

Cercetări marine	I.R.C.M.	Nr.15	219 - 226	1982
------------------	----------	-------	-----------	------

TRANSPORT ACTIF DE Na^+ ET K^+ À TRAVERS LES ÉPITHÉLIUMS CHEZ LA TRUITE ARC-EN-CIEL (*Salmo gairdneri irideus* GIBBONS) ACCLIMATÉE EN EAU MARINE

V.Crăciun¹⁾, Margareta Crăciun¹⁾, I.Neacșu¹⁾ et Reveica Ioniță²⁾

1) Centre de Recherches Biologiques - Iași

2) Institut Roumain de Recherches Marines - Constanța

ABSTRACT:

The results on the activity of Na^+ and K^+ dependent ATP-ase of the epithelia of the Black Sea adapted rainbow trout (*Salmo gairdneri irideus*) in comparison with the fresh water maintained rainbow trout are presented. In these conditions the active transport of Na^+ and K^+ through gills, intestine and kidney is reduced at the marine adapted one.

INTRODUCTION

L'adaptation des êtres dulçaquicoles à l'eau marine est conditionnée par la possibilité de maintien d'un milieu interne ayant une structure ionique qui assure le déroulement en bonnes conditions des processus vitaux. La barrière qui sépare le milieu interne de l'eau ambiante est représentée par les épithéliums de la surface ou de l'intérieur du corps (tégument, bronches, intestin, rognon) pourvus de mécanismes membranaires d'osmorégulation.

La membrane de la cellule animale sépare deux phases aqueuses à composition ionique différente. La phase intercellulaire a un potentiel électrique négatif et contient plus de K^+ et

moins de Na^+ et Cl^- que la phase extracellulaire. Aucun des ions mentionnés n'est distribué d'un côté ou d'autre de la membrane selon des principes purement physiques, bien que la membrane soit plus ou moins perméable pour tous ces ions. Le maintien de cette distribution non-équilibrée des ions exige l'intervention des processus consommateurs d'énergie, capables d'un transport actif des ions contre leur gradient électrochimique.

A présent il y a des preuves incontestables concernant le transport actif de Na^+ et K^+ à travers la membrane par l'intermédiaire d'un agent lié à la membrane, dénommé "la pompe de Na^+ et K^+ ", lequel fonctionne sur la base de l'énergie provenant de l'hydrolyse de l'ATP. La pompe est identique, ou au moins intimement liée à un enzyme membranaire décrit pour la première fois par SKOU en 1957 (12) et nommé ATP-ase dépendente de Na^+ et K^+ . En conditions physiologiques normales, la pompe de Na^+ et K^+ extrait le Na^+ du cytoplasme et y introduit le K^+ . Pour chaque molécule d'ATP hydrolysé on extrait 3Na^+ de la cellule et on y introduit 2K^+ (2,12,15). L'inégalité des mouvements actifs du Na^+ et du K^+ suggère que la pompe peut être électrogène, c'est-à-dire son action détermine directement un mouvement net de charge électrique à travers la membrane (6,14) et, comme suite détermine une augmentation du potentiel de repos.

Etant donné que la pompe de $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ est étroitement liée aux concentrations des deux ions, d'un côté, et à la membrane, de l'autre côté, toute modification dans la structure ionique du milieu aquatique ambiant aura des répercussions sur l'activité de la pompe. Dans le présent travail nous avons poursuivi les mouvements qui surviennent dans l'activité de la pompe, en déterminant l'activité de l'ATP-ase dépendente du Na^+ et du K^+ , aux épithéliums de la truite arc-en-ciel acclimatée dans l'eau marine, par rapport à la truite du milieu dulçaquicol.

MATERIEL ET METHODES

Les déterminations de l'activité de l'ATP-ase dépendente du Na^+ et du K^+ ont été effectuées sur des poissons âgés d'environ 1,5 ans, adaptés d'au moins une année dans l'eau marine, comparativement aux poissons du même âge élevés seulement en eau

douce. En vue de ces déterminations, on a utilisé les trois épithéliums plus actifs dans l'osmorégulation: branchial, intestinal et rénal. La méthode de détermination de l'activité de l'ATP-ase a été celle utilisée par MISLOVICI et décrite par celui-ci en 1975 (8). Durant la période d'incubation de l'extrait enzymatique on a maintenu une température constante de 24°C, égale avec la température moyenne dans les aquariums pendant la période de travail. Les résultats représentent la moyenne obtenue par 5 déterminations sur 5 poissons, et sont exprimés en mg phosphate inorganique (Pi) résulté de l'activité de l'ATP-ase par 100 g tissu épithélial.

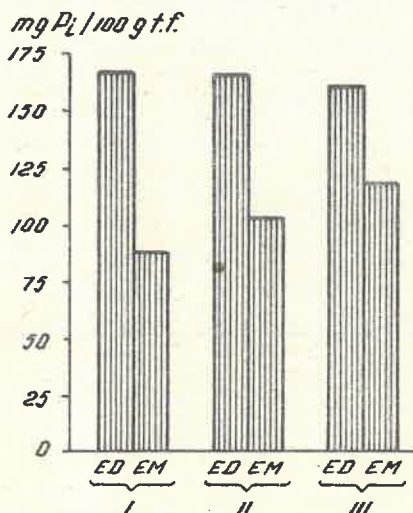


Fig.1 - Activité de l'ATP-ase (sur l'ordonnée: mg Pi/ 100 g tissu frais dans les branchies (I), dans l'intestin (II) et le rognon (III) de la truite en eau douce (ED) et eau marine (EM)

RESULTATS

L'activité de l'ATP-ase dépendante du Na^+ et du K^+ est plus réduite chez les poissons adaptés à l'eau marine que chez ceux dulçaquicoles (Fig. 1). Pour ces derniers, la plus intense activité de l'enzyme a lieu dans les branchies, puis dans les intestins et dernièrement dans le rognon. La plus évidente diminution de l'activité de l'ATP-ase chez les poissons marins a lieu dans les branchies, étant moins évidente dans l'intestin et au niveau des reins.

DISCUSSIONS

a) ATP-ase bronchiale

Chez la plupart des espèces étudiées, y compris la truite (5,11), la littérature

spécialisée indique une augmentation de l'activité de l'ATP-ase bronchiale par l'adaptation des animaux dulçaquicoles à l'eau marine. Aussi est-elle surprenante la réduction prononcée de l'activité de l'enzyme que nous avons trouvée.

En vue d'expliquer cette non-concordance de nos résultats par rapport à ceux de la littérature spécialisée, il est nécessaire d'analyser d'abord les modifications des gradients ioniques à travers les membranes épithéliales, modifications induites par le passage des poissons de l'eau douce en eau marine. Dans le cas des truites d'eau douce, sur la partie apicale de l'épithélium bronchial (dans l'eau) les concentrations du Na^+ et du K^+ sont voisines à la valeur zéro, tandis que dans le sang des poissons (sur la partie sereuse de l'épithélium) la concentration du Na^+ est d'environ 360 mg%, et celle du K^+ d'environ 16 mg% (1). Grâce à la perméabilité passive de la membrane branchiale, il y a une tendance de perte de ces ions dans le milieu ambiant, dans le sens de leur gradient de concentration. Mais cette tendance est contrecarrée par le transport ionique actif, par l'intermédiaire de la pompe de $\text{Na}^+ - \text{K}^+$, dont nous avons déterminé l'activité. Dans le cas des poissons acclimatés à l'eau marine, les concentrations externes du Na^+ et du K^+ sont d'environ 500 mg% et respectivement 18 mg%, tandis que dans le sang on trouve approximativement les mêmes concentrations que celles des poissons d'eau douce (1). On observe donc l'inversement des gradients ioniques, qui sont devenus en même temps moins abrupts. Il est donc possible que le transport ionique actif, destiné à contrebalancer les flux passifs, modifie aussi, de manière correspondante, son sens et son intensité.

Il y a des preuves que, au moins en ce qui concerne le Na^+ , le sens du transport actif à travers les bronchies est inversé chez les poissons marins comparativement à ceux dulçaquicoles. Premièrement, la plupart de l'ATP-ase dépendante du Na^+ et du K^+ chez les poissons dulçaquicoles est localisée dans la membrane fondamentale des cellules de l'épithélium branchial, tandis que chez les mêmes espèces adaptées en eau marine, l'enzyme est localisé surtout dans la membrane apicale (2). Cette disposition de l'ATP-ase prouve que, chez les poissons dulçaquicoles, le Na^+ est incorporé par les bronchies, tandis que chez ceux marins il est exclu par la même voie dans le milieu ambiant. Deuxièmement, le potentiel électrique trans-épithélial au niveau des bronchies est positif sur la partie à sérum chez les poissons dulçaquicoles

et négatif chez ceux marins (7). En fin, les expériences avec actinomycine D prouvent que cet antibiotique - inhibiteur de la synthèse protéique - fait diminuer rapidement, en eau marine, l'excretion branchiale du Na^+ , en déterminant la mort des poissons, tandis qu'en eau douce l'incorporation du Na^+ par les bronchies est très peu affectée et les poissons survivent longtemps après (7). Ces résultats suggèrent l'inhibition de la synthèse des deux types d'ATP-ase par l'actinomycine D, mais l'ATP-ase "marine" a une vie plus brève que celle "dulçaquicole", exigeant un renouvellement plus rapide.

Comme suite, à mesure de l'acclimatation des poissons dans l'eau marine, il est plausible d'admettre l'inversement du sens du transport ionique à travers les bronchies. L'étroite dépendence de l'ATP-ase des concentrations du Na^+ et du K^+ explique aussi la modification de l'intensité du transport ionique actif. Dans les conditions de la mer Noire, qui a une salinité moyenne de 16 ‰, il est normal que l'intensité du transport ionique actif soit plus réduite, grâce à la diminution des gradients ioniques par rapport à l'eau douce. D'autre part, dans les conditions de la salinité océanique (32 ‰) où la littérature signale l'augmentation de l'activité de l'ATP-ase (5,11), les gradients ioniques sont plus abrupts que ceux d'eau douce, ce qui exige un transport ionique actif plus intense.

b) ATP-ase intestinale

Tout comme dans les bronchies, la littérature spécialisée indique une plus grande activité de l'ATP-ase intestinale chez les poissons acclimatés en eau marine par rapport à ceux d'eau douce (4,7), contrairement aux résultats de nos expérimentations.

Afin de comprendre cette différence, il faut expliquer d'abord la cause de l'augmentation de l'activité de l'ATP-ase intestinale chez les poissons marins dans les conditions de salinité océanique.

On connaît qu'en eau douce les poissons ingèrent des quantités relativement réduites d'eau, qui est absorbée de manière passive au niveau de l'intestin, dans le sens du gradient os-

motique (2). Par contre, les sels minéraux, et surtout NaCl, sont absorbés activement, contre les gradients de concentration ionique. Dans l'eau marine les poissons ingèrent des quantités considérables d'eau qui est absorbée, cette fois-ci, contre le gradient osmotique. Or, cela n'est pas possible sans un transport ionique actif. La preuve en est le fait que les inhibiteurs métaboliques réduisent ainsi l'absorption d'eau que le transport actif d'ions (2). Néanmoins, le rapport entre l'eau absorbée et le Na^+ absorbé augmente à mesure de l'adaptation des poissons à l'eau marine (2). Cette augmentation s'explique par deux phénomènes d'adaptation: le premier consiste dans la réduction progressive de la perméabilité de la muqueuse intestinale pour le Na^+ (2), et le second c'est l'ainsi-dite "rectification" du flux net d'eau (2), c'est-à-dire la perméabilité de l'intestin pour l'eau de la partie séreuse vers celle muqueuse devient plus réduite qu'en sens inverse, à mesure de l'acclimatation en eau marine. Etant donné que l'eau ne peut pas être absorbée contre le gradient osmotique qu'à l'occasion du transport actif du Na^+ , il signifie que, plus les poissons sont adaptés à une salinité plus grande, plus le transport ionique réalisé par l'activité de l'ATP-ase sera intense. Cela explique l'augmentation de l'activité de l'ATP-ase intestinale signalée par d'autres auteurs chez les poissons acclimatés en eau océanique. Dans les conditions spécifiques de salinité de la mer Noire, le gradient osmotique contre lequel doit être absorbée l'eau est plus petit que celui de concentration contre lequel doit être absorbé le Na^+ chez les poissons d'eau douce. L'absorption de l'eau étant liée au transport ionique actif, cela signifie qu'à un plus petit gradient osmotique (dans la salinité de la mer Noire) on a besoin d'une activité de la pompe plus réduite qu'en eau douce. De plus, à des salinités plus réduites, le mécanisme de "rectification" de l'eau pourrait être plus efficient que dans le cas de la salinité océanique.

c) ATP-ase rénale

Les données de la littérature suggèrent l'existence d'une ATP-ase dépendante du Na^+ et du K^+ dans les rognons des poissons d'eau douce, dû à l'urine très diluée de ceux-ci (3).

Après l'adaptation à l'eau marine, le flux d'urine est très diminué, malgré les grandes quantités d'eau que les poissons ingèrent. Cela s'explique par une ré-absorption passive de l'eau au niveau des tubes urinifères, grâce à l'augmentation de leur perméabilité envers l'eau (10). A celle-ci s'ajoute la diminution de la ré-absorption du Na^+ . Comme suite, ces phénomènes pourraient être responsables de la diminution de l'activité de l'ATP-ase enregistrée au cours de nos expériences.

En conclusion, nos résultats concernant l'activité de l'ATP-ase dépendente du Na^+ et du K^+ prouvent que, dans les conditions de la salinité spécifique à la mer Noire, le transport actif du Na^+ et du K^+ à travers les épithéliums les plus actifs dans l'osmoréglage (bronchies, intestin et rognon) de la truite acclimatée dans l'eau marine est plus réduit que chez les individus de l'eau douce.

BIBLIOGRAPHIE:

1. CRACIUN V., CRACIUN M., NEACSU I., TELEMBCICI A., IONITA R., 1980 - The repartition of water and Na^+ and K^+ ions in the tissues of trouts transferred from fresh water into the sea water. Cercetări marine, IRCM Constanța, 13: 191 - 198.
2. GARRAHAN P.J., GLYNN I.M., 1967 - The stoichiometry of the sodium pump. J. Physiol., London, 192: 217.
3. HICKMAN C.P., 1965 - Studies on renal function in freshwater teleost fish. Tran. Roy. Soc. Can., Sect. III, 3: 213.
4. JAMPOL L.M., EPSTEIN F.H., 1970 - Sodium-potassium activated adenosine triphosphate and osmotic regulation by fishes. Amer. J. Physiol., 218, 2: 607.
5. KAMIYA M., UTIDA S., 1969 - Sodium-potassium activated adenosine triphosphatase activity in gills of fresh water, marine and euryhaline teleosts. Comp. Biochem. Physiol., 31: 671.
6. KERKUT G.A., YORK B., 1971 - The electrogenic sodium pump, Scientifica, Bristol.

7. MARTZ J., 1974 - Aspects of adaptation to hypo-osmotic and hyper-osmotic Environments. Biochemical and Biophysical Perspectives in Marine Biology, Eds. MALINS D.C. and SARGENT J.R., Acad. Press, London, New York, San Francisco, 1.
8. MISLOVICI V.D., 1975 - Metodi fiziologo-biohimiceskoi issledovaniya vodoroslei v gidrobiologhiceskoi praktike. Izd-vo Naukova Dumka: 1.
9. OIDE H., UTIDE S., 1968 - Changes in intestinal absorbtion and renal excretion of water during adaptation to sea-water in the Japanese eel. Mar Biol., 1: 172.
10. PFELLER E., KIRSCHNER L.B., 1972 - Studies on gill ATP-ase of rainbow trout (Salmo gairdneri). Biochim.Biophys.Acta, 282: 301.
11. SEN A.K., POST R.L., 1964 - Stoichiometry and localization of adenosine triphosphate - dependent sodium and potassium transport in the erythrocyte. J.Biol.Chem., 239: 345.
12. SKOU J.C., 1957 - The influence of some cations on an adenosine triphosphatase from peripheral nerves. Biochim.Biophys.Acta, 23: 394.
13. THOMAS R.C., 1972 - Electrogenic sodium pump in nerve and muscle cells. Physiol.Rev., 52: 563.
14. WHITTAM R., AGAR M.E., 1965 - The connexion between active cation transport and metabolism in erythrocytes. Biochem.J., 97: 214.