

DÉSULFINICATION ET DÉCARBOXYLATION DE L'ACIDE L-CYSTÉINE-SULFINIQUE CHEZ L'ANIMAL VIVANT

par

BERNADETTE BERGERET,

FERNANDE CHATAGNER ET CLAUDE FROMAGEOT

Laboratoire de Chimie biologique de la Faculté des Sciences, Paris (France)

Utilisant des extraits de cet organe, on a vu¹ qu'il existe dans le foie des animaux supérieurs deux systèmes enzymatiques agissant sur l'acide L-cystéine-sulfinique sans l'intervention d'oxygène: une désulfinicase à coenzyme facilement dissociable, provoquant la formation d'alanine et de SO_2 , et une décarboxylase, à coenzyme beaucoup moins facilement dissociable que le précédent, provoquant la formation d'hypotaurine et de CO_2 . Il nous a paru utile de rechercher si ces systèmes fonctionnent chez l'animal vivant. Pour ce faire, nous avons injecté de l'acide cystéine-sulfinique à des rats et avons recherché la formation éventuelle d'alanine ou d'hypotaurine, dans le foie des animaux sacrifiés après un temps convenable. Nous avons pu constater ainsi que les réactions en question se retrouvent très nettement chez l'animal vivant.

Les rats (souche Wistar) pèsent entre 135 et 185 g, et leur foie entre 5.0 et 7.0 g. On choisit les animaux témoins de poids aussi proche que possible de celui des animaux recevant l'acide cystéine-sulfinique. Les animaux sont préalablement soumis à un jeûne de 18 à 24 heures; ils sont ensuite anesthésiés à l'éther, puis les rats témoins reçoivent par injection intraveineuse (patte ou verge) chacun 3 ml d'une solution de NaCl à 0.9%, alors que les rats traités reçoivent de la même façon chacun 3 ml d'une solution de NaCl à 0.9%, contenant en outre 3 millimol de L-cystéine sulfinique de sodium. Cette quantité d'acide cystéine-sulfinique correspond à la dose optimum d'azote aminé que l'on peut injecter à ces animaux². Après une demi-heure, on sacrifie les animaux par section de la carotide; on prélève le foie que, après pesée, on plonge dans cinq fois son volume d'eau bouillante; on l'y maintient 10 minutes puis, dans cette eau, on le broie au Turmix; on ajoute ensuite de l'eau bouillante de telle sorte que le volume total de l'eau soit dix fois le volume initial du foie. La suspension ainsi obtenue est maintenue encore pendant 10 minutes au bain-marie bouillant, puis est centrifugée. Selon la technique d'AWAPARA³, le liquide est additionné de cinq fois son volume d'alcool absolu, et laissé 24 heures à la glacière. Après une nouvelle centrifugation, le liquide est additionné de trois fois son volume de chloroforme, et agité; après décantation, on obtient deux couches. La couche aqueuse, jaune, est concentrée sous pression réduite pour éliminer l'alcool et le chloroforme, puis elle est amenée à 5 ml.

De cette solution, on prélève une première fraction de 2.5 ml que l'on chromatographie sur une colonne de 5 g d'alumine acide⁴. Le filtrat est recueilli et concentré à 2 ml. Sur ce filtrat, on dose l'azote aminé neutre total (VAN SLYKE) et l'alanine⁵. Sur la deuxième fraction, constituée par les 2.5 ml restant, on dose l'azote aminé total. En outre, on prélève des échantillons de chacune de ces fractions que l'on chromatographie sur papier (Whatman no. 1, phénol à 1% de NH_3).

D'autre part, dans un second groupe d'expériences, on a dosé seulement l'alanine; pour le calcul des moyennes, on a joint aux résultats de ce second groupe d'expériences, les résultats concernant l'alanine obtenus dans les expériences précédentes. Les résultats sont donnés dans les Tableaux I et II, ainsi que par la Fig. 1.

Il apparaît ainsi que les quantités d'azote aminé non protéique non neutre, d'azote aminé non protéique neutre autre que l'alanine, et d'alanine sont nettement plus grandes dans le foie des animaux ayant reçu de l'acide cystéine-sulfinique que dans celui des

TABLEAU I
ALANINE ET AZOTE AMINÉ NEUTRE, PAR GRAMME DE FOIE FRAIS

Poids du foie (g)	Ac. cystéine-sulfinique	N aminé non protéique total (μmol)	N aminé neutre total (μmol)	Alanine (μmol)	N aminé neutre autre que l'alanine (μmol)
7.0	o	12.6	6.90	1.44	5.46
6.3	o	20.8	9.15	1.99	7.16
6.9	+	36.7	22.90	3.42	19.5
7.9	+	33.4	19.40	3.53	15.9
6.0	+	47.2	22.5	2.15	20.4

TABLEAU II
μMOL ALANINE PAR GRAMME DE FOIE FRAIS

	Rats témoins (9)	Rats traités (5)
Moyenne	2.31	4.06
Déviation standard	0.59	1.74
Valeurs extrêmes	1.44 et 3.24	2.15 et 7.00

animaux témoins. Les chromatogrammes montrent que les accroissements observés sont dus essentiellement, pour l'azote aminé non neutre à l'acide cystéine-sulfinique, et pour

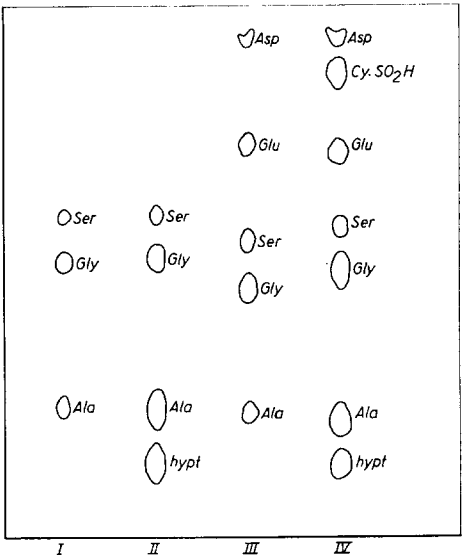


Fig. 1. Schéma des chromatogrammes obtenus avec les diverses solutions décrites dans le texte.

- I. Rat témoin, filtrat après passage sur alumine.
- II. Rat traité, filtrat après passage sur alumine.
- III. Rat témoin, solution avant passage sur alumine.
- IV. Rat traité, solution avant passage sur alumine.

l'azote aminé neutre autre que l'alanine à l'hypotaurine. Mais les quantités d'acide cystéinesulfinique, d'hypotaurine et d'alanine retrouvés comme correspondant soit à l'acide cystéine-sulfinique non encore transformé, soit à ses produits de transformation, ne représentent qu'une faible fraction, de l'ordre de 5 %, de l'acide cystéine-sulfinique introduit. Sans qu'il soit possible de faire de calcul précis, on peut, en effet, évaluer cependant pour un animal moyen dont le foie pèserait 6 à 7 g, la quantité d'acide cystéine-sulfinique retrouvé dans cet organe, à 60 μmol., et celles de l'hypotaurine et de l'alanine à 80 et à 11 μmol respectivement, soit 150 μmol sur les 3000 introduites. La quantité d'hypotaurine est très supérieure à celle de l'alanine, soit que l'action de la décarboxylase soit plus intense que celle de la désulfinicase, soit que l'alanine formée disparaisse plus vite que l'hypotaurine, entraînée dans l'ensemble du métabolisme. Les chromatogrammes ne permettent de déceler la présence ni de taurine dont la tache se confondrait ici avec celle du glycocolle, ni d'acide cystéique.

Il est intéressant de rapprocher de ces

résultats d'autres, obtenus par AWAPARA, dans des expériences un peu différentes, et qui, encore inédits, nous ont été aimablement communiqués par leur auteur, avec l'autorisation d'en faire état. Injectant à des rats de la cystéine, AWAPARA a constaté, entre autres choses, la formation d'une substance donnant par chromatographie la même tache que nous avons attribuée à l'hypotaurine. Traitée par l'eau oxygénée, la substance responsable de cette tache se transforme intégralement en taurine, ce qui est une nouvelle preuve de la structure de l'hypotaurine.

RÉSUMÉ

L'injection d'acide L-cystéine-sulfinique par voie intraveineuse à des rats, est suivie de la formation, dans le foie, d'alanine et d'hypotaurine. La désulfinicase et la décarboxylase étudiées précédemment *in vitro*, jouent donc un rôle actif chez l'animal vivant.

SUMMARY

The intravenous injection of L-cysteine sulphinic acid in rats is followed by the formation, in the liver, of alanine and hypotaurine. The desulphinicase and decarboxylase studied previously *in vitro*¹ play an active role in the living animal.

ZUSAMMENFASSUNG

Die intravenöse Injektion von L-Cysteinsulfinsäure bei Ratten hat die Bildung von Alanin und Hypotaurin in der Leber zur Folge. Die Desulfinicase und die Decarboxylase welche früher *in vitro* untersucht worden waren, spielen also im lebenden Tier eine aktive Rolle.

BIBLIOGRAPHIE

- ¹ B. BERGERET ET F. CHATAGNER, *Biochim. Biophys. Acta*, 9 (1952) 141.
- ² F. FRIEDBERG ET D. M. GREENBERG, *J. Biol. Chem.*, 168 (1947) 411.
- ³ J. AWAPARA, *Arch. Biochem.*, 19 (1948) 172.
- ⁴ C. FROMAGEOT, M. JUTISZ, ET E. LEDERER, *Biochim. Biophys. Acta*, 2 (1948) 487.
- ⁵ B. ALEXANDER ET G. SELIGMAN, *J. Biol. Chem.*, 159 (1945) 9.

Reçu le 24 octobre 1951