

BBA 73042

Spécificité de constitution en acides gras des phospholipides des membranes mitochondriales

Des recherches antérieures ont montré que les membranes externe et interne des mitochondries diffèrent par leur aspect morphologique, leurs activités enzymatiques, et leurs constitutions en phospholipides^{1,2}. Bien que de nombreux travaux aient mis en évidence le rôle important des chaînes paraffiniques des phospholipides dans la structure des membranes, les facteurs en jeu étant leur longueur et leur degré d'insaturation, une seule étude concernant l'ensemble des membranes mitochondriales a été effectuée³.

Il nous a paru intéressant d'étudier de façon comparative la constitution en acides gras des phospholipides totaux et des phospholipides isolés de chacune des deux membranes et de la matrice mitochondriale. Nous avons rapproché ces résultats des données relatives aux membranes endoplasmiques⁴⁻⁶, compte-tenu des ressemblances observées entre la membrane externe des mitochondries et la membrane endoplasmique, tant du point de vue enzymatique qu'en ce qui concerne leur composition en phospholipides.

Les membranes et la matrice mitochondriale du foie de rat sont préparées suivant la technique de LÉVY, TOURY ET ANDRÉ⁷. Les phospholipides sont extraits et purifiés suivant la méthode de FOLCH, LEES ET SLOANE-STANLEY⁸. Les analyses d'acides gras portent, d'une part, sur les phospholipides totaux, d'autre part, sur les différents phospholipides séparés par chromatographie sur couche mince de silicagel G (Merck); 4 mg de phospholipides sont appliqués sur une longueur de 13 cm et sont entraînés par le mélange chloroforme-méthanol-eau (130:50:8, v/v/v). Les phospholipides ainsi séparés sont classés en quatre lots: (1) acides phosphatidiques *plus* cardiolipides, (2) phosphatidyléthanolamines, (3) lécithines *plus* phosphatidylinositols, (4) sphingomyélines *plus* lysolécithines *plus* phosphatidylsérines. La réunion de certains phospholipides est nécessitée par les trop faibles quantités de certains d'entre eux¹. Les phospholipides sont élués de la silice par le mélange chloroforme-méthanol-eau (60:35:5, v/v/v), puis par du méthanol pur.

Les phospholipides sont transméthylés dans du méthanol sulfurique 2% en présence de benzène pour faciliter la solubilisation. La transméthylation dure 2 h pour les différents phospholipides, excepté pour les sphingomyélines (6 h). L'analyse des esters méthyliques des acides gras est effectuée par chromatographie gaz-liquide selon la technique de James et Martin adaptée par PASCAUD⁶ sur deux types de colonnes, sur phase polaire diéthylène-glycol-succinate à 178° et sur phase apolaire Apiezon L à 197°.

Le Tableau I donne les compositions en acides gras des phospholipides des membranes externe et interne et de la matrice. L'examen du Tableau I met en évidence les analogies et les différences de constitution en acides gras des phospholipides des membranes.

(1) Les acides myristique, palmitoléique et oléique se trouvent dans les deux membranes en proportions voisines, que ce soit dans les phospholipides totaux ou dans les phospholipides isolés.

(2) Par contre, l'acide saturé palmitique se trouve en proportion plus élevée dans les phospholipides totaux de la membrane externe, alors que les acides poly-

TABLEAU I

CONSTITUTION EN ACIDES GRAS DES PHOSPHOLIPIDES DES MEMBRANES ET DE LA MATRICE MITOCHONDRIALES DE FOIE DE RAT (% FONDÉRAL)
 M. ext., membrane externe; M. int., membrane interne; Ma., matrice; tr., traces.

Acides	Phospholipides totaux		Acides phosphatidiques + cardiolipides		Phosphatidyl- éthanolamines		Lécithines + phosphatidylinositols		Sphingomyélines + lysolécithines + phosphatidylsérines						
	M.ext.	M.int.	Ma.	M.ext.	M.int.	Ma.	M.ext.	M.int.	Ma.	M.ext.	M.int.	Ma.			
Myristique	2.3	0.4	4.9	2.7	2.1	2.1	1.7	1.2	1.1	1.8	0.8	1.5	2.2	2.0	4.0
Palmitique	26.2	17.1	32	20.2	15.9	18.2	27.0	19.5	20.6	28.4	21.2	23.3	27.4	19.9	16.6
Palmitoléique	3.2	1.9	3.5	6.0	7.8	4.5	2.8	2.2	2.5	4.1	2.5	5.3	3.4	2.9	4.3
Stéarique	25.7	24.6	20.3	23.4	8.6	19.4	24.8	24.9	26.3	28.2	25.7	29.1	37.4	38.5	50.1
Oléique	12.0	11.2	18.7	22.9	24.5	27.5	10.2	9.6	10.6	15.3	13.4	18.4	11.4	9.6	7.5
Linoléique	7.8	11.3	6.7	7.3	31.0	21.0	4.0	4.4	3.2	7.3	7.9	9.3	4.5	3.2	1.5
Arachidonique	19.0	25.8	13.6	6.0	10.1	10.7	13.4	26.1	22.7	14.5	24.5	14.9	14.0	22.5	16.1
Docosa penta et hexanoïques	4.1	7.6	tr.	tr.	tr.	tr.	10.6	11.3	11.7	5.4	6.0	tr.	3.6	6.2	tr.

insaturés linoléique et arachidonique sont en quantités plus importantes dans les phospholipides totaux de la membrane interne. Après séparation des différents phospholipides, les deux acides saturés palmitique et stéarique apparaissent en proportions plus élevées dans l'ensemble acides phosphatidiques *plus* cardiolipides. Dans les autres phospholipides, la balance entre les acides gras saturés et les acides insaturés ne concerne que l'acide palmitique et l'acide arachidonique.

TABLEAU II

RAPPORT ACIDES GRAS SATURÉS/ACIDES GRAS INSATURÉS DANS LES MEMBRANES ET LA MATRICE DES MITOCHONDRIES

<i>Phospholipides</i>	<i>Membrane externe</i>	<i>Membrane interne</i>	<i>Matrice</i>
Phospholipides totaux			
Expérimentaux*	1.20	0.72	1.35
Calculés**	1.37	0.77	1.05
Acides phosphatidiques + cardiolipides	1.28	0.36	0.63
Phosphatidyléthanolamines	1.31	0.85	0.95
Lécithines + phosphatidylinositols	1.28	0.87	1.12
Sphingomyélines + lysolécithines + phosphatidylsérines	1.84	1.36	2.44

* Rapports expérimentaux.

** Rapports calculés d'après les compositions en phospholipides.

Le Tableau II présente les valeurs du rapport acides gras saturés/acides gras insaturés dans les phospholipides totaux et dans les différents phospholipides des substructures mitochondriales. L'ordre de grandeur de ce rapport est caractéristique de la substructure envisagée en ce qui concerne les phospholipides totaux: il est supérieur à 1 dans la membrane externe, et inférieur à 1 dans la membrane interne. Les valeurs de ce rapport, toujours plus élevées dans la membrane externe que dans la membrane interne, sont toutefois variables d'un phospholipide à l'autre. Elles passent de 1.28 à 1.84 dans la membrane externe et de 0.36 à 1.36 dans la membrane interne. Les valeurs les plus élevées de ce rapport (1.84 et 1.36) sont observées dans le lot No. 4 constitué pour environ 2/3 de sphingomyélines, caractérisées par leur forte teneur en acides gras saturés. L'écart maximum est observé dans le lot acides phosphatidiques *plus* cardiolipides (1.28 dans la membrane externe et 0.36 dans la membrane interne).

On sait, compte-tenu de l'énergie d'interaction entre chaînes carbonées d'acides gras voisins, que la cohésion résultante des molécules lipidiques est de beaucoup supérieure dans le cas de chaînes saturées que dans le cas de chaînes insaturées. On peut donc penser que la membrane externe est plus rigide que la membrane interne. Cette interprétation est en accord avec les différences morphologiques observées au microscope électronique⁷.

Enfin, si l'on compare les valeurs du rapport acides gras saturés/acides gras insaturés obtenues pour les membranes mitochondriales aux valeurs relatives à la membrane endoplasmique du foie^{5,6}, on constate que le rapport 1.20 observé pour la membrane externe est de l'ordre de grandeur du rapport calculé pour la membrane endoplasmique (1.15 à 1.40). Par contre, la valeur 0.72 relative à la membrane interne en est très éloignée. Cet ensemble de données apporte un argument supplémentaire

aux analogies et filiations possibles, dans la cellule hépatique, entre la membrane externe des mitochondries et la membrane endoplasmique.

*Laboratoire de Physiologie de la Nutrition,
Faculté des Sciences,
Paris (France)*

C. HUET
M. LÉVY
M. PASCAUD

- 1 M. LÉVY ET M. T. SAUNER, *Compt. Rend. Soc. Biol.*, 161 (1967) 277.
- 2 D. F. PARSONS, G. R. WILLIAMS, W. THOMPSON, D. WILSON ET B. CHANCE, in E. C. SLATER, J. M. TAGER, E. QUAGLIARIELLO ET S. PAPA, *Mitochondrial Structure and Compartmentation*, Adriatica Editrice, Bari, 1967, p. 29.
- 3 J. H. VERKAMP, I. MULDER ET L. L. M. VAN DEENEN, *Biochim. Biophys. Acta*, 57 (1962) 299.
- 4 M. G. MACFARLANE, G. M. GRAY ET L. W. WHEELDON, *Biochem. J.*, 77 (1960) 620.
- 5 G. S. GETZ, N. BARTLEY, F. STIRPE, B. N. NOTTON ET A. RENSHAW, *Biochem. J.*, 83 (1962) 181.
- 6 M. PASCAUD, *Biochim. Biophys. Acta*, 84 (1964) 517.
- 7 M. LÉVY, R. TOURY ET J. ANDRÉ, *Biochim. Biophys. Acta*, 135 (1967) 599.
- 8 M. FOLCH, M. LEES ET G. H. SLOANE-STANLEY, *J. Biol. Chem.*, 226 (1957) 497.

Reçu le 18 décembre, 1967

Biochim. Biophys. Acta, 150 (1968) 521-524

BBA 73040

Role of cellular P_i in P_i transport and metabolism in human red cells

The significance of the P_i compartment in human red cells is poorly defined with respect to its role in P_i transport as well as in internal metabolism. As a result of $^{32}P_i$ uptake studies^{1,2}, it was suggested that inward transport may be due to a membrane esterification involving ATP rather than to simple diffusion. The view was proposed, moreover, that P_i turnover in human red cells may be due to interaction between ester P at the cell surface and medium P_i , and that cellular P_i may not be in the mainstream of either transport or metabolism³. These early concepts have since required some modification⁴ but there has been little evidence reported in support of alternate views⁵.

In the course of studies on P_i release from human red cells, we observed⁶ as have others^{2,7-9} that medium P_i is elevated when iodoacetic acid is added to the suspension. This result is due presumably to inhibition of P_i esterification in glycolysis at the phosphoglyceraldehyde dehydrogenase step, in conjunction with continuing dephosphorylation of some ester P. A question which arose in this connection concerned the pathway of P_i movement following dephosphorylation. Since there are ATPases associated with the red cell membrane¹⁰⁻¹², it seemed possible that P_i could be released from the membrane directly into the medium. On the other hand, P_i may be liberated into the cellular P_i compartment from where it could pass into the medium. In order to resolve this question, P_i concentrations were determined in extracts of iodoacetic acid-poisoned and control cells and compared with medium P_i values in the present study. $^{32}P_i$ concentrations were also measured as $^{32}P_i$ was being released from previously labeled erythrocytes.

Biochim. Biophys. Acta, 150 (1968) 524-527