

Naissance d'un avatar histophysiologique

Cellules sombres du tubule distal et équilibre acidobasique

Gabriel Richet



En 1967 est né à l'hôpital Tenon un avatar histophysiologique, celui de la découverte que les cellules sombres (*dark cells*), ou cellules intercalaires, du tubule distal et du canal collecteur du rein interviennent dans l'équilibre acidobasique. Ces cellules, observées par A. Heidenhaim [1] et par S. Schachowa dès les années 1870 [2], bénéficiaient jusque là d'études morphologiques et histochimiques, mais leur fonction restait hypothétique [3]¹.

Une « belle idée » ... mais un travail inexploitable

Au tournant des années 1950-1960, la physiologie de la médullaire rénale s'ouvrait à la recherche, après la découverte par Wirz de l'existence d'un gradient osmotique corticomédullaire et de son rôle dans le mécanisme de dilution-concentration de l'urine. L'adaptation de l'osmolarité et du pH de l'urine ayant lieu dans le même territoire, nous y avons cherché un gradient de pH, supposant qu'il pouvait participer à l'élaboration d'une urine acide ou alcaline. Les moyens dont disposait alors le laboratoire de néphrologie de l'hôpital Tenon étant presque inexistant, nous avons interrogé notre savant collègue Manfred Gabe² sur le recours



Professeur émérite à l'Université Paris VI, membre de l'Académie de médecine, 76, rue d'Assas, 75006 Paris, France.

à des techniques histologiques susceptibles de nous éclairer, et ensemble décidâmes d'une expérimentation. Dans son laboratoire³, une externe du service, M. Peltier [4], constata par histochimie qu'un tel gradient pouvait exister et que les affinités tinctoriales des espaces étaient différentes selon l'acidité de l'urine, ce qui suggérait des changements du pH du liquide interstitiel. Ces arguments étaient fragiles, et nous avons renoncé à vérifier si dans les espaces intertubulaires de la papille s'accumulait du bicarbonate faisant retour à l'organisme quand les protons étaient sécrétés dans la lumière tubulaire.

L'imprévu : l'alcalose métabolique modifie l'aspect des cellules sombres

M. Gabe connaissait les cellules sombres pour les avoir scrutées dans un travail d'histologie comparée [5]. Toujours aux aguets, il profita de l'expérience en cours pour colorer par la fuchsine des reins de rats en acidose ou en alcalose métabolique, et constata dans ce dernier cas une nette augmentation du nombre des cellules sombres. Une piste était donc ouverte. Elle nous a d'autant plus attirés que, peu après, M. Gabe identifia sur une pièce d'autopsie une profusion de cellules sombres : le patient avait reçu peu avant sa mort une perfusion de soluté bicarbonaté.

¹ Ce travail contient une revue générale exhaustive des travaux publiés sur les cellules sombres, morphologie et fonctions supposées incluses. Il peut être considéré comme réunissant l'essentiel de la thèse de Doctorat es Sciences naturelles (Paris VI, 1972) de Jacqueline Hagège, dont le titre est identique à celui de l'article cité en référence.

² Manfred Gabe (1916-1973) était un chercheur solitaire dont l'itinéraire révèle la volonté farouche. Arrivé de Roumanie à Paris vers 1934, sa vocation était d'être chef d'orchestre. En attendant, il commença des études de médecine. Déporté pendant trois ans, il décida, au retour des camps, d'abandonner la clinique pour la recherche en histochimie comparée au CNRS. Travailleur acharné, il n'avait pas d'assistance, tenant à effectuer lui-même toutes les expériences. Il publia en 1968 un livre de Techniques histologiques, qui fait encore autorité aujourd'hui. M. Gabe dirigea peu de thèses, sans doute en raison d'une très rigoureuse exigence.

³ Il était situé boulevard Raspail, dans un pavillon construit par la ville de Paris pour l'Étude de l'évolution des êtres organisés. Il accueille aujourd'hui la sociologie. Dans le pays de Lamarck !

Un professeur de biologie du secondaire en mal de recherche

Au laboratoire de M. Gabe venait parfois Jacqueline Hagège, Professeur de biologie dans un lycée, après avoir été assistante au laboratoire d'histologie comparée à la vieille Sorbonne. La néphrologie de Tenon, venant de bénéficier d'un nouveau bâtiment, recrutait alors, car le laboratoire n'était pas encore à l'étroit. Jacqueline Hagège put ainsi y jeter l'ancre.

Les résultats

Morphologie des cellules sombres de rat

Les caractères qui opposent, en microscopie optique ou électronique conventionnelle, les cellules sombres aux cellules claires ont été précisés et complétés : saillie du pôle apical des cellules sombres dans le tubule, position du noyau à mi-distance du pôle basal et de la lumière tubulaire, développement du chondriome qui envahit en désordre tout le cytoplasme, microvillosités apicales, nombreux cytosomes dans le cytoplasme et richesse en mucopolysaccharides.

L'étude morphologique a, de plus, dégagé trois faits d'importance. D'une part, le microrelief du pôle apical des cellules sombres bombant dans la lumière tubulaire est tel qu'il apparaît en microscopie électronique à balayage sous forme de feuillets enchevêtrés, alors que les cellules claires ont une région supranucléaire lisse avec de petites microvillosités en doigts de gant [6] ; d'autre part, dans d'indiscutables cellules sombres ou claires coexistent souvent des caractères propres à l'autre type [7] ; enfin, ces différences sont notées ailleurs que chez les vertébrés tétrapodes, par exemple chez des oiseaux, reptiles et amphibiens dont la partie terminale des tubules comportent des cellules sombres [8].

Modifications morphologiques induites par les agressions acides ou alcalines

L'administration per os de bicarbonate entraîne en moins d'une heure l'augmentation de la proportion des cellules sombres et, plus encore, de celles d'aspect intermédiaire⁴. Les changements provoqués par l'acidose gazeuse sont identiques, mais plus marqués, leur intensité étant liée au degré et à la durée de l'exposition au CO₂. Après alcalose métabolique ou acidose gazeuse, le retour à l'état antérieur est amorcé en deux heures, et presque achevé en quatre heures. Corrélativement, l'acidose métabolique n'entraîne pas de modifications morphologiques discernables. En comparant l'action de différents type de surcharge (KHCO₃, NaCl ou KCl), nous avons éliminé le rôle du sodium. De même, l'alcalinisation

du plasma et de l'urine sans modification de la concentration de bicarbonate, par le THAM (tris-hydroxyméthyl-aminométhane), ou l'induction d'une polyurie osmotique par l'urée n'ont pas d'influence sur la morphologie et la proportion de cellules sombres. Nous avons en revanche mis en évidence l'intervention probable de l'anhydrase carbonique, car l'acétazolamide, son puissant inhibiteur, supprime l'augmentation du nombre des cellules sombres⁵ [9-13]. Nos travaux trouvent donc leur place dans le reclassement morphologie-fonction de diverses cellules tubulaires spécialisées dans des transferts définis, caractéristiques de la physiologie du segment terminal du néphron.

L'ensemble de ces données expérimentales nous a conduit, dès 1968-1970, à retenir comme première hypothèse que les cellules sombres sont impliquées dans la réabsorption des bicarbonates. L'expérimentation ultérieure, en particulier l'étude du tube distal-collecteur au microscope à balayage, nous a fortifiés dans cette opinion. Les transformations observées n'étaient pas la conséquence d'une prolifération cellulaire, dont il n'existait aucun stigmate, tandis que l'aspect des cellules suggérait une intense activité métabolique. La rapidité des modifications morphologiques, dans un sens ou dans l'autre, en rapport avec des changements métaboliques acidobasiques précis et exclusifs, renforça notre conclusion qu'il existait un lien entre les cellules sombres et la fonction de transport de l'ion bicarbonate.

Jacqueline Hagège est restée à Tenon plus de trente ans, sans salaire, tout en enseignant dans le secondaire et en menant, avec son mari physicien et ses deux enfants, une vie familiale chaleureuse. Après les cellules sombres, elle étudia *in vitro* la transformation de la L-dopa en dopamine dans les cellules tubulaires proximales. Un autre travail porta sur des cellules tubulaires proximales immortalisées par le virus SV, dans lequel elle décrit des corrélations entre modifications phénotypiques et activités fonctionnelles. Citons aussi ses recherches sur la localisation précise, au sein du glomérule en voie de destruction, de protéines biologiquement actives, impliquées dans des inflammations destructrices du floculus, et de leurs récepteurs. Jacqueline Hagège, histochimiste, a pu mener à bien ses travaux sur les cellules sombres car elle était dans un milieu où était étudiée la physiologie rénale, domaine qui ne lui était pas familier. Bien que n'étant pas médecin, elle a joué un rôle éminent dans les recherches du laboratoire de pathologie expérimentale, orientation naturelle de l'unité de néphrologie de l'hôpital Tenon. Elle rapporta en effet des réponses histologiques fines et intelligentes à des questions précises que soulevaient des protocoles en cours [14]. Ces échanges réciproques, témoins de sa présence morale et de sa disponibilité

⁴ J. Hagège a observé le phénomène cellules sombres chez des pleurodèles exposées à une atmosphère riche en CO₂.

⁵ Cette donnée, fondamentale pour notre sujet, est classique depuis les travaux de Guignard, Pitts, Giebisch et Rector, autour de 1970 (voir [3], p. 128-31).



au sein de l'ensemble, ont largement contribué à la vie du laboratoire. Alors, qui pourrait penser encore que des biologistes formés dans les facultés des sciences n'ont pas leur place dans la recherche médicale ? ♦

Dark cells: from morphology to function

RÉFÉRENCES

1. Heidenhaim A. Mikroskopische Beiträge zur Anatomie und Physiologie. *Arch F Mikr Anat* 1870 ; 10 : 1.
2. Schachowa S. *Untersuchungen über die Niere*. Berne : Med Diss, 1876.
3. Hagège J. Morphologie et histophysiologie des cellules intercalaires du tube urinaire des vertébrés tétrapodes. *Ann Biol* 1972 ; XI : 105-43.
4. Peltier M. *Étude de la substance fondamentale des espaces interstitiels de la médullaire du rein de rat, selon que l'urine est acide ou alcaline*. Paris : Thèse de Médecine, 1966 : 24 p.
5. Gabe M. Données histochimiques sur le rein de *Proterus annectens* Owen. *Ann Histochemie* 1959 ; 2 : 215-24.
6. Hagège J, Richet G. Étude par microscopie électronique à balayage de la surface apicale des cellules du tube contourné distal du rein de rat. *CR Acad Sci (Paris)* 1970 ; 271 : 331-4.
7. Hagège J. Morphologie et histophysiologie des cellules intercalaires du tube urinaire des vertébrés tétrapodes. *Ann Biol* 1972 ; XI : 138-9.
8. Hagège J. Morphologie et histophysiologie des cellules intercalaires du tube urinaire des vertébrés tétrapodes. *Ann Biol* 1972 ; XI : 108-11.
9. Hagège J, Gabe M, Richet G. Augmentation du nombre des cellules intercalaires rénales soumises à une surcharge en bicarbonates alcalins. *CR Acad Sci (Paris)* 1968 ; 267 : 1611-3.
10. Hagège J, Richet G, Gabe M. Effet de l'acidose gazeuse sur les parties distales du néphron du rat albinos. *CR Acad Sci (Paris)* 1969 ; 269 : 1539-42.
11. Richet G, Hagège J, Gabe M. Corrélations entre les transferts de bicarbonates et la morphologie du segment terminal du néphron. *Nephron* 1970 ; 7 : 413-29.
12. Hagège J, Richet G. Étude par microscopie électronique à balayage de la surface apicale des cellules du tube contourné distal du rein de rat. *CR Acad Sci (Paris)* 1970 ; 271 : 331-4.
13. Hagège J, Gabe M, Richet G. Scanning of the apical pole of distal tubular cells under differing acid-base conditions. *Kidney Int* 1974 ; 5 : 137-46.
14. Richet G. *In memoriam* : J. Duveau-Hagège (1933-1998). *Néphrologie* 1999 ; 20 : 49-50.

TIRÉS À PART

G. Richet

L'ANNUAIRE DES MÉDECINS

118^e édition



**NOUVELLE FORMULE
(DES ANNUAIRES ROSENWALD 2005)**

L'Annuaire des Médecins (118^e édition)
L'Annuaire des Pharmaciens (72^e édition)
L'Annuaire de l'Hospitalisation Privée (54^e édition)

**Tout savoir sur les médecins,
les pharmaciens et les établissements de soins**

La 118^e édition de l'Annuaire des Médecins (couverture rouge), la 72^e édition de l'Annuaire des Pharmaciens (verte) et la 54^e édition de l'Annuaire de l'Hospitalisation Privée (bleue) viennent de paraître. Le **ROSENWALD** est également disponible dans son intégralité sur **CD Rom** et sur le site internet « [rosenwald.com](http://www.rosenwald.com) ».

Chaque fiche biographique et professionnelle du médecin et du pharmacien ou signalétique de l'établissement est complétée, vérifiée et validée par le médecin, le pharmacien ou le responsable de l'établissement. C'est la raison pour laquelle le Rosenwald constitue une base de données totalement fiable sans équivalent en France.

Les Annaires Rosenwald 2005 recensent 158 558 médecins et 37 791 pharmaciens en exercice ainsi que 12 301 établissements de soins. Fondé en 1887, le Rosenwald est l'outil de travail des professionnels de la Santé depuis plusieurs générations. D'année en année, les annuaires s'adaptent et s'améliorent pour répondre aux besoins multiples des utilisateurs. Les éditions 2005 sont toutefois exceptionnelles. Elles ont fait l'objet de modifications importantes dans leur contenu et leur présentation à l'issue d'une large consultation auprès du corps médical. La nouvelle formule des annuaires permet de trouver plus facilement et plus rapidement encore les renseignements complets et utiles recherchés.

Rappelons que les annuaires sont réalisés grâce au concours des Conseils de l'Ordre, des Fédérations, Syndicats, Unions et Associations professionnelles, de l'ensemble des établissements hospitaliers et des partenaires de la Santé.

Le CD Rom monoposte ou en réseau ainsi que l'abonnement au site internet Rosenwald permettent d'accéder à toute la base Rosenwald des pharmaciens, médecins et établissements de santé. Des formules forfaitaires avantageuses permettent de se procurer à des prix dégressifs les forfaits (papier + CD rom) ou (papier + internet) d'une ou plusieurs bases de données.

Prix Public (Annuaire des Médecins) :
Les 2 tomes : 190 €, Un tome : 110 € (franco de Port).
L'ouvrage et le CD ROM (ou internet) : 265 €
Le CD ROM seul : 160 €

Rosenwald, 10, rue Vineuse, 75784 Paris Cedex 16
Tél : 01.44.30.81.00 — Fax : 01.44.30.81.11
e.mail : rosenwald@wanadoo.fr
<http://www.rosenwald.com>