

Physiologie Cellulaire

M. François MOREL, membre de l'Institut
(Académie des Sciences), professeur

RÉSUMÉ DU COURS

Sept leçons ont été consacrées cette année à une réflexion sur le problème de la « hiérarchie des régulations cellulaires ».

Au cours de la dernière décennie, le nombre des études expérimentales recourant aux cellules cultivées *in vitro* pour étudier la Biologie Cellulaire dans ses aspects les plus divers s'est accru de façon exponentielle. Cette évolution, qui s'est évidemment produite au dépens des études conduites sur des cellules animales adultes et pleinement différenciées, m'a semblé justifier une réflexion critique portant sur « les fins et les moyens » en Biologie Cellulaire, et ceci tout particulièrement lorsqu'il s'agit d'étudier le fonctionnement cellulaire et sa régulation.

Par définition, une lignée cellulaire en culture, quelle qu'en soit l'origine, est constituée de cellules qui, dans les conditions particulières où on les élève, ont gardé la capacité d'assurer leur métabolisme, la synthèse et le renouvellement de leur constituants macromoléculaires, ainsi que l'aptitude à se diviser ; bref, toute cellule en culture exprime l'ensemble des fonctions biochimiques et métaboliques requises pour assurer sa survie et sa multiplication. Par contre, les propriétés particulières qui servent à définir et permettent de reconnaître chacun des nombreux types cellulaires constitutifs d'un organisme supérieur, s'estompent toujours ou même régressent souvent complètement lorsque de telles cellules différenciées sont mises en culture *in vitro*. Or, ce sont ces propriétés particulières — s'exprimant progressivement au cours du développement de l'embryon — qui confèrent à chaque type cellulaire de l'adulte son aptitude à remplir une fonction définie dans l'organisme.

Il apparaît souhaitable et légitime de distinguer clairement ces deux catégories de propriétés cellulaires : par commodité, nous appellerons ici *Biologie*

Cellulaire l'étude des propriétés communes à toutes les cellules et qui sont conservées dans les lignées de cellules en culture, et nous appellerons *Physiologie Cellulaire* l'étude des propriétés particulières à chaque type de cellule et qui lui permettent de jouer son rôle physiologique dans l'organisme. La dédifférenciation qui se produit lorsque les cellules de tissus adultes sont mises en culture correspond à la régression plus ou moins totale de cette aptitude à remplir une fonction physiologique. Les lignées établies de cellules en culture représentent donc un outil adéquat pour étudier les problèmes de Biologie Cellulaire ; par contre, elles s'avèrent inappropriées (dans la majorité des cas) pour étudier les problèmes relevant de la Physiologie Cellulaire.

Mais la nécessité de clairement distinguer, dans le fonctionnement normal de toute cellule spécialisée, entre les propriétés qui concourent à assurer sa croissance et sa survie d'une part, et celles qui lui permettent de remplir sa fonction physiologique d'autre part, prend une valeur heuristique incontestable dès lors que l'on réfléchit à l'immense champ de recherche que constituent les *régulations* du fonctionnement cellulaire. En effet, ces deux aspects fonctionnels sont, l'un comme l'autre, assujettis à de multiples boucles régulatrices, qui s'exercent à tous les niveaux d'organisation que comporte la cellule ; mais les deux types de régulations obéissent à des finalités différentes. D'une façon générale et en simplifiant, on peut les décrire comme il suit :

1) Les mécanismes régulateurs qui relèvent de la Biologie Cellulaire entrent en jeu de façon séquentielle et étroitement coordonnée chaque fois qu'une cellule entreprend un cycle de division en réponse à des stimuli mitogènes appropriés, ou encore chaque fois qu'une cellule doit modifier son fonctionnement pour assurer sa survie, par exemple lorsqu'elle est soumise à des situations critiques de stress ou d'hypoxie. Qu'ils aient pour fonction de maintenir l'état stationnaire du métabolisme et du milieu intracellulaire dans les conditions normales, ou au contraire d'ajuster le fonctionnement de la cellule aux perturbations de leur environnement, tous les processus mis en jeu dans ce premier type de régulation s'exercent au profit de la cellule elle-même.

2) Les mécanismes régulateurs qui relèvent de la Physiologie Cellulaire sont ceux qui, sur un type cellulaire donné, modulent qualitativement ou quantitativement, la (ou les) fonction(s) spécialisée(s) remplie(s) par cette cellule dans l'organisme. Ici la cellule n'est généralement qu'un maillon dans une boucle régulatrice plus large comportant l'intervention séquentielle de plusieurs types de cellules différentes. Dans le cas d'une réponse comportementale, par exemple, sont mises en jeu des cellules sensorielles (agissant comme des récepteurs), puis une série de cellules nerveuses (adressage des messages afférents et efférents), enfin des cellules contractiles ou glandulaires (agissant comme effecteurs). Ou encore, dans le cas d'une régulation métabolique par rétrocontrôle, des cellules sensorielles (capteurs) pourront, par des relais nerveux ou hormonaux, stimuler des cellules endocrines (agissant comme

transducteurs et comme amplificateurs) ; la ou les hormones produites iront à leur tour moduler l'activité de cellules effectrices du métabolisme, les adipocytes ou les hépatocytes par exemple ; en modifiant de façon appropriée les échanges métaboliques avec le sang, ces cellules contribueront à assurer l'homéostasie du milieu intérieur de l'organisme. Dans ce type de régulation physiologique, chaque type de cellules impliquées joue un rôle bien défini dans une boucle ouverte ou fermée. Comme on le voit, les régulations physiologiques sont possibles en raison même de l'existence d'une extrême spécialisation des types cellulaires et de leurs propriétés respectives ; mais ici, les cellules concernées ne sont que des éléments intégrés dans un ensemble d'ordre supérieur, l'organisme ; la fonction spécialisée propre à chaque type de cellule lui permet de jouer un rôle physiologique précis dans l'économie générale de l'organisme. Les mécanismes physiologiques qui opèrent en modulant l'activité spécifique de cellules données n'ont nullement pour fonction d'assurer la régulation de ces cellules ; leur finalité s'inscrit toujours dans le cadre de régulations, comportementales ou métaboliques, visant à maintenir tout à la fois l'autonomie comportementale de l'individu et la constance de son milieu intérieur, « conditions d'une vie » « libre », selon l'expression de Claude Bernard.

Chez les animaux supérieurs, toute cellule est donc à la fois une entité vivante complète — et assujettie à ce titre à de multiples régulations — et un instrument spécialisé dont le rythme de travail doit pouvoir s'adapter continuellement aux besoins variables de l'organisme.

Pour que ces deux modes de contrôle du fonctionnement cellulaire (qui répondent à des exigences différentes, voire contradictoires dans certaines situations) puissent coexister efficacement, il apparaît essentiel qu'existe, dans le programme du fonctionnement cellulaire, un « logiciel » qui permette non seulement de coordonner l'ensemble des processus mis en œuvre dans la cellule en réponse à un stimulus externe donné, mais aussi d'établir une *hiérarchie* entre des signaux régulateurs différents qui surviendraient simultanément — et de fixer ainsi un « ordre de priorité » aux diverses réponses que ces signaux sont susceptibles de déclencher dans la cellule.

Pour tenter d'apporter des éléments de réponse à la question posée, nous avons successivement envisagé le problème des régulations cellulaires sous un angle théorique et général, puis dans l'extrême complexité de leurs aspects moléculaires.

*
**

L'essor des théories de l'information et en particulier la naissance de la cybernétique dans les années 50 suscitèrent intérêt et espoir chez les biologistes en général et les neurophysiologistes en particulier, puisque ces disci-

plines nouvelles pouvaient apporter un cadre conceptuel adéquat dans lequel des propriétés du vivant aussi différentes que le programme génétique, les régulations endocriniennes ou le trafic des signaux nerveux, par exemple, seraient susceptibles d'être formalisées rationnellement. Avec le recul du temps, et malgré les travaux théoriques de grand intérêt de Wiener, Ashby ou Von Neumann, il faut reconnaître aujourd'hui que ces espoirs ne se sont malheureusement pas concrétisés. Les raisons de cet échec mériteraient d'autant plus d'être analysées que nous n'avons toujours aucune méthode quantitative à notre disposition qui puisse permettre de formaliser une régulation biologique de façon adéquate, c'est à dire prédictive du comportement du système lorsqu'on fait varier la valeur de ses paramètres. C'est probablement l'extrême complexité du moindre système biologique et surtout l'aspect qualitatif — ou trop approximativement quantitatif — de notre connaissance des propriétés des éléments critiques (macromoléculaires) du système qui expliquent notre impuissance actuelle à dépasser le descriptif et le qualitatif en matière de régulations biologiques.

*

**

A défaut de cadre conceptuel adéquat dans lequel l'analyser globalement, le problème de la régulation physiologique du fonctionnement cellulaire a été illustré dans le cours à l'aide d'un ou deux exemples récemment étudiés.

Le premier exemple choisi concerne un transporteur membranaire, l'antiport Na^+/H^+ , qui assure la translocation à travers les membranes cellulaires d'un ion Na^+ (entrant dans la cellule) par échange contre ion H^+ (sortant de la cellule).

Cet échangeur a été découvert, voici environ 20 ans, dans les membranes apicales des cellules proximales du rein, où son fonctionnement permet la réabsorption continue d'une fraction importante du Na HCO_3 filtré et l'acidification de l'urine primitive, par des mécanismes moléculaires bien établis aujourd'hui. Depuis, la présence d'antiport Na^+/H^+ a été retrouvée dans les membranes d'un très grand nombre d'autres types cellulaires, de sorte que l'on considère aujourd'hui qu'il s'agit d'un composant membranaire ubiquitaire, qui permettrait aux cellules, lorsque leur pH s'abaisse par suite d'un « stress acide », de le rétablir à une valeur normale en expulsant les ions H^+ en excès contre des ions Na^+ .

On voit donc que l'échangeur Na^+/H^+ peut remplir deux types de fonctions. Dans la plupart des cellules, il intervient pour défendre l'intégrité cellulaire lorsque la cellule est soumise à un « stress acide » ; cette première fonction se retrouve dans les cellules en culture, où elle est particulièrement facile à étudier. Dans les cellules proximales du rein, par contre, l'échangeur Na^+/H^+ remplit une fonction physiologique spécifique — l'acidification de l'urine — et

contribue par là à la régulation du pH du milieu intérieur de l'organisme. Bref, l'échangeur Na^+/H^+ peut participer aux deux types de régulation (cellulaire et physiologique) que nous avons distingués. Des différences de propriétés, cependant, ont été notées entre l'échangeur ubiquitaire et l'échangeur rénal, notamment en ce qui concerne leur sensibilité aux dérivés de l'amiloride, leur dépendance du pH intracellulaire ou encore leur activation par phosphorylation (le premier est activé par la PK_c , le second est inhibé par la PK_A). Enfin, lorsqu'on met des cellules proximales du rein en culture primaire, la différenciation observée comporte une perte d'expression de la forme rénale du transporteur au profit de celle du transporteur ubiquitaire. Le clonage du gène de l'échangeur a révélé tout récemment qu'il existe en fait plusieurs isoformes d'antiport Na^+/H^+ qui diffèrent notamment dans leur domaine de régulation intracytosolique C-terminal.

Cet exemple démontre qu'au cours de l'évolution phylogénique, la duplication d'un même gène (codant pour le Na^+/H^+) a permis l'émergence d'isoformes de la protéine distinctes de la forme ubiquitaire dans leur spécificité d'expression tissulaire (région promotrice du gène), dans leur domaine régulateur cytosolique (séquences consensus vis-à-vis des protéine-kinases), etc. Bref, un « bricolage » génétique relativement limité à partir d'un même gène a conduit à des isoformes protéiques dont les rôles régulateurs respectifs s'avèrent profondément différents.

*

**

La dernière partie du cours a porté sur la régulation de l'expression des gènes et plus particulièrement sur les facteurs de transcription. On sait que ce domaine de la Biologie Moléculaire connaît depuis quelques années une progression remarquable. Il s'avère que les facteurs de transcription cytosoliques et nucléaires se subdivisent en plusieurs superfamilles constituées chacune d'un très grand nombre de protéines régulatrices. Plusieurs de ces familles se reconnaissent par la présence, dans la portion C-terminale de leur chaîne peptidique) d'un « motif structural » de conformation particulière (« helix-turn-helix », « Zinc Finger », « Leucine Zipper ») capable de se lier à des séquences consensus du DNA, souvent sous forme dimérique lorsque les séquences consensus sont palindromiques. Ces séquences consensus sont en général localisées dans les régions régulatrices du DNA localisées en amont de la portion codante et de la région promotrice des gènes. L'autre portion terminale de la chaîne peptidique des facteurs de transcription, par contre, est habituellement susceptible d'activer ou de réprimer la transcription des gènes par interaction protéine-protéine avec des éléments du complexe de transcription recouvrant la région promotrice du gène. Pour que ces liaisons spécifiques entre facteurs de transcription et DNA puissent se produire et affecter

l'expression des gènes correspondants, il convient que les facteurs de transcription aient été eux-mêmes activés, ce qui peut se produire par différents mécanismes : phosphorylation par des protéines kinase diverses, liaison d'une molécule hormonale dans le cas des stéroïdes ou des hormones thyroïdiennes. Enfin, le contrôle de l'expression de certains gènes peut résulter d'une cascade d'événements incluant d'abord l'activation d'autres gènes, dits « gènes précoces », dont les produits sont eux-mêmes les facteurs de transcription qui viendront exercer ce contrôle.

La diversité des familles de facteurs de transcription, la possibilité de formation d'hétérodimères entre membres différents d'une même famille, la double spécificité d'interaction de leurs molécules avec, d'une part, des séquences consensus de la région régulatrice de certains gènes et, d'autre part avec des protéines liées à leur région promotrice, confèrent au processus de régulation de l'expression des gènes une très grande souplesse temporelle tout en assurant la spécificité requise.

Les contributions des dernières années ont en partie clarifié un domaine rendu confus par des problèmes de terminologie, en particulier lorsqu'il a été clairement montré que la plupart des « oncogènes » précédemment isolés de cellules cancéreuses ou de tumeurs virales correspondent en réalité à des facteurs cellulaires (pro oncogènes) normalement impliqués dans le contrôle ou le déclenchement du processus de la division cellulaire, qu'il s'agisse de facteurs de croissance, de récepteurs à des facteurs de croissance, de tyrosine kinases ou encore de facteurs contrôlant plus directement l'initiation de la réplication du DNA.

En établissant, avec une profusion d'exemples et une certaine diversité dans leur mode d'action, que des protéines régulatrices en grand nombre sont capables de se lier spécifiquement au DNA pour y contrôler sélectivement l'expression des gènes, la Biologie Moléculaire des quinze dernières années a démontré que le flux d'information dirigé des gènes vers les protéines au travers des processus de transcription et de traduction n'est pas seul en cause, mais qu'il existe également des rétroactions régulatrices subtiles et permanentes s'exerçant de l'extérieur du noyau sur le DNA, sa réplication ou l'expression de ses gènes.

Malgré les progrès impressionnants réalisés récemment, il reste beaucoup à apprendre encore sur la façon dont les divers signaux régulateurs qui atteignent une cellule sont reconnus, amplifiés, puis analysés et filtrés dans le cytoplasme selon l'état fonctionnel de la cellule avant d'aller moduler éventuellement l'activité fonctionnelle d'enzymes spécifiques ou de canaux membranaires, ou encore d'aller réprimer ou exalter la transcription de gènes particuliers.

L'inventaire de ces processus multiples et complexes a commencé. Il n'est pas encore assez avancé pour qu'il apparaisse possible dès aujourd'hui de se

représenter selon quels mécanismes de sélection s'organise dans une cellule l'intégration des réponses régulatrices.

*

**

En outre, le cours de cette année a comporté deux leçons faites à l'Université de Montpellier II sur le sujet suivant : « Des propriétés des membranes à celles de la cellule : essai d'intégration fonctionnelle quantitative ».

*

**

PROGRAMME DES SÉMINAIRES

D. CHABARDÈS. Contrôle intracellulaire des effets de la vasopressine dans ses différents effecteurs du rein.

A. SENTENAC. Les ARN polymérases de la levure.

A. SENTENAC. Les facteurs de transcription chez la levure.

F. LE BOUFFANT-SLADECZECK. Rôle de la cdc2 protéine kinase dans la division cellulaire.

M. VIGNY. Une nouvelle famille de protéines ayant une haute affinité pour l'héparine et régulée par l'acide rétinolique.

J. BOCKAERT. Les protéines G, un rôle général de commutateurs moléculaires.

M. CASTAGNA. Rôle de la protéine kinase C dans les régulations cellulaires.

En outre deux séminaires ont été donnés à l'Université de Montpellier II sur les sujets suivants :

F. MOREL. Sites de production d'arginine et d'urée dans le rein.

F. MOREL. Mise en évidence par fluorescence du fura-2 de récepteurs cholinergiques dans des cellules épithéliales du rein.

TRAVAUX DU LABORATOIRE DE PHYSIOLOGIE CELLULAIRE

Pour ne pas allonger ce rapport, nous n'indiquerons ci-dessous que les résultats récents des études qui n'ont pas fait l'objet d'une analyse détaillée dans notre rapport de l'année dernière.

I. CARACTÉRISATION DES RÉCEPTEURS DES HORMONES NEUROHYPOPHYSAIRES COUPLÉS À LA PHOSPHOLIPASE C DANS LES GLOMÉRULES RÉNAUX DE LA GRENOUILLE

(D. BUTLEN, R. RAJERISON, A. AMMAR, S. ROSEAU et M. FAURE)

La sensibilité hormonale de la Phospholipase C a été étudiée en utilisant des glomérules préincubés en présence de 0,3 nmol de (³H)-myo-inositol durant 2 h 30 à 26 °C et incubés avec 5mM de LiCl durant 20 min à 26 °C en présence de vasotocine ou d'analogues structuraux. Dans ces conditions, l'activité basale de l'enzyme est activable et saturable par des doses croissantes de vasotocine suivant une cinétique de type allostérique avec un léger phénomène de coopérativité négative (constante apparente d'activation $K_a = 10$ nM ; coefficient de Hill $n = 0,7$; facteur de stimulation 7). Les analogues possédant des propriétés agonistiques chez les Mammifères stimulent l'activité de la Phospholipase C du glomérule de Grenouille, mais avec des valeurs de K_a ($[[\text{Phe}^2, \text{Orn}^8]\text{VT} < \text{AVT} < \text{OT} < \text{AVP} \ll \text{dDAVP}$) et des activités intrinsèques différentes de celles de la vasotocine. Il faut souligner que le marqueur sélectif des récepteurs mammaliens de type ocytocique, la $[\text{Thr}^4, \text{Gly}^7]\text{OT}$ est totalement inactif sur l'enzyme glomérulaire de Grenouille, ce qui permet d'exclure vraisemblablement la présence de récepteurs de type OT dans le glomérule de *R. ridibunda*. Par ailleurs, tous les peptides testés présentant des potentialités antagonistiques chez les Mammifères sont capables, dans le glomérule de Grenouille, d'inhiber la stimulation de la Phospholipase C induite par la vasotocine avec les valeurs croissantes suivantes des constantes apparentes d'inhibition K_i :

$\text{Tyr-NH}_2^9\text{-LA-V}_{1a} \ll \text{d}(\text{CH}_2)_5[\text{Tyr}(\text{Me})^2]\text{AVP}$
 $= \text{OVTA} < \text{d}(\text{CH}_2)_5 \text{Sar}^7 \text{AVP} < \text{d}(\text{CH}_2)_5 \text{Tyr}(\text{Et})^2,$
 $\text{VAVP} = \text{des Gly}^9\text{-d}(\text{CH}_2)_5 \text{Tyr}(\text{Et})^2, \text{VAVP}.$

Toutefois, aucune corrélation significative ne peut être établie entre les paramètres cinétiques de la liaison des analogues sur les récepteurs glomérulaires et les paramètres cinétiques de l'activation de la Phospholipase C par les agonistes ou ceux de l'inhibition par les antagonistes de l'activation hormonale de l'enzyme. Ceci suggère donc que la population de récepteurs glomérulaires marqués par le ¹²⁵I-OVTA serait hétérogène et contiendrait une première catégorie de récepteurs apparentés au type mammalien V_{1b} hypophysaire et impliqués dans l'activation de la Phospholipase C et une seconde catégorie de récepteurs contrôlant d'autres activités enzymatiques qui restent à définir.

II. CARACTÉRISATION DES ISOFORMES DE LA Na-K-ATPase EXPRIMÉES LE LONG DU NÉPRHON

(C. BARLET-BAS, L. CHEVAL, S. MARSY, B. BUFFIN-MEYER, A. DOUCET.
 En collaboration avec E. FÉRAILLE, Hôpital Cantonal de Genève).

Il est aujourd'hui bien établi qu'il existe au moins trois isoformes de la sous-unité catalytique de la Na-K-ATPase ($\alpha_1, \alpha_2, \alpha_3$) présentant des caracté-

ristiques cinétiques différentes. Ainsi α_3 a une plus grande sensibilité à l'ouabaïne et une plus forte affinité pour le sodium que l'isoforme α_1 . Ces différentes isoformes semblent être exprimées spécifiquement dans certains tissus mais pas dans d'autres. Ainsi le cerveau exprime préférentiellement α_2 et α_3 alors que le rein du rat n'exprimerait que l'isoforme α_1 .

En collaboration avec Eric Féraïlle, nous avons montré que dans chacun des segments du néphron de rat coexistent deux populations de Na-K-ATPase, l'une à forte affinité pour l'ouabaïne (K_i apparent $\approx 10^{-6}$ M) et l'autre à faible affinité (K_i apparent $\approx 2 \times 10^{-4}$ M). Seules les proportions relatives de ces deux populations varient d'un segment à l'autre, la population à faible affinité pour l'ouabaïne étant toujours prépondérante. Des anticorps spécifiques des isoformes α_1 et α_3 (anti- α_1 et anti- α_3), inhibent partiellement l'activité Na-K-ATPase dans chacun des segments de néphron étudiés. Il apparaît donc que, chez le rat, chaque segment du néphron exprime deux isoformes, l'isoforme α_1 classiquement décrite et l'isoforme reconnue par l'anticorps anti- α_3 et qui a une forte affinité pour l'ouabaïne.

Nous avons voulu vérifier cette hypothèse en caractérisant les ARN messagers codant pour la Na-K-ATPase exprimés dans les différents segments de néphron de rat. Nous avons pour cela développé la technique de RT-PCR qui nous a permis de confirmer que tous les segments du néphron expriment les ARN messagers spécifiques de l'isoforme α_1 . Par contre, nous n'avons pas mis en évidence la présence d'ARN messagers codant pour l'isoforme α_3 , ce qui suggère que l'activité Na-K-ATPase de forte affinité pour l'ouabaïne et inhibée par l'anticorps anti- α_3 correspondrait à une nouvelle isoforme distincte de α_1 et α_3 .

III. EFFET INHIBITEUR DE L'ACIDE ARACHIDONIQUE SUR LA PRODUCTION D'AMP CYCLIQUE

(D. FIRSOV, L. AARAB, S. SIAUME-PEREZ, D. CHABARDÈS)

L'acide arachidonique joue un rôle important dans le contrôle des fonctions rénales puisqu'il est le précurseur de métabolites régulateurs tels que les prostaglandines et les dérivés du cytochrome P_{450} . Des études récentes sur différents tissus montrent aussi que l'acide arachidonique lui-même peut moduler directement certaines fonctions : conductances ioniques, activation de la protéine kinase C.

La production d'AMP cyclique semble également susceptible d'être contrôlée directement par l'acide arachidonique dans certaines cellules rénales bien définies comme le suggèrent les résultats suivants : On sait que la vasopressine stimule la formation d'AMP cyclique dans le canal collecteur et l'anse large ascendante de néphron de rat incubés *in vitro*. L'addition d'une faible concen-

tration d'acide arachidonique ($5 \mu\text{M}$) diminue cette production, mais ceci uniquement dans la partie médullaire (MTAL) de l'anse large ascendante (50 à 70 % d'inhibition).

Les inhibiteurs du métabolisme de l'acide arachidonique par la voie de la cyclooxygénase, de la lipooxygénase ou du cytochrome P_{450} n'empêchent pas cet effet de l'acide arachidonique ; de plus, il n'est reproduit par aucun autre acide gras ayant une structure proche (10 acides gras testés).

Une augmentation éventuelle de calcium intracellulaire ne semble pas impliquée car l'action inhibitrice de l'acide arachidonique est d'amplitude comparable en présence ou en absence de calcium dans le milieu d'incubation et n'est pas affectée par l'addition d'un chélateur du calcium ionisé intracellulaire (BAPTA). L'inhibition par l'acide arachidonique n'est pas due non plus à une activation de la protéine kinase C puisque elle n'est pas reproduite par un ester de phorbol et n'est pas bloquée par un inhibiteur de la protéine kinase C.

Par contre, la préincubation des MTAL en présence de toxine de Bordetella Pertussis supprime l'action inhibitrice de l'acide arachidonique avec une efficacité supérieure à celle observée vis à vis de l'effet inhibiteur de la PGE_2 sur ce segment.

Ces observations suggèrent que l'acide arachidonique inhibe les effets de la vasopressine sur le MTAL via un effet direct d'une protéine G_i sur l'adénylate cyclase. Cette régulation pourrait intervenir pour diminuer les fonctions de transport dans ce segment dans des conditions d'anoxie auxquelles le MTAL est particulièrement sensible et au cours desquelles la médullaire rénale libère une quantité importante d'acide arachidonique.

IV. DISTRIBUTION ET PROPRIÉTÉS DE L'ARGINASE RÉNALE

(O. LEVILLAIN, A. HUS-CITHAREL et F. MOREL)

On sait que le rein des mammifères possède une activité arginasique. Bien que cette activité soit faible, elle suggère que de l'urée pourrait être produite dans le rein. Nous avons récemment pu montrer, chez 5 espèces différentes de mammifères, que de l'urée est effectivement produite en quantités significatives le long du néphron. C'est dans la pars recta du tubule proximal, et plus particulièrement dans sa partie médullaire, (OSPST) que cette production est la plus importante. En outre, une production non négligeable d'urée a été notée dans le canal collecteur médullaire (OMCD) chez le rat et le mériion.

Dans un travail effectué chez le mériion et utilisant des fragments de néphron solubilisés par le Tritonix-100, nous avons étudié quelques propriétés biochimiques de l'arginase contenue dans la pars recta et le canal collecteur et les avons comparées à celles de l'arginase hépatique de veau.

La production d'urée est mesurée en ajoutant de la L-[guanido ^{14}C] arginine (200 μM) et de l'uréase dans le milieu d'incubation contenant les fragments de néphron solubilisés et en captant dans KOH le $^{14}\text{CO}_2$, produit durant l'incubation.

— L'optimum de pH pour l'arginase rénale (CPST et OMCD) est égal à 9,5, alors que celui de l'arginase hépatique est de 10,0.

— Les courbes « dose-réponse » *hyperboliques* obtenues pour l'arginase rénale (OMCD) et pour l'arginase hépatique donnent des affinités apparentes respectivement égales à 1,15 et 4,4 mM. Dans la pars recta on obtient des courbes « dose-réponse » comportant 2 composantes : l'une rapide (K_m app \approx 1,5 mM) et l'autre lente K_m app \approx 18 mM).

— L'ornithine est un inhibiteur compétitif pour l'arginase de la pars recta et du canal collecteur (le K_i se situe entre 0,1 et 0,35 mM). Pour l'arginase hépatique, le K_i est égal à \approx 3,40 mM.

— La lysine est également un inhibiteur compétitif dans le rein et dans le foie. (CPST et OMCD : $K_i \approx$ 1,6 mM ; foie : $K_i \approx$ 5,2 mM).

— A pH = 7,40, le Mn^{++} (2 mM) inhibe l'arginase rénale (CPST), active l'arginase hépatique et est sans effet sur l'arginase contenue dans l'OMCD.

Ces résultats indiquent que la (ou les) arginase(s) contenue(s) dans la pars recta et le canal collecteur de mériion présente(nt) des propriétés différentes de celles de l'arginase hépatique et suggèrent que ces 2 segments du néphron pourraient contenir des isoenzymes de l'arginase différentes.

BIBLIOGRAPHIE

W.G. GUDER & F. MOREL. *Biochemical characterization of individual nephron*. Handbook of Physiology. Section 8 : Renal Physiology. Vol 2. Ed by E.E. Windhager, Oxford Univ. Press., pp. 2119-2164, 1992.

A. DOUCET. *Na-K-ATPase in the kidney tubule in relation to natriuresis*. Kidney Int. 41 : S118-S124, 1992.

A. AMMAR, S. ROSEAU & D. BUTLEN. *Postnatal ontogenesis of vasopressin receptors in the rat collecting duct*. Mol. Cell. Endocrinol. 86 : 193-203, 1992.

E. FÉRAILLE, S. MARSY, L. CHEVAL, C. BARLET-BAS, C. KHADOURI, H. FAVRE & A. DOUCET. *Sites of the antinatriuretic action of insulin along the rat nephron*. Am. J. Physiol. 263 (Renal Fluid Electrolyte Physiol. 32) : F175-F179, 1992.

G. DAGHER & C. SAUTEREY. *H^+ pump and Na^+/H^+ exchange in isolated single proximal tubules of spontaneously hypertensive rats*. Journal of Hypertension, 10 : 969-978, 1992.

O. LEVILLAIN, A. HUS-CITHAREL, F. MOREL & L. BANKIR. *Localization of urea and ornithine production along mouse and rabbit nephrons : functional significance*. Am. J. Physiol. 263 (Renal Fluid Electrolyte Physiol. 32) : F878 - F885, 1992.

O. LEVILLAIN, A. HUS-CITHAREL, F. MOREL & L. BANKIR. *Arginine synthesis along the mammalian nephron*. In Guanidino Compounds in Biology and Medicine. P.P. De Deyn, B. Marescau, V. Stalon and L.A. Qureshi eds., John Libbey & Co Ltd, Chap. 9, pp. 63-70, 1992.

N.M. GRIFFITHS, C. BRICK-GHANNAM, S. SIAUME-PEREZ & D. CHABARDES. *Effect of prostaglandin E₂ on agonist-stimulated cAMP accumulation in the distal convoluted tubule isolated from the rabbit kidney*. Pflügers Arch. 422 : 577-584, 1993.

D. BUTLEN & A. AMMAR. *Pharmacological identification of vasopressin receptors in the isolated renal tubule*. In « Methods in Neurosciences », Conn P.M. (ed.), Academic Press, Orlando, Vol. 13, pp. 308-330, 1993.

L. AARAB, M. MONTEGUT, S. SIAUME-PEREZ, M. IMBERT-TEBOUL & D. CHABARDES. *PGE₂-induced inhibition of AVP-dependent cAMP accumulation in the OMCD of the rat kidney is cumulative with respect to the effects of α_2 -adrenergic and A₁-adenosine agonists, insensitive to pertussis toxin and dependent on extracellular calcium*. Pflügers Arch. 423 : 397-405, 1993.

Sous presse et soumis :

O. LEVILLAIN. *Valine oxidation in the rat medullary thick ascending limb*. Pflügers Arch. 1993. Pflügers Arch. 1993. (sous presse).

B. MANDON, E. SIGA, D. CHABARDES, D. FIRSOV, N. ROINEL & C. de ROUFFIGNAC. *Insulin stimulates Na⁺, Cl⁻, Ca²⁺, and Mg²⁺ transports in the thick ascending limb of the mouse nephron. Cross-potentialiation with arginine vasopressin*. Am. J. Physiol. (sous presse).

S.R. THOMAS & D. DAGHER. *A modeling study of solute reabsorption along the rat proximal tubule*. Acta Biotheoretica (sous presse).

E. FÉRAILLE, B. VOGT, M. ROUSSELOT, C. BARLET-BAS, L. CHEVAL, A. DOUCET & H. FAVRE. *Mechanism of enhanced Na-K-ATPase activity in cortical collecting duct from rats with nephrotic syndrome*. J. Clin. Invest. (sous presse).

C. BARLET-BAS, E. ARYSTARKHOVA, L. CHEVAL, S. MARSY, K. SWEADNER, N. MODYANOV & A. DOUCET. *Are there several isoforms of Na-K-ATPase α subunit in the rabbit kidney ?* J. Biol. Chem. (sous presse).

G. EL MERNISSI, C. BARLET-BAS, C. KHADOURI, L. CHEVAL, S. MARSY & A. DOUCET. *Short term effect of aldosterone on vasopressin-sensitive adenylate cyclase in rat collecting tubule.* Am. J. Physiol. (sous presse).

A. CHAMPIGNEULLE, E. SIGA, G. VASSENT & M. IMBERT-TEBOUL. *A V_2 -like vasopressin receptor mobilizes intracellular calcium in the rat medullary collecting tubule.* Am. J. Physiol. (sous presse).

M. IMBERT-TEBOUL, A. CHAMPIGNEULLE & E. SIGA. *Segmental distribution of V_{1a} — and V_2 — receptor mediated effects along the nephron.* P. Gross Ed, John Libbey, London, Paris. (sous presse).

L. AARAB, S. SIAUME-PEREZ & D. CHABARDES. *The activation of protein kinase C prevents PGE_2 -induced inhibition of AVP-dependent cAMP accumulation in the rat outer medullary collecting tubule.* (Pflügers Archiv. soumis).

E. FÉRAILLE, S. MARSY, C. BARLET-BAS, M. ROUSSELOT, L. CHEVAL, H. FAVRE & A. DOUCET. *Insulin desensitization of tubular Na-K-ATPase during chronic endogenous hyperinsulinemia in rats.* (Am. J. Physiol. soumis).

E. SIGA, A. CHAMPIGNEULLE & M. IMBERT-TEBOUL. *Cyclic AMP effects on cytosolic calcium in the rat collecting duct. Regulation by vasopressin and calcitonin.* (Am. J. Physiol. soumis).

P. MENETON, M. BLOCH-FAURE, R.M. RAJERISON. *Stimulation of phosphoinositidase C by PAF and endothelin in isolated rat glomeruli.* (Mol. Cell. Endocrinol. soumis).

S.R. THOMAS & D. DAGHER. *A kinetic model of rat proximal tubule transport-load dependent bicarbonate reabsorption along the tubule* (sousmis).

O. LEVILLAIN, A. HUS-CITHAREL, F. MOREL. *Urea production by kidney collecting ducts in vitro. Effect of amino acid addition.* (Biochem. J., soumis).

COMMUNICATIONS À DES CONGRÈS ET COLLOQUES

A. HUS-CITHAREL, O. LEVILLAIN & F. MOREL. *Production of urea from arginine and properties of arginase in pars recta and collecting duct of the meriones shawi kidney. Comparison with arginase of calf liver.* 7th European Colloquium on Renal Physiology, Naples, Italy, 13-16 juin 1992. Renal Physiol. Biochem. : 15, Abstract [192].

R.M. RAJERISON, P. MENETON & M. BLOCH-FAURE. *Comparative effects of angiotensin II (AII), endothelin (Et), platelet activating factor (PAF) and carbachol (Cch) on phosphoinositide (PI) turnover in rat glomeruli.* 7th European Colloquium on Renal Physiology, Naples, Italy, 13-16 juin 1992. Renal Physiol. Biochem. : 15, Abstract [176].

D. BUTLEN, A. AMMAR & S. ROSEAU. *Developmental pattern of vasopressin receptors in the rat collecting duct*. 7th European Colloquium on Renal Physiology, Naples, Italy, 13-16 juin 1992. Renal Physiol Biochem. : 15, Abstract [83].

A. CHAMPIGNEULLE & M. IMBERT-TEBOUL. *Effect of V1 and V2 vasopressin agonists on cytosolic calcium $[Ca^{2+}]_i$ in the rat collecting tubule*. 7th European Colloquium on Renal Physiology, Naples, Italy, 13-16 juin 1992. Renal Physiol Biochem. : 15, Abstract [85].

D. CHABARDES, L. AARAB & N. GRIFFITHS. *Activity and regulation of the vasopressin-sensitive adenylate cyclase system of the collecting duct*. 7th European Colloquium on Renal Physiology, Naples, Italy, 13-16 juin 1992. Renal Physiol Biochem. : 15, Abstract [84].

J. MARCHETTI, F. LEBRUN, P. MENETON, M. FAURE & R. RAJERISON. *The parietal Bowman's capsule of the rat renal glomerulus : Target of endothelin and PAF*. 25th Annual Meeting of The American Society of Nephrology. 15-18 nov. 1992. Abstract [17P].

O. LEVILLAIN, A. HUS-CITHAREL & F. MOREL. *Effects of amino acids on renal urea production from arginine*. 25th Annual Meeting of The American Society of Nephrology. 15-18 nov. 1992. JASN 1992 ; 3 : Abstract [830].

G. DAGHER & C. SAUTEREY. *α adrenergic agonist stimulates ammoniogenesis in rat proximal tubule*. 25th Annual Meeting of The American Society of Nephrology. 15-18 nov. 1992. Abstract [66P].

M. YOUNES-IBRAHIM, A. DOUCET. *Efeito fisiopatológico da endotoxina leptospirótica sobre a atividade da enzima Na-K-ATPase renal*. IV^e Rencontre des Chercheurs et étudiants brésiliens en France, Paris, juin 1993.

M. YOUNES-IBRAHIM, C. BARLET-BAS, L. CHEVAL, B. BUFFIN-MEYER, S. MARSY, A. DOUCET. *The endotoxin from leptospira interrogans is a potent inhibitor of renal Na-K-ATPase*. XIIth Intern. Congress Nephrol. Jérusalem, juin 1993.

EXPOSÉS SUR INVITATION, CONGRÈS, MISSIONS ET STAGES

F. MOREL a été invité au 7^e Colloque Européen de Physiologie Rénale, Naples, 13-16 juin 1992. Il a fait sur invitation l'exposé de clôture de la 60^e réunion annuelle de l'Association des Physiologistes, Nice, 22-25 septembre 1992. Au cours d'une mission au Maroc du 13 au 17 avril 1993, il a participé sur invitation à un séminaire de l'APEC sur l'enseignement de l'Endocrinologie au Maroc, et à donné deux exposés sur invitation à Rabbat et à Marrakech. Dans le cadre d'une mission en Roumanie du 9 au 13 mai 1993, il a donné un cours et un séminaire à l'Université Carol Davila et fait

une conférence à l'Institut Français de Bucarest. Enfin, il a été invité à la IVth International Vasopressin Conference, Berlin, 23-27 mai 1993.

A. DOUCET a fait des exposés sur invitation au FASEB Meeting, New Orleans, mars 1993 ; au Département of Molecular Genetics, Biochemistry and Microbiology, University of Cincinnati, mars 1993 ; au XIIth International Congress of Nephrology, Jerusalem, juin 1993 ; et au Département de Néphrologie, Hôpital Tenon, juin 1993.

A. HUS-CITHAREL a présenté des posters au 7^e Colloque Européen de Physiologie Rénale à Naples, 13-16 juin 1992 ; et au 25^e Meeting annuel de l'ASN, à Baltimore, 15-18 novembre 1992.

M. IMBERT-TEBOUL a effectué une mission d'une semaine sur invitation dans le laboratoire de R. Laprade (Groupe de Recherche sur les transports membranaires), à l'Université de Montréal en novembre 1992. Elle a été organisatrice d'une séance intitulée « Optical Methods in epithelial Physiology », dans le cadre du 7^e Congrès Européen de Physiologie Rénale, Naples, 13-16 juin 1992, durant lequel elle a également présenté une communication libre. Elle a été invitée à participer en tant que conférencier dans une des sessions de la IVth International Vasopressin Conference, Berlin, 23-27 mai 1993.

D. BUTLEN a donné une conférence à la Faculté des Sciences de Nice en mai 1993, et avec A. AMMAR, il a présenté une communication orale et une communication affichée à la IVth Int. Vasopressin Conference, Berlin, 23-27 mai 1993.

D. CHABARDÈS a fait des exposés sur invitation au 7^e Congrès Européen de Physiologie Rénale, Naples, 13-16 juin 1992.

G. DAGHER a présenté une communication orale au congrès « Contemporary issues in theoretical renal physiology », Colby Sawyer College, New London, New Hampshire (Etats Unis) en juin 1992 ; il a présenté une communication orale sur invitation à la réunion de la Physiological Society à Cambridge, Angleterre en octobre 1992.

R. RAJERISON a présenté un poster au 7^e Colloque Européen de Physiologie Rénale, Naples, 13-16 juin 1992.

J. MARCHETTI a présenté un poster au 25^e Meeting annuel de l'ASN, à Baltimore, 15-18 novembre 1992.

ENSEIGNEMENT

D. BUTLEN :

- DEA de Physiologie et de Physiopathologie Rénales de l'Université de Paris VII (4 heures).

D. CHABARDÈS :

- DEA de Physiologie et de Physiopathologie Rénales de l'Université de Paris VII (4 heures).
- Maîtrise de Sciences Biologiques et Médicales, Faculté de Médecine (3 heures).

A. DOUCET :

- DEA de Physiologie et de Physiopathologie Rénales de l'Université de Paris VII (14 heures).
- DEA de Pharmacologie de l'Université de Paris VI (2 heures).
- Ecole Centrale (15 heures).
- Préparation au CAPES et à l'Agrégation de Sciences Naturelles, Université d'Angers (10 heures).

F. MOREL :

- DEA de Physiologie et de Physiopathologie Rénales de l'Université de Paris VII (8 heures).

C. BARLET-BAS :

- Préparation au CAPES interne de Sciences Naturelles de Paris VI (4 heures).
- Travaux dirigés de Physiologie rénale au Magistère de Biologie-Biochimie, Paris VI-Paris XI (12 heures).
- Travaux dirigés à la préparation à l'Agrégation externe de Sciences de la Vie de Paris VI (12 heures).

THÈSES DE DOCTORAT D'UNIVERSITÉ

A. AMMAR « Caractérisation pharmacologique et ontogénèse des récepteurs de la vasopressine dans les segments distaux du néphron de rat ». (Université de Paris VI, le 6 juillet 1992).

L. AARAB « Action inhibitrice de la prostaglandine E₂ sur l'accumulation d'AMP cyclique induite par l'hormone antidiurétique dans le canal collecteur de rein de rat : propriétés et régulation. (Université de Paris VII, le 17 mai 1993).

DISTINCTIONS

M. François MOREL a été reçu Docteur Honoris Causa de l'Université de Médecine et Pharmacie « Carol Davila » de Bucarest, en mai 1993.