

Sur l'origine des mucopolysaccharides acides du néphron, étudiée in vitro

I un de nous a décrit^{1,2} l'existence de mucopolysaccharides acides tapissant avec constance, quoique avec une intensité variable selon l'espèce animale et le niveau du néphron, l'épithélium glomérulaire et la lumière des segments tubulaires distaux du rein (anse de Henle, tube contourné distal et tube collecteur) de divers mammifères: lapin, cobaye, souris, rat et homme. Il insistait, en accord ultérieur avec BUCHER et ZIMMERMANN³, sur l'abondance particulière de ce matériel le long du bord libre de la plaque dense (macula densa) et rappelait, en outre, que, chez le cobaye, l'apex cellulaire des tubes collecteurs en est lui-même garni⁴. La question se posait de savoir si ces glycosaminoglycures – car ces substances en offriraient bien les caractères histochimiques – correspondent à la précipitation endo-rénale, par concentration ou changement de pH, de glycoprotéines circulantes^{5,6}, ou à une véritable sécrétion locale, éventuellement liée à l'activité de la macula densa⁷, des tubes distaux et collecteurs⁸⁻¹⁰. Pour aborder ce problème, nous nous sommes proposés de considérer ce qu'ils deviennent, morphologiquement, dans des explants de tissu rénal cultivés plusieurs jours in vitro, maintenus en vie, mais purgés du flux urinaire et des matériaux qu'il charrie.

Méthodes. Nous avons utilisé la souris et le cobaye. On découpe des fragments de reins d'environ 10 mm de longueur et 1 mm de côté et on les laisse nager, en tubes roulant, dans un milieu composé de la façon suivante: 1 g d'extrait de levure, 5 g de lactalbumine pour 1 000 ml de solution de Hanks et 20 ml% de sérum de veau. Les tubes tournent à la cadence de 12 tours/h et, deux fois par jour, on les retire de l'incubateur et on les agite, pour éviter que l'explant ne se fixe à la paroi de verre¹¹. Des spécimens sont fixés dans le Bouin au début de l'expérience, puis au bout de 6 et 24 h et de 2, 3, 4 et 5 jours. La technique au fer colloïdal de Müller-Mowry¹² – la plus sensible et la plus sélective à l'heure actuelle – est utilisée pour la mise en évidence des mucopolysaccharides acides.

Nous n'avons pas dépassé 5 jours de culture, soucieux d'éviter que trop de phénomènes de nécrose n'altèrent les résultats et leur interprétation, et jugeant que ce laps de temps suffisait à laver l'explant de la plus grande partie des précipités urinaires.

Résultats. Nous avons constaté que les mucopolysaccharides acides classiquement décrits^{1,2} subsistent dans le néphron, aussi longtemps que l'on maintient en vie les explants cultivés, et ceci, à chaque segment où l'histologie directe nous avait permis antérieurement^{1,2} de les localiser: épithélium glomérulaire, pourtour interne de la macula densa (Figure 1), de l'anse de Henle, du tube contourné distal (Figure 2) et du tube collecteur (Figure 3). Ils sont particulièrement visibles au niveau de l'épithélium glomérulaire et de la plaque dense.

L'interruption du flux urinaire et de l'apport des mucopolysaccharides acides contenus dans sa fraction adialysable, telle qu'elle est réalisée par les conditions de culture, n'entraîne pas leur disparition. Leur présence est en rapport direct avec les processus vitaux des cellules qu'ils recouvrent. En effet, ils font rarement défaut dans les

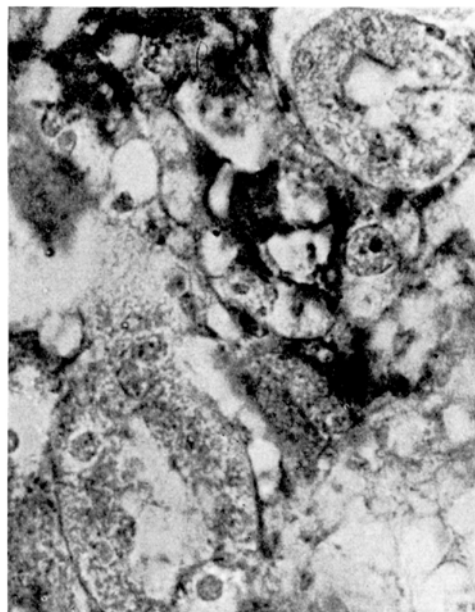


Fig. 2. Tube distal d'un explant rénal de cobaye, au bout de quatre jours de culture. Coloration selon Müller-Mowry, agr. 1700 fois, filtre rouge. Les mucopolysaccharides acides sont visibles, nettement conservés, et apparaissent en noir, le long de la lumière épithéliale. En bas à droite, zone de nécrose, exempte de réaction.

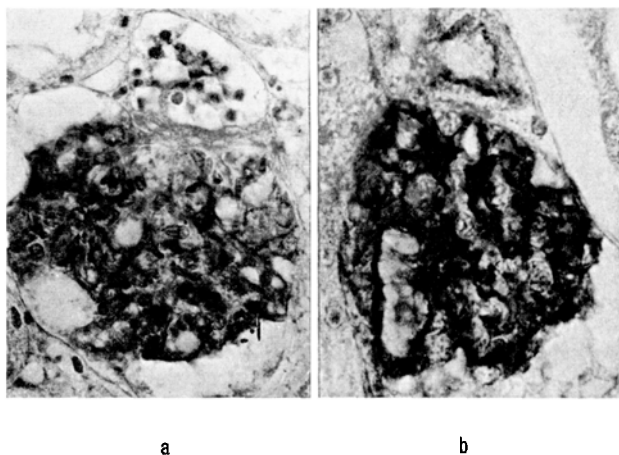


Fig. 1a. Épithélium glomérulaire et plaque dense d'un explant rénal de souris, après trois jours de culture. Coloration selon Müller-Mowry, agr. 1750 fois, filtre rouge. Les mucopolysaccharides acides sont nettement visibles en noir, le long de l'épithélium glomérulaire et du pourtour interne de la plaque dense. En haut à gauche, zone de nécrose, sans réaction visible.

Fig. 1b. Idem, après quatre jours de culture d'un explant rénal de cobaye. Pas de nécrose.

¹ R. W. MOWRY et J. C. MORARD, *Am. J. Path.* 33, 620 (1957).

² J. C. MORARD, G. LAGRUE, P. MEYER et J. BARIÉTY, *Pathol. Biol.* 11, 55 (1963).

³ O. BUCHER et E. ZIMMERMANN, *Acta anat.* 42, 352 (1960).

⁴ B. MONIS et J. B. LONGLEY, *Nature* 176, 741 (1955).

⁵ N. DI FERRANTE et C. RICH, *Clin. chim. Acta* 1, 519 (1956).

⁶ J. C. MORARD, J. F. GHATA, L. SALAMIN et E. AZERAD, *C. r. Soc. Biol.* 154, 321 (1960).

⁷ O. BUCHER et B. RIEDEL, *Comptes rendus de l'association des anatomistes*, 50ème réunion Lausanne (1965).

⁸ A. G. GINETZINSKI, *Nature* 182, 1218 (1958).

⁹ E. DICKERS et M. G. EGGLETON, *J. Physiol.* 154, 378 (1960).

¹⁰ C. R. KLEEMAN et R. E. CUTLER, *Ann. Rev. Physiol.* 25, 385 (1963).

¹¹ B. RIEDEL, *Z. Naturforsch.* 16, 802 (1961).

¹² J. F. A. McMANUS et R. W. MOWRY, *Staining Methods, Histologic and Histochemical* (P. B. Hoeber, New York 1960).

parties de l'explant où la vie est le mieux entretenue, soit la périphérie, tandis qu'ils s'estompent au centre du fragment, dès qu'apparaissent des signes de nécrose (Figures 2 et 3).

Discussion. Les mucopolysaccharides acides du néphron correspondent bien à une activité cellulaire locale et non à la sédimentation de colloïdes transportés par l'urine en voie de concentration et modification de pH car, si tel était le cas – peut-on ajouter aux observations précédentes – ils disparaîtraient avec prédilection des régions externes que le milieu de culture, toujours en mouvement, perfuse au maximum et seraient relativement préservés au centre du tissu. C'est le contraire que l'on observe.

D'autre part, les quelques cylindres demeurés in loco, lesquels résultent indiscutablement d'une précipitation de glycoprotéines urinaires et possèdent, entre autres, les

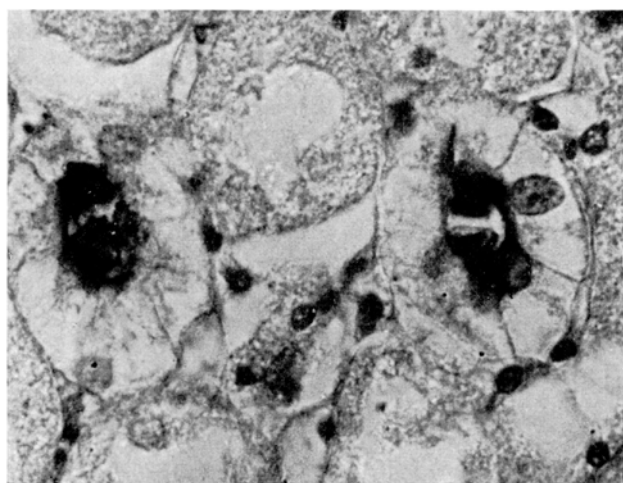


Fig. 3. Deux tubes collecteurs d'un explant rénal de cobaye maintenu en vie pendant cinq jours. Coloration selon Müller-Mowry, aggr. 1650 fois, filtre rouge. Les mucopolysaccharides acides, visibles en noir, emplissent l'apex des cellules épithéliales et tapissent le pourtour de la lumière. Au centre, zone de nécrose, sans réaction visible.

affinités tinctoriales des mucopolysaccharides acides, conservent ces propriétés dans les néphrons centraux en dégénérescence, tandis que les mucopolysaccharides qui revêtent l'épithélium environnant ne donnent plus aucune réaction.

Quel est leur rôle ? Des expériences à publier nous permettent d'avancer qu'au niveau de la macula densa où ils abondent, leur quantité peut varier selon l'activité de l'appareil juxtaglomérulaire.

D'autre part, certaines tendances physico-chimiques reconnues aux polymères de leur type suggèrent que, dans l'ensemble, ils pourraient jouer le rôle de transporteurs ou de membranes échangeuses d'ions, les complexant et leur faisant franchir l'épithélium. GINETZINSKI⁸, confirmé par DICKERS et EGGLETON⁹, paraît avoir montré, en corrélation, qu'une activation tubulaire d'hyaluronidase est en rapport direct avec l'antidiurèse localisée aux segments collecteurs et distaux¹⁰. Conséquemment, on pourrait attribuer à l'affinité et à la disponibilité de valences non saturées ou de radicaux physiquement avides appartenant aux mucopolysaccharides acides décrits, entre autres, les réabsorptions hydrominérales qui relèvent justement de leur topographie¹⁰ et que stimuleraient donc, par libération de nouvelles fonctions, scission de chaînes et perméabilisation de la surface cellulaire, une hydrolyse et une dépolymérisation traduites par l'élaboration adaptée d'hyaluronidase endorénale^{8,9}.

Summary. The tissue culture of renal explants proves that the acid mucopolysaccharides, previously described in the distal convoluted and the collecting tubule, do not result from urinary colloid precipitation, but from local epithelial secretion. Their physiological significance is discussed.

J. C. MORARD¹⁸ et B. RIEDEL

Institut d'Histologie et d'Embryologie de l'Université de Lausanne (Suisse), le 14 mai 1965.

¹⁸ Adresse habituelle: Laboratoire de Recherches Immunologiques, Hôpital Broussais, Paris (France).

The Effect of Proflavine on the Infection of *Phaseolus vulgaris* L. by Tobacco Necrosis Virus

It is well known that proflavine and other photo-dynamically active dyes such as acridine orange and neutral red, have an inhibitory effect on bacterial¹ and animal² viruses. The action of proflavine has been considered to be due to its positively charged molecule combining with the nucleic acid and inhibiting the proper aggregation of the nucleic acid with its protein coat³.

Comparatively few studies have been made on the effect of acridine dyes on plant viruses. Acriflavine has no marked effect on the multiplication of the rod-shaped tobacco mosaic virus (TMV)⁴, but CHESIN⁵ reported that acridine orange causes loss of activity of infectious TMV nucleic acid. The following is an account of studies on the action of proflavine on the polyhedral tobacco necrosis virus (TNV).

Results. When solutions of proflavine hemisulphate were rubbed with a camel-hair brush on the upper surface of the primary leaves of French bean seedlings (*Phaseolus vulgaris* L. 'Prince') at concentrations greater than 0.6 g/l distilled water they were usually phytotoxic. However, at concentrations of 0.5 g or 0.2 g/l proflavine had no deleterious effects on the leaves and reduced the infectivity of TNV (Table 1). Proflavine had no apparent effect on virus infection when diluted to a strength of 0.02 g/l. The dye was inhibitory to virus infection when rubbed on the primary leaves up to 24 h before or after inoculation. In

¹ R. J. FITZGERALD and M. E. LEE, *J. Immunol.* 52, 127 (1946).

² D. CROWTHER and J. L. MELNICK, *Virology* 14, 11 (1961).

³ N. LEDINKO, *Virology* 3, 46 (1958).

⁴ D. E. SCHLEGEL and T. E. RAWLINS, *J. Bacteriol.* 67, 103 (1954).

⁵ M. CHESIN, *Science* 132, 1840 (1960).