

## Etude de la répartition de l'inositol dans le cortex et le noyau de cristallin de Veau

On sait que le cristallin renferme des quantités relativement élevées d'inositol<sup>1</sup>. D'après VAN HEYNINGEN<sup>2</sup>, cet inositol existerait uniquement sous forme libre. Or le phosphatidyl inositol se rencontre dans tous les tissus animaux où il semble jouer un rôle dans le transport des ions<sup>3</sup>. Au cours de notre rédaction a paru le travail de FELDMAN et al.<sup>4</sup> qui ont identifié de l'inositol phosphatide dans le cristallin humain.

Nous avons recherché la présence de diverses formes d'inositol dans le cristallin de bovidé qui offre des facilités pour la séparation des diverses zones, zone épithéliale, zone corticale des fibres cristalliniennes et zone centrale ou noyau. Dans la présente note, nous apportons les données concernant la zone corticale et la zone centrale.

**Matériel et méthodes.** 20 g de tissus préalablement lyophilisé sont extraits 3 fois avec de l'acide perchlorique 0,6N et lavés 2 fois à l'eau. Après centrifugation, les surnageants contenant les composés acido-solubles sont rassemblés et le tout est neutralisé par la potasse, lyophilisé, puis repris par un volume connu d'eau (fraction A). Le résidu de cette première extraction est lyophilisé et les lipides sont extraits par la méthode de FOLCH<sup>5</sup>. Après lavage avec 0,2 volume d'eau, l'extrait lipidique total est évaporé à sec et hydrolysé (HCl 6N, 72 h, 110°C). Après élimination des acides gras par l'éther, l'hydrolysats est évaporé à sec et le résidu est repris par un peu d'eau distillée (fraction B). Le résidu de l'extraction lipidique est soumis à l'action du mélange C:M:HCl concentré (200:100:1, v/v/v) 4 fois 30 min à 50°C<sup>6</sup>, ce qui assure l'extraction des phosphatido-peptides. Les filtrats sont rassemblés, agités avec 0,2 volume d'eau, puis avec 0,5 volume de la phase supérieure de FOLCH<sup>6</sup>. La phase supérieure est évaporée à sec. Le résidu, dissous dans l'eau, est dessalé sur colonne de Dowex 50 (H<sup>+</sup>), lyophilisé et repris une dernière fois par un peu d'eau distillée (fraction C). La phase inférieure après évaporation à sec, est hydrolysée dans les mêmes conditions que l'extrait lipidique. Après évaporation, le résidu est repris par un peu d'eau distillée (fraction D).

L'identification de l'inositol a été réalisée après chromatographie descendante, sur papier Whatman N° 1, dans le solvant BÖHM et RICHARZ<sup>7</sup> en utilisant pour la révélation le nitrate d'argent<sup>8</sup> et le réactif SCHERER-GALLOIS spécifique de l'inositol<sup>9</sup>. Par la suite, nous avons recherché l'inositol dans nos différentes fractions: fraction A: acido-soluble; fraction B: hydrolysats de l'extrait lipidique total; fraction C: phase supérieure: lavage de la phase chloroformique, contenant les phosphatido-peptides; fraction D: hydrolysats de la phase chloroformique contenant les phosphatido-peptides.

Répartition quantitative de l'inositol dans les différentes fractions du noyau et du cortex de cristallin de bovide exprimé en  $\mu\text{g/g}$  de poids sec

Zone	Inositol total			Inositol phosphatidique fraction B		Inositol phosphatido-peptidique fractions C + D	
	$\mu\text{g}$	$\mu\text{g}$	%	$\mu\text{g}$	%	$\mu\text{g}$	%
Cortex	6818	6807	99,83	2,5	0,03	10	0,14
Noyau	3865	3840	99,42	2,15	0,06	20,5	0,52

La comparaison des deux techniques utilisées nous a permis de vérifier que les spots révélés au nitrate d'argent et situés à la hauteur de l'inositol témoin, étaient superposables aux taches roses apparues après action du réactif de SCHERER-GALLOIS. La présence de l'inositol a été confirmée par l'emploi du test microbiologique, à l'aide de *Saccharomyces cerevisiae*, souche Hansen inositolless<sup>10,11</sup>. Le test a été positif dans les 4 fractions.

Il en ressort qu'il existe plusieurs formes d'inositol dans les 2 zones étudiées du cristallin. La fraction A, acido-soluble, contient l'inositol libre. Une partie aliquote de l'extrait lipidique total, non hydrolysée, ne permet pas de détecter l'inositol libre; elle en fournit par contre après hydrolyse acide. Il s'agit donc d'inositol provenant de l'inositolphosphatide semblable à celui trouvé par Feldman dans le cristallin humain. L'inositol de la fraction C provient de la dégradation partielle des phosphatido-peptides. Il apparaît sous la forme libre, alors que le restant de l'inositol phosphatidique des phosphatido-peptides de la fraction D est libéré après hydrolyse acide.

Les résultats quantitatifs obtenus après séparation chromatographique, élution et dosage de l'inositol par l'acide périodique<sup>6</sup> sont représentés dans le Tableau. Il en ressort que l'inositol libre représente dans le cortex et dans le noyau plus de 99% de l'inositol total contenu dans ces zones: l'inositol provenant des phosphatides et des phosphatido-peptides de ces zones s'y trouve en quantité minime.

Ainsi, nous avons mis en évidence dans la zone corticale et la partie centrale du cristallin 3 formes d'inositol, 1 libre et 2 combinées dont la répartition quantitative est différente. L'inositol libre constitue de loin la majeure partie de l'inositol; l'inositol provenant des phosphatido-peptides est en faible quantité mais supérieur à l'inositol des lipides totaux, extrait par le mélange chloroforme-méthanol<sup>12</sup>.

**Summary.** In the lens cortex, as well as in the nucleus, inositol is found in 3 forms. The free form, which is acido-soluble, represents 99% of the total inositol. The combined forms, liberated after acidic hydrolysis of the total lipid extract, and the phosphatido-peptide fraction are present in lesser quantities.

F. KLEIN

*Institut de Chimie Biologique et Clinique Ophthalmologique, Faculté de Médecine, Strasbourg (France), le 6 septembre 1966.*

<sup>1</sup> A. C. KRAUSE et R. WEEKERS, *Archs Ophthal.*, Chicago 20, 299 (1938).

<sup>2</sup> R. VAN HEYNINGEN, *Biochem. J.* 65, 24 (1957).

<sup>3</sup> J. E. HOKIN et M. R. HOKIN, *J. gen. Physiol.* 44, 61 (1960).

<sup>4</sup> G. L. FELDMAN, L. FELDMAN et G. ROUSER, *Lipids* 1, 21 (1966).

<sup>5</sup> J. FOLCH, I. ASCOLI, M. LEES, J. A. MEATH et F. N. LE BARON, *J. biol. Chem.* 192, 833 (1951).

<sup>6</sup> G. G. HUGGINS et D. V. COHN, *J. biol. Chem.* 234, 257 (1959).

<sup>7</sup> P. BÖHM et G. RICHARZ, *Z. physiol. Chem.* 298, 110 (1954).

<sup>8</sup> B. M. TREVELYAN, D. PROCTER et J. HARRISON, *Nature* 166, 444 (1950).

<sup>9</sup> P. MALANGEAU, Thèse, Faculté de Pharmacie, Paris (1956).

<sup>10</sup> D. W. WOOLLEY, *J. biol. Chem.* 140, 453 (1941).

<sup>11</sup> Nous remercions Madame MARIE-CLAUDE BOISSY (Faculté de Pharmacie, Paris) pour l'envoi de la souche.

<sup>12</sup> Nous exprimons notre gratitude à Messieurs les Professeurs P. MANDEL et J. NORDMANN pour les suggestions qu'ils ont bien voulu nous faire au cours de notre travail. Nous remercions Mlle I. HEITMANN pour son aide technique.