

**Influence de la lectine de *Phaseolus Vulgaris* (PHA) sur l'absorption duodénale du calcium chez le rat**, par J. LAFONT, Colette ROCHE, Claire BELLATON, J. M. ROUANET, P. BESANCON (\*), et Danielle PANSU. EPHE et INSERM U 45, Hôpital Edouard Herriot, 69374 Lyon Cedex 08. (\*) Laboratoire de Physiologie de la Nutrition, USTL, place E. Bataillon, 34060 Montpellier.

Les lectines douées de propriétés mitogènes sur les lymphocytes stimulent également l'influx calcique dans ces cellules (1). Certains auteurs ont même conclu que cet influx accru était le messager primaire de la mitogenèse (2,3). Un effet analogue a été observé sur les polynucléaires neutrophiles (4). Nous avons envisagé l'hypothèse qu'il s'agit là d'un effet général de ce type de lectines sur toutes les membranes plasmiques portant les récepteurs glycaniques correspondants.

Les entérocytes duodénaux représentent un bon modèle pour vérifier cette hypothèse, et ce, pour deux raisons : — d'une part, le glycocalyx possède de nombreux récepteurs de la sous-unité L de la PHA ; — d'autre part, toute modification de la composante passive du transport calcique devrait se traduire par une modification de l'absorption intestinale de  $Ca^{++}$ .

Nous avons donc étudié l'influence de la PHA sur l'absorption du calcium par le duodénum chez le rat. Cette étude a été conduite sur trois modèles expérimentaux : — vésicules de membranes de bordure en brosse (5), — entérocytes isolés (6), — anses duodénales isolées *in situ* (7).

La PHA utilisée a été préparée par chromatographie d'affinité d'extraits aqueux de graine de haricot (variété lingot blanc) sur colonne de fétuine-sépharose 4B-CL.

Un marquage avec  $^{125}I$  de cette préparation a été effectué pour déterminer la cinétique de l'interaction lectine-membrane.

Les paramètres suivants ont été obtenus : — temps de demi-réaction : inférieur à 1 min, —  $K_d$  apparent :  $0.52 \mu M$  ; — capacité maximale :  $7,7 \mu g$  de PHA/ $100 \mu g$  de protéines cellulaires totales.

De surcroît, la cinétique de fixation de  $Ca^{++}$  sur la PHA a été étudiée par gel-filtration rapide sur Séphadex G-25 coarse : la PHA ainsi préparée, fixe 3,3 ions  $Ca^{++}$  par tétramère avec un temps de 1/2 réaction inférieur à 2 minutes, mais selon un mécanisme impliquant des sites d'affinités différentes. Les études de fixation du calcium par les vésicules de bordure en brosse et les entérocytes isolés ont été conduites à différentes concentrations en  $Ca^{++}$  (de  $0,2$  à  $6$  mM) et en PHA (de  $10^{-7}$  à  $10^{-5}$  M), à une température unique de  $25^\circ C$  et à un pH fixé à  $7,5$ .

La présence de PHA, ajoutée extemporanément aux milieux d'incubation, augmente la fixation du calcium dans des rapports allant jusqu'à 25 et 2,5 respectivement pour les vésicules de bordure en brosse et les entérocytes isolés. Mais, lorsque l'on corrige ces résultats de la captation possible de  $Ca^{++}$  par la PHA, elle-même fixée sur les membranes, cette stimulation disparaît.

Par contre, en présence d'une concentration  $10^{-5}$  M en PHA, la fixation de  $Ca^{++}$  est très inférieure à la somme des fixations théoriques par les cellules et par la PHA. Ce phénomène est observable uniquement sur les cellules isolées et non sur les vésicules. Deux hypothèses peuvent en rendre compte :

- ou bien la PHA fixée à cette concentration ne peut pas se saturer en cations, du fait d'encombrements stériques ou autres ;
- ou bien, à cette concentration, la PHA inhibe réellement la fixation de  $Ca^{++}$  par les cellules.

La discrimination entre ces deux hypothèses a pu être faite à partir de la technique des anses isolées *in situ* : jusqu'à la concentration  $3 \cdot 10^{-6}$  M, la présence de PHA dans la lumière ne modifie pas de façon significative le flux muqueuse — séreuse du calcium, mais à  $10^{-5}$  M en PHA, le flux est abaissé de façon significative :  $27,6 \pm 5,4$  % absorbés contre  $38,9 \pm 5,9$  %. Cette technique ne prenant en compte que le calcium ayant effectivement traversé la muqueuse, la première hypothèse est éliminée de ce fait.

On peut donc conclure qu'à partir de la concentration  $10^{-5}$  M du côté muqueux, la PHA inhibe partiellement l'absorption du calcium chez le rat. Le mécanisme de cette inhibition fait l'objet de nos recherches actuelles.

- (1) Hesketh T. R. *et al.*, 1983. Free cytoplasmic calcium concentration and the mitogenic stimulation of lymphocytes. *J. biol. Chem.*, **258**, 4876-4882.
- (2) Tsien R. Y. *et al.*, 1982. T. cell mitogens cause early changes in cytoplasmic free  $Ca^{2+}$  and membrane potential in lymphocytes. *Nature*, **295**, 68-71.
- (3) Freedman M. H., Raff M. C., 1975. Induction of increased calcium uptake in mouse T lymphocytes by concanavalin A and its modulation by cyclic nucleotides. *Nature*, **255**, 378-382.
- (4) Korchak H. M. *et al.*, 1984. Stimulus response coupling in the human neutrophil II temporal analysis of changes in cytosolic calcium and calcium efflux. *J. biol. Chem.*, **259**, 4076-4082.
- (5) Miller A.III, Bronner F., 1981. Calcium uptake in isolated brush-border vesicles from rat small intestine. *Biochem. J.*, **196**, 391-401.
- (6) Bronner F. *et al.*, 1983. Calcium uptake by isolated rat intestinal cells. *J. Cell Physiol.*, **116**, 322-328.
- (7) Pansu D. *et al.*, 1981. The effect of calcium on the saturable and non-saturable components of duodenum calcium transport. *Am. J. Physiol.*, **240**, G32-G38.