

19

NEUROCHIMIE. — *Biosynthèse comparée des acides gras, tout particulièrement de l'acide lignocérique, dans le rein et le cerveau de Souris normale et Quaking.* Note (\*) de M. Jean-Marie Bourre, M<sup>lles</sup> Odile Daudu et Nicole Baumann, présentée par M. Étienne Wolff:

L'allongement microsomal du palmityl-CoA se fait normalement dans le rein comme dans le cerveau Quaking. Par contre si l'activité d'allongement du stéaryl-CoA et celle du béhényl-CoA est perturbée dans le cerveau mutant, elle ne l'est pas dans le rein. De plus, dans les deux organes, les produits de réaction sont les mêmes chez les animaux normaux et mutants. Ainsi la biosynthèse microsomale des acides gras à très longue chaîne est normale dans le rein mais elle ne l'est pas dans le cerveau : le contrôle génétique de l'enzyme d'allongement doit être différent dans les deux organes.

L'acide lignocérique est quantitativement diminué chez la souris Quaking, un mutant neurologique caractérisé par un défaut dans le dépôt de la myéline du système nerveux central (1). La biosynthèse de cet acide, à partir d'un précurseur direct, est diminuée de 60 % chez ce mutant (2). Or l'acide lignocérique bien que concentré dans le cerveau au niveau

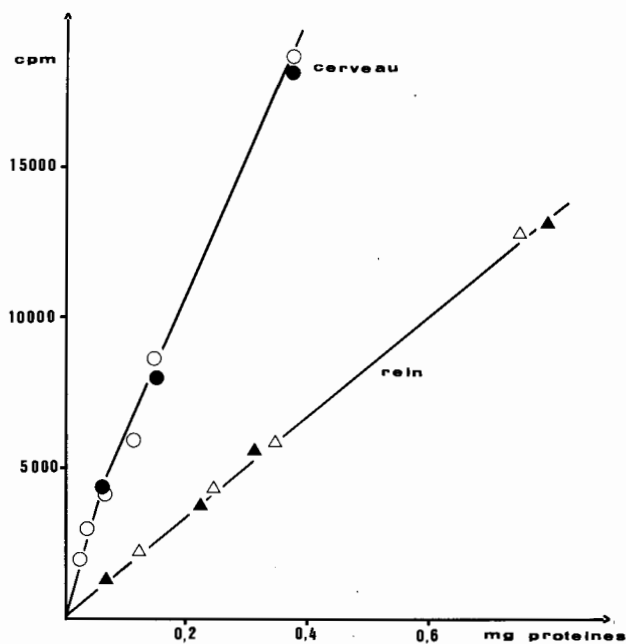


Fig. 1. — Système *de novo* soluble dans le cerveau (○, ●) ou le rein (△, ▲) de Souris normales (○, △) ou Quaking (●, ▲).

La radioactivité exprimée en coups par minute correspond au nombre de molécules de précurseur radioactif intégré dans les chaînes d'acides gras.

des structures myéliniques, est également présent dans le rein, et en quantités normales chez le mutant (3). L'objet de ce travail est d'étudier la biosynthèse des acides gras dans le rein, de la comparer aux résultats obtenus dans le cerveau (4) et de montrer que la biosynthèse de l'acide lignocérique à partir du béhényl-CoA n'est pas affectée dans le rein mutant.

**MATÉRIEL ET MÉTHODES.** — Les reins et les cerveaux de souris âgées de 18 jours sont prélevés puis lavés dans un tampon phosphate 0,1 M, sucrose 0,32 M, 0,9 % NaCl à pH 6,9. Les organes sont homogénéisés dans le même milieu à raison de 5 ml par gramme de tissu. La préparation des microsomes et le dosage des protéines s'effectuent comme il a été précédemment décrit (5) : l'homogénat est centrifugé à 17 500 g; le surnageant obtenu est centrifugé à 100 000 g. Le culot ainsi obtenu est resuspendu puis centrifugé à nouveau dans les mêmes conditions. Le premier surnageant à 100 000 g contient la fraction soluble cellulaire.

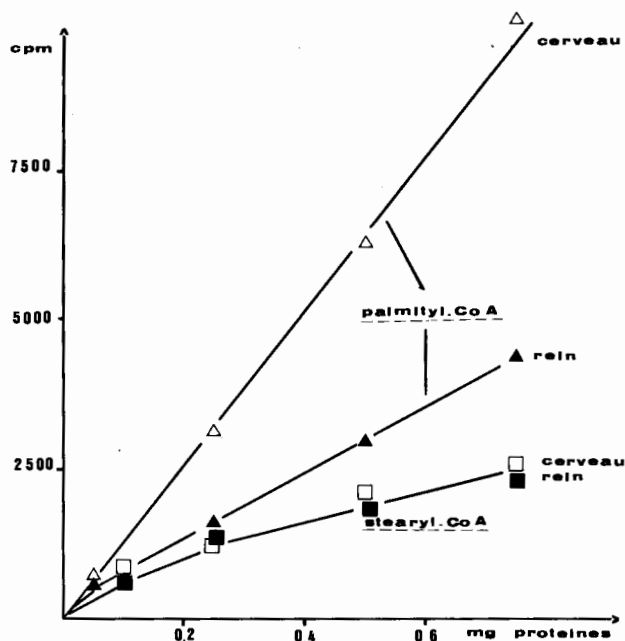


Fig. 2. — Allongement dans les microsomes du palmityl-CoA (△, ▲) et du stéaryl-CoA (□, ■) dans le rein (▲, ■) et le cerveau (△, □).

Même remarque que pour la figure 1.

Les acyls-CoA (stéaryl-CoA et béhényl-CoA) sont synthétisés à partir de l'acide correspondant et du CoA (6). La biosynthèse des acides gras est mesurée par l'incorporation du malonyl-CoA radioactif dans les chaînes grasses. Pour le système *de novo*, dans un volume d'incubation de 1 ml, outre les protéines et le tampon, sont ajoutés de l'acétyl-CoA (25  $\mu$ M), du [1,3- $^{14}$ C] malonyl-CoA (50  $\mu$ M) et du NADPH (500  $\mu$ M). L'allongement des palmityl-CoA, stéaryl-CoA et béhényl-CoA se fait dans les mêmes conditions mais en présence de protéines microsomiales, l'acétyl-CoA étant remplacé par l'acyl-CoA (respectivement 30, 30 et 18  $\mu$ M pour le palmityl-CoA, le stéaryl-CoA ou le béhényl-CoA). Les acides gras synthétisés sont seuls extraits par l'éther de pétrole après sonification et acidification puis analysés par chromatographie gazeuse sur colonne « SE 52 » avec comptage automatique de l'éluat (4).

**RÉSULTATS.** — La figure 1 montre que le système *de novo* est tout à fait normal dans le rein comme dans le cerveau de souris Quaking. Toutefois, l'activité spécifique est trois fois plus forte dans le cerveau que dans le rein [or les produits des réactions sont les mêmes, principalement l'acide palmitique (87 %)].

La figure 2 étudie l'allongement du palmityl-CoA et du stéaryl-CoA dans le rein et le cerveau d'animaux normaux. L'activité spécifique d'allongement du stéaryl-CoA est la même dans les deux organes. Par contre, celle du palmityl-CoA est deux fois plus forte dans le cerveau.

La figure 3 montre l'allongement du béhényl-CoA dans les deux organes. Le rein de souris Quaking allonge normalement cet acyl-CoA. Par contre le cerveau Quaking présente une activité spécifique plus faible que l'organe normal. Pour réaliser cette étude, on ajoute au milieu d'incubation de la phosphotransacétylase qui dégrade l'acétyl-CoA formé à partir du malonyl-CoA, empêchant ainsi le système *de novo* microsomal de s'extérioriser (?).

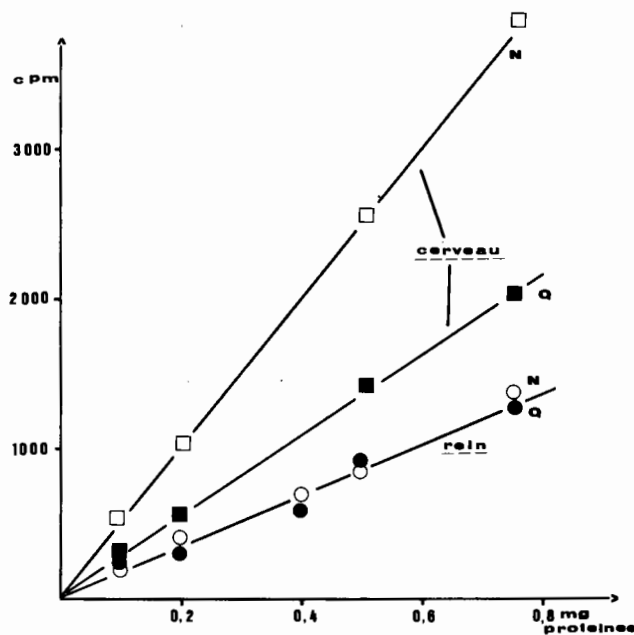


Fig. 3. — Allongement dans les microsomes du béhényl-CoA dans le cerveau (□, ■) ou le rein (○, ●) de souris normale (□, ○) ou Quaking (■, □). Normal : N, Quaking : Q. Même remarque que pour la figure 1.

Le tableau décrit les produits de réaction dans les reins normaux et Quaking en présence de phosphotransacétylase. Il s'avère que le béhényl-CoA est allongé principalement en lignocérate. La faible activité trouvée au niveau du palmitate et du stéarate correspond à l'allongement des acides gras endogènes.

TABLEAU  
Allongement du béhényl-CoA par le [1,3-<sup>14</sup>C] malonyl-CoA dans le rein de Souris normale et Quaking

Longueur de chaîne	16 %	18 %	24 %	26 %	Activité totale
Normal.....	<1	<1	95 ± 4	4 ± 2	19 470
Quaking.....	<1	<1	95 ± 3	4 ± 2	19 380

L'activité totale est l'activité exprimée en corps par minute par milligramme de protéines par heure.

DISCUSSION ET CONCLUSION. — Les animaux étudiés ont 18 jours, âge de très active myélinisation donc de grande activité synthétique : ce fait permet partiellement d'expliquer que le système *de novo* ait une activité spécifique plus grande dans le cerveau que le rein. Pour les mêmes raisons, il est normal que l'allongement microsomal du palmityl-CoA présente les mêmes différences. Par contre, l'activité spécifique d'allongement du stéaryl-CoA est la même dans les deux organes.

L'activité spécifique d'allongement du béhényl-CoA en lignocérate se fait identiquement dans les reins normaux et mutants. Dans le cerveau de souris Quaking, elle est très diminuée (de 60 %) bien que les produits de la réaction soient les mêmes.

Chez le mutant, si la synthèse de l'acide lignocérique est normale dans le rein, elle ne l'est pas dans le cerveau. De plus, il a été montré que la biosynthèse des sulfatides présente la même particularité (\*). Ces résultats confirment donc que le contrôle génétique de l'enzyme d'allongement est différent selon l'organe (°).

(\*) Séance du 15 décembre 1975.

(<sup>1</sup>) N. A. BAUMANN, C. JACQUE, S. POLLET et M. L. HARPIN, *Eur. J. Biochem.*, 4, 1968, p. 340-344.

(<sup>2</sup>) J. M. BOURRE, O. DAUDU et N. A. BAUMANN, *B.B.R.C.*, 63, 1975, p. 1027-1034.

(<sup>3</sup>) N. A. BAUMANN et M. L. HARPIN, *Comptes rendus*, 275, série D, 1972, p. 937.

(<sup>4</sup>) J. M. BOURRE, S. A. POLLET, G. CHAIX, O. DAUDU et N. A. BAUMANN, *Biochimie*, 55, 1973, p. 333-341.

(<sup>5</sup>) J. M. BOURRE, S. A. POLLET, G. DUBOIS et N. A. BAUMANN, *Comptes rendus*, 271, série D, 1970, p. 1221.

(<sup>6</sup>) G. P. AILHAUD et P. R. VAGELOS, *J. Biol. Chem.*, 242, 1967, p. 4459-4463.

(<sup>7</sup>) S. A. POLLET, J. M. BOURRE, G. CHAIX, O. DAUDU et N. A. BAUMANN, *Biochimie*, 58, 1973, p. 333-341.

(<sup>8</sup>) L. L. SARLIEVE, N. M. NESKOVIC et P. MANDEL, *F.E.B.S. Letters*, 19, 1975, p. 91-95.

(<sup>9</sup>) J. M. BOURRE, O. DAUDU et N. A. BAUMANN, *J. Neurochem.*, 24, 1975, p. 1095-1097.

Laboratoire de Neurochimie,  
INSERM U. 134,  
Hôpital de la Salpêtrière,  
47, boulevard de l'Hôpital,  
75634 Paris Cedex 13.