

# Biosynthèse et dynamique métabolique des Cires chez les Crustacés planctoniques

par

JEAN-MARIE GASTAUD

*Laboratoire de Biochimie des Animaux Marins, Centre Scientifique de Monaco (Principauté)*

Dans une récente mise au point sur les fonctions physiologiques des cires, BENSON & LEE [1975] remarquent leur importante distribution chez les animaux et les végétaux et leur rôle majeur comme réserves d'énergies chez les animaux. Cette constatation justifie les nombreuses recherches consacrées, soit à la biologie des Calanoïdes [MARSCHALL & ORR, 1955, 1962], [VINOGRADOV, 1961], [RICHMAN & ROGERS, 1969], [PAFFENHÖFER, 1970] soit à la biochimie de ces esters [NEVENZEL, 1970], [LEE *et coll.*, 1971-1974], [MORRIS, 1972], [YAMADA, 1972], [GATTEN *et coll.* 1973], [ACKMAN *et coll.* 1974].

Comme les triglycérides, les cires sont des esters. Néanmoins, les premiers sont formés par trois acides gras liés au glycérol, les seconds, par contre, ne comportent qu'un seul acide lié à un alcool gras.

Les lipides de *Calanus hyperboreus* (Krö) que nous étudions renferment principalement des cires auxquelles trois fonctions sont attribuées : isolement thermique dû à leur mauvaise conductibilité; adaptation à la flottabilité par leur faible densité et leur pouvoir de solubiliser et de stocker l'oxygène utilisable pour la respiration et les migrations verticales, enfin, réserves d'énergie à la place des triglycérides. Cette dernière fonction admise par la plupart des auteurs manque de précision.

En effet, le rôle énergétique des cires ne peut se concevoir que dans la mesure où ces esters subissent des remaniements, transformations et dégradations oxydatives conduisant à des molécules facilement métabolisables.

Dans cette note préliminaire, nous formulons certaines hypothèses concernant la biosynthèse des alcools et les processus de dégradation des cires dont les études sont actuellement en cours.

Les échantillons essentiellement composés d'une seule espèce *Calanus hyperboreus* (Kröger, 1838) ont été récoltés en surface entre 19 et 20 heures pendant les mois d'août et septembre au cours de la campagne du N.O. *Thalassa* (I.S.T.P.M.) dans le secteur nord-ouest du Gröenland. Le matériel immédiatement congelé est conservé à basse température jusqu'à traitement.

Après extraction et purification des lipides suivant la méthode de BLIGH & COLL [1959], les composants lipidiques sont séparés par chromatographies sur acide silicique-célite, à l'aide de solvants de polarités croissantes.

Les rendements en lipides varient entre 23 et 27 p. 100 de tissu sec dont la composition moyenne rapportée à 100 gr. d'extrait lipidique total est indiquée dans le tableau ci-contre :

Fractions	Produits	Pour 100 lipides
I	hydrocarbures + esters	82,65
II	esters	2,58
III	triglycérides	5,59
IV	acides & alcools libres	4,16
V	stéroïls	1,94
VI	lipides polaires	3,07
Total : 99,99		

La totalité des alcools estérifiés est contenue dans les fractions I et II. Après saponification les rendements en alcools sont : fraction I : 70, 2 p. 100, fraction II : 2,3 p. 100, les fractions IV et V renferment les alcools libres (4,1 p. 100).

Les alcools saturés et insaturés sont séparés par chromatographie sur gel de silice-nitrate d'argent. Les résidus déshydratés sont examinés par spectrophotométrie infrarouge afin d'identifier les bandes caractéristiques.

Les dérivés acétylés sont chromatographiés en phase vapeur avant et après hydrogénation. Les volumes de rétentions calculés par rapport aux acétates étalons et les concentrations de chaque composant sont déterminées par intégration des pics d'enregistrement.

La fraction alcool saturé représentant 15 p. 100 est constituée par des composés en  $C_{12:0}$ ,  $C_{14:0}$ ,  $C_{16:0}$  et  $C_{18:0}$ . Les alcools insaturés monoéthyléniques à double liaison « cis » (méthode au tétraoxyde d'Osmium) représentent 63 p. 100 et comprennent les alcools en  $C_{16:1}$ ,  $C_{20:1}$  et  $C_{22:1}$ . Ces deux derniers représentent 58 p. 100 de la fraction alcools insaturés pour cent d'insaponifiable. Ces résultats sont en accord avec les travaux antérieurs.

Les cires sont généralement formées par les acides gras sous forme d'acyl-CoA intermédiaire.

La biosynthèse de ces esters est stimulée par l'A.T.P. et le coenzyme A, ainsi l'incorporation des acides dans les cires est plus rapide si les acides sont sous forme d'acyl-CoA [SARGENT *et coll.* 1973]. La présence de pyridine-nucléotide réduit n'a qu'une faible action sur l'incorporation du palmityl-CoA dans les cires.

Certaines espèces de Copépodes transforment directement les produits de la photosynthèse du phytoplancton [LEE *et coll.* 1973].

Alimentés par des organismes riches en lipides - *Skeletonema* par ex. — un métabolisme actif s'observe au niveau de l'intestin chez *Calanus helgolandicus*. Ces particules huileuses, particulièrement riches en cires, se forment rapidement au cours de l'absorption et de la digestion des lipides exogènes car les diatomées ne renferment ni alcools, ni esters. [LEE *et coll.* 1973].

L'addition d'alcools gras au milieu augmente la vitesse de synthèse des cires. Leur formation est donc limitée par la quantité d'alcools gras libres disponibles [GATTEN *et coll.* 1973].

Une autre voie possible de biosynthèse des lipides peut s'effectuer à partir des protéines et hydrates de carbone. On ignore toutefois, si ce processus suit la voie du pyruvate.

L'accumulation et le métabolisme des cires semblent indépendants de tout contrôle hormonal, contrairement aux triglycérides.

Les teneurs moyennes en cires augmentent progressivement depuis les tropiques jusqu'aux latitudes polaires chez neuf espèces de Calanoïdes [LEE *et coll.* 1973], et la composition chimique de ces lipides varie en fonction de la nourriture disponible; d'où une relation linéaire entre apport alimentaire et teneurs en lipides.

La biosynthèse des alcools présente encore quelques ambiguïtés. En 1934, CHIBNALL *et coll.*, supposent que les alcools primaires se forment par réductions des acides gras correspondants. LEE *et coll.* 1971, suggèrent trois mécanismes : réduction de certains acides gras exogènes, modifications de la longueur des chaînes avec ou sans désaturation avant réduction, enfin, synthèse *de novo* de certains alcools.

On admet actuellement que le premier stade de la synthèse exige, suivant les données de la thermodynamique, une activation de l'acide par une thiokinase spécifique de la longueur des chaînes du substrat en présence d'ATP. Ceci transforme l'acide gras en un acyl-CoA. L'intervention de systèmes enzymatiques permet théoriquement d'expliquer certains processus. Nous supposons, en effet, que l'activation de l'acide permet également la création d'une fonction cétone en  $\alpha$  du carboxyle. Le coenzyme A est ensuite libéré par une thioester hydrolase spécifique conduisant à un acide  $\alpha$  cétonique. Celui-ci est décarboxylé par une thiamine pyrophosphate décarboxylase créant un groupement aldéhydique. L'intervention d'un alcool NADH<sub>2</sub> deshydrogénase réduit l'aldéhyde en alcool primaire. Cette hypothèse peut se justifier, car, d'une part les alcools des cires sont des alcools primaires qui ne peuvent se former que par une réduction des aldéhydes, d'autre part, la décarboxylation directe de l'acide gras, ou d'un intermédiaire ayant une cétone en 3, conduirait à un alcool secondaire, puis à un hydrocarbure.

Ces stades de synthèses ne peuvent se réaliser que si on admet que la fourniture d'énergie d'activation des systèmes conditionne principalement les possibilités de réactions. Ces séquences sont plus facilement réalisables si l'énergie des produits formés est plus basse que celle des réactifs et qu'elle s'accompagne de la libération d'une quantité d'énergie  $\Delta E$  plus importante, ce qui diminue l'énergie interne du système.

Chez les Copépodes, principalement ceux de mers froides, les cires constituent des réserves lipidiques rapidement utilisables durant les jeûnes prolongés; et leur adaptation aux basses températures font de ces esters des substances biologiquement plus efficaces que les triglycérides.

Le stade initial du catabolisme des cires comprend la rupture de la liaison ester par une carboxylester hydrolase libérant l'acide et l'alcool. L'accumulation de celui-ci semble exercer une régulation des activités estérases probablement par rétroinhibition.

Quelle que soit l'origine des sources d'énergie, les mécanismes producteurs sont des oxydations du substrat avec perte d'un ou plusieurs électrons.

Par intervention d'un alcool-NAD deshydrogénase se forme l'aldéhyde avec perte de deux hydrogènes, deux électrons et libération d'énergie [SENEZ, 1973]. Dans ces réactions l'alcool-NAD oxydoréductase est spécifique des transferts d'hydrogènes et de leur position à l'égard de l'alcool et du cycle de l'amide nicotinique. Cette spécificité est indépendante des structures spatiales des substrats (alcool ou composés carboxylés). Le dernier stade transforme l'aldéhyde en acide gras par une aldéhyde NAD-oxydoréductase.

Les acides formés sont alors dégradés par Beta-oxydations jusqu'à l'acétyl-CoA. Celui-ci entre dans le cycle de Krebs, les hydrogènes libérés sont repris par la chaîne de transfert d'électrons et des phosphoxylation oxydatives.

Ces processus d'hydrolyses des cires et de leurs dégradations en acides gras par oxydation des alcools semble un mécanisme favorable à l'apport énergétique de ces esters particuliers.

Si les voies de synthèses sont en principe définies, on ignore encore certaines étapes de leur métabolisme et la nature des produits intermédiaires. De même on ne peut préciser quels sont les mécanismes régulateurs de ces biosynthèses et la finalité de ces processus. On peut admettre que, dans leur ensemble, des systèmes enzymatiques actuellement étudiés, déterminent les voies de synthèses et de dégradation.

### Références bibliographiques

- ACKMAN (R.G.), LINKE (B.A.) & HINGLAY (J.), 1974. — Some Details of Fatty Acids and Alcohols in the Lipids of the North-Atlantic Copepods. *J. Fish. Res. Board Can.*, **31**, 11, pp. 1812-1818.
- BENSON (A.A.) & LEE (R.F.), 1975. — The Role of Wax in Oceanic Food Chain, *Sci. Am.*, **232**, 3, pp. 77-86.
- BLIGH (E.G.) & DYER (W.J.), 1959. — A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.*, **37**, pp. 911-917.
- CHIBNALL (A.C.) & PIPER (S.H.), 1957. in : *The Lipids*. ed. by J.P. Dueul III. Biosynthesis, Oxydation, Metabolism and Nutritional value, pp. 319-327. New-York, Academic Press.
- GATTEN (R.R.) & SARGENT (J.R.), 1973. — Wax Ester Biosynthesis in Calanoid Copepods in Relation to vertical migration. *Neth. J. of Sea Res.*, **7**, pp. 150-158.
- LEE (R.F.), NEVENZEL (J.C.) & PAFFENHÖFER (G.A.), 1970. — Wax Esters in Marine Copepods. *Science*, **167**, pp. 1510-1511.

- LEE (R.F.), NEVENZEL (J.C.) & PAFFENHÖFER (G.A.), 1971. — Importance of Wax esters and other Lipids in the marine food chain phytoplankton and copepods. *Mar. Biol.*, **9**, pp. 99-106.
- LEE (R.F.), HIROTA (J.), & BARNETT (A.M.), 1971. — Distribution and importance of wax esters in marine copepods and other zooplankton. *Deep-Sea Res.*, **18**, pp. 1147-1165.
- LEE (R.F.) & HIROTA (J.), 1973. — Wax Esters in tropical zooplankton and nekton and the Geographical distribution of wax Esters in marine Copepods. *Lim. Ocean. V.*, **18**, 2, pp. 227-239.
- LEE (R.F.), 1974. — Lipid composition of the copepod *Calanus hyperboreus* from the Arctic Ocean. Changes with Depth and Season, *Mar. Biol.*, **26**, pp. 316-318.
- MARSHALL (S.M.) & ORR (A.P.), 1955. — *The biology of marine Copepods*. Edinburgh, Oliver and Boyd édit. 188 p.
- MARSHALL (S.M.) & ORR (A.P.), 1962. — Food and Feeding in Copepods. *Rapp. P.V. Réun. Cons. per. int. Explor. Mer*, **153**, pp. 92-98.
- MORRIS (R.J.), 1972. — The Occurrence of the Wax Esters in Crustaceans from the North-east Atlantic Ocean. *Mar. Biol.*, **16**, pp. 102-107.
- NEVENZEL (J.C.), 1970. — Occurrence, functions and biosynthesis of Wax esters in Marine organisms. *Lipids*, **5**, pp. 308-319.
- PAFFENHÖFER (G.A.), 1970. — Cultivation of *Calanus helgolandicus* under controlled conditions. *Helgoländer wiss. Meeresunters.*, **20**, pp. 346-359.
- RICHMAN (S.) & ROGERS (J.N.), 1969. — The finding of *Calanus helgoland*. on synchronously growing populations of the marine diatom *Ditylum brighwelli*. *Limnol. Ocean.*, **14**, pp. 701-709.
- SARGENT (J.R.), GATTEN (R.R.) & McINTOSH (R.), 1974. — Biosynthesis of Wax Esters in Cell-Free preparations of *Euchaeta norvegica*. *Comp. Biochem. Physiol.*, **47B**, pp. 217-227.
- SARGENT (J.R.) & LEE (R.F.), 1975. — Biosynthesis of Lipids in Zooplankton from Saanich Inlet, British Columbia, Canada. *Mar. Biol.*, **31**, pp. 15-23.
- SENEZ (J.C.), 1973. — *Éléments de Bioénergétique*. Paris. Ediscience édit. 158 p.
- VINOGRADOV (M.E.), 1961. — Quantitative distribution of deep-sea plankton in the Western Pacific and its relation to deep-sea circulation. *Deep-Sea Res.* **8**, pp. 215-258.
- YAMADA (M.), 1972. — New Observations on the Lipids of aquatic origin. *Mem. Fac. Fish. Hokkaido Univ.*, **19**, 1/2, pp. 35-136.