

ACTION DU DIBUTYRYL 3'5'-AMP CYCLIQUE SUR LA LIPOGENESE ET LA NEOGLUCOGENESE CHEZ LA SOURIS VIVANTE

S. ROUS, L. LUTHI et F. RIVIER

*Institut de Biochimie Médicale, Ecole de Médecine,
Genève, Suisse*

Received 10 July 1969

*N⁶-2'-O-dibutyryl cyclic AMP stimulates glycogenolysis and inhibits fatty acid synthesis in rat liver *in vivo* but has little effect on gluconeogenesis. In adipose tissue: it enhances lipogenesis and glycogenesis. These last effects can be explained by an increase of insulin release.*

1. Introduction

L'AMP cyclique semble contrôler la néoglucogénèse dans le foie perfusé [1–3]. Cette action pourrait être la conséquence de son activité lipolytique, cette substance et surtout son dérivé dibutyryl augmentant, outre la glycogénolyse, la mobilisation des acides gras [4–8]. Il s'ensuivrait un accroissement du taux d'acétyl CoA hépatique qui pourrait activer la pyruvate carboxylase [9]. Cependant si cette action lipolytique est manifeste *in vitro*, elle n'a pu être reproduite *in vivo* [10–12]. On était donc en droit de se demander si l'AMP cyclique agissait sur la néoglucogénèse *in vivo*. D'autre part, nous avons voulu savoir si le 3'5'-AMP cyclique exerçait une action antagoniste de celle de l'insuline sur la lipogénèse au niveau du foie et du tissu adipeux.

Nous avons trouvé qu'injecté *in vivo* le N⁶, 2'O dibutyryl 3'5'-AMP cyclique (DBA) déclanche au niveau du foie une importante glycogénolyse et une inhibition de la synthèse des acides gras, mais a peu d'action sur la néoglucogénèse. Sur le tissu adipeux, il a une action "insuline-like".

2. Matériels et méthodes

2.1. Expérience No. 1

Des souris reçoivent une injection i.p. de DBA (6 mg) suivie 30 min après d'une injection i.v. de glucose

6-¹⁴C et d'acétate 2-³H. Elles sont sacrifiées 12 min plus tard. Les foies sont séparés du reste de l'animal (carcasses) et traitées par KOH alcoolique. Le glycogène est extrait, les acides gras du foie et de la carcasse isolés, et leur radioactivité mesurée par scintillation liquide [13].

2.2. Expérience No. 2

Des souris à jeun depuis 6 h reçoivent une injection i.v. de glucose 6-³H simultanément à du glucose 6-¹⁴C, et sont sacrifiées 12 min après. L'insuline est administrée par voie i.p. 1 h avant les substances radioactives; le DBA $\frac{1}{2}$ h après cette hormone, dans les mêmes conditions que précédemment. La radioactivité des acides gras du foie, du tissu adipeux épидidymal et de la carcasse est mesurée.

2.3. Expérience No. 3

Des souris reçoivent une injection i.v. du pyruvate 1-¹⁴C ou U-¹⁴C et sont sacrifiées 12 min après. L'activité du glucose sanguin est déterminée soit par les osazones, soit après passage sur résines selon Corredor [14]. Trois groupes de souris sont étudiés: un groupe à jeun depuis 18 h, un groupe ayant reçu du DBA 30 min avant les précurseurs radioactifs, ainsi qu'un groupe témoin.

Tableau 1
Action du dibutyryl 3'5'-AMP cyclique sur la synthèse des acides gras et le glycogène hépatique *in vivo*.

	Radioactivité des acides gras totaux			Radioactivité des acides gras totaux			Acides gras totaux Poids en mg/g de foie	Glycogène Poids en mg/g de foie
	Acétate 2- ³ H	Glucose 6- ¹⁴ C	³ H/ ¹⁴ C	Acétate 2- ³ H	Glucose 6- ¹⁴ C	³ H/ ¹⁴ C		
Témoins	562.400	433.800	1,39	137.600	30.000	5,11	31,9	36,6
	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑
	n.s.	n.s.	n.s.	p < 0,005	p < 0,005	n.s.	n.s.	p < 0,001
	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
Dibutyryl 3'5'-AMP cyclique	616.900	656.400	1,09	53.500	10.800	5,06	33,3	1,5

Des souris ont reçu par voie i.v. de l'acétate 2-³H et du glucose 6-¹⁴C et ont été sacrifiées 12 min après. Les résultats sont exprimés en dpm pour une dose de 10 µc de chaque précurseur. Le dibutyryl 3'5'-AMP cyclique a été administré par voie i.p. à la dose de 6 mg/souris 30 min avant l'administration des précurseurs radioactifs.

3. Résultats

3.1. Expérience No. 1 (cf. tableau 1)

Le DBA ne semble pas affecter la lipogenèse dans la carcasse. Une légère stimulation de la synthèse des acides gras serait plutôt observée (des résultats comparables, ont été obtenus avec le tissu adipeux). En revanche une inhibition importante de la lipogenèse survient dans la foie. On constate un effondrement du glycogène hépatique mais le pourcentage d'acides gras n'est pas modifié.

3.2. Expérience No. 2

Nous avons réalisé cette 2ème expérience afin de voir si la présence de DBA pouvait empêcher l'insuline de rétablir la lipogenèse chez l'animal à jeun (cf. tableau 2).

On constate aussi bien dans la carcasse, les graisses blanches ou le foie que l'insuline relève significativement la lipogenèse inhibée par le jeûne malgré la présence du DBA.

3.3. Expérience No. 3 (cf. tableau 3)

Ce tableau représente la radioactivité totale du glucose par ml de sang après administration de pyruvate 1-¹⁴C. L'activation de la néoglucogenèse par le DBA est peu importante surtout lorsqu'on la compare à celle provoquée par un jeûne de 18 h.

4. Discussion

Conformément aux autres auteurs, nous avons constaté une importante glycolyse hépatique s'associant à une forte hyperglycémie. L'action inhibitrice du DBA sur la synthèse des acides gras avait déjà été décrite *in vitro* [15,16], mais elle portait non seulement sur la lipogenèse hépatique mais aussi sur la synthèse des acides gras par le tissu adipeux. Or nous avons trouvé au contraire dans ce dernier tissu, comme dans la carcasse, une légère stimulation de la lipogenèse par le DBA. Cette action pourrait résulter d'une augmentation de la sécrétion d'insuline puisque l'AMP cyclique favorise sa libération par le pancréas. Ceci signifierait, de même que les résultats que nous avons obtenus chez l'animal à jeun, que l'insuline exerce sur la lipogenèse *in vivo* un contrôle beaucoup plus important que l'AMP cyclique qui est incapable d'en contrecarrer les effets. Nous avons également observé (résultats non rapportés) une élévation significative du taux de glycogène dans le tissu adipeux blanc, ce qui confirme la théorie précédemment énoncée.

Le DBA ne semble pas capable de stimuler la lipolyse *in vivo*. En effet, nous avons testé l'activité lipolytique du DBA en effectuant quelques essais de combustion d'acides gras radioactifs préalablement incorporés aux réserves la veille de l'expérience. Or

Tableau 2
Action de l'insuline sur la synthèse des acides gras chez des souris à jeun traitées par le 3'5'-dibutyryl AMP cyclique

	Graisses blanches				Carcasses				Foies			
	Radioactivité des acides gras totaux				Radioactivité des acides gras totaux				Radioactivité des acides gras totaux			
	Glucose 6- ³ H	Glucose 6- ¹⁴ C	³ H/ ¹⁴ C	Glucose 6- ³ H	Glucose 6- ¹⁴ C	³ H/ ¹⁴ C	Glucose 6- ³ H	Glucose 6- ¹⁴ C	Glucose 6- ³ H	Glucose 6- ¹⁴ C	³ H/ ¹⁴ C	Acides gras totaux Poids en mg/g de foie
A jeun	410 ↑ p < 0.001	460 ↑ p < 0.001	0,90 ↑ p < 0,01	36,900 ↑ p < 0,001	92,400 ↑ p < 0.001	0,40 ↑ n.s.	4,900 ↑ p < 0,01	2,475 ↑ p < 0,01	2,00 ↑ p < 0.001	44,8 ↑ n.s.	11,8 ↑ p < 0.001	
A jeun + dibutyryl AMP cycl. + insuline	4,600 ↓ p < 0.001	8,600 ↓ p < 0.001	0,51 ↓ p < 0,01	166,000 ↓ p < 0,001	395,000 ↓ p < 0.001	0,38 ↓ n.s.	7,780 ↓ p < 0,01	7,450 ↓ p < 0,01	1,04 ↓ p < 0.001	44,2 ↓ n.s.	4,9 ↓ p < 0.001	

Des souris ont reçu en injection i.v. du glucose 6-³H et 6-¹⁴C et étaient sacrifiées 12 min après. Les résultats sont exprimés en Dpm pour une dose de 10 µc de chaque précurseur. Le dibutyryl 3'5'-AMP cyclique (6 mg/souris) a été administré par voie i.p. 1/2 h avant l'administration des précurseurs radioactifs, l'insuline (0,1 U) a également été injectée par voie i.p. 1/2 h avant le dibutyryl 3'5'-AMP cyclique.

Tableau 3

Action du dibutyryl 3'5'-AMP cyclique et du jeûne sur la néoglucogenèse *in vivo*.

Dibutyryl 3'5'-AMP cyclique	Temoins	Jeune (18 h)
96.500	72.800	226.000

Des souris ont reçu par voie i.v. du pyruvate ¹⁴C et ont été sacrifiées 12 min après. Les souris du groupe dibutyryl 3'5'-AMP ont reçu en outre 6 mg de ce composé par voie i.p. 30 min avant l'administration des précurseurs radioactifs. Les valeurs expriment la radioactivité totale du glucose sanguin par ml de sang pour 10 µc de précurseur injecté.

nous n'avons pas trouvé de différence dans la radioactivité du CO₂ expirée par les souris ayant reçu ou non du DBA. De plus nous n'avons pas constaté d'accroissement du taux des acides gras hépatiques dans aucune de nos expériences. Un effet fugace et immédiat sur la lipolyse ne peut être toutefois totalement exclu.

Puisque la lipolyse et la néoglucogenèse semblent étroitement liées, la stimulation de la néoglucogenèse par le DBA devrait être de peu d'importance. Cette hypothèse semble appuyée par le fait que le DBA inhibe parallèlement la synthèse des acides gras provenant du glucose ou de l'acétate; en effet, une néoglucogenèse intense aurait dû dériver une partie des éléments à 3 carbones provenant du catabolisme du glucose. L'inhibition de la lipogenèse aurait dû affecter principalement l'incorporation du glucose; en outre, nous n'avons constaté qu'une faible augmentation de l'incorporation du pyruvate dans le glucose sanguin chez les animaux qui ont reçu *in vivo* du DBA. Nous avons proposé une conclusion analogue en ce qui concerne la néoglucogenèse dans un précédent travail [17].

En résumé, le DBA active la phosphorylase hépatique créant ainsi une forte hyperglycémie. Cette hyperglycémie, ou le DBA lui-même, déclenche aussitôt la libération d'insuline qui neutralise les autres effets de l'AMP cyclique, en particulier son effet lipolytique. L'AMP cyclique contrôle donc beaucoup moins efficacement que l'insuline la gluconéogenèse et la lipogenèse chez l'animal vivant et l'on attribue semble-t-il, un peu trop d'importance à ce composé.

Ce travail a été exécuté grâce à une subvention du Fonds national suisse de la Recherche scientifique.

Références

- [1] J.H.Exton and C.R.Park, *Pharmacol. Rev.* 18 (1966) 181.
- [2] J.H.Exton, L.S.Jefferson, R.W.Butcher and C.R.Park, *Amer. J. Med.* 40 (1966) 709.
- [3] L.A.Menahan and O.Wieland, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 29 (1967) 880.
- [4] R.W.Butcher, *Pharmacol. Rev.* 18 (1966) 237.
- [5] R.W.Butcher, R.J.Ho, H.C.Meng and E.W.Sutherland, *J. Biol. Chem.* 240 (1965) 4515.
- [6] R.W.Butcher, C.E.Baird and E.W.Sutherland, *J. Biol. Chem.* 243 (1968) 1705.
- [7] J.I.Davies, *Nature* 218 (1968) 349.
- [8] T.Posternak, E.W.Sutherland and W.F.Henion, *Biochim. Biophys. Acta* 65 (1962) 558.
- [9] J.R.Williamson, R.A.Kreisberg and P.W.Felts, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.* 56 (1966) 247.
- [10] R.A.Levine and J.A.Vogel, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 151 (1966) 262.
- [11] R.A.Levine, *Metabolism* 17 (1968) 34.
- [12] P.Bieck, K.Stock and E.Westermann, *Life Sci.* 7 (1968) 1125.
- [13] S.Rous, L.Luthi and P.Favarger, *Lipids* 2 (1967) 60.
- [14] C.Corredor, K.Brendel and R.Bressler, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 58 (1967) 2299.
- [15] J.Berthet, *IV Proc. Intern. Congr. Biochem. Vienne*, 1958 17 (1960) 107.
- [16] M.Blecher, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 27 (1967) 560.
- [17] S.Rous and L.Luthi, *FEBS Letters* 2 (1969) 289.