

69

INFLUENCE DU SUBSTRAT SUR LA MORPHOLOGIE CELLULAIRE DE MYOCYTES DE CŒUR DE RAT ADULTE MAINTENUS EN SURVIE

Dubus I., Conlard F., Marotte F., Rappaport L., Samuel J.L.
I.N.S.E.R.M., U.127, Hôpital Lariboisière, Paris.

Le rôle du substrat dans le maintien des caractéristiques morphologiques des myocytes isolés de cœur de rat adulte et maintenus quiescents en survie pendant 4 à 5 jours a été étudié par immunomarquage de protéines du cytosquelette.

Lorsque l'adhésion est effectuée en présence de sérum de veau fœtal (4% pendant 3 heures), seuls sont fixés les myocytes ayant conservé leur forme rectangulaire, ie non lésés lors de la procédure d'isolement. Après 5 jours de culture en milieu défini (Milieu Wissler BM 86, sans sérum), 50% des myocytes conservent leur forme initiale mais leur activité de synthèse protéique diminue (-20%). Les marquages de l' α -actinine et de la desmine révèlent le maintien des structures myofibrillaires et leur parallélisme strict. Les microtubules, normalement concentrés autour du noyau et organisés en un réseau lâche, deviennent particulièrement abondants au niveau des extrémités cellulaires qui ont tendance à s'arrondir.

L'adhésion des myocytes sur laminine (20 μ g/ml) entraîne une augmentation de la densité cellulaire. Après 5 jours de culture, les myocytes s'étalent et développent des excroissances riches en microtubules et en filaments intermédiaires. L'aspect de ces cellules devient alors proche de celui des myocytes néonataux cultivés. Leur recouvrement avec du Matrigel[®] diminue l'importance du processus de dédifférenciation.

Cette étude contribue à mettre en évidence l'importance du substrat d'adhésion dans les changements morphologiques survenant chez les myocytes adultes *in vitro*.

70

INFLUENCE DE LA BIOSYNTHESE DE LA FIBRONECTINE SUR LES CAPACITES ADHESIVES DES FIBROBLASTES DE POULET AU COURS DU DEVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE.

Botti J., Gouet E., Moutsita R., Doyennelle-Moyne M.A., Aubéry M. et Codogno P.
INSERM U.180, 45 rue des Saints-Pères, 75006 Paris.

Les capacités adhésives différentielles des fibroblastes prélevés à deux stades du développement embryonnaire chez le poulet (8 et 16 jours) sur des supports de plastique pouvaient suggérer des différences dans l'expression de la fibronectine de chacune des populations cellulaires et/ou une différence d'expression des récepteurs membranaires de la fibronectine. Nos études ont montré que les deux populations de fibroblastes exprimaient le même nombre de récepteurs et qu'ils fixaient la fibronectine avec la même efficacité. De plus la nature moléculaire de ces récepteurs est identique aux deux âges considérés. Par contre l'apparition de la fibronectine à la surface des cellules est différente (30 min à 8 jours contre 60 min à 16 jours). Ce retard observé dans les fibroblastes de 16 jours n'est pas dû à une vitesse de synthèse plus lente de la chaîne polypeptidique. En effet dans les deux populations cellulaires, les cinétiques de synthèse de la fibronectine sont identiques. La fibronectin est une glycoprotéine qui porte des chaînes glycaniques principalement de type N-glycosylé. Ces modifications sont co- et post-traductionnelles. Les chaînes N-glycanniques des fibronectines de 8 et 16 jours sont de type N-acetyllactosaminique. Ces chaînes sont synthétisées sous forme de chaînes de type oligomannosidique, structures sensibles à l'endo- β -N-acetylglucosaminidase H (endo H). Des expériences de pulse-chase réalisées à l'aide de (³⁵S)méthionine ont montré que les chaînes saccharidiques des fibronectines étaient transférées au même temps sur la chaîne polypeptidique. Par contre, la fibronectine synthétisée dans les cellules de 8 jours n'était plus sensible à l'endo H après 20 min alors que cette sensibilité persistait jusqu'à 60 min dans les cellules de 16 jours. Ces résultats montrent que les capacités adhésives sont dépendentes des modifications post-traductionnelles de la fibronectines.