

BIOCHIMIE. — *Étude du passage de l'acide stéarique à travers la « barrière hémato-encéphalique » et de son intégration dans les membranes cérébrales (myéline tout particulièrement)*. Note (*) de M^{me} Nicole Gozlan-Devillierre, M^{lle} Nicole Baumann et M. Jean-Marie Bourre, présentée par M. Raymond Turpin.

L'acide stéarique radioactif injecté par voie sous-cutanée passe dans le cerveau où il est intégré au niveau des membranes (myéline tout particulièrement). La captation est croissante jusqu'à 20 h dans les membranes totales comme dans la myéline. Pour les premières seulement, il y a une décroissance entre 20 et 24 h, suivie d'une récupération de l'activité maximale de départ. Par contre, la myéline jusque 3 jours au moins montre une activité régulièrement croissante. Les cérébrosides issus de deux types de préparation ont une activité qui va en augmentant. Par contre, les acides gras libres sont stables en activité spécifique (cpm/mg d'extrait lipidique) mais non en activité relative. L'acide stéarique injecté est incorporé directement, tel quel, dans les membranes ou il est métabolisé *in situ* avant sa fixation au niveau des lipides : allongement en chaînes plus longues formant les acides arachidique, béhénique et lignocérique ou synthèse de chaînes plus courtes comme l'acide palmitique à partir d'éléments du catabolisme.

Les acides gras à très longues chaînes occupent une place très importante dans l'édifice myélinique où ils participent activement à sa stabilité. Ils sont synthétisés par le cerveau au niveau des microsomes [(1)-(4)] à partir de l'acide stéarique, ou des mitochondries (5). Les acides gras myéliniques sont élaborés dans les microsomes seuls [(6), (7)]. Le cerveau de Souris ne peut synthétiser que 50 % environ de ses acides gras (6); le reste doit donc avoir une origine exogène. L'acide palmitique, soit injecté (8), soit donné dans la nourriture (9), peut être capté par le cerveau. Nous nous proposons donc de déterminer si l'acide stéarique d'origine exogène est utilisé par le cerveau pour élaborer ses acides gras membranaires (au niveau de la myéline plus particulièrement). Parmi les lipides, nous nous sommes intéressés aux cérébrosides (ils contiennent les acides gras à très longues chaînes).

MATÉRIEL ET MÉTHODES. — 1 mCi d'acide stéarique [1-¹⁴C] radioactif (51 mCi/mM) est neutralisé par une quantité équimoléculaire de soude et solubilisé dans une solution d'albumine. 50 μ Ci sont injectés par voie sous-cutanée aux animaux de 15 à 18 jours. Les animaux sont sacrifiés, les cerveaux prélevés et lavés. Le tissu est découpé au rasoir, lavé dans une solution isotonique (0,9 % NaCl). Les fragments sont récupérés par centrifugation (10 mn à 17 500 g), homogénéisés avec l'appareil de Potter puis centrifugés 60 mn à 100 000 g. Le culot, qui contient toutes les membranes cérébrales, est lavé et centrifugé à nouveau dans les mêmes conditions. Cette technique permet d'éliminer les éléments figurés du sang et toute contamination par le sérum est exclue.

La myéline est isolée de manière classique [(10), (11)]. Les lipides sont extraits par le chloroforme-méthanol 2/1 (12), lavés selon Folch (13) puis analysés par chromatographie sur couche mince (14). La radioactivité est déterminée au compteur à scintillation (les lipides ayant été localisés par l'iode). Les esters méthyliques d'acides gras sont obtenus par méthylation de l'extrait lipidique (15) et analysé par chromatographie gazeuse avec comptage automatique de l'éluat.

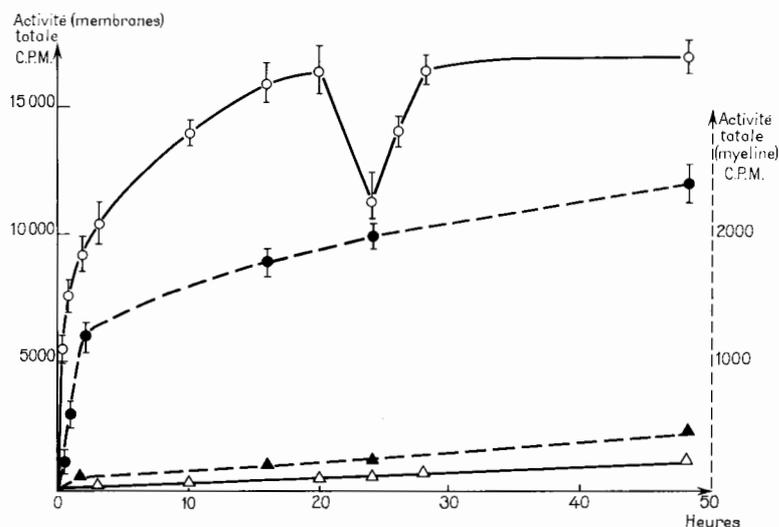
RÉSULTATS. — La figure 1 montre l'évolution de la radioactivité retrouvée dans les extraits lipidiques. Dans la myéline, cette activité croît rapidement les deux premières heures, l'évolution étant moins rapide par la suite (à 3 jours, l'activité continue à croître

TABLEAU I

Activité relative des cérébrosides et acides gras libres dans les membranes cérébrales
(les animaux étant sacrifiés à des temps croissants après l'injection d'acide stéarique
marqué au ^{14}C en 1)

Temps	Cérébrosides (%)	Acides gras libres (%)
10 mn	0,3	57,8
30 mn	2,3	41,0
1 h	2,8	32,0
2 h	3,0	25,0
3 h	3,0	18,3
10 h 30 mn	3,2	14,3
16 h	3,5	9,9
20 h	3,9	11,2
24 h	4,4	13,0
26 h	4,1	8,8
28 h	4,8	10,3
48 h	7,3	20,3

encore). Dans les membranes, il est remarquable de constater que la radioactivité totale décroît entre 20 et 24 h, pour augmenter par la suite et atteindre un niveau stable égal à celui trouvé à 20 h. Les cérébrosides contiennent une radioactivité régulièrement croissante dans les deux types de préparation. Le tableau I montre l'évolution du pour-



Évolution en fonction du temps de l'activité des membranes totales, de la myéline et des cérébrosides contenus dans chacune de ces deux préparations (○, activité des membranes totales; △, activité des cérébrosides isolés à partir des membranes totales; ●, activité de la myéline; ▲, activité des cérébrosides myéliniques).

centage de la radioactivité dans les cérébrosides où il croît régulièrement et dans les acides gras libres où il décroît rapidement. Rapportée en valeur absolue (activité totale par cerveau par exemple), si la radioactivité des cérébrosides croît (voir fig. 1), celle des acides gras libres reste remarquablement constante. Le même phénomène est retrouvé au niveau de la myéline purifiée (tableau II).

TABLEAU II

*Activité relative des cérébrosides et acides gras libres dans la myéline
(les animaux étant sacrifiés à des temps croissants après l'injection d'acide stéarique
marqué au ^{14}C en 1)*

Temps	Cérébrosides (%)	Acides gras libres (%)
10 mn	0,3	87,5
20 mn	1,7	83,0
30 mn	5,8	55,4
1 h 45 mn	9,5	26,3
17 h	12,7	15,3
24 h	12,2	15,8
48 h	14,3	17,9

Au temps zéro, aucune radioactivité n'est décelée dans aucun cas. L'analyse des acides gras montre que les lipides des membranes contiennent, outre de l'acide stéarique, une chaîne plus courte, l'acide palmitique, et des acides à chaînes plus longues, arachidique, béhénique et lignocérique (tableau III). Ceci, déjà bien visible dans l'ensemble des membranes, est encore plus net dans la myéline (nous avons vérifié que l'acide injecté aux animaux est pur; d'autre part, le sang des animaux ne contient toujours que de l'acide stéarique radioactif, aucune autre longueur de chaîne n'étant détectée).

TABLEAU III

Métabolites de l'acide stéarique injecté dans les membranes et la myéline

Temps	Longueur de chaîne					
	C ₁₆ (%)	C ₁₈ (%)	C ₂₀ (%)	C ₂₂ (%)	C ₂₄ (%)	
Membranes totales	30 mn	18,4 ± 3,5	74,4 ± 4,1	0,5 ± 0,2	—	—
	20 h	23,4 ± 4,1	66,5 ± 5,2	4,0 ± 0,5	tr	tr
	26 h	21,0 ± 3	71,1 ± 3,9	2,5 ± 0,3	tr	tr
Myéline	30 mn	3,5 ± 0,4	93,7 ± 5,1	1,9 ± 0,2	0,5 ± 0,1	0,3 ± 0,1
	24 h	20,1 ± 1,9	76,5 ± 4,2	1,3 ± 0,2	0,9 ± 0,1	1,1 ± 0,1
	72 h	19,9 ± 3,3	60,2 ± 2	5,6 ± 0,5	2,8 ± 0,2	3,4 ± 1,8

DISCUSSION ET CONCLUSIONS. — Un acide gras saturé à longue chaîne, l'acide stéarique, est ainsi capté par le cerveau, à partir du flux sanguin; cet acide traverse donc la « barrière hémato-encéphalique ». Il est intégré dans l'ensemble des membranes cérébrales, dont la myéline, point particulièrement important. Ainsi, des acides gras saturés (et vraisemblablement leurs homologues mono-insaturés) provenant de la nourriture ont un effet direct sur la myélinisation (effet de l'environnement). On peut donc supposer que de légères perturbations qualitatives dans la nourriture retentiront sur la structure, donc sur la stabilité, de la membrane myélinique. La poursuite actuelle de ces travaux doit contribuer à vérifier cette hypothèse.

D'autre part, dans les membranes cérébrales, des acides gras à chaînes plus longues et plus courtes sont retrouvés. Comme le sang ne contient que de l'acide stéarique $1-^{14}\text{C}$, il faut en déduire que le cerveau, d'une part dégrade l'acide stéarique en unités acétate pour resynthétiser d'autres acides, d'autre part allonge cet acide injecté; il sert par là de pré-curseur aux très longues chaînes.

(*) Séance du 15 mars 1976.

- (1) J. M. BOURRE, S. POLLET, G. DUBOIS et N. BAUMANN, *Comptes rendus*, 271, série D, 1970, p. 1221.
- (2) J. M. BOURRE, O. DAUDU et N. BAUMANN, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 63, 1975, p. 1027-1034.
- (3) J. M. BOURRE, O. DAUDU et N. BAUMANN, *Biochim. Biophys. Acta*, 424, 1976, p. 1-7.
- (4) S. POLLET, J. M. BOURRE, G. CHAIX, O. DAUDU et N. BAUMANN, *Biochimie*, 55, 1973, p. 333-341.
- (5) M. PATURNEAU-JOUAS, N. BAUMANN et J. M. BOURRE, *Biochimie* (sous presse).
- (6) J. M. BOURRE, M. PATURNEAU-JOUAS, O. DAUDU et N. BAUMANN, *Comptes rendus*, 282, série D, 1976, p. 653.
- (7) J. M. BOURRE, S. POLLET, O. DAUDU et N. BAUMANN, *Brain Res.*, 51, 1973, p. 225-239.
- (8) J. M. BOURRE, C. BOUCHAUD et N. BAUMANN, *Arterial Wall*, 1, 1974, p. 8.
- (9) G. A. DHOPEHWARKAR et J. P. MEAD, *Biochim. Biophys. Acta*, 187, 1969, p. 461-467.
- (10) B. NORTON et S. PODUSLO, *J. Neurochem.*, 21, 1973, p. 749-757.
- (11) N. BAUMANN, J. M. BOURRE, C. JACQUE et M. L. HARPIN, *J. Neurochem.*, 20, 1973, p. 753-759.
- (12) J. FOLCH, I. ASCOLI, M. LEES, J. A. MEATH et F. N. LEBARON, *J. Biol. Chem.*, 191, 1951, p. 833-841.
- (13) J. FOLCH, M. LEES et G. H. SLOANE-STANLEY, *J. Biol. Chem.*, 226, 1957, p. 497-509.
- (14) G. ROUSER, N. BAUMANN, G. KRITCHEVSKY, D. HEVER et J. S. O'BRIEN, *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, 38, 1961, p. 544-555.
- (15) W. R. MORRISON et L. M. SMITH, *J. Lipid Res.*, 5, 1964, p. 600-608.

Laboratoire de Neurochimie,
I.N.S.E.R.M. U. 134,
Hôpital de la Salpêtrière,
47, boulevard de l'Hôpital,
75634 Paris Cedex 13.