

27

POLYMORPHISME DE L'ACÉTYL- ET DE LA BUTYRYLCHOLINESTÉRASE AU COURS DE LA DIFFÉRENCIATION EMBRYONNAIRE DES MUSCLES DE LAPIN: ETUDE IN VIVO ET IN VITRO

Cassas I., Bacou F.

Unité Différenciation cellulaire et Croissance, INRA, 2 Place Viala, 34060 Montpellier.

La biosynthèse des cholinestérases musculaires est sous la dépendance de l'innervation motrice qui exerce, chez certaines espèces, une influence variable selon le type de muscle. On observe ainsi chez le lapin adulte la disparition ou la néosynthèse (x20) des formes asymétriques de l'acétylcholinestérase (AChE), respectivement dans les muscles rapides ou lents dénervés (1). Ces résultats constituent un modèle intéressant de l'effet modulateur de l'innervation motrice sur la synthèse des isoformes de l'AChE dont nous avons abordé l'étude au cours de la période embryonnaire, in vivo et in vitro.

Au cours du développement musculaire, l'activité spécifique de l'AChE augmente progressivement dans les stades foetaux, est maximale vers le 5ème j. postnatal et diminue pour atteindre les valeurs adultes vers le 3ème mois. La butyrylcholinestérase (BChE) a une activité importante au cours de l'embryogénèse, et est indétectable chez l'adulte. Parallèlement, le polymorphisme de ces enzymes évolue: prépondérance des formes asymétriques (>40% de A12) d'AChE et de BChE avant la naissance, prépondérance des formes globulaires (60-70%) d'AChE chez l'adulte.

Les cultures primaires de myoblastes embryonnaires de lapin ont été effectuées à partir de masses musculaires prélevées sur des embryons de 21 j. (soit au 2/3 de la gestation). Dans nos conditions de culture (90% de DMEM, 10% de sérum de cheval), les myoblastes commencent à fusionner vers le 3ème jour, à partir duquel de l'AraC est ajouté jusqu'au 6ème jour pour limiter la prolifération fibroblastique. Les myotubes commencent à se contracter isolément vers le 5ème j., avec un optimum de différenciation entre le 7ème et 9ème j., les cellules régressant progressivement par la suite.

L'activité de l'AChE -ainsi que celle de la créatine kinase, utilisée comme index de différenciation musculaire- est superposable à l'observation microscopique, augmentant rapidement à partir du 5ème j., culminant entre le 7ème et le 9ème j., diminuant au 11ème j.. Le polymorphisme de l'AChE varie peu au cours de la différenciation in vitro, avec prépondérance des formes G1/G2 observées du 3ème au 11ème j.. Un faible pourcentage (1%) de forme A12 a été détecté dans plusieurs cultures, du 7ème au 11ème j. de différenciation. Cette valeur est analogue à celle observée sur cultures primaires de myoblastes effectuées chez d'autres espèces animales.

1. BACOU F., VIGNERON P., MASSOULIE J. (1982), *Nature*, 296, 661-664

28

ETUDE EN CULTURE DES CELLULES MUSCULAIRES LISSES DE L'UTERUS HUMAIN. RESULTATS PRELIMINAIRES.

Butler-Browne G., Cavaille F., Soussi N.

I.N.S.E.R.M., U. 262, 123, Boulevard de Port-Royal 75674 Paris, France.

Dans une étude antérieure, nous avons caractérisé les protéines contractiles du myomètre humain prélevé chez des femmes enceintes ou non. Nous avons pu montrer d'une part l'existence de deux isoformes des chaînes légères non régulatrices de la myosine et de trois isoformes de l'actine; d'autre part, en étudiant des biopsies d'utérus obtenues à différents termes pendant la grossesse, nous avons trouvé des modifications des proportions de ces isoformes, par rapport à leurs proportions chez les femmes non enceintes. La tropomyosine, qui existe en deux isoformes ne se modifie pas pendant la grossesse, non plus que les proportions de desmine et vimentine, deux composants des filaments intermédiaires.

Il nous a paru intéressant de constituer un modèle d'étude in vitro des cellules myométriales humaines, afin de déterminer quels sont les facteurs qui induisent les modifications de l'appareil contractile pendant la grossesse.

Examinées en microscopie électronique à un stade de confluence, les cellules obtenues à partir d'explants utérins, contiennent les différents types de filaments trouvés dans les muscles lisses.

Nous avons vu en immunofluorescence que les filaments intermédiaires contenaient de la desmine et de vimentine. Les deux isoformes des chaînes légères non régulatrices de la myosine sont exprimées. Par contre les tropomyosines sont de type fibroblastique. Ce modèle cellulaire sera donc très utile étudier la différenciation utérine.