ovulation.

Le matériel fut récolté par chalutages lors des campagnes en Méditerranée que nous avons effectuées à bord des navires océanographiques de l'Institut des Pêches : « Président-Théodore-Tissier » et « Thalassa » (2).

Les techniques d'extraction des lipides et de l'insaponifiable sont décrites dans une publication antérieure (1962).

L'insaponifiable, de couleur jaune claire, solide à la température ambiante, est dissous dans 20 ml de chloroforme pur. Une partie aliquote de cette solution est chromatographiée sur alumine (activité III de Brockmann) dans les systèmes suivants :

fraction I	Benzène pur (Merck)		100 ml
fraction II	Benzène + acétate d'éthyle	0,5 %	50 ml
fraction III	Benzène + acétate d'éthyle	1 %	50 ml
fraction IV	Benzène + acétate d'éthyle	2 %	50 ml
fraction V	Benzène + acétate d'éthyle	5 %	50 ml
fraction VI	Benzène + acétate d'éthyle + méthanol (aa)		50 ml
fraction VII	Ethanol absolu		50 ml

(1) Ce travail a pu être réalisé grâce à l'appui bienveillant de S.A.S. le Prince Rainier III de Monaco.

(2) Nous remercions M. J. FURNESTIN, Directeur de l'Institut scientifique et technique des Pêches maritimes des facilités qu'il a bien voulu nous accorder au cours de ces recherches.

On recueille ainsi 75 à 80 fractions de 5 ml. Après évaporation sous azote on ajoute au résidu sec 3 ml d'un mélange anhydride acétique — acide sulfurique (19/1). Les tubes sont placés pendant 30 minutes dans un thermostat réglé à  $25^{\circ} \text{C} \pm 0^{\circ} 5$  et la lecture est faite au spectrophotomètre à 620 m $\mu$ .

Par cette méthode, nous avons ainsi séparé les différents stérols de l'insaponifiable en fonction de leurs polarités.

Le tableau 1 montre leurs variations chez les femelles dont l'ovaire était, soit vide, soit renfermait des œufs à différents stades de croissance. La chromatographie en couches minces sur gel de silice nous a permis de constater que les fractions V et VI étaient constituées surtout par du cholestérol pur (identité des Rf de la solution étalon et des essais).

Stades	Ovaire vide	Oeufs blanchâtres moyens	Oeufs mûrs
Fractions chromatographiques	μg de stérol pour la totalité de chaque fraction		
I	0	0	0
II	0	0	0
III	0	110	90
IV	460	750	220
V	1 600	330	270
VI	1 450	1 090	650
VII	400	0	0

TABLEAU I

Nous avons ensuite dosé le cholestérol total chez différentes femelles dont l'ovaire présentait les caractéristiques suivantes :

- stade I ovaire vide, peu différencié;
- stade II ovaire différencié, avec rares œufs hyalins;
- stade III œufs petits, blanchâtres, assez nombreux;
- stade IV œufs jaunes, nombreux (diamètre 4 à 5 mm);
- stade V œufs au dernier stade de maturité (diamètre 8,5 à 9 mm) ou engagés dans les utérus;
- stade O ovaire vide présentant les caractères anatomiques d'une gestation récente (glandes nidamentaires et oviductes fortement dilatés, ovaire très large).

Les dosages ont été effectués par la technique de LIBERMANN, modification de SCHOENHEIMER et SPERRY sur les fractions chromatographiques V et VI après identification du cholestérol sur chromatoplaque.

Les résultats sont rapportés dans le tableau II.

De l'ensemble des résultats préliminaires, il ressort que l'insaponifiable renferme une proportion importante de cholestérol et en plus faible concentration d'autres stérols en particulier des  $\Delta^7$  - stérols comme l'ont mis en évidence la chromatographie sur gel de silice et la spectrophotométrie dans l'U.V. en comparaison avec des solutions étalons.

Stades d'ovulations	Nombre de ♀ examinées	Cholestérol p. 100 de l'insaponifiable
I	3	8,5 à 9
II	4	7,4
III	2	6,3 - 6,9
IV	3	2,5 - 3,4
V	6	1,35 - 1,70
O	3	4,98 - 5

TABLEAU II

Le pouvoir éluant de chaque système démontre également la présence de composés de polarités différentes; les stérols possédant des polarités élevées étant les plus abondants (fractions V et VI).

Les différents dosages montrent que la teneur en cholestérol de l'insaponifiable des tissus varie en raison inverse du développement ovulaire.

Le taux minimum est atteint lorsque les œufs sont au stade maximum de maturité ou engagés dans les oviductes. Après la gestation, le taux de cholestérol tend à augmenter régulièrement.

Ainsi la fraction insaponifiable chez *Squalus acanthias* L. présente-t-elle un caractère hétérogène comme on l'a signalé chez d'autres espèces animales.

*Institut océanographique et Département de Chimie organique  
des Laboratoires Theramex. Monaco.*

