

**Les xanthines inhibent l'absorption du calcium en diminuant la capacité de liaison du calcium par la CaBP (Calbindin 9K)**, par Claire BELLATON, C. ROCHE, M. H. de VAUBERCEY, Danielle PANSU, Monique THOMASSET (\*). *Ecole Pratique des Hautes Etudes et Unité 45 INSERM, Hôpital E. Herriot, 69374 Lyon Cedex 08, (\*) Unité 120 INSERM, 78110 Le Vésinet, France.*

Le transport transcellulaire du calcium comprend trois étapes, l'entrée à travers la bordure en brosse, la diffusion transcytosolique et la sortie au pôle basal. Nous avons montré (Roche *et al.*, 1986) que la théophylline (1,3 diméthylxanthine) diminue l'absorption active du calcium mesurée en sac duodéal éversé chez le rat, et que la cible de l'inhibition n'est ni le pôle d'entrée malgré l'inhibition des phosphatases alcalines, ni l'extrusion ATP-dépendante, mais la diminution de la capacité de liaison du calcium par la CaBP cytosolique. Pour mieux comprendre le mécanisme d'action de la drogue on a étudié l'effet d'autres xanthines sur le transport et la liaison du calcium à la CaBP et précisé les conditions d'inhibition de la CaBP par la théophylline.

La xanthine à la dose de 1,25 mM, limite de solubilité, diminue de 30 % le transport, la caféine (triméthylxanthine) à la dose de 10 mM l'inhibe de 50 %, la théobromine (3,7 diméthylxanthine) peu soluble est sans effet. Quoique ces molécules inhibent la dégradation de la phosphodiesterase, la diminution du transport n'est pas liée à une modification de la concentration en cAMP car ni le cAMP ni le dibutyl cAMP ne modifient le transport du calcium par le sac éversé.

La capacité de liaison du calcium par la CaBP a été mesurée par la méthode de Hummel et Dreyer (1962) de dialyse à l'équilibre utilisant une colonne de Sephadex G 50 fine équilibrée avec le ligand à étudier. Sur une colonne équilibrée avec 7  $\mu$ Mol de  $\text{CaCl}_2$ , la liaison du calcium à la CaBP est inhibée à 50 % en présence de 6 mM de théophylline et 24 mM de caféine, que les xanthines soient incubées avec le tissu à 37 °C pendant 90 min, incubées avec les protéines cytosoliques contenant la CaBP ou placées dans le tampon d'équilibration de la colonne. L'augmentation du  $K_d$  apparent de la CaBP qui passe de 0,7 à 2,3  $\mu$ M en présence de 3 mM de théophylline traduit une diminution de l'affinité du site sans compétition à son niveau car : i) le  $V_{\text{max}}$  reste inchangé à 27 nmol Ca fixé par mg de protéine du pic semi-purifié, ii) la concentration en CaBP mesurée par radioimmunoessai est maintenue, iii) la théophylline n'a pas d'affinité pour le Ca. Le mécanisme moléculaire n'est pas connu mais l'utilisation de  $^3\text{H}$ -théophylline (Amersham) montre que la molécule présente une affinité pour les protéines cytosoliques.

En conclusion, les xanthines à dose élevée inhibent le transport actif du calcium par un mécanisme original : la diminution de la capacité de liaison du calcium par la CaBP. Ces résultats confirment que la CaBP participe à la séquestration et au transport transcellulaire du calcium.

Hummel J. P., Dreyer W. J., 1962. Measurement of protein-binding phenomena by gel filtration. *Biochim. biophys. Acta*, **63**, 530-532.

Roche C., Bellaton C., Pansu D., Bronner F., 1986. Inhibition by theophylline of CaBP-mediated active calcium transport in rat intestine. *7th int. Workshop on Calcified Tissues*. Ein Gedi Abstract p. 69.