

entraîne une forte diminution du taux de décarboxylation de l'acide L-cystéine-sulfinique, cette même hormone ne provoque, d'une manière générale, aucune modification sensible du taux de la dopadécarboxylase; cependant, chez certains groupes d'animaux on observe une augmentation de très faible amplitude de l'activité enzymatique.

Aucune action nette de l'oestradiol *in vitro* sur la décarboxylase de l'acide cystéinesulfinique n'a pu être mise en évidence.

BIBLIOGRAPHIE

- ¹ F. CHATAGNER ET B. BERGERET, *Bull. soc. chim. biol.*, 38 (1956) 1159.
- ² F. CHATAGNER ET B. BERGERET, *Compt. Rend.*, 244 (1957) 1322.
- ³ G. H. SLOANE STANLEY, *Biochem. J.*, 45 (1949) 556.
- ⁴ B. BERGERET, J. LABOUESSE ET F. CHATAGNER, *Bull. soc. chim. biol.*, 40 (1958) 1923.
- ⁵ F. CHATAGNER, B. BERGERET ET J. LABOUESSE, *Biochim. Biophys. Acta*, 35 (1959) 231.

INFLUENCE D'HORMONES OVARIENNES ET THYROÏDIENNES SUR DEUX DÉCARBOXYLASES D'ACIDES AMINÉS DANS LE FOIE DU RAT. MISE EN ÉVIDENCE DE L'EXISTENCE DE DEUX RÉGULATIONS INDÉPENDANTES

FERNANDE CHATAGNER, BERNADETTE BERGERET ET JULIE LABOUESSE

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

(Reçu le 27 novembre, 1958)

SUMMARY

The influence of ovarian and thyroid hormones on two amino acid decarboxylases in rat liver. Existence of two independent control mechanisms

Injections of physiological doses of oestradiol strongly diminish L-cysteinsulphinic acid decarboxylation and slightly increase L-3,4-dihydroxyphenylalanine decarboxylation in the liver of thyroidectomised rats. The injection of physiological doses of thyroxine reduces both decarboxylations in the female rat following ovariectomy and thyroidectomy. Thus for the two enzymes studied there are two independent types of hormonal regulation.

INTRODUCTION

Des expériences récentes¹⁻³ ont montré que, dans le foie du rat, deux décarboxylases d'acides aminés sont sensibles, à des degrés divers, aux hormones ovarielles. Dans le cas de la décarboxylation de l'acide L-cystéinesulfinique, le niveau de la réaction

est fortement diminué par des injections d'oestradiol, fortement augmenté après ovariectomie et, chez la femelle, diminué après la puberté. Dans le cas de la décarboxylation de la L-3-4 dihydroxyphénylalanine (dopa), l'action des hormones ovaries semblent s'exercer en sens contraire à celui observé pour la décarboxylation de l'acide cystéinesulfinique et d'une façon beaucoup moins marquée: le taux de décarboxylation est significativement plus grand chez la femelle que chez le mâle bien que les différences soient de faible amplitude, des injections d'oestradiol entraînent dans tous les cas une légère augmentation de la décarboxylation quoique généralement les différences ne soient pas significatives. Toutefois l'ovariectomie ne provoque aucune modification sensible de la réaction.

D'autres expériences⁴⁻⁶ ont mis en évidence l'influence des hormones thyroïdiennes sur les deux décarboxylases du foie; les activités enzymatiques sont diminuées par des injections de fortes doses de thyroxine, augmentées après thyroïdectomie et, dans ce dernier cas, ramenées à un niveau normal par des injections de doses physiologiques de thyroxine; soulignons que les hormones thyroïdiennes, contrairement aux hormones ovaries, provoquent des modifications très nettes et de même sens sur les deux enzymes étudiés.

Étant donné les interrelations entre sécrétion thyroïdienne et sécétiron ovarienne, on pouvait se demander si les deux régulations observées sont déclenchées l'une par l'autre ou si, en dehors des influences réciproques des oestrogènes et des hormones thyroïdiennes sur la thyroïde et l'ovaire, il existe *in vivo* des actions indépendantes de la thyroxine et de l'oestradiol sur les deux décarboxylases considérées. Puisque la thyroxine agit sur la décarboxylation de l'acide cystéinesulfinique chez la femelle ovariectomisée⁵, il semble déjà possible d'affirmer que, dans le cas de cet animal et de cet enzyme, l'action des hormones thyroïdiennes ne fait pas intervenir la sécrétion ovarienne. Les résultats du présent travail montrent que dans tous les groupes d'animaux examinés et pour les deux décarboxylases étudiées il existe une action de la thyroxine indépendante de la présence des ovaires; inversement il existe également une action de l'oestradiol indépendante de la présence de la thyroïde.

MÉTHODES

Les conditions expérimentales de traitement des animaux et de mesure des vitesses de décarboxylation sont, en grande partie, décrites dans un article précédent⁶. Lorsque les animaux sont ovariectomisés-thyroïdectomisés, les deux opérations sont faites successivement au cours de la même anesthésie. Les décarboxylations sont généralement mesurées trois semaines et, dans certains cas, une semaine après les opérations. Les injections d'oestradiol (10 µg de benzoate d'oestradiol en solution dans l'huile neutralisée) ou de thyroxine (10 µg de DL-thyroxine en solution physiologique) sont faites chaque jour pendant les 8 à 12 derniers jours avant les dosages.

RÉSULTATS

Influence de l'injection d'oestradiol sur les deux décarboxylases dans le foie de l'animal thyroïdectomisé.

Rat mâle et rat femelle. Les résultats obtenus sont rapportés dans le Tableau I.

Aussi bien chez le mâle que chez la femelle thyroïdectomisés, la décarboxylation

TABLEAU I

INFLUENCE D'INJECTIONS D'OESTRADIOL SUR LES DÉCARBOXYLATIONS DE L'ACIDE CYSTÉINE-SULFINIQUE ET DE LA DOPA PAR LE FOIE DU RAT THYROÏDECTOMISÉ

Les rats mâles sont thyroïdectomisés 3 semaines avant les dosages, les injections quotidiennes de 10 µg d'oestradiol sont effectuées pendant les 12 derniers jours. Les rats femelles sont thyroïdectomisés une semaine avant les dosages, les injections quotidiennes de 10 µg d'oestradiol sont effectuées pendant cette semaine.

	Mâles thyroïdectomisés		Femelles thyroïdectomisées	
	Témoins	Injectés	Témoins	Injectées
Nombre d'animaux	8	8	8	8
Poids des animaux au début des injections (en g)	149 ± 5*	145 ± 9	158 ± 3	192 ± 1
Différence de poids entre le début et la fin des injections (en g)	+ 11 ± 3	+ 3 ± 2 0.02 < P < 0.05**	+ 4.5 ± 4	- 3 ± 5
Poids des foies (en g)	5.00 ± 0.25	5.00 ± 0.35	5.40 ± 0.40	6.60 ± 0.35 0.02 < P < 0.05
Q _{co₂} ACS §	{ — PLP *** + PLP	7.12 ± 0.86 7.40 ± 0.88 0.02 < P < 0.05	4.33 ± 0.62 4.62 ± 0.66 0.02 < P < 0.05	3.51 ± 0.53 3.73 ± 0.53 0.001 < P < 0.01 1.20 ± 0.25 1.30 ± 0.26 0.001 < P < 0.01
Q _{co₂} dopa §	{ — PLP + PLP	3.75 ± 0.29 5.77 ± 0.32 0.05 < P < 0.10	4.10 ± 0.10 6.57 ± 0.20 P > 0.20	— — —
Modification de la décarboxylation de ACS (%)	{ — PLP + PLP	— 39 — 38	—	— 66 — 65
Modification de la décarboxylation de la dopa (%)	{ — PLP + PLP	(+ 9) §§ (+ 14)	—	—

* Déviation standard de la moyenne.

** P = facteur de probabilité, par rapport aux animaux témoins correspondants.

*** PLP = phosphate de pyridoxal.

§ ACS = acide L-cystéinesulfinique; dopa = L-dihydroxyphénylalanine.

§§ Les chiffres entre parenthèses correspondent à des différences statistiquement non significatives et ne sont donnés qu'à titre d'indication.

de l'acide cystéinesulfinique est significativement diminuée (38 % chez le mâle, 65 % chez la femelle) à la suite d'injections de doses physiologiques d'oestradiol. Au contraire, dans le cas de la dopa décarboxylase, il n'y a aucune diminution d'activité mais une tendance à l'augmentation dans le foie du rat mâle thyroïdectomisé et traité par l'oestradiol. On voit donc que l'oestradiol agit sur les deux décarboxylases chez l'animal thyroïdectomisé dans le même sens que chez l'animal normal¹³.

Rat ovariectomisé. Il ressort tout d'abord des chiffres du Tableau II que chez la femelle ovariectomisée-thyroïdectomisée les niveaux des deux décarboxylases sont

TABLEAU II

INFLUENCE D'INJECTIONS D'OESTRADIOL SUR LES DÉCARBOXYLATIONS DE L'ACIDE CYSTÉINE-SULFINIQUE ET DE LA DOPA PAR LE FOIE DU RAT FEMELLE OVARIECTOMISÉ ET DU RAT FEMELLE OVARIECTOMISÉ-THYROÏDECTOMISÉ

Les rats sont ovariectomisés ou ovariectomisés-thyroïdectomisés 3 semaines avant les dosages, les injections quotidiennes de 10 µg d'oestradiol sont effectuées pendant les 12 derniers jours.

	Femelles ovariectomisées		Femelles ovariectomisées-thyroïdectomisées		
	Témoins	Injectées	Témoins	Injectées	
Nombre d'animaux	8	9	8	7	
Poids des animaux au début des injections (en g)	155 ± 4 *	147 ± 6	147 ± 5	139 ± 5	
Différence de poids entre le début et la fin des injections (en g)	+ 21 ± 2	+ 1 ± 2 P < 0.001 **	+ 8 ± 4	0 ± 2	
Poids des foies (en g)	6.30 ± 0.30	6.45 ± 0.35	5.15 ± 0.20	5.55 ± 0.20	
Q _{CO₂} ACS §	{ — PLP *** + PLP	1.71 ± 0.29 2.08 ± 0.26	0.50 ± 0.18 0.57 ± 0.18 0.001 < P < 0.01 P < 0.001	3.95 ± 0.68 4.15 ± 0.69 0.001 < P < 0.01 0.01 < P < 0.02	1.55 ± 0.52 1.73 ± 0.57 0.01 < P < 0.02 0.01 < P < 0.02
Q _{CO₂} dopa §	{ — PLP + PLP	2.28 ± 0.11 4.75 ± 0.18	2.70 ± 0.14 5.35 ± 0.32 0.02 < P < 0.05 0.10 < P < 0.20	3.32 ± 0.31 5.17 ± 0.28 0.001 < P < 0.01 0.2 < P < 0.3	4.02 ± 0.32 6.90 ± 0.33 0.10 < P < 0.20 0.001 < P < 0.01
Modification de la décarboxylation de ACS (%)	{ — PLP + PLP	— 71 — 73	— 63	— 61	
Modification de la décarboxylation de la dopa (%)	{ — PLP + PLP	+ 19 (+ 13)	(+ 21) §§	+ 33	

* Déviation standard de la moyenne.

** P = facteur de probabilité, par rapport aux animaux témoins correspondants.

*** PLP = phosphate de pyridoxal.

§ ACS = acide L-cystéine-sulfinique; dopa = L-dihydroxyphénylalanine.

§§ Les chiffres entre parenthèses correspondent à des différences statistiquement non significatives et ne sont donnés qu'à titre d'indication.

§§§ P₀ = facteur de probabilité, par rapport à l'animal ovariectomisé.

significativement plus élevés que ceux observés chez la femelle ovariectomisée, ce qui prouve que l'effet de la thyroïdectomie est, au moins en partie, indépendant de celui de l'ovariectomie. D'autre part l'injection d'oestradiol aux deux groupes d'animaux fait diminuer très fortement (62 à 72 %) la décarboxylation de l'acide cystéine-sulfinique et cette diminution est du même ordre de grandeur chez la femelle ovariectomisée et chez la femelle ovariectomisée-thyroïdectomisée. En ce qui concerne la décarboxylation de la dopa, l'injection d'oestradiol provoque une augmentation de l'activité dans les deux groupes d'animaux; cependant, les résultats obtenus ne

donnent pas toujours des différences significatives, ce qui est sans doute dû à l'action peu marquée de l'oestradiol donnant de faibles écarts entre les animaux témoins et les animaux injectés et peut-être aussi au petit nombre d'animaux utilisés.

On retrouve donc ici des résultats analogues à ceux décrits plus haut : l'injection d'oestradiol fait diminuer fortement la décarboxylation de l'acide cystéinesulfinique et tend à augmenter celle de la dopa chez l'animal thyroïdectomisé. Il semble ainsi qu'il existe une régulation par l'oestradiol d'amplitude différente pour ces deux enzymes mais toujours indépendante des hormones thyroïdiennes.

Influence de l'injection de thyroxine sur les deux décarboxylases dans le foie de la femelle ovariectomisée et ovariectomisée-thyroïdectomisée.

On constate, d'après les chiffres du Tableau III, que des injections de 10 µg de

TABLEAU III

INFLUENCE D'INJECTIONS DE THYROXINE SUR LES DÉCARBOXYLATIONS DE L'ACIDE CYSTÉINE-SULFINIQUE ET DE LA DOPA PAR LE FOIE DU RAT FEMELLE OVARIECTOMISÉ ET DU RAT FEMELLE OVARIECTOMISÉ-THYROÏDECTOMISÉ

Les rats sont ovariectomisés ou ovariectomisés-thyroïdectomisés 3 semaines avant les dosages, les injections quotidiennes de 10 µg de thyroxine sont effectuées pendant les 12 derniers jours.

	Femelles ovariectomisées		Femelles ovariectomisées-thyroïdectomisées	
	Témoins	Injectées	Témoins	Injectées
Nombre d'animaux	8	7	8	9
Poids des animaux au début des injections (en g)	155 ± 4 *	160 ± 4	147 ± 5	144 ± 5
Différence de poids entre le début et la fin des injections (en g)	+ 21 ± 2	+ 21 ± 2	+ 8 ± 4	+ 11 ± 4
Poids des foies (en g)	6.30 ± 0.30	6.80 ± 0.20	5.15 ± 0.20	5.60 ± 0.30
Qco ₂ ACS §	— PLP *** + PLP	1.71 ± 0.29 2.08 ± 0.26	1.69 ± 0.53 1.87 ± 0.54	3.95 ± 0.68 4.15 ± 0.69
Qco ₂ dopa §	— PLP + PLP	2.28 ± 0.11 4.75 ± 0.18	2.26 ± 0.10 4.41 ± 0.20	3.32 ± 0.31 6.90 ± 0.33
Modification de la décarboxylation de ACS (%)	— PLP + PLP	≈ 0 ≈ 0		— 55 — 53
Modification de la décarboxylation de la dopa (%)	— PLP + PLP	≈ 0 ≈ 0		— 43 — 47

* Déviation standard de la moyenne.

** P = facteur de probabilité, par rapport aux animaux témoins correspondants.

*** PLP = phosphate de pyridoxal.

§ ACS = acide L-cystéinesulfinique; dopa = L-dihydroxyphénylalanine.

thyroxine, dose voisine des doses physiologiques, entraînent chez la femelle ovariectomisée-thyroïdectomisée des diminutions très nettes (de l'ordre de 50 %) des deux décarboxylations alors que des injections identiques ne provoquent aucune modification chez la femelle ovariectomisée non thyroïdectomisée. Ces résultats sont analogues à ceux obtenus chez les femelles normales thyroïdectomisées et non thyroïdectomisées⁶.

On doit souligner que l'on retrouve ici, avec des animaux ovariectomisés-thyroïdectomisés injectés de doses physiologiques de thyroxine le résultat observé déjà chez des animaux ovariectomisés non thyroïdectomisés ayant reçu de fortes quantités de cette hormone⁵, à savoir que l'action de la thyroxine se manifeste indépendamment de la présence des ovaires.

CONCLUSIONS

Le fait essentiel qui ressort des résultats exposés est l'existence de deux régulations hormonales, l'une par les hormones thyroïdiennes, l'autre par les hormones ovariennes, indépendantes l'une de l'autre et agissant sur deux décarboxylases d'acides aminés étudiées dans le foie du rat. On constate en effet que les hormones thyroïdiennes, dont l'action sur les deux décarboxylases a été démontrée, agissent également sur ces deux enzymes dans le cas de la femelle ovariectomisée. On constate aussi que les hormones ovariennes, dont l'influence sur la décarboxylation de l'acide cystéine-sulfinique a déjà été observée, sont actives sur ce même enzyme dans le foie de la femelle thyroïdectomisée. Enfin, en ce qui concerne l'action des hormones ovariennes sur la dopadécarboxylase, on n'observe qu'une tendance à l'augmentation de l'activité enzymatique après injection d'oestradiol, mais le fait important pour l'ensemble des résultats présentés ici est que cette action de l'oestradiol, notée chez l'animal normal, se retrouve chez l'animal privé de thyroïde. Cette indépendance des deux régulations n'exclut pas que les niveaux des deux décarboxylations dans le foie puissent être en partie déterminés par des interférences entre les deux sécrétions hormonales, mais les faits observés montrent que, au moins dans les conditions expérimentales réalisées, cette influence est de faible importance par rapport à celle due aux actions hormonales non liées l'une à l'autre.

REMERCIEMENTS

Nous exprimons nos remerciements au Dr E. BÜLBRING qui a bien voulu nous mettre au courant d'un certain nombre de techniques chirurgicales pendant un séjour à Oxford, rendu possible grâce à une subvention du C.N.R.S. Nous remercions aussi CHRISTIANE PORTEMER pour son efficace collaboration technique.

RÉSUMÉ

Des injections de doses physiologiques d'oestradiol font diminuer fortement la décarboxylation de l'acide L-cystéine-sulfinique et augmenter légèrement celle de la L-3,4-dihydroxyphénylalanine dans le foie du rat thyroïdectomisé. Des injections de doses physiologiques de thyroxine font diminuer les deux décarboxylations chez la femelle ovariectomisée-thyroïdectomisée. Il existe donc pour les deux enzymes étudiés deux régulations hormonales indépendantes l'une de l'autre.

BIBLIOGRAPHIE

- ¹ F. CHATAGNER ET B. BERGERET, *Bull. soc. chim. biol.*, 38 (1956) 1159.
- ² F. CHATAGNER ET B. BERGERET, *Compt. Rend.*, 244 (1957) 1322.
- ³ J. LABOUESSE, F. CHATAGNER ET B. BERGERET, *Biochim. Biophys. Acta*, 35 (1959) 226.
- ⁴ P. HOLTZ, K. STOCK ET E. WESTERMANN, *Arch. exptl. Pathol. Pharmakol.*, 228 (1956) 322.
- ⁵ F. CHATAGNER, B. BERGERET ET J. LABOUESSE, *Biochim. Biophys. Acta*, 30 (1958) 422.
- ⁶ B. BERGERET, J. LABOUESSE ET F. CHATAGNER, *Bull. soc. chim. biol.*, 40 (1958) 1923.

COMPARATIVE STUDIES ON D-GLYCERALDEHYDE-3-PHOSPHATE DEHYDROGENASE

VII. STUDIES ON THE DIGESTIBILITY OF THE ENZYME ISOLATED FROM VARIOUS MAMMALS

G. SZABOLCSI, E. BISZKU AND E. SZÖRÉNYI

Institute of Biochemistry, Hungarian Academy of Sciences, Budapest (Hungary)

(Received December 15th, 1958)

SUMMARY

The action of trypsin on native, PCMB-inactivated and urea-denatured PGADs isolated from different mammals has been studied. It has been found that the native enzymes in the presence of excess coenzyme are fully resistant to the action of trypsin. The native enzymes, which contain only the usual amount of bound coenzyme, are digested at a different rate, the order of decreasing digestibility being: dog > rabbit > swine > beef muscle PGAD. The phenomenon is independent of the species from which the trypsins are isolated. All these PGAD preparations, however, are digested at an *identical* high rate when the dehydrogenases are inactivated with PCMB and again at an identical and still higher rate when denatured with urea.

INTRODUCTION

In a previous paper it has been reported that native, fully active PGADs isolated from beef, swine and rabbit muscle are digested by crystalline beef trypsin at a different rate, the differences disappearing after heat denaturation¹. It has also been found that there is an inverse relation between the enzymic activity of the rabbit PGAD and its digestibility, the native enzyme in the presence of excess coenzyme (DPN) being fully resistant to the action of crystalline trypsin, whereas the PCMB-inactivated enzyme is digested at a much higher rate than the native PGAD, which contains only the usual amount of bound coenzyme².

The following abbreviations are used: PGAD: D-glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase; PGA: D-glyceraldehyde-3-phosphate; PCMB: *p*-chloromercuribenzoate; DPN: diphosphopyridine nucleotide; TCA: trichloroacetic acid.

References p. 241.