

ACTION DU DIBUTYRYL 3',5'-AMP CYCLIQUE ET DE L'INSULINE SUR LA SYNTHÈSE DES ACIDES GRAS DANS LES DIFFÉRENTES FRACTIONS CELLULAIRES DE FOIE IN VIVO

S. ROUS, M. J. BURLET et S. NOVEMBER

Institut de Biochimie médicale, Université de Genève

Reçu le 22 février 1969

3',5'-Cyclic AMP inhibits fatty acid synthesis in mitochondria, microsomes and supernatant but does not provoke an enrichment in ^3H with regard to ^{14}C as it occurs during fasting after glucose 6- ^3H or 6- ^{14}C administration. Insulin does not exert any action on "controls" but restores lipogenesis in fasted animals in the examined fractions and normalises the $^3\text{H}/^{14}\text{C}$ ratio, even that of microsomes. Control of neoglucogenesis by this hormone is more likely than by 3',5'-cyclic AMP.

1. Introduction

Aucun travail à notre connaissance n'avait été entrepris pour étudier l'influence du 3',5'-AMP cyclique et de l'insuline dans les différentes fractions subcellulaires du foie in vivo. Or si l'action favorable de l'insuline sur la lipogenèse est indéniable, les modalités de cette action ne sont pas encore totalement connues. Une stimulation sur la pénétration des sucres constitue l'explication la plus généralement adoptée. Toutefois cette thèse est plus difficile à soutenir quand il s'agit de l'appliquer à la lipogenèse hépatique [1]. Cette hormone est en effet capable de restaurer la synthèse des acides gras inhibée par le jeûne [2,3], ou par l'iodo-acétamide [4] dans le foie. Or aucune barrière ne semble s'opposer à la pénétration des sucres dans cet organe [5]. C'est d'ailleurs la raison qui nous incita à le choisir pour réaliser notre étude.

D'autre part, en raison des nombreux effets antagonistes opposant l'insuline et le 3',5'-AMP cyclique, nous avons étudié comparativement l'action de ces deux composés sur la lipogenèse. Le choix du glucose et de l'acétate comme précurseurs était destiné à effectuer plus facilement la discrimination entre les phénomènes relatifs à la glycolyse, à la néoglucogenèse, ou à la synthèse des acides gras. Contrairement à ce que produit le jeûne, nous avons constaté sous

l'effet du 3',5'-AMP cyclique une inhibition parallèle de la lipogenèse dans les 3 fractions étudiées et pour les 2 précurseurs administrés, alors que l'insuline supprime les effets du jeûne.

2. Partie expérimentale

Des souris femelles d'environ 35 g ont reçu par injection intraveineuse 75 μC de glucose 6- ^3H simultanément à 15 μC de glucose 6- ^{14}C ou à 5 μC d'acétate 1- ^{14}C . Elles ont été exécutées 12 minutes après. Les animaux du groupe "témoin" ont été alimentés à intervalle régulier et n'ont reçu aucune injection si ce n'est les substances radioactives. Les souris du groupe "AMP" ont reçu en outre 6 mg de dibutyryl 3',5'-AMP cyclique 30 min avant l'administration des précurseurs radioactifs. Les souris "à jeun" ont été privées de nourriture 5 heures avant l'expérience. De l'insuline sans glucagon "Novo" (0,1 U), a été administrée par voie intrapéritonéale 1 heure avant l'injection des substances marquées à des souris témoins et à des souris à jeun.

Les foies ont été homogénéisés dans 2 vol de saccharose 0,25 M, puis les noyaux et les débris cellulaires éliminés par centrifugation à 2600 t pendant 10 min. Les mitochondries ont été obtenues par cen-

trifugation à 1200 t (10 min) et les microsomes par centrifugation du dernier surnageant à 30.000 t (100 min). Les acides gras des différentes fractions ont été extraits et leur radioactivité mesurée par scintillation liquide.

Les protéines des différentes fractions ont été dosées par la méthode du biuret [6] modifiée par addition de désoxycholate [7].

3. RESULTATS ET DISCUSSION

Sur le tableau 1 sont représentées les radioactivités spécifiques des acides gras (par milligramme de protéine) retrouvés dans les différentes fractions cellulaires après administration de 10 μ c de glucose 6- 3 H et 6- 14 C. D'autre part, les chiffres exprimés entre parenthèses renseignent sur les participations respec-

tives de chaque fraction à la synthèse totale enregistrée dans les 3 fractions.

L'insuline exerce peu d'action sur la lipogenèse hépatique des animaux normalement alimentés. Les rapports 3 H/ 14 C évoluent parallèlement à ceux des témoins dans les différentes fractions. La légère augmentation du rapport 3 H/ 14 C observée dans le surnageant pour ces deux groupes d'animaux ainsi que la plus grande participation des microsomes à la synthèse totale ont été discutées dans un autre travail [8]. Le 3',5'-AMP cyclique inhibe la lipogenèse de façon identique dans les trois fractions. Le jeûne porte atteinte encore plus intensément à la lipogenèse et augmente le rapport 3 H/ 14 C mais cet accroissement est encore plus manifeste au niveau des microsomes. Les phénomènes qui déclenchent l'inhibition de la lipogenèse chez l'animal à jeun ne semblent donc pas obéir aux mêmes lois que ceux provoqués par

Tableau 1

Radioactivité des acides gras de différentes fractions cellulaires de foies de souris après administration de glucose 6- 3 H - 6- 14 C.

Les activités spécifiques sont données par mg de protéine (valeurs correspondant à 10 μ c de chaque précurseur).

Les chiffres entre parenthèses correspondent aux pourcentages de la radioactivité totale retrouvée dans chaque fraction.

| | Microsomes | | | Mitochondries | | | Surnageants | | |
|--------------------|------------------|-----------------|-------------------|-----------------|-----------------|-------------------|-----------------|-----------------|-------------------|
| | 3 H | 14 C | 3 H/ 14 C | 3 H | 14 C | 3 H/ 14 C | 3 H | 14 C | 3 H/ 14 C |
| Témoin | 22 (58,4%) | 81 (60,6%) | 0,27 | 11 (24,4%) | 39 (24,4%) | 0,28 | 3,87 (17,2%) | 12,05 (15%) | 0,32 |
| Témoin | 25 (55,8%) | 73 (58,2%) | 0,34 | 13 (24,2%) | 35 (23,3%) | 0,37 | 5,4 (20%) | 13,9 (18,5%) | 0,39 |
| Témoin + insuline | 31,5 (66,4%) | 93 (67%) | 0,34 | 11,2 (19,7%) | 32,9 (19,7%) | 0,34 | 3,95 (13,9%) | 11 (13,3%) | 0,36 |
| Témoin + insuline | 22,4 (61,5%) | 95 (62,8%) | 0,23 | 9,6 (22%) | 39,9 (21,9%) | 0,24 | 3,6 (16,5%) | 14 (15,3%) | 0,26 |
| Témoin + AMP cycl. | 16,5 (58,6%) | 47 (59,8%) | 0,35 | 8 (23,7%) | 21,5 (23,8%) | 0,35 | 2,99 (17,7%) | 7,7 (16,4%) | 0,39 |
| Témoin + AMP cycl. | 18 (63,8%) | 46 (65,3%) | 0,39 | 7,5 (22,2%) | 18 (21,2%) | 0,41 | 2,34 (14%) | 5,7 (13,5%) | 0,41 |
| Jeûne | 7,18 (56,2%) | 5,6 (52,7%) | 1,28 | 2,7 (17,6%) | 2,23 (17,5%) | 1,21 | 1,99 (26,2%) | 1,90 (29,8%) | 1,05 |
| Jeûne | 8,5 (57,7%) | 4,48 (51,2%) | 1,90 | 2,38 (13,4%) | 1,59 (15,2%) | 1,49 | 2,55 (28,9%) | 1,76 (33,6%) | 1,45 |
| Jeûne + insuline | 36,2 (62,3%) | 120 (61,8%) | 0,30 | 8,32 (11,9%) | 27,7 (11,9%) | 0,30 | 9 (25,8%) | 30,6 (26,3%) | 0,29 |
| Jeûne + insuline | 10,35 (54,5%) | 29,5 (55,7%) | 0,35 | 3,45 (15,2%) | 9,52 (15,0%) | 0,36 | 3,45 (30,3%) | 9,28 (29,3%) | 0,37 |

Tableau 2

Radioactivité des acides gras de différentes fractions cellulaires de foies de souris après administration de glucose 6-³H et d'acétate 1-¹⁴C.

Les activités spécifiques sont données par mg de protéine (valeurs correspondant à 10 µg de chaque précurseur).
Les chiffres entre parenthèses correspondent aux pourcentages de la radioactivité totale retrouvée dans chaque fraction.

| | Microsomes | | | Mitochondries | | | Surnageants | | |
|--------------------|-----------------|------------------|---------------------------------|-----------------|-----------------|---------------------------------|-----------------|-----------------|---------------------------------|
| | ³ H | ¹⁴ C | ³ H/ ¹⁴ C | ³ H | ¹⁴ C | ³ H/ ¹⁴ C | ³ H | ¹⁴ C | ³ H/ ¹⁴ C |
| Témoin | 31,1 (55%) | 1.330 (52,2%) | 0,023 | 17,7 (25,9%) | 754 (24,6%) | 0,024 | 6,5 (19,1%) | 356 (23,2%) | 0,018 |
| Témoin | 71,1 (70,6%) | 2.730 (65%) | 0,026 | 14,9 (12,3%) | 594 (11,7%) | 0,025 | 10,3 (17,1%) | 540 (23,3%) | 0,019 |
| Témoin + insuline | 37,7 (61,0%) | 1.210 (58,1%) | 0,031 | 16,5 (22,2%) | 534 (21,4%) | 0,031 | 6,25 (16,8%) | 256 (20,5%) | 0,025 |
| Témoin + insuline | 39,8 (56,8%) | 1.800 (51,7%) | 0,022 | 17,1 (20,3%) | 816 (19,5%) | 0,021 | 9,6 (22,9%) | 604 (28,8%) | 0,016 |
| Témoin + AMP cycl. | 14,8 (60,3%) | 516 (56,7%) | 0,029 | 6,85 (23,1%) | 251 (23%) | 0,027 | 2,45 (16,6%) | 111 (20,3%) | 0,023 |
| Témoin + AMP cycl. | 13,3 (70,2%) | 436 (66,3%) | 0,030 | 5 (21,9%) | 182 (23%) | 0,027 | 0,9 (7,9%) | 42 (10,7%) | 0,021 |
| A jeun | 8,2 (34%) | 207 (29,4%) | 0,039 | 5 (17%) | 142 (16,6%) | 0,035 | 7,2 (49%) | 232 (54%) | 0,031 |

l'administration de 3',5'-AMP cyclique.

L'administration d'insuline à l'animal à jeun conduit à un rétablissement appréciable de la lipogenèse et à une normalisation des rapports, ceci implique une action plus favorable sur l'incorporation du ¹⁴C dans les microsomes. Si l'enrichissement en ³H est en rapport avec la néoglucogenèse par suite d'une dérivation des éléments tricarbonés vers le glucose [9] on est en droit de penser que cette hormone contrôle cette voie. Le 3',5'-AMP cyclique ne produit aucune augmentation du rapport ³H/¹⁴C; il n'exerce donc aucun contrôle sur la néoglucogenèse in vivo contrairement à ce que l'on observe dans le foie de rat perfusé [10].

Dans le tableau 2 sont résumés les résultats enregistrés lorsque les précurseurs injectés étaient du glucose 6-³H et l'acétate 1-¹⁴C. Cette expérience avait été entreprise pour éliminer la cause d'erreur introduite par l'emploi du glucose ¹⁴C dont les métabolites peuvent participer à la néoglucogenèse. L'enrichissement en ³H n'est plus du tout apparent sur les acides gras de l'homogénat (résultats non rapportés ici), mais persiste très légèrement dans la fraction microsomiale. Ces résultats rendent encore plus vraisem-

blables l'idée énoncée précédemment que l'enrichissement en ³H résulte avant tout d'une perte en ¹⁴C due à la néoglucogenèse comme nous l'avons déjà laissé entendre [9]. En conclusion le 3',5'-AMP cyclique inhibe parallèlement la synthèse des acides gras dans les mitochondries, les microsomes et le surnageant mais ne provoque pas l'enrichissement en ³H par rapport au ¹⁴C comme cela se produit au cours du jeûne après administration de glucose 6-³H, 6-¹⁴C. L'insuline n'exerce aucune action chez les témoins mais restaure la lipogenèse chez l'animal à jeun dans les 3 fractions examinées et normalise les rapports ³H/¹⁴C même dans les microsomes. Elle pourrait agir dans ce sens, en inhibant la synthèse des enzymes favorisant la gluconéogenèse [11,12].

Remerciement

Ce travail a été exécuté grâce à une subvention du Fonds national suisse de la recherche scientifique, Berne.

Bibliographie

- [1] P.J.Randle, in: *The Hormones*, vol. 4, eds. G.Pincus, K.V. Thimann et E.B.Astwood (Academic Press, New York, 1964) p. 481.
- [2] D.J.Rafaelsen, V.Lauris et A.E.Renold, *Diabetes* 14 (1965) 19.
- [3] S.Rous, L.Luthi et P.Favarger, *Lipids* 2 (1967) 60.
- [4] S.Rous, L.Luthi et P.Favarger, *Med. Pharmacol. Exp.* 15 (1966) 277.
- [5] G.F.Cahill, J.Ashmore, A.S.Earle et S.Zottu, *Am. J. Physiol.* 192 (1948) 491.
- [6] F.Jayle, *Techniques de Laboratoire* 2 (1963) 79.
- [7] E.Jacobi, M.Jacobi, R.Sanadi et L.Bradley, *J. Biol. Chem.* 223 (1956) 147.
- [8] P.Favarger, J.Gerlach et S.Rous, *FEBS Letters* 2 (1969) 289.
- [9] F.Grange, S.Rous et P.Favarger, *Bull. Soc. Chim. Biol.*, sous presse.
- [10] J.H.Exton et C.R.Park, *Pharmacol. Rev.* 18 (1966) 181.
- [11] G.Weber, R.L.Singhal et S.K.Srivastava, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.* 53 (1965) 96.
- [12] G.Weber, R.L.Singhal, N.B.Stamm et S.K.Srivastava, *Fed. Proc.* 24 (1965) 745.