

56. Recherches sur le métabolisme des acides gras impairs et la synthèse des acides gras à partir d'acide propionique

par P. Favarger et J. Gerlach

(14 X 65)

La présence d'une petite quantité d'acides gras impairs dans les lipides des tissus animaux a été définitivement démontrée depuis qu'il est possible de séparer les acides gras par chromatographie gaz-liquide. Dans nos analyses des lipides de Souris, nous en trouvons régulièrement, et en particulier de l'acide pentadécanoïque (env. 0,30%), margarique (env. 0,18%) et margaroléique (env. 0,36%). On sait que ces acides proviennent en partie de la synthèse à partir d'acide propionique, et WAKIL a montré qu'en présence d'extraits de foie de Rat la synthèse de l'acide margarique marqué est prépondérante si l'on remplace l'acétyl-CoA- ^{14}C par du propionyl-CoA- ^{14}C [1]. Des résultats analogues ont été obtenus par HORNING et coll. [2] pour différents acides iso- ou impairs. Néanmoins, l'administration prolongée de tripropionine à des Souris ne permet pas d'augmenter beaucoup la proportion d'acides gras impairs dans les lipides tissulaires [3].

L'acide propionique- ^{14}C s'incorpore surtout dans les acides impairs, mais l'acide propionique- ^{14}C se transforme aussi en acides gras pairs par la voie proposée par FLAVIN & OCHOA [4], c'est-à-dire en passant par le méthylmalonate et le succinate. Nous avons montré que ce dernier acide se transforme en oxaloacétate, pyruvate et acétate avant de s'incorporer aux acides gras pairs [5]. Selon CADY et coll. [6], la glande mammaire de Rat utilise le propionate- ^{14}C non seulement pour la synthèse des acides gras impairs, mais aussi, quoique dans une faible proportion, pour celle des acides pairs. Il semble qu'une déméthylation préalable en acétate explique le mieux cette synthèse. Dans le présent travail, nous avons cherché à préciser si cette voie est opérative dans les autres tissus. A cette fin, nous avons étudié la répartition de la radioactivité dans les différents acides gras obtenus après administration à la Souris de propionate- ^{14}C . La carence en précurseur n'explique pas suffisamment l'ostracisme de l'organisme animal envers les acides impairs. Nous avons donc complété notre expérience par un essai d'enrichissement alimentaire des réserves en acides impairs.

Partie expérimentale. — Pour les études sur la synthèse à partir d'acide propionique, deux Souris ont reçu 250 et 500 μC de propionate- ^{14}C de Na. Les acides gras de la première (No. 316) furent analysés par chromatographie sur colonne de paraffine, selon HOWARD & MARTIN [8], en suivant la méthode indiquée antérieurement [7]. Pour la seconde Souris (No. 400), les acides gras ont été séparés par chromatographie gaz-liquide (C. G. L.) au moyen d'un appareil Autoprep Aerograph A 700. La phase stationnaire était de 20% d'Apiezon L remplissant une colonne de 10 pieds. La température était de 245°, la vitesse du courant d'hélium de 75–80 ml/min. Pour obtenir une quantité suffisante des différents acides gras, les acides insaturés ont été séparés des saturés sur colonne de paraffine selon HOWARD & MARTIN [8] après hydroxylation. Ils ont ensuite été hydrogénés selon CROWDER & ANDERSON [9]. Les acides saturés et les acides hydrogénés ont été chromatographiés séparément en phase gazeuse après adjonction au mélange de quantités connues d'acide pentadécanoïque et d'acide margarique. Les acides myristique, pentadécanoïque, palmi-

tique, margarique et stéarique ont été isolés, ainsi que les acides saturés dérivés des acides pentadécanoïque, palmitoléique, margaroléique, et oléique. L'acide stéarique issu de ce dernier acide était obligatoirement dilué par une certaine proportion d'acide stéarique provenant des acides linoléique et linoléinique. La radioactivité de ces acides a été mesurée au moyen d'un scintillateur à liquide. A l'exception de l'acide myristique, trop peu abondant, tous les acides gras ont été décarboxylés par action du brome sur leurs sels d'argent [10]. La radioactivité du carboxyle, celle des carbonés C_2 à C_n [11], ainsi que celle des carbonés C_2 à C_{n-2} [12] a été déterminée sous forme de $BaCO_3$ dans un compteur à courant d'hélium-isobutane.

Pour étudier la possibilité de stockage des acides gras impairs, nous avons ajouté au régime alimentaire (aliment pour Souris NAFAG, dégraissé) 3,7% d'huile d'olive, 3,7% d'acide pentadécanoïque ou d'acide margarique commerciaux, dont la pureté avait été vérifiée par C.G.L. Après 10 jours de ce régime, les animaux ont été exécutés et la proportion des différents acides gras, déterminée par C.G.L.

Résultats et discussion. - Les tableaux 1 et 2 rassemblent les résultats des expériences. Sans nous attarder à celles qui sont d'ordre plutôt physiologique, relevons simplement que l'administration d'acide pentadécanoïque ou margarique (Tableau 1) enrichit notablement et assez rapidement les graisses de réserve en ces deux acides. Il existe donc dans l'organisme des enzymes permettant facilement la synthèse des acyl-CoA à partir des acides libres impairs ou celle des triglycérides à partir des acyl-CoA impairs. La proportion d'acide pentadécanoïque et d'acide margarique qui se fixe dans les dépôts dépasse celle qu'on obtient avec un régime très riche en acide propionique [3]. On peut donc suggérer que c'est surtout au niveau de l'utilisation de ce précurseur, qui paraît indispensable à la synthèse des acides impairs, que se trouve la cause de la si faible proportion des acides impairs dans les tissus animaux. Il valait donc la peine de préciser par quelles voies le propionate s'incorpore dans les acides gras. CADY et ses coll. [6] suggèrent que dans la glande mammaire 3 mécanismes distincts peuvent être utilisés. Le premier, qui aboutit spécifiquement aux acides gras impairs, fonctionne aussi en présence des enzymes du cytoplasme hépatique [1] [2]. Dans le foie se forme surtout de l'acide margarique, alors que les enzymes de la glande mammaire synthétisent principalement des acides en C_7 , C_9 et C_{11} [13]. Chez la Souris vivante, la radioactivité incor-

Tableau 1. Composition en % des acides gras totaux de la Souris après administration d'acides gras impairs

Les Souris ont reçu pendant 10 jours un régime sans graisse additionné de 3,7% d'acides palmitique, pentadécanoïque ou margarique et de 3,7% d'huile d'olive.

Acide gras administré	14 C	15 C	15 C	16 C	16 C	17 C	17 C	18 C	18 C	18 C
		1		1		1		2	1	
Palmitique	1,56	-	0,3	6,3	27,6	0,36	0,18	10,0	48,5	5,9
Pentadécanoïque	1,40	0,37	10,0	6,7	19,8	1,37	1,19	6,0	49,0	4,0
	1,8	0,92	10,9	8,14	23,5	2,14	1,64	5,54	43,1	3,11
Margarique	2,02	-	0,2	6,72	24,9	1,83	2,79	8,5	49,0	4,3
	1,66	-	0,3	6,56	24,5	1,66	3,82	7,3	48,5	6,0

porée dans les acides pentadécanoïque et margarique est à peu près équivalente. Nous avons démontré en même temps, par dégradation de ces acides, que l'élément tri-carboné s'incorpore dans les 3 carbonés méthylterminaux des acides gras [7]. Ce mécanisme paraît plus efficace chez la Souris que chez le Rat (MASORO [14]). A côté

des acides saturés qui prédominent, il donne aussi de l'acide margaroléique et un peu d'acide pentadécénoïque.

Le second mécanisme pour former des acides gras à partir d'acide propionique conduit à la perte du carboxyle de ce dernier et à la transformation du propionate en succinate par le méthylmalonate. Or, si le succinate est un mauvais précurseur d'acides gras en présence de préparations de foie ou de tissu adipeux [15], la Souris vivante en utilise fort bien les C_2 et C_3 , et la répartition de la radioactivité dans la chaîne des acides gras pairs ne s'explique guère que par la voie propionate \rightarrow méthylmalonate \rightarrow succinate \rightarrow oxaloacétate \rightarrow pyruvate \rightarrow acétate [16].

Tableau 2. Répartition de la radioactivité dans les différents acides gras après injection i.v. de propionate-[1- ^{14}C]

Acide gras étudié (Souris No.)	% de l'activité retrouvée ds chaque ac. gras		Activité de 10 μm ac. gras (* après dilution)	% activité ds le carboxyle	
	400	316		400	316
Myristique	1,3	—	3350	—	—
Pentadécénoïque	40,5	22,2	6090*	0,5	0,16
Pentadécénoïque	1,4	—	580*	1,5	—
Palmitique	7,1	6,2	1590	10,8	8,9
Palmitoléique	0,6	—	460	11,4	—
Margarique	40,3	57,0	5940*	0,6	0,21
Margaroléique	6,8	—	1780*	0,7	—
Stéarique	1,0	0,8	1450	17,1	—
Oléique	1,2	—	270	10,9	—
fraction indéterm.		13,8			
Ac. pairs totaux	11,1				
Ac. impairs totaux	88,9				

Une petite proportion du propionate subit cependant une autre destinée. Se fondant sur les rendements en acides gras après administration de propionate-[1-, 2- ou 3- ^{14}C], CADY et coll. [6] suggèrent la possibilité d'une déméthylation. La répartition de la radioactivité dans les acides gras de nos Souris fait penser qu'il en est bien ainsi chez l'animal vivant. L'administration de propionate-[1- ^{14}C] donne les mêmes acides gras que l'acétate-[1- ^{14}C]: le carboxyle contient à peu près le double de l'activité moyenne de la chaîne pour les acides palmitique et palmitoléique, témoignant d'une condensation d'éléments dicarbonés marqués seulement au carboxyle. Pour l'acide stéarique, on retrouve également l'excès de radioactivité dans le carboxyle, signalant que cet acide se forme partiellement par allongement de l'acide palmitique. Cette dissymétrie ne se retrouve pas pour l'acide oléique, ce qui confirme l'existence de mécanismes de synthèse différents pour cet acide et l'acide stéarique. La légère radioactivité du carboxyle des acides impairs indique enfin que l'acide propionique intact des carbones n, n-1 et n-2 a lui aussi subi un allongement par des molécules d'acide propionique déméthylées.

En tenant compte de cette dernière incorporation, on peut estimer que dans notre expérience, le 89% de la radioactivité du propionate-[1- ^{14}C] s'est fixé dans les acides gras impairs presque uniquement sous forme de molécules non transformées et le

11% dans les acides pairs après déméthylation. Rappelons cependant [7] qu'une quantité 2 à 3 fois plus grande de propionate a donné naissance à des acides gras pairs après passage par le méthylmalonate et le succinate, et cela même si seules des traces de propionate marqué sont données à l'animal. Si le propionate est abondant dans le régime, on doit supposer que cette voie est suivie par la grande majorité des molécules, puisque les acides gras impairs ne se forment qu'en quantités modérées.

Ce travail a été effectué grâce à une subvention du FONDS NATIONAL SUISSE DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE, Berne.

SUMMARY

Mice received during 10 days a diet containing 3,7% of margaric acid or 3,7% of pentadecanoic acid. The concentration of these two acids reached respectively an average of 3,3% and 10%.

Another group of mice were given 250 μ c and 300 μ c of [1-¹⁴C]-propionate intravenously. They were killed 12 minutes after the injection and myristic, pentadecanoic, pentadecenoic, palmitic, palmitoleic, margaric, margaroleic, stearic and oleic acids were isolated and their specific activity as well as the specific activity of their carboxyl group were measured.

The results show that 89% of the [1-¹⁴C]-propionate recovered in the total fatty acids is incorporated in the odd-numbered fatty acids (mainly in the C_{n-2}) whereas 11% of the radioactivity is incorporated in the even-numbered fatty acids, probably after demethylation.

Institut de Biochimie médicale
de l'Université de Genève

BIBLIOGRAPHIE

- [1] S. J. WAKIL, *J. Lipid Res.* 2, 1 (1961).
- [2] M. G. HORNING, D. B. MARTIN, A. KARMEN & P. R. VAGELOS, *J. biol. Chemistry* 236, 669 (1961).
- [3] S. B. TOVE, *Nature* 184, 1647 (1959).
- [4] M. FLAVIN & S. OCHOA, *J. biol. Chemistry* 229, 965 (1957).
- [5] P. FAVARGER & J. GERLACH, *Helv. physiol. Acta* 18, 328 (1960).
- [6] P. CADY, S. ABRAHAM & I. L. CHAIKOFF, *Biochim. biophysica Acta* 70, 118 (1963).
- [7] P. FAVARGER & J. GERLACH, *Bull. Soc. Chim. biol.* 42, 327 (1960).
- [8] G. A. HOWARD & A. J. P. MARTIN, *Biochem. J.* 46, 532 (1950).
- [9] J. A. CROWDER & R. J. ANDERSON, *J. biol. Chemistry* 97, 393 (1932).
- [10] H. S. ANKER, *J. biol. Chemistry* 194, 177 (1952).
- [11] A. ENGELHORN & P. FAVARGER, *Helv. physiol. Acta* 19, 16 (1961).
- [12] R. KUHN & F. L'ORZA, *Z. angew. Chem.* 44, 847 (1931).
- [13] A. T. JAMES, G. PEETERS & M. LAURYSENS, *Biochem. J.* 64, 726 (1956).
- [14] E. I. MASORO & F. PORTER, *J. Lipid Res.* 2, 177 (1961).
- [15] D. D. FELLER & E. FEIST, *J. biol. Chemistry* 228, 275 (1957).
- [16] P. FAVARGER & J. GERLACH, in «The Enzymes of lipid metabolism», p. 273, Proc. of the 6th Conference on the Biochemistry of Lipids, Marseille 1960, ed. P. Desnuelle, Pergamon Press, Oxford, London, New York, Paris 1961.