

## Utilisation du palmitate par les hépatocytes isolés de mouton

A. MAZUR, C. RÉMÉSY, C. YACOUB, C. DEMIGNÉ, Y. RAYSSIGUIER

Laboratoire des Maladies Métaboliques,  
I.N.R.A. Theix, 63122 Ceyrat, France.

**Summary.** The utilization of  $^{14}\text{C}$  palmitate in sheep hepatocytes has been investigated. About 55 % of the palmitate disappeared from the medium after 2 hours. 26.5 % was reesterified and 20 % of the  $^{14}\text{C}$  was found in the acid-soluble fraction (essentially ketone bodies). Propionate enhanced reesterification at the expense of oxidation.

L'utilisation des hépatocytes isolés a permis un développement considérable des connaissances du métabolisme des lipides et des lipoprotéines chez les animaux de laboratoire. La mise en œuvre de cette technique chez les Ruminants semble très intéressante pour comprendre les mécanismes de l'infiltration lipidique associée à une lipomobilisation accrue. L'objet de ce travail a donc été d'étudier la formation des triglycérides en présence de palmitate et l'effet du propionate sur le métabolisme de cet acide gras.

**Matériel et méthodes.** Des moutons de race Limousine, pesant environ 40 kg, ont été sacrifiés après 24 h de mise à jeun. Les hépatocytes ont été isolés selon une technique décrite précédemment (Demigné *et al.*, 1986) et incubés à 37 °C dans un tampon Krebs additionné de palmitate (1 mM, [ $^{14}\text{C}$ ] 11 kBq/ $\mu\text{mole}$ ) lié à l'albumine bovine (1 et 3 %). L'effet du propionate de sodium (10 mM) dans le milieu a été étudié après une heure d'incubation.

Tous les essais ont été réalisés en triple. L'incubation a été arrêtée dans la glace, le milieu immédiatement séparé des hépatocytes par centrifugation (2 000 g pendant 1 min) et le culot cellulaire lavé 3 fois dans NaCl 0,15 M.

La concentration du palmitate dans le milieu a été déterminée par voie enzymatique (NEFA C-test Wako). La mesure de l'incorporation du  $^{14}\text{C}$  palmitate a été effectuée dans les triglycérides des hépatocytes et du milieu après séparation en chromatographie sur couche mince des lipides extraits par la méthode de Folch et également dans le milieu déprotéinisé par  $\text{HClO}_4$  0,6 M.

**Résultats et discussion.** Les hépatocytes ont utilisé, au cours de 2 h d'incubation,  $19,3 \pm 1,7 \mu\text{mol}$  de palmitate par gramme de cellules (poids frais), soit environ 55 % de la quantité administrée (fig. 1).

Après 2 heures d'incubation  $26,5 \pm 1,5 \%$  de la radioactivité initiale est retrouvée dans les triglycérides des hépatocytes et  $20,0 \pm 2,5 \%$  dans le milieu déprotéinisé (fig. 1). Ce dernier chiffre reflète essentiellement la production de corps cétoniques puisque la déprotéinisation permet d'éliminer le palmitate marqué lié à l'albumine et incorporé dans les triglycérides sécrétés sous forme de lipoprotéines.

Une faible partie des triglycérides formés dans les hépatocytes est sécrétée dans le milieu d'incubation. Les triglycérides sécrétés représentent respectivement  $5,4 \pm 0,6 \%$  et  $1,0 \pm 0,1 \%$  des triglycérides accumulés dans les hépatocytes pour les concentrations d'albumine de 1 et 3 % (fig. 2).

Cette observation est en accord avec des résultats de Davis *et al.* (1980) selon lesquels l'albumine et d'autres macromolécules inhibent la sécrétion des

VLDL par les hépatocytes de rat ; il semble bien qu'il existe un effet inhibiteur direct de la viscosité du milieu.

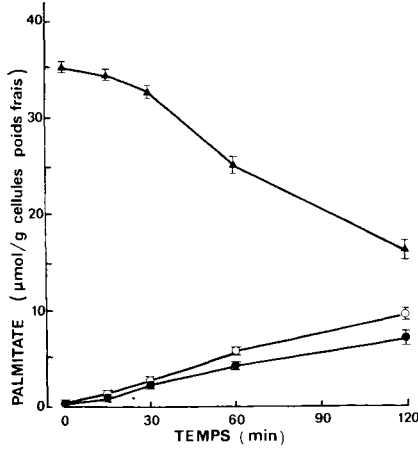


FIG. 1.

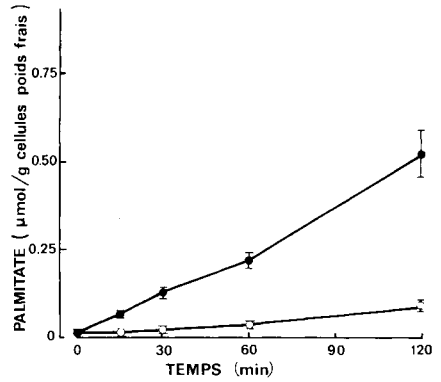


FIG. 2.

FIG. 1. — Evolution de l'utilisation du palmitate dans le milieu (▲) et de son oxydation (●), et cinétique de son incorporation dans les triglycérides cellulaires (○) durant une incubation de 2 h (moyennes  $\pm$  erreur type ; n = 4). — FIG. 2. — Incorporation du palmitate dans les triglycérides sécrétés dans le milieu d'incubation à 1 (●) et 3 % (○) d'albumine (moyenne  $\pm$  erreur type ; n = 4).

En accord avec les résultats de Lomax, Donaldson et Pogson (1983) l'addition de propionate oriente le métabolisme du palmitate vers l'estérification et réduit son oxydation. Dans nos essais (n = 3) en présence de propionate, l'estérification du palmitate vers les triglycérides augmente de 32 % et son oxydation vers les corps cétoniques est réduite de 45 % par rapport aux résultats obtenus avec les hépatocytes témoins. L'augmentation de l'estérification du palmitate s'accompagne également d'une élévation de la sécrétion des triglycérides (augmentation de 51 % de <sup>14</sup>C palmitate des triglycérides). Le propionate pourrait intervenir sur plusieurs étapes du métabolisme des acides gras : réestérification, transport des acyl CoA dans la mitochondrie,  $\beta$  oxydation et devenir de l'acétyl CoA.

Le développement de ce modèle pourrait permettre l'étude de l'influence de différents substrats sur la synthèse et la sécrétion de lipides par le foie chez le Ruminant.

Davis R. A., Engelhorn S. C., Weinstein D. B., Steinberg D., 1980. *J. Biol. Chem.*, **255**, 2039-2045.  
 Demigné C., Fafournoux P., Rémésy C., Yacoub C., 1986. *Reprod. Nutr. Dévelop.*, **26**, 369-370.  
 Lomax M. A., Donaldson I. A., Pogson C. I., 1983. *Biochem. J.*, **214**, 553-560.