

BIOCHIMIE. — *Biosynthèse des acides gras dans les microsomes de cerveau de souris normale et Quaking.* Note (*) de MM. **Jean-Marie Bourre, Serge Pollet, M^{lles} Odile Daudu et Nicole Baumann**, présentée par M. Etienne Wolff.

Il existe deux systèmes fournissant des acides gras à longue chaîne : l'un donne de l'acide palmitique, l'autre, à partir du stéaryl-CoA, donne des acides gras à longue chaîne. Ce dernier est perturbé chez la souris Quaking.

Le mutant Quaking se caractérise par un défaut de myélinisation du système nerveux central, se traduisant par une diminution des lipides et protéolipides myéliniques spécifiques, cérébrosides et sulfatides. Ceux-ci contiennent des acides gras à longue chaîne, principalement de l'acide lignocérique. Les acides gras à longue chaîne sont formés dans les microsomes [(¹), (²)] ou les mitochondries (³). Les microsomes cérébraux pouvant être le lieu de synthèse de la membrane myélinique (⁴), l'étude de la formation des acides gras à longue chaîne dans ces particules a été entreprise, mettant en évidence l'existence de deux systèmes distincts d'allongement ; l'un, à partir du palmityl-CoA, donne principalement du stéaryl-CoA ; l'autre transforme ce stéaryl-CoA en chaîne plus longue (²). La diminution de l'acide lignocérique chez la souris Quaking peut donc être due à un défaut enzymatique en rapport avec ce deuxième système.

MATÉRIEL ET MÉTHODES. — Les souris Quaking sont comparées aux souris de mêmes portées apparemment normales (hétérozygotes pour le caractère Quaking et homozygotes normales).

Les microsomes de cerveau de souris de 18 jours, période d'active myélinisation, sont préparés selon la technique habituelle (²). Leur pureté est vérifiée par microscopie électronique et par dosage des enzymes « marqueurs » (absence d'enzymes mitochondriales et solubles). Les protéines sont dosées par la méthode de Lowry (⁵). Une purification peut être effectuée par une coupe au sulfate d'ammonium à 25 % de saturation en sulfate.

Les milieux d'incubation sont constitués par : Acyl-CoA 50 nM, Malonyl-CoA 1-3 ¹⁴C (2 mC/mM) 50 nM, NADPH 500 nM, tampon phosphate de K 0,1 M pH 6,9, saccharose 0,32 M, NaCl 0,9 % : q. s. p. 1 ml. Acyl-CoA ou Malonyl-CoA peuvent être tour à tour radioactifs. L'incubation, faite à 37° pendant 30 mn, est arrêtée par 0,5 ml de potasse méthanolique à 15 %. L'incubat est hydrolysé à 100° pendant 30 mn. Après acidification, l'extraction des acides gras se fait par 2 fois 5 ml d'éther de pétrole. Les produits radioactifs sont détectés par un compteur à scintillation liquide.

Enfin, l'extrait est éventuellement méthylé selon la technique de Morrisson et Smith (⁶) et les esters d'acides gras obtenus sont chromatographiés sur colonne de silicone avec comptage automatique de la radioactivité de l'éluat (⁸).

RÉSULTATS. — La figure 1 montre que la quantité totale de malonyl-CoA incorporée dans les acides gras est moindre chez la souris Quaking, sans présenter toutefois de différences notables.

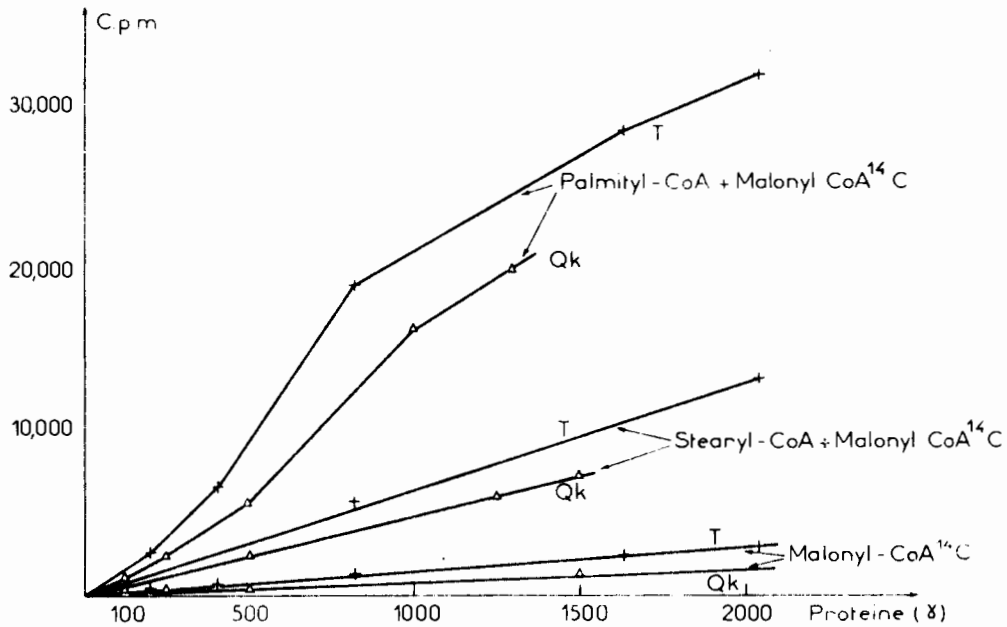


Fig. 1. — Comparaison de l'activité d'allongement dans la fraction 0-25 % de saturation en $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ des microsomes chez la souris normale (T) et Quaking (Qk)

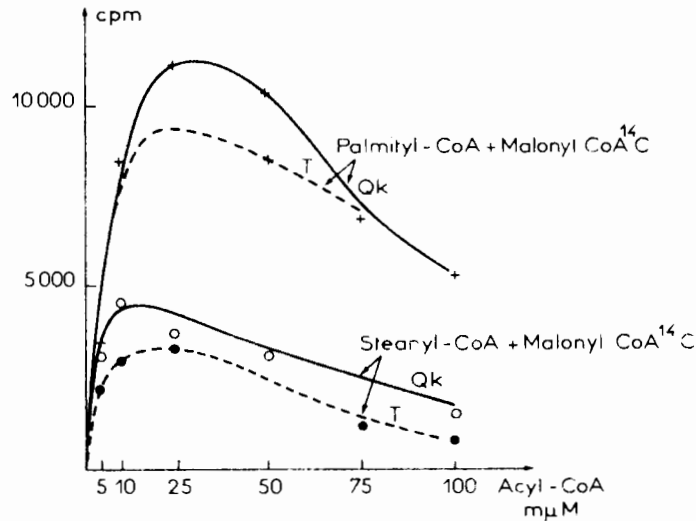


Fig. 2. --- Activités enzymatiques d'allongement en fonction de la concentration en acyl-CoA comparées chez la souris normale (T) et Quaking (Qk)

En faisant varier les concentrations en acyl-CoA, on voit d'une part que l'existence d'un comportement différent du palmitoyl-CoA et du stéaryl-CoA chez la souris apparemment normale est confirmé ; d'autre part que le palmitoyl-CoA est identique-

ment allongé chez les souris témoins et Quaking. Par contre, l'allongement du stéaryl CoA est beaucoup plus rapidement inhibé par un excès de substrat chez la Quaking (fig. 2).

Le tableau ci-dessous permet de voir que le stéaryl CoA $1-^{14}\text{C}$ n'est pratiquement pas allongé par le malonyl-CoA au-delà de 20 atomes de carbone (90 % de l'activité d'allongement se trouvent à ce niveau). Le palmityl-CoA $1-^{14}\text{C}$ est normalement additionné de deux atomes. Le rendement de l'allongement, ρ calculé en prenant l'activité de l'acyl-CoA radioactif comme référence, est le même chez les souris normales et mutantes.

TABLEAU

Allongement dans les microsomes de cerveaux de souris normales (T) et Quaking (Qk)

Longueur de chaîne	$\text{C}_{18,0\text{H}}$ +		C_{22} +		ρ	%
	C_{16}	C_{18}	C_{20}	$\text{C}_{20,0\text{H}}$		
	%	%	%	%	%	%
Substrats :						
Malonyl-CoA $1-^{14}\text{C}$ { T	69	21	10	—	—	—
Qk.....	47	46	7	—	—	—
Palmityl-CoA + Malonyl-CoA $1-^{14}\text{C}$ { T	6	77	5	7	5	—
Qk.....	9,5	86,5	2,5	1,5	—	—
Palmityl-CoA $1-^{14}\text{C}$ + Malonyl-CoA { T	—	95	3	0,5	1,5	12
Qk.....	—	97	2	0,7	0,3	12
Stéaryl-CoA + Malonyl-CoA $1-^{14}\text{C}$ { T	23	34	20	11	12	—
Qk.....	46,3	50	3	0,7	trace	—
Stéaryl-CoA $1-^{14}\text{C}$ + Malonyl-CoA { T	—	—	78,5	10,5	11	2,3
Qk.....	—	—	99	0,8	0,2	2

En présence de malonyl-CoA $1-3-^{14}\text{C}$ seul, chez la souris Quaking il y a accumulation au niveau de l'acide stéarique ; on obtient un profil différent de celui observé chez les témoins puisqu'on trouve 46 % de l'activité au lieu de 21 %. En ajoutant le palmityl-CoA au malonyl-CoA radioactif, 86 % de l'activité sont dans l'acide stéarique ; en ajoutant du stéaryl-CoA le profil n'est pratiquement pas changé au niveau des chaînes moyennes, il y a cependant une faible formation de longues chaînes.

DISCUSSION. — L'étude des acides gras des cerveaux de souris normales et mutantes montre que, chez la souris Quaking, la quantité d'acide stéarique est normale alors qu'au-delà il y a une nette diminution. Les acides stéarique et palmitique ayant des vitesses de renouvellement semblables et le système *de novo* fournissant principalement de l'acide palmitique, il est possible de prévoir deux systèmes d'allongement distincts. Les systèmes, mis en évidence chez la souris normale [(²), (⁷)] se trouvent donc ainsi confirmés par le fait que l'allongement du stéaryl-CoA est perturbé chez la souris Quaking, et lui uniquement.

Chez le mutant, en présence de malonyl-CoA tout seul, il y a une accumulation d'acide stéarique qui peut être due à l'absence d'allongement ultérieur par le deu-

xième système. De plus, la diminution de l'acide palmitique au profit de l'acide stéarique pourrait aussi indiquer que l'allongement de l'acide palmitique endogène est plus actif chez le mutant que chez la souris normale ; mais cela se traduit néanmoins par une quantité d'acide stéarique normale dans les lipides totaux cérébraux. Que l'on utilise comme substrat du malonyl radioactif seul ou qu'on lui adjoigne du stéaryl-CoA, on ne modifie que peu le profil d'acides gras au niveau des chaînes moyennes ; par contre, si chez les témoins le stéaryl-CoA est normalement allongé en longue chaîne, chez les mutants l'allongement ne dépasse pratiquement pas le C₂₀.

Le palmityl-CoA, chez les témoins et chez les Quaking, facilite l'allongement des acides gras endogènes, d'où une légère activité dans les acides gras à longue chaîne.

Sur la figure 1 l'incorporation du malonyl-CoA est sensiblement comparable chez les témoins et chez les Quaking ; la différence se situe dans la nature des produits formés.

Les deux systèmes d'allongement existent donc chez la souris Quaking, mais le deuxième est diminué. Des études préliminaires semblent montrer que la quantité d'enzyme présente serait très abaissée chez la souris Quaking.

(*) Séance du 2 août 1971.

(1) F. LERCH, S. ABRAHAM et J. L. CHAIKOFF, *Biochem. Biophys. Acta*, 70-627, 1963.

(2) J.-M. BOURRE, S. POLLET, G. DUBOIS et N. BAUMANN, *Comptes rendus*, 271, Série D, 1970, p. 1221.

(3) W. R. HARLAN et S. J. WAKIL, *Biochem. Biophys. Res. Com.*, 8, 1962, p. 131.

(4) Y. KISHIMOTO, B. W. AGRANOFF, N. S. RADIN et R. M. BURTON, *J. Neurochem.*, 19, 1969, p. 397.

(5) O. LOWRY, *J. Biol. Chem.*, 193, 1951, p. 265.

(6) W. R. MORRISSON et L. M. SMITH, *J. Lipid. Res.*, 5, 1964, p. 600.

(7) S. POLLET, J.-M. BOURRE, O. DAUDU et N. BAUMANN, *Comptes rendus*, 273, Série D, 1971, p. 1426.

(8) M. le Professeur Mazliak a bien voulu nous permettre d'utiliser son appareil.

*Laboratoire de Neurochimie, INSERM,
Clinique des Maladies du Système Nerveux,
CHU Pitié-Salpêtrière, 47, boulevard de l'Hôpital, 75-Paris*