

ÉTUDE DE L'ANHYDRASE CARBONIQUE CHEZ LES OISEAUX

P. MONGIN

*Station de Recherches avicoles,
Centre de Recherches de Tours, 37 - Nouzilly (France)
Institut national de la Recherche agronomique*

AVANT-PROPOS

GUTOWSKA et MITCHELL (1945) attribuent un rôle important à l'anhydrase carbonique dans les mécanismes mis en jeu dans la formation de la coquille. Cette théorie repose d'une part sur l'étude de l'activité de cet enzyme *in utero*, et d'autre part, sur les effets de son inhibition par le diamox. Or, le premier point n'a jamais été confirmé ultérieurement et le second appelle quelques critiques :

En premier lieu, une injection intra-veineuse de diamox inhibe non seulement la carboanhydrase utérine, mais celle des autres organes. Est-il alors possible de conclure, comme l'ont fait les auteurs, et de négliger le rôle de l'anhydrase carbonique des autres tissus dans la formation de la coquille ?

En second lieu, en bloquant l'activité de l'enzyme au niveau rénal, le diamox entraîne une salidiurèse importante. Une perturbation de la fonction d'excrétion n'entraîne-t-elle pas une modification des processus qui concourent à la formation du carbonate de calcium coquillier ?

Ce mémoire n'a d'autre but que d'éclaircir ces deux points en reconsidérant, à l'aide des résultats acquis, le vrai rôle de l'anhydrase carbonique et en montrant par ailleurs que le diamox agit directement et indirectement sur l'équilibre acido-basique du sang.

PREMIÈRE PARTIE : ACTION DU DIAMOX
SUR L'ÉQUILIBRE ACIDO-BASIQUE DU SANG CHEZ LE COQ

1. — *Introduction*

Chez la Poule, la formation de la coquille est perturbée par le diamox ⁽¹⁾ (GUTOWSKA et MITCHELL, 1945) et cet effet a été attribué à l'arrêt de transfert des bicarbonates du sang à l'utérus par inhibition de l'anhydrase carbonique présente dans cet organe.

Mais la carboanhydrase est également présente dans les globules rouges où son inhibition peut stopper la production des bicarbonates sanguins. Elle est aussi présente dans le rein (WOLBACH, 1965) et dans l'os (SIGMUND et DULCE, 1960).

Il apparaît alors que la perturbation de la formation de la coquille par le diamox peut être la résultante d'actions situées dans des organes très différents : sang, rein, os et utérus.

Le but de ce travail est de voir si les effets du diamox sur l'équilibre acido-basique du sang peuvent, au moins partiellement, expliquer les résultats observés par GUTOWSKA et MITCHELL, sur la coquille. Pour ce faire, nous avons utilisé des coqs afin d'éliminer d'une part, le rôle du diamox sur l'utérus, et d'autre part, les variations sanguines dues à la formation de la coquille (MONGIN et LACASSAGNE, 1964).

2. — *Méthodes*

Nous avons injecté à 9 coqs (croisement *Rhode-Island* × *Wyandotte* souche *M 41*) des doses variables de diamox. Les animaux étaient en cages individuelles et placés dans des pièces où la température était maintenue constante ($19^{\circ} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$). Les prélèvements de sang ont été faits par canulation de la veine alaire et les analyses (pH, pCO_2 , et HCO_3) par la méthode d'ASTRUP (ASTRUP *et al.*, 1960) avec l'équipement Radiometer (pH-mètre 22 — microélectrode Unit-Tonomètre).

Notre étude porte essentiellement sur la dynamique d'une injection intraveineuse et l'action de 2 doses de 50 et 100 mg de diamox.

3. — *Résultats*

L'action du diamox au niveau sanguin se traduit par une chute de pH de 0,16 et 0,23 unité pour des doses de 50 et 100 mg respectivement ; chute essentiellement due à une élévation considérable de la pCO_2 (62,6 et 74,5 mm de Hg) ⁽²⁾. D'une manière concomitante, les bicarbonates augmentent (respectivement 2,0 méq/l et 4,4 méq/l) mais proportionnellement moins que la pCO_2 (fig. 1 et 2). Pour l'ensemble de ces trois mesures, l'effet maximal se situe entre 60 et 90 minutes après l'injection.

Les valeurs extrêmes une fois atteintes, le pH et la pCO_2 reviennent peu à peu à des valeurs normales, alors que la teneur en ions HCO_3^- continue à décroître après être revenue à la normale. Au bout de la 6^e heure, la pCO_2 n'est significative-

⁽¹⁾ Inhibiteur spécifique de la carboanhydrase.

⁽²⁾ Chez un coq nous avons enregistré la valeur de 86 mm de Hg pour une injection de 100 mg de diamox.

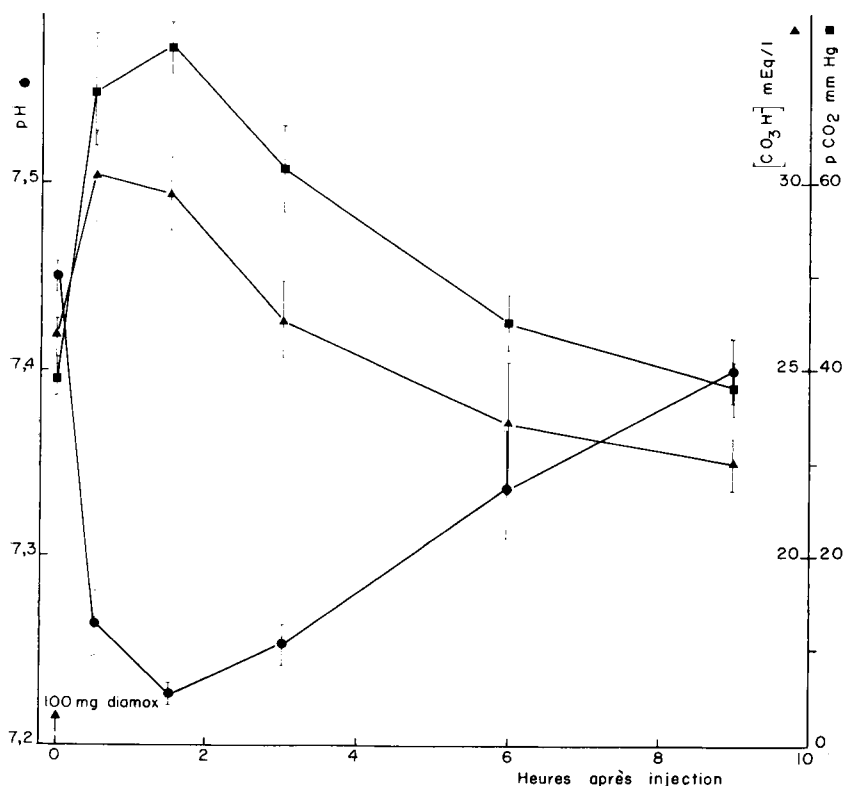


FIG. 1. — Variations du pH, de la pCO₂ et de la teneur en ions bicarbonates du sang veineux général après une injection intraveineuse de 100 mg de diamox

- pH moyen $\pm \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$
- pCO₂ moyenne $\pm \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$
- ▲ concentration moyenne des bicarbonates $\pm \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$

ment plus différente de la valeur initiale (tabl. 1). Par contre, dès la 3^e heure, les bicarbonates ont un niveau normal, puis leur taux s'abaisse à la 6^e heure au-dessous des valeurs de départ (P < 5 p. 100). Le fait que le pH soit encore bas (P < 0,1 p. 100) après 9 heures, n'est donc pas dû à une pCO₂ élevée, mais à un déficit en bicarbonates.

Ces résultats sont valables pour les 2 doses utilisées (tabl. 1 et 2); toutefois les valeurs extrêmes, atteintes en 90 minutes, sont fonction de la dose et significativement différentes (tabl. 3). Ensuite les écarts s'atténuent et à la 9^e heure après injection, ils ne sont plus significativement différents de zéro au seuil de 5 p. 100.

Parallèlement, nous avons testé la persistance de l'effet au-delà de 8 heures sur 5 coqs avec des doses de 100, 65 et 50 mg administrées en injection unique. Il apparaît ainsi que l'effet du diamox, quelle que soit la dose, est totalement dissipé au bout de 22 heures car, à ce moment, aucune des 3 constantes n'est significative-

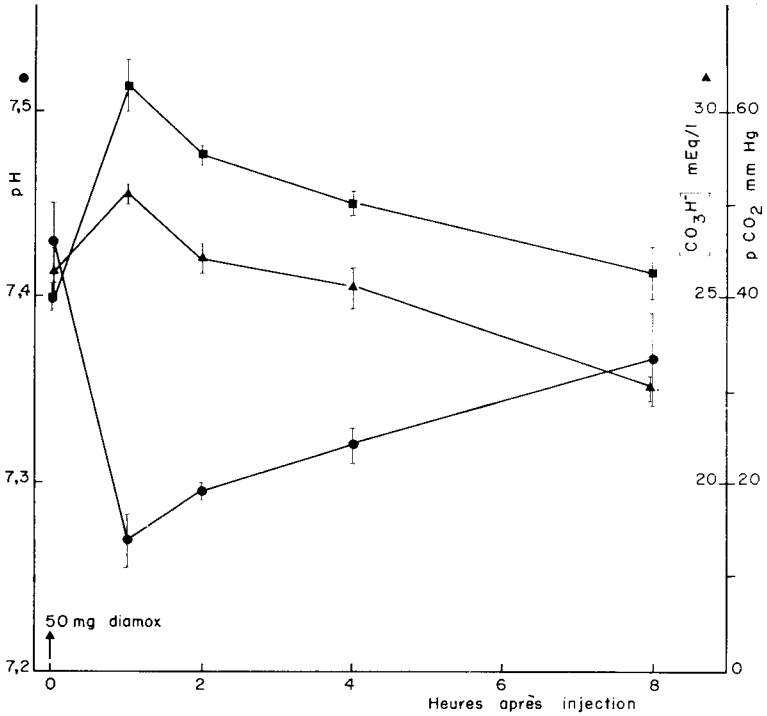


FIG. 2. — Variations du pH, de pCO₂ et de la teneur en ions bicarbonates du sang veineux général après une injection intraveineuse de 50 mg de diamox

- pH moyen $\pm \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$
- pCO₂ moyenne $\pm \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$
- ▲ concentration moyenne des bicarbonates $\pm \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$

TABLEAU I

Seuil de signification, exprimé en p. 100, des différences entre les valeurs de départ et celles obtenues à intervalles de temps réguliers après injection I. V. de 100 mg de Diamox.

La comparaison porte sur le pH, la pCO₂ et les bicarbonates (Test de t)

Heure après injection	0 h 30	1 h 30	3 h	6 h	9 h
pH	0,1	0,1	0,1	1	0,1
pCO ₂	0,2	0,1	1	N. S.	N. S.
HCO ₃ ⁻	0,1	0,2	N. S.	5	0,1

ment différente de sa valeur initiale au seuil de 5 p. 100, l'effet individuel devenant prépondérant ($P < 0,5$ p. 100). Il est à noter d'ailleurs que cet effet individuel est toujours hautement significatif tout au cours de l'expérience, sauf toutefois pour les valeurs avant injection, ce qui fait apparaître une sensibilité au diamox propre à l'individu.

TABLEAU 2

Seuil de signification, exprimé en p. 100, des différences entre les valeurs de départ et celles obtenues à intervalles de temps réguliers après injection I. V. de 50 mg de diamox. La comparaison porte sur le pH, la $p\text{CO}_2$ et les bicarbonates (Test de t)

Heures après injection	1 h	2 h	4 h	8 h
pH	1	1	1	1
$p\text{CO}_2$	0,2	0,1	1	N. S.
HCO_3^-	2	N. S.	N. S.	5

TABLEAU 3

Action de deux doses de diamox sur les valeurs extrêmes des constantes de l'équilibre acido-basique du sang (Moyennes $\pm \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$)

doses(mg)	50	100
pH.....	7,30 \pm 0,004	7,23 \pm 0,005 (1)
$p\text{CO}_2$ -(mm de Hg).....	62,6 \pm 0,7	74,5 \pm 2,5 (2)
HCO_3^- (meq/l)	26,0 \pm 0,4	29,7 \pm 1,0 (3)

(1) Différences significatives pour $P < 0,2$ p. cent.

(2) Différences significatives pour $P < 1$ p. cent.

(3) Différences significatives pour $P < 2$ p. cent.

4. — Discussion

L'action du diamox peut se caractériser par 3 points essentiels de son évolution :

- 1 h 30 après injection : acidose ventilatoire aiguë,
- 4 h après injection : acidose ventilatoire atténuée mais non compensée,
- 8 h après injection : acidose métabolique non compensée qui ne disparaît qu'au bout de 20 heures.

Pour expliquer cette inversion du phénomène, il faut tenir compte des deux organes régulateurs de l'équilibre acido-basique du sang qui sont les poumons et les reins. On peut penser que l'effet initial du diamox se manifeste par une élévation

brutale de la $p\text{CO}_2$ sanguine qui déclenche immédiatement une hyperventilation pour éliminer le CO_2 . Ensuite le diamox inhibe l'anhydrase carbonique du rein et stoppe ainsi la réabsorption tubulaire des bicarbonates. Mais au moment où la $p\text{CO}_2$ redevient normale, le rein se trouve toujours dans l'incapacité de réabsorber les bicarbonates, d'où l'acidose métabolique. Celle-ci s'estompe ensuite au fur et à mesure que le rein redevient fonctionnel. L'argumentation en faveur d'une telle interprétation repose sur plusieurs ordres d'observation.

I. Tout d'abord, la chute de pH due au diamox semble provenir de l'excès d'acide carbonique dans le sang, car les corrélations entre pH d'une part, $p\text{CO}_2$ et HCO_3^- d'autre part, ne sont élevées et significatives que pour la $p\text{CO}_2$.

Dose de diamox	Coefficient de corrélation entre :			
	pH	$p\text{CO}_2$	pH	HCO_3^-
50 mg	- 0,896	P < 0,05 %	- 0,360	N. S.
100 mg	- 0,865	P < 0,05 %	- 0,424	N. S.

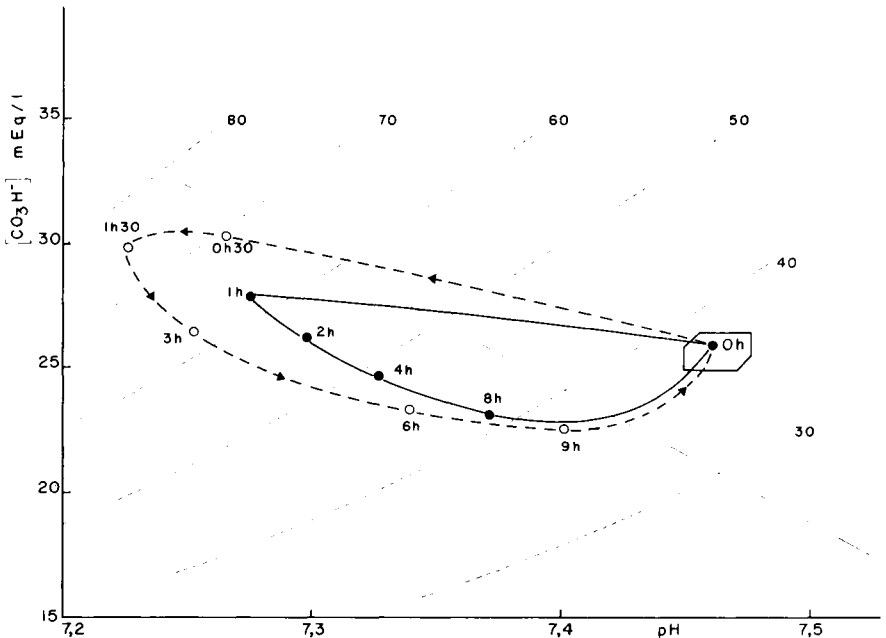


FIG. 3. — Variations de l'équilibre acido-basique du sang veineux général chez le coq

— → — 100 mg de diamox

— — — 50 mg de diamox

○ et ● nombre d'heures après injection

zone délimitée autour du point Oh plage normale de variation de l'équilibre acido-basique avant l'injection

— — — isobares de la $p\text{CO}_2$ depuis 30 jusqu'à 80 mm de mercure

— — — ligne tampon normale du sang

2. Lors d'une acidose respiratoire obtenue par inhalation de CO_2 chez les chiens, les bicarbonates restent élevés durant toute l'expérience et ne tombent pas en dessous de la normale lorsque l'on arrête l'inhalation (SIGGAARD-ANDERSEN, 1961). Dans nos conditions expérimentales (fig. 3), on se trouve bien en acidose respiratoire aiguë, mais le diamox qui la déclenche inhibe également la réabsorption tubulaire des bicarbonates, ce qui aggrave l'acidose au lieu de la compenser (WOLBACH, 1955).

D'autre part, en acidose gazeuse normale, l'acidité titrable des urines n'augmente qu'au bout de 80 à 100 minutes, traduisant l'action compensatrice rénale de la réabsorption des bicarbonates (SIGGAARD-ANDERSEN, 1961). Dans notre cas, la chute des bicarbonates sanguins s'amorce aussi 90 minutes après l'injection, au moment où la pCO_2 est maximale. On peut donc penser que la diminution des réserves alcalines est due à l'action rénale du diamox qui stopperait la réabsorption des ions HCO_3 par inhibition locale de l'anhydrase carbonique.

L'action inhibitrice du diamox serait très rapide au niveau sanguin mais relativement fugace puisque la pCO_2 est normale au bout de 6 heures, si bien que l'élévation de la bicarbémie serait due à un déplacement purement chimique de l'équilibre entre le CO_2 et l'acide carbonique. Par contre, au niveau du rein son action se déclencherait environ 1 h 30 plus tard, mais avec une persistance plus grande puisqu'elle ne s'arrête qu'au bout de 20 heures.

Les résultats nous permettent également de lever une restriction aux conclusions de SIEGMUND et DULCE (1960). A la suite d'une injection de 120 mg de diamox à des poules, ces auteurs expliquent la chute de calcium sanguin par inhibition de l'anhydrase carbonique osseuse en « excluant la possibilité d'une acidose sanguine », alors que d'après nos résultats, il y a effectivement acidémie. Or, contrairement à ce que pensent ces auteurs, une acidose sanguine facilite la mobilisation du calcium osseux et limite la chute de la calcémie (FUJITA et coll., 1965). Qu'il y ait hypocalcémie après injection de diamox et malgré l'acidose, ne fait donc que confirmer l'hypothèse selon laquelle la sécrétion d'ions H^+ au niveau de l'os est à l'origine de la mobilisation du calcium.

DEUXIÈME PARTIE :

RÔLE DE LA CARBOHYDRASE CHEZ LA POULE PONDEUSE

1. — Introduction

La carboanhydrase (ou anhydrase carbonique) est l'enzyme qui catalyse l'hydratation de l'anhydride carbonique et la déshydratation de l'acide carbonique selon l'équation suivante :



En fait, il n'existe pas une carboanhydrase mais au moins trois enzymes (A, B, C) ayant des activités différentes et des maxima d'activités pour des pH légèrement différents. Chimiquement ce sont des composés de poids moléculaires voisins de 31 000, riches en tyrosine (4,1 p. 100), en soufre (0,34 p. 100) et comportant un atome de Zn par molécule.

Il est connu depuis longtemps que le diamox (sel disodique de l'acétazolamide)

est un inhibiteur spécifique de la carboanhydrase (KEILEN et MANN, 1940) et que, chez la Poule, il perturbe la formation de la coquille (GUTOWSKA et MITCHELL, 1945). Cet effet a été attribué à l'arrêt du transfert des bicarbonates du sang à l'utérus par inhibition de la dite enzyme au niveau des cellules utérines.

Quel que soit le mécanisme d'action de l'anhydrase carbonique dans les différents processus mis en jeu dans la formation de la coquille, son rôle exact ne peut être apprécié qu'après avoir étudié, d'une part, sa répartition topographique dans l'organisme et, d'autre part, le rôle du diamox dont l'action est double : inhibitrice de l'enzyme et diurétique.

2. — Répartition de l'a. c. dans l'organisme

Chez la Poule, la carboanhydrase est présente dans les hématies, dans les cellules du néphron (WOLBACK, 1965), dans l'os (SIEGMUND et DULCE, 1960) et dans la muqueuse utérine (COMMON, 1941).

Il apparaît alors que la perturbation de la formation de la coquille par le diamox peut être la résultante d'actions situées dans des organes très différents :

- diminution de la vitesse de formation des ions HCO_3^- au niveau des hématies,
- excrétion accrue des bicarbonates due à une baisse de la sécrétion des protons par les cellules du néphron,
- arrêt de la mobilisation du calcium osseux, compte tenu du fait que l'anhydrase carbonique étant inhibée, la sécrétion locale d'ions H^+ n'a plus lieu,
- enfin, inhibition du transfert des bicarbonates sanguins vers la lumière utérine.

Envisageons successivement chacune de ces possibilités sans oublier que les faits observés, dus à l'inhibition de l'anhydrase carbonique au niveau d'un organe, dépendent eux-mêmes, pour partie, de l'inhibition de l'enzyme dans les autres organes.

1. Nous avons pu vérifier que des injections uniques par voie intraveineuse de 50 et 100 mg de diamox, déclenchent chez le coq une profonde acidémie.

Ainsi, la chute de pH, qui est maximale 90 minutes après injection, est de 0,16 et 0,23 unité respectivement pour chacune des 2 doses. De même les pCO_2 sont de 62,6 et 74,5 mm de Hg et les bicarbonates augmentent de 2,0 et de 4,4 méq/l. L'acidose est, par conséquent, d'origine ventilatoire et non compensée, car l'augmentation des bicarbonates est inférieure à celle escomptée, compte tenu du pouvoir tampon de l'hémoglobine.

Dans la phase aiguë de l'acidose, les hématies sont donc incapables de produire une quantité suffisante d'ions HCO_3^- pour tamponner, même partiellement, les ions H^+ .

2. En ce qui concerne le rein, WOLBACH (1961) montre qu'une injection intraveineuse d'une très faible quantité de diamox (2,5 mg seulement) entraîne une élévation du pH urinaire et une baisse d'excrétion d'acidité titrable et d'ammoniac. Ces faits caractérisent un arrêt de la sécrétion des ions H^+ et donc une baisse de la réabsorption tubulaire des bicarbonates.

L'évolution des paramètres de l'équilibre acido-basique, six heures après une injection (50 mg de diamox), confirme en effet que la bicarbémie est significativement inférieure à la valeur normale et que la faible valeur du pH résulte d'une déplé-

tion en ions HCO_3^- par voie rénale, car à ce moment la pCO_2 est revenue à sa valeur d'origine.

3. SIEGMUND et DULCE (1960), après injection de 120 mg de diamox à des poules, constatent une chute de la calcémie et l'expliquent par un arrêt de la mobilisation du calcium osseux. En effet, une sécrétion locale d'ions H^+ sous l'action de la carboanhydrase entraînerait la dissolution du phosphate tricalcique.

4. Enfin, on peut aussi penser, bien que ce fait ne soit pas encore vérifié, que le diamox ralentit la sécrétion d'ions HCO_3^- dans la lumière utérine, compte tenu du rôle possible de l'anhydrase carbonique dans le mécanisme de transfert à travers l'utérus.

La carboanhydrase est donc présente dans tous les organes qui interviennent dans la régulation du métabolisme calcique et de l'équilibre acido-basique, mais la sensibilité au diamox de ces différents organes n'est pas la même. Il faut au moins une dose de 60 mg pour voir l'hypocalcémie apparaître (SIEGMUND et DULCE, 1960) alors que 2,5 mg déclenchent une alcaliurie (WOLBACH, 1961) et que 25 mg multiplient par quatre la diurèse (MUELLER, 1962). Si de plus, on considère que chez le Chien (MAREN, 1963 a) il faut inhiber au moins 99 p. 100 de l'enzyme présente pour voir apparaître un effet caractéristique, on peut, à la suite de MAREN (1963 b), se demander dans quelle mesure la carboanhydrase est un facteur limitant dans la sécrétion d'acide ou de base, ce qui n'exclut pas le fait qu'elle joue un rôle important.

3. — *Effet diurétique du diamox*

L'effet néfaste du diamox sur la formation de la coquille a toujours été attribué à son pouvoir inhibiteur de l'anhydrase carbonique, en faisant abstraction du fait que ce produit est également un salidiurétique puissant. Aussi, à la suite de considérations semblables, MUELLER, en 1962, pose très clairement le problème : le diamox agit-il sur la coquille par l'intermédiaire de son pouvoir inhibiteur de l'anhydrase carbonique ou par l'intermédiaire de son pouvoir diurétique ? Cet auteur dissocie nettement les deux phénomènes et montre que :

a) le diamox (25 mg) diminue la solidité de la coquille, mais accroît également la diurèse d'un facteur quatre,

b) le « mercuhydrin » (0,5 ml) et le « cardalin » qui ne sont pas des inhibiteurs de la carboanhydrase, ont les mêmes effets sur la coquille et sur la diurèse,

c) le « néohydrin » (diurétique humain), qui n'a aucune action sur la carboanhydrase, n'est pas un diurétique chez la Poule et n'affecte absolument pas la solidité de la coquille.

Ainsi MUELLER démontre clairement que les produits ayant un pouvoir diurétique chez les Oiseaux, diminuent la solidité de la coquille et qu'une part importante de l'effet du diamox peut être attribuée à l'augmentation de la diurèse. Il est néanmoins vraisemblable que, dans ce dernier cas, l'inhibition de l'enzyme est aussi, pour partie, responsable de l'effet sur la coquille. Cette double action du diamox au niveau urinaire a d'ailleurs été montrée chez les Mammifères (RELMAN et coll., 1960).

En effet, la mise en œuvre, à doses équimoléculaires, d'un analogue méthylé du diamox (la position du méthyl n'est pas précisée), le CL 8490, montre que ce composé est, d'une part inactif sur la carboanhydrase, mais suscite d'autre part, une perte

urinaire de bicarbonates et une diurèse à peu près équivalentes à celles provoquées par le diamox. De leur côté, POLLI et coll. (1961) montrent que les activités diurétiques et salidiurétiques des thiazides sont sans rapport avec leur action sur la carboanhydrase comme le montre le tableau suivant :

Noms des thiazides	Pouvoir inhibiteur de la carboanhydrase	Pouvoir salidiurétique
Chlorothiazide	10	1
Hydrochlorothiazide	0,7	13
Flumethiazide	0,5	1
Trichlorméthiazide	0,3	50
Dihydroflumethiazide	0,1	13
Benzohydroflumethiazide	0,1	40

Bien que l'hypothèse de MUELLER éclaire considérablement le problème, un certain nombre de cas échappe à la règle. En effet, la neurohypophysectomie chez la Poule entraîne une polyurie permanente qui persiste lorsque l'animal revient à une production normale (SHIRLEY et NALBANDOW, 1956). Selon MUELLER, ces oiseaux devraient avoir des œufs à coquille fragile, or OPEL (1965) a clairement démontré que l'ablation de la posthypophyse ne diminue pas la solidité de la coquille.

Il faut donc admettre, ou bien que l'hypothèse de MUELLER n'est pas entièrement exacte, ou bien que les mécanismes qui induisent la polyurie dans l'un et l'autre cas, soit sous l'action d'un diurétique soit en absence d'A. D. H., ne sont pas les mêmes.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

1^{re} partie

Chez le coq, une injection intraveineuse de diamox déclenche tout d'abord une acidose respiratoire aiguë non compensée, puis, six heures après, une acidose métabolique non compensée. L'action du diamox dure vingt heures ; elle est fonction de la dose injectée.

Les résultats montrent que l'arrêt de la calcification de la coquille, sous l'effet du diamox, ne peut être expliqué uniquement par l'inhibition de l'anhydrase carbonique utérine. Le mécanisme semble beaucoup plus complexe. D'une part, l'acidose métabolique observée entre 6 et 20 heures après l'injection, traduit une fuite rénale des bicarbonates et ce au dépend de la coquille. D'autre part, à la moindre disponibilité en ions HCO_3^- s'ajoute une mobilisation plus faible du calcium osseux. Le diamox affecte ainsi les deux voies métaboliques qui normalement concourent à la formation de la coquille.

2^e partie

L'étude de l'inhibition de la carboanhydrase par le diamox et par d'autres produits diurétiques, permet de dégager deux idées importantes. D'une part, cet enzyme intervient dans les mécanismes mis en jeu au cours de la formation de la coquille, mais « sa concentration dans les organes est telle qu'il est probable qu'elle ne constitue pas un facteur limitant » (MAREN, 1963 *b*). D'autre part, la fonction rénale joue un rôle important dans la formation de la coquille, comme l'a montré MUELLER (1962) et tel que nous avons pu l'observer par ailleurs. Toutefois, cette liaison entre diurèse et formation de la coquille ne semble pas directe, car il est possible, avec certains produits (HOWES, 1967) ou par neurohypophysectomie (OPEL, 1965) de déclencher une poly-

urie chez la poule sans modifier la solidité de la coquille. La fuite rénale de bicarbonates serait, pour notre part, un bien meilleur critère pour évaluer l'importance du rein dans la régulation des mécanismes qui président à la formation de la coquille.

SUMMARY AND CONCLUSIONS

A STUDY OF CARBOANHYDRASE IN BIRDS

1st part: Diamox action on blood acid-base balance in the cock

In the cock, intravenous injection of diamox brings about first a non compensated acute respiratory acidosis, then a non compensated metabolic acidosis six hours later. Diamox action lasts during 20 hours ; it is proportional to the injected dose.

The results show that a halt in shell calcification under diamox effect cannot be explained by only uterine carbonic anhydrase inhibition. The mechanism seems to be more complex. On one hand, the metabolic acidosis observed between 6 and 20 hours after injection evidences a renal bicarbonates escape which is detrimental to the shell. On the other hand, a lower availability in HCO_3^- ions goes along with a lower mobilization of bone calcium. Thus, diamox affects the two metabolic paths which are normally involved in shell formation.

2nd part: Role of carboanhydrase in the laying hen

The study of carboanhydrase inhibition by diamox and by other diuretic products brings about two important ideas. On one hand, the enzyme is involved in the mechanisms set up during shell formation but « its concentration in the organs is such that probably it does not constitute a limiting factor » (MAREN, 1963 b). On the other hand, renal function plays an important part in shell formation as has been shown by MUELLER (1962) and as we have observed. However, this link between diuresis and shell formation does not seem to be a direct one, because it is possible to induce polyurea without modifying shell strength in the hen either with certain products (HOWES, 1967) or by neurohypophysectomy (OPEL, 1965). To our mind, the renal bicarbonates loss would be a much better criterion for evaluating the importance of the kidney in the regulation of the mechanisms involved in shell formation.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ASTRUP P., JORGENSEN K., SIGGAARD ANDERSEN O., ENGEL K., 1960. The acid-base metabolism. A new approach. *The Lancet*, **1**, 1035-1039.
- COMMON R. H., 1941. Carbonic anhydrase in various organs of the hen. *J. Agr. Sci.*, **31**, 412-414.
- FUJITA T., ORIMO H., YOSHIKAWA M., MORRI H., NAKA O. K., 1965. Effect of acidosis and alkalosis on recovery from hypocalcemia. *Endocrinology*, **76** (6), 1202-1204.
- GOODMAN A. D., FUISZ R. E., 1964. Mechanism of regulation of renal HCO_3^- reabsorption by plasma CO_2 tension. *Am. J. Physiol.*, **206** (4), 719-724.
- GUTOWSKA M. S., MITCHELL C. A., 1945. Carbonic anhydrase in the calcification of the egg shell. *Poultry Sci.*, **24**, 159-167.
- HOWES J. R., 1967. Acid base Relationships and calcium deposition in the egg shell. *Proc. Distillers Feed Research Council*, Cincinnati, Ohio., **22**, 32-39.
- KEILIN D., MANN T., 1940. Sulphanilamide as a specific inhibitor of carbonic anhydrase. *Nature*, **146**, 164-165.
- MAREN T. H., 1963 a. Carbonic anhydrase kinetics and inhibition at 37°. An approach to reaction rates *in vivo*. *J. Pharmacol.*, **139**, 129-139.
- MAREN T. H., 1963 b. The relation between enzyme inhibition and physiological response in the carbonic anhydrase system. *J. Pharmacol.*, **139**, 140-153.
- MONGIN P., LACASSAGNE L., 1964. Physiologie de la formation de la coquille de l'œuf de poule et équilibre acido-basique du sang. *C. R. Acad. Sci.*, Paris, **258**, 3093-3094.
- MUELLER W. J., 1962. Carbonic anhydrase, diuretics and egg shell formation. *Poultry Sci.*, **41**, 1792-1796.

- OPEL H., 1965. Failure of neurohypophysectomy to reduce egg shell thickness in chickens. *Poultry Sci.*, **44**, 1135-1136.
- RELMAN A. S., PORTER R., TOBIAS J. F., SCHWARTZ W. B., 1960. The diuretic effects of large doses of acetazolamide and an analog lacking carbonic anhydrase inhibiting activity. *J. Clin. Investig.*, **39**, 1551-1559.
- SHIRLEY H. V. JR., NALBANDOW A. V., 1956. Effects of neurohypophysectomy in domestic chickens. *Endocrinology*, **58**, 477-483.
- SIEGMUND P., DULCE H. J., 1960. Zur biochemie der Knochenauflösung. I. Einfluss des carboanhydrase inhibitors 2-acetamino 1. 3. 4.-thiodiazol-sulfonamid (5) (Diamox) auf den calciumstoffwechsel von Legehennen. *Hope-Seyler. Z. Physiol. Chemi.*, **320**, 149-159.
- SIGGAARD ANDERSEN A., 1961. Experimental acid-base disturbances in dogs. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*
- WOLBACH R. A., 1955. Renal regulation of acid base balance in the chicken. *Amer. J. Physiol.*, **181**, 149-156.
-