

54. Recherches sur la synthèse des graisses à partir d'acétate ou de glucose

VII. La formation indépendante des acides gras saturés et non saturés étudiée chez la Souris *in vivo*

par Victor Handwerck et Pierre Favarger

(16 I 59)

Introduction. – La synthèse biologique des acides gras monoéthéniques, comme l'acide oléique et l'acide palmitoléique, est encore assez mal connue. Dès les premières expériences utilisant des précurseurs marqués, on soupçonna que si les acides non saturés peuvent être formés par déshydrogénation directe des acides saturés correspondants^{1) 2)}, ils doivent provenir pour une part d'un autre mécanisme de synthèse autonome³⁾.

Ces expériences ne permettent guère d'établir l'importance respective des deux mécanismes possibles, car dans tous ces travaux, l'intervalle entre l'administration des précurseurs marqués et le moment de la mesure a toujours été très grand, de plusieurs heures au minimum.

Pour démontrer la désaturation des acides gras, certains auteurs ont administré un acide saturé marqué et ont admis que les acides non saturés marqués dérivait du premier. Il est clair cependant que la dégradation complète du premier acide et la reconstitution d'un mélange d'acides gras à partir des éléments en C₂ fausse les résultats dans une mesure difficile à préciser. La méthode que nous utilisons donne des résultats moins équivoques.

Notre laboratoire a déjà montré⁴⁾ que dans les expériences durant plusieurs heures, on ne peut généralement pas obtenir de certitude quant aux mécanismes immédiats de synthèse. La synthèse des acides gras marqués est pratiquement terminée environ 15 minutes après injection intraveineuse d'acétate radioactif. On assiste ensuite à une diminution de la concentration du précurseur, au métabolisme des autres constituants qui l'ont aussi incorporé, à des réactions d'interconversion et de transport dans l'organisme, qui peuvent modifier considérablement la répartition de l'activité par rapport à celle qui suit de très près l'administration du précurseur.

A n'importe quel moment l'activité spécifique des acides saturés est supérieure à celle des acides non saturés, mais la mesure d'un rapport à un moment unique ne permet pas de tirer d'autres conclusions que celle d'une plus grande rapidité de synthèse

¹⁾ R. SCHOENHEIMER & D. RITTENBERG, *J. biol. Chemistry* **113**, 505 (1936).

²⁾ D. W. STETTEN & R. SCHOENHEIMER, *J. biol. Chemistry* **133**, 329 (1940); H. S. ANKER, *ibid.* **194**, 177 (1952).

³⁾ D. RITTENBERG & K. BLOCH, *J. biol. Chemistry* **154**, 311 (1944); K. BERNHARD & F. BULLE, *Helv.* **26**, 1185 (1943); H. S. ANKER, *J. biol. Chemistry* **176**, 1337 (1948); K. BLOCH, *Cold Spring Harbor Symposium Quantit. Biol.* **13**, 29 (1948).

⁴⁾ P. FAVARGER & J. GERLACH, *Helv. physiol. pharmacol. Acta* **13**, 91 (1955).

des acides saturés. Les courbes obtenues lorsqu'on continue les mesures de ce rapport pendant plusieurs mois⁵⁾ permettent seulement d'exclure les acides non saturés comme précurseurs des acides saturés. Mais si l'on étudie la variation de ce rapport pendant le début de la synthèse tel que nous venons de le préciser, il est possible de déterminer dans quelle mesure les acides saturés sont les précurseurs des acides non saturés.

La séparation des acides polyéthéniques n'est pas indispensable, car l'activité des acides non saturés totaux est pratiquement proportionnelle à celle des acides monoéthéniques.

Nous avons donc mesuré l'activité des acides saturés et non saturés totaux de souris tuées 3 ou 30 minutes après injection intraveineuse d'acétate-[1-¹⁴C].

Partie expérimentale. — Des souris mâles de 22 à 28 g ont été privées de nourriture pendant 8 h, puis renourries avec 1,5 g de pain $\frac{1}{2}$ h avant l'expérience. Elles ont reçu une injection de 4 à 8 millions de coups/min d'acétate-[1-¹⁴C] (en solution isotonique) dans une veine caudale, et ont été tuées après 3 ou 30 min par section de la nuque, puis fixées immédiatement dans l'alcool bouillant.

Après saponification de l'animal entier (4 h à reflux dans un mélange eau-alcool-1:2 contenant 20% de KOH), dilution par H₂O, extraction de l'insaponifiable par l'éther de pétrole, puis acidification, les acides gras ont été extraits par l'éther de pétrole. L'extrait a été lavé deux fois par de l'eau additionnée de 5% d'acétate de Na, puis deux fois par de l'eau distillée, et enfin évaporé sous CO₂.

Les acides gras totaux ont été fractionnés dans un volume total d'alcool correspondant à 1 ml d'alcool pour 10 mg d'acides, par adjonction de la moitié de leur poids d'acétate de Pb, à l'ébullition. Après repos d'au moins 3 h à 16° et centrifugation, la solution des acides liquides a été soumise à un «washing out» par adjonction, à l'ébullition, d'acide palmitique, puis d'acétate de Pb, en quantités égales au $\frac{1}{10}$ du poids du mélange initial des acides¹⁾. Après repos d'au moins 3 h à 16° et centrifugation, le précipité a été rejeté. Les savons de Pb des acides solides séparés lors de la première précipitation ont été recristallisés dans la moitié du volume d'alcool initial, et séparés après repos à 16°. Les acides «solides» et «liquides» ont été libérés par acidification au moyen d'acide nitrique dilué et extraits à l'éther de pétrole. Ces solutions ont été lavées à l'eau distillée, puis évaporées sous CO₂.

Par évaporation lente sous infra-rouge d'une solution alcoolique, les acides gras resp. «solides» et «liquides» sont directement déposés en couche mince dans des cupules d'aluminium, et leur activité est mesurée au moyen d'un compteur à gaz sans fenêtre. Les acides «solides» sont préalablement dilués par de l'acide oléique pour assurer le dépôt d'une couche régulière. Les activités spécifiques sont rapportées à une couche infiniment mince.

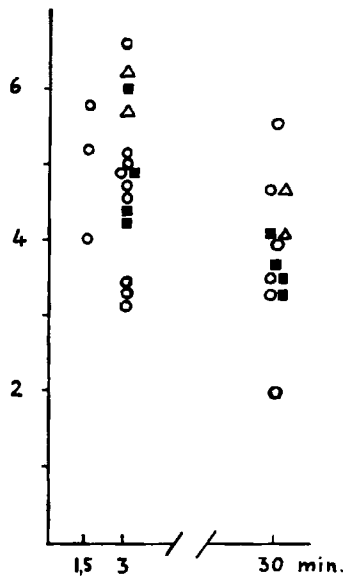
Résultats et discussion. — La méthode des sels de Pb n'assure pas une séparation parfaite des acides saturés et des acides non saturés; elle permet cependant d'obtenir des résultats comparatifs et reproductibles suffisamment clairs pour que des conclusions sûres puissent en être tirées.

La déshydrogénation des acides gras saturés est relativement rapide, puisque le rapport moyen des activités spécifiques des acides gras «solides» aux acides gras «liquides» passe de 4,84 à 3,88 en 27 minutes seulement (fig.). Ces chiffres sont les moyennes obtenues pour 15 souris tuées après 3 minutes et 12 souris tuées après 30 minutes. Malgré la dispersion des résultats, la différence est significative ($p = 0,02$). D'après d'autres auteurs, le rapport est encore un peu plus bas quelques heures plus tard, mais la désaturation paraît se ralentir, ce qui est bien explicable si les acides gras

⁵⁾ D. RITTENBERG & R. SCHOENHEIMER, J. biol. Chemistry **121**, 235 (1937).

néoformés, abondants dans le foie, les graisses brunes interscapulaires ou les régions à métabolisme intense du tissu adipeux, se répartissent progressivement dans les réserves. Nos chiffres montrent qu'en 30 minutes, environ $\frac{1}{5}$ des acides gras saturés néoformés sont déshydrogénés, si l'on admet que les valeurs trouvées à 3 minutes représentent la proportion des acides saturés et non saturés résultant de la synthèse immédiate. On pourrait se demander en effet si les acides gras supérieurs n'émergent pas de l'hélice de LYNEN sous forme entièrement saturée et s'ils ne sont pas désaturés pendant l'intervalle de 3 minutes séparant l'injection du sacrifice. Il serait sans doute difficile d'écarter radicalement cette éventualité par des expériences *in vivo*; elle est néanmoins peu probable; ainsi, pour trois de nos souris, la période expérimentale fut réduite à 1 min $\frac{1}{2}$ sans que la proportion des acides saturés radioactifs ne s'élevât.

Rappelons que nous analysons les acides gras à un moment où leur synthèse est loin d'être terminée. Il est donc certain que les acides gras ne se libèrent pas tous à l'état saturé des systèmes enzymatiques qui les élaborent. Les acides gras saturés ne doivent probablement pas être considérés comme les précurseurs de tous les acides monoéthéniques, et la déshydrogénation qui se manifeste entre la 3^e et la 30^e minute n'est qu'une des nombreuses et lentes réactions d'interconversion du métabolisme.



Rapport de l'activité spécifique des acides gras saturés à celle des acides gras non saturés

Les cercles représentent des valeurs provenant d'animaux d'origines diverses, traités isolément à des moments différents dans des expériences séparées; leur dispersion est élevée.

Les carrés noirs (série A) et les triangles (série B) représentent des valeurs provenant d'animaux appartenant à deux séries respectivement homogènes (animaux d'origine identique, traités simultanément, etc.); leur dispersion est plus réduite. Ces deux séries A et B sont décrites ailleurs⁶⁾. Les valeurs numériques se rapportant à la série A sont présentées ici dans le tableau.

⁶⁾ V. HANDWERCK & P. FAVARGER, *Helv.* **42**, 508 (1959).

Activité des acides gras resp. «solides» (S) et «liquides» (L) des 4 souris de la série A^{a)}

Les souris reçoivent $100 \cdot 10^6$ c.p.m. d'acétate-[1-¹⁴C] en injection intraveineuse.

^{a)} voir légende ci-dessus

			Poids total acides gras	Poids de chaque fraction	Activités spécifiques	Activités totales	$\frac{\text{AS solides}}{\text{AS liquides}}$	$\frac{\text{AT solides}}{\text{AT liquides}}$
			g	mg	c/min/mg	c/min		
3 min	1	S	1,460	501	10·150	$10^6 \times 5,09$	6,2	4,0
		L		770	1·645	$10^6 \times 1,27$		
	2	S	1,378	491	4·900	$10^6 \times 2,40$	5,65	3,85
		L		722	865	$10^6 \times 0,625$		
30 min	3	S	1,449	540	12·700	$10^6 \times 6,95$	4,7	3,48
		L		735	2·710	$10^6 \times 2,00$		
	4	S	1,410	516	11·050	$10^6 \times 5,70$	4,1	2,71
		L		776	2·690	$10^6 \times 2,10$		

RÉSUMÉ

Des souris ont été tuées 3 ou 30 minutes après injection intraveineuse d'acétate-[1-¹⁴C].

Dans les lipides totaux, la moyenne des rapports de l'activité spécifique des acides saturés à celle des acides non saturés est de 4,84 après 3 minutes et de 3,88 après 30 minutes.

On en déduit qu'une partie seulement des acides monoéthéniques se forme à partir des acides saturés correspondants.

Institut de Chimie physiologique de l'Université de Genève

55. Recherches sur la synthèse des graisses à partir d'acétate ou de glucose

VIII. Les mécanismes d'élongation des acides gras saturés supérieurs étudiés chez la Souris *in vivo*

par Victor Handwerck et Pierre Favarger

(16 I 59)

Les différentes enzymes qui sont nécessaires à la synthèse des acides gras d'après le schéma de LYNEN interviennent chacune plusieurs fois. Leur organisation fonctionnelle doit être d'une précision extrême pour permettre l'élaboration simultanée ou successive des principaux acides dans les tissus animaux. Cette organisation n'est certainement pas identique dans la glande mammaire, par exemple, et dans les autres tissus, puisque la composition du mélange d'acides gras n'est pas du tout la même. Dans l'ensemble des travaux consacrés à l'étude de la formation des acides gras saturés à partir d'acétate marqué, on relève quelques résultats qui suggèrent l'intervention de plusieurs mécanismes de synthèse.