

RECHERCHES SUR LE MÉTABOLISME DES GLYCÉRIDES ET DES PHOSPHOLIPIDES DANS LE PARENCHYME DE POMME—III.

MISE EN ÉVIDENCE DIRECTE DE CERTAINES TRANSFORMATIONS ENZYMATIQUES

P. MAZLIAK

Laboratoire de Physiologie Végétale, Faculté des Sciences de Reims, Marne, France

(Received 3 December 1966)

Abstract—When labelled diglycerides are furnished to fragments of apple parenchyma, the radioactivity is recovered mainly in phospholipids and triglycerides. When labelled phosphatidic acid is furnished to the tissue, the radioactivity is recovered mainly in neutral lipids and phosphatidylcholine. When labelled phosphatidylcholine is furnished to the tissue the greater part of the radioactivity remains in the furnished phospholipid. These results suggest that the metabolic sequence: phosphatidic acid→diglyceride→phospholipids or triglycerides, is effectively working in entire cells of apple parenchyma.

AU COURS de précédentes recherches sur le métabolisme des lipides dans le parenchyme de pomme¹ nous avons avancé certaines hypothèses concernant la synthèse de ces lipides dans le tissu étudié, compte tenu des variations de la radioactivité des différents corps après fourniture de divers précurseurs radioactifs.

Deux types de composés nous ont paru jouer essentiellement un rôle d'intermédiaire dans la synthèse des différents lipides: il s'agit de l'*acide phosphatidique* et des *diglycérides*.

Nous décrivons dans cet article quelques expériences mettant directement en évidence la transformation de ces précurseurs en d'autres catégories lipidiques. Nous avons aussi mis directement en évidence le catabolisme des lécithines dans le parenchyme de pomme.

RESULTATS ET DISCUSSION

Synthèse des Lipides à Partir de Diglycérides Marqués

Lorsque des fragments de parenchyme de pomme sont incubés pendant 16 hr dans du tampon phosphate (pH = 7,73) en présence de diglycérides marqués au ¹⁴C, de glucose et d'ATP, on retrouve après extraction des lipides, du carbone radioactif dans d'autres catégories que les diglycérides (Tableau 1 et Fig. 1). On constate que la plus grande part de la radioactivité récupérée se retrouve au niveau des phospholipides (55,4%). Les triglycérides et les diglycérides renferment chacun 19% environ de la radioactivité totale des lipides. Des monoglycérides marqués apparaissent enfin mais une faible part de la radioactivité (seulement 6%) se retrouve dans cette classe. Ces résultats établissent donc que les diglycérides fournis ont été incorporés dans le parenchyme de pomme puis se sont engagés dans l'une des trois voies métaboliques suivantes:

- (a) diglycéride + choline phosphorylée → phosphatidylcholine
(ou éthanamine, sérine, etc....) (ou éthanamine, etc....)
- (b) diglycéride + 1 reste d'acide gras → triglycéride
- (c) diglycéride → monoglycéride + 1 reste d'acide gras

¹ P. MAZLIAK, *Phytochem.* 6, 941 (1967).

TABLEAU 1. MÉTABOLISME DE DIFFÉRENTS LIPIDES DANS LE PARENCHYME DE POMME ÉTUDIÉ À L'AIDE DE DIVERS PRÉCURSEURS MARQUÉS AU CARBONE 14

| Précurseur fourni | Composés lyso | % de la radioactivité totale récupérée dans les différents lipides | | | | | | | | | |
|--|---------------|--|------|-----|------|-----|-----|------|-------|------|-------|
| | | Phospholipides | | | | | | | | | |
| | | PI* | PC | PG | PS | PE | PGP | PA | Mono. | Dig. | Trig. |
| Diglycérides- ¹⁴ C | | | | | 55,4 | | | | 6,8 | 19,3 | 18,4 |
| Acide phosphatidique- ¹⁴ C | 0,8 | 1,6 | 26,7 | 6,7 | — | 8,8 | 2,3 | 25,7 | 27,4 | | |
| Phosphatidylcholine- ¹⁴ C (exp. No. 1) | 1,2 | 1,0 | 47,6 | 8,2 | — | 5,3 | — | 9,6 | 27,0 | | |
| (exp. No. 2) | 0,4 | 0,6 | 51,2 | 8,2 | — | 6,7 | — | 10,6 | 22,4 | | |

* Abréviations utilisées: PI: phosphatidylinositol; PC: phosphatidylcholine; PG: phosphatidylglycérol; PS: phosphatidylsérine; PE: phosphatidyléthanolamine; PGP: diphosphatidylglycérol; PA: acide phosphatidique; dig.: diglycérides; trig.: triglycérides; mono.: mono-glycérides.

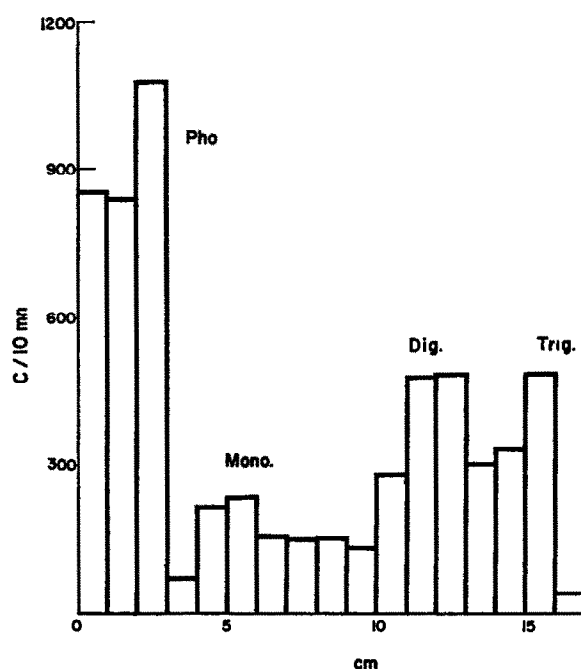


FIG. 1. DISTRIBUTION DE LA RADIOACTIVITÉ DANS LES DIVERSES CLASSES DE LIPIDES (SÉPARÉES SUR PAPIER SILICÉ) DE FRAGMENTS DE PARENCHYME AYANT MÉTABOLISÉ DES DIGLYCÉRIDES MARQUÉS AU ^{14}C .

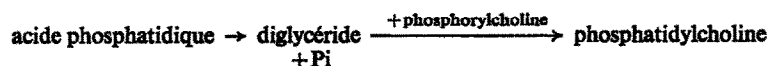
En abscisse: distance à l'origine du chromatogramme. Mêmes abreviations qu'au Tableau 1.

Le faible pourcentage de radioactivité retrouvé au niveau des monoglycérides permet de penser que la voie (c) n'est pas très importante puisque les monoglycérides ne s'accumulent pas. Par contre la voie (a) semble la plus importante pour la transformation des diglycérides, puisque c'est dans les phospholipides que se retrouve la plus grande part de la radioactivité.

Synthèse des Lipides à Partir de l'Acide Phosphatidique Marqué

Lorsque les fragments de parenchyme de pomme sont incubés pendant 16 hr, dans du tampon phosphate (pH=7,73) en présence de glucose, d'ATP et d'acide phosphatidique marqué au ^{14}C , on retrouve après extraction des lipides, du carbone radioactif ailleurs que dans ce seul phospholipide (Tableau 1 et Fig. 2).

On constate que seulement 25,7% de la radioactivité incorporée est demeurée dans le phospholipide fourni qui par conséquent a été incorporé et métabolisé par le tissu. Une grande part (27%) se retrouve au niveau de la phosphatidylcholine qui est dans le tissu le composé phospholipidique le plus activement synthétisé.¹ La formation de cette lécithine marquée peut s'expliquer en supposant que se déroule dans le parenchyme la voie de synthèse suivante (décrite dans divers tissus de mammifères):



La deuxième réaction de ce schéma est la réaction (a) du paragraphe précédent, et nous avons vu que cette réaction se déroulait activement dans le parenchyme.

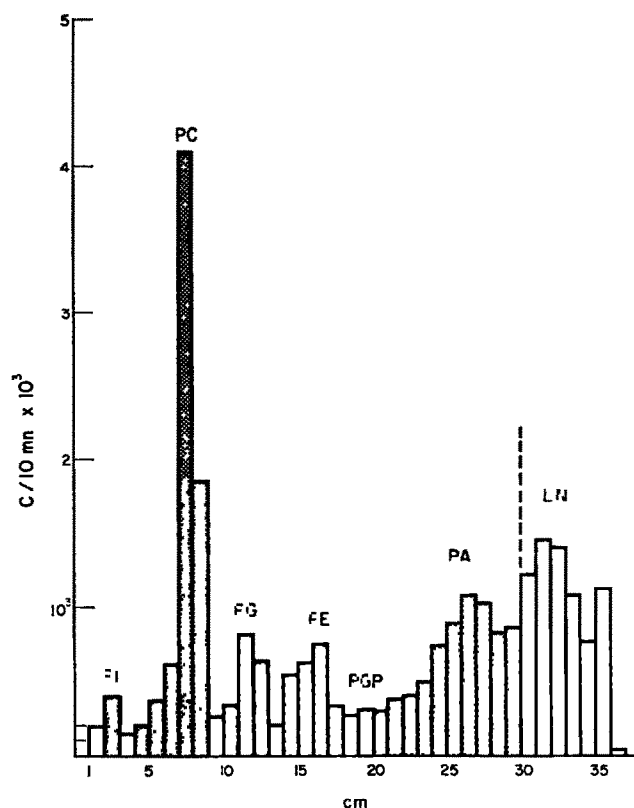


FIG. 2. DISTRIBUTION DE LA RADIOACTIVITÉ DANS LES DIVERS PHOSPHOLIPIDES DE FRAGMENTS DE PARENCHYME AYANT MÉTABOLISÉ DE L'ACIDE PHOSPHATIDIQUE MARQUÉ AU ^{14}C .

En abscisse: distance à l'origine du chromatogramme (sur papier silicé). Mêmes abreviations qu'au Tableau 1.

Cependant un catabolisme possible de l'acide phosphatidique par d'éventuelles phospholipases du parenchyme doit également être envisagé, donnant la réaction:



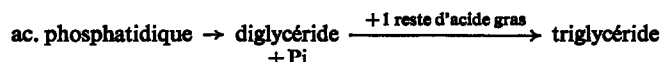
Ce reste d'acide gras libéré (marqué par le ^{14}C) pourrait alors être intégré dans une molécule lipidique en voie de synthèse. Cette deuxième possibilité ne peut être exclue par nos résultats. On remarque néanmoins que les composés "lyso"—présents en début de chromatogramme—sont très faiblement marqués, alors que la réaction discutée conduirait à leur accumulation. On ne peut cependant exclure l'élimination de ces lysophosphatides par une réaction du type suivant:



Van Deenen² a décrit de telles réactions, se déroulant dans divers tissus de mammifères.

² L. L. M. VAN DEENEN, *J. Am. Oil Chemists' Soc.* **43**, 286 (1966).

La synthèse de *lipides neutres* marqués à partir d'acide phosphatidique marqué est assez importante. On récupère 27,4% de la radioactivité totale des lipides dans cette catégories. C'est le plus fort pourcentage observé, ce qui confirme bien l'existence de la voie proposée:



La deuxième réaction est effectivement observée lorsqu'on fournit des diglycérides marqués au tissu. C'est la voie (b) du paragraphe précédent.

Catabolisme de la Phosphatidylcholine Marquée

Pour mettre en évidence le catabolisme des phospholipides par le parenchyme de pomme, on a fourni à des fragments de tissu, dans une solution glucosée, de la phosphatidylcholine marquée au ^{14}C . Après 16 hr d'incubation les lipides du tissu sont extraits et la radioactivité de chaque classe lipidique est mesurée (Tableau 1). On retrouve encore, après ce temps, 50% de la radioactivité au niveau du phospholipide fourni qui a donc été incorporé par le tissu.

Très peu de la radioactivité perdue se retrouve au niveau des composés lyso. 25% de la radioactivité se retrouve au niveau des phospholipides et autant au niveau des lipides neutres. Ces résultats contrastent avec ceux obtenus lorsqu'on fournit au tissu des diglycérides ou de l'acide phosphatidique marqués. Ces derniers types de molécules s'engagent en grande partie, d'après les résultats rapportés ci-dessus, dans des processus anaboliques alors que la molécule de lécithine est essentiellement dégradée par le tissu, par le jeu normal du renouvellement.

Les résultats suggèrent que dans le parenchyme de pomme, les acides gras ou les fragments acétate provenant du catabolisme des phospholipides rejoignent le pool métabolique des acides gras ou de l'acétate disponibles et sont ensuite repris dans diverses synthèses, notamment dans celles concernant les lipides neutres.

PARTIE EXPERIMENTALE

L'extraction, la séparation et la comptage de la radioactivité des lipides ont été effectués par les méthodes décrites dans le précédent article.¹

Obtention de Lipides Marques (Diglycérides- ^{14}C , Acide Phosphatidique- ^{14}C , Phosphatidylcholine- ^{14}C)

Des fragments de parenchyme de pommes sont incubés pendant quatre heures dans la solution suivante: eau distillée, acétate- $1\text{-}^{14}\text{C}$ (1 mCi pour 100 ml), Cl_2Mg (0,1 mM), $\text{ATP}(\text{Na})_4$ (0,1 mM), acétate de manganèse (0,1 mM) et glucose (6%).

Après 4 hr, les lipides totaux sont extraits puis séparés sur papier silicé en diverses catégories.¹ La révélation est faite par autoradiographie. La bande de papier correspondant à la catégorie recherchée est découpée.

Fourniture du Précurseur Lipidique Marque

Les fragments de chromatogrammes, découpés en petites bandes de 0,25 cm sur 1 cm, sont mis à tremper dans une solution ayant la composition suivante:

10 ml de tampon phosphate (pH=7,73), glucose (6%), $\text{ATP}(\text{Na})_4$ (0,1 mM). 5 g de fragments de parenchyme sont alors mis à incuber dans cette solution, au contact des morceaux de chromatogramme, pendant 16 hr. Suffisamment de lipides radioactifs se détachent des chromatogrammes pour qu'on puisse ensuite suivre leur métabolisation par le parenchyme, à l'aide d'autoradiographies de chromatogrammes et de comptages de la radioactivité par scintillation liquide.