

**EFFETS DE QUELQUES FACTEURS ÉCOLOGIQUES
SUR L'ACTIVITÉ DES ENZYMES URICOLYTIQUES DU FOIE
DE LA CARPE-MIROIR (*CYPRINUS CARPIO* L.)**

par F. VELLAS.

Chez certains êtres vivants, la présence des trois enzymes uricolytiques : l'uricase, l'allantoïnase, l'allantoïcase, permet la formation d'urée aux dépens de l'acide urique. Une telle dégradation fut mise en évidence chez quelques Téléostéens par BRUNEL, dès 1937. DUCHATEAU et coll., en 1941, confirmèrent ces premiers résultats. Par la suite, les travaux de BRUNEL-CAPELLE [1950], TSUCHIKIYA et coll. [1961] et tout dernièrement ceux de GOLDSTEIN et coll. [1965] montrèrent l'existence de ces enzymes, notamment de l'allantoïcase, chez un grand nombre de Poissons. GOLDSTEIN, en particulier, découvrit l'allantoïcase chez les familles qui, selon BRUNEL, étaient dépourvues de cette enzyme.

Chez les Téléostéens, la présence des trois enzymes uricolytiques offre un grand intérêt pour la biosynthèse de l'urée; en effet, on n'a pu mettre en évidence, chez ces animaux, les enzymes du cycle de Krebs-Henseleit [BROWN, 1959], à l'exception de l'arginase qui n'existerait qu'en très petite quantité.

La participation effective des enzymes uricolytiques à la formation d'urée, in vivo, n'a cependant pas été évaluée; nous nous sommes attachés à la déterminer dans certaines conditions biologiques bien définies, en fonction de 3 facteurs pour les sujets considérés : la captivité, le jeûne, la température.

Techniques.

Les expériences furent réalisées avec des Carpes-miroir gardées en captivité et soumises à un régime uniforme (cas des sujets nourris).

Les mesures d'activité furent effectuées sur le foie. Lors des essais préliminaires sur les organes suivants : foie, rein, rate, tube digestif, ovaires, testicules, muscle caudal et branchies, le foie s'était révélé le plus riche en enzymes uricolytiques. Cet organe fut déshydraté sous vide, broyé puis délipidé.

L'activité uricase a été déterminée en adoptant le principe de la méthode spectrophotométrique de KALCKAR [1961]. L'unité d'activité est définie par la quantité de matériel enzymatique qui hydrolyse une micromole d'acide urique par heure, la valeur uricase (V. U.) correspond au nombre d'unités d'activité contenues dans 1 gramme de matériel sec. L'allantoïnase fut caractérisée par la méthode au xanthidrol de FOSSE et coll. [1929] et l'allantoïcase par la méthode colorimétrique de BRUNEL [1937] modifiée par DURAND [1961]. Les unités d'activité allantoïnase et allantoïcase sont représentées par la quantité de matériel enzymatique qui catalyse la dégradation de 10 micromoles de substrat par heure. Les valeurs allantoïnase (V. An.) et allantoïcase (V. A.) sont exprimées par le nombre d'unités d'activité dans un gramme de matériel sec.

Résultats.

1. Influence de la captivité.

Cette étude fut réalisée au mois de décembre sur une douzaine d'animaux de 250 à 350 g, provenant du même étang. Six étaient en captivité depuis six mois (lot I); les autres venaient d'être capturés dans l'étang (lot II).

TABLEAU I. — Activités des enzymes uricolytiques du foie de Carpes-miroir maintenues en captivité depuis six mois (lot I) et provenant directement de l'étang (lot II).

Valeurs enzymatiques	Lot I	Lot II
V. U.	46 ± 0	60 ± 2
V. An.	23 ± 3	61 ± 2
V. A.	11 ± 0	21 ± 1

Les valeurs enzymatiques obtenues avec les animaux provenant de l'étang sont nettement supérieures à celles des animaux maintenus en captivité (tableau I). Toutefois, on ne constate pas les mêmes modifications pour les trois activités enzymatiques. Il y a une différence de 33 % pour l'uricase, 62 % pour l'allantoïnase et 48 % pour l'allantoïcase.

2. Influence de la température.

Pour cette étude, deux lots de 9 sujets pesant 300 g environ furent placés en aquarium dont la température était maintenue à 8° C pour les uns (lot I) et 20° C pour les autres (lot II). Les animaux utilisés ne se trouvaient pas en période de frai (l'étude fut réalisée pendant l'hiver). Les activités enzymatiques furent déterminées après une adaptation de 3 semaines, délai nécessaire pour obtenir des valeurs constantes d'un animal à l'autre.

TABLEAU II. — Activités uricolytiques du foie de Carpes-miroir gardées en aquarium à une température de 8° C (lot I) et de 20° C (lot II).

Valeurs enzymatiques	Lot I	Lot II
V. U.	51 ± 6	66 ± 1
V. An.	26 ± 4	87 ± 6
V. A.	13 ± 1	30 ± 3

Les résultats réunis dans le tableau II montrent que l'élévation de température du milieu de vie provoque un accroissement des activités uricolytiques. Mais les pourcentages d'augmentation ne sont pas similaires pour les trois enzymes : +33 % pour l'uricase, +235 % pour l'allantoïnase, et +131 % pour l'allantoïcase.

3. Influence du jeûne.

Un lot d'une trentaine de Poissons, pesant 450 à 500 g, fut placé dans un aquarium dont la température était de 20° C. Après une adaptation de 3 semaines, 25 Carpes furent privées de nourriture. Les autres furent utilisées comme témoin au temps zéro de jeûne.

Ces animaux supportèrent un jeûne de 9 mois (mars-décembre). En accord avec les observations faites récemment sur la Carpe commune [CREACH, 1961], la perte de poids de l'animal fut importante après 3 mois d'absence de nourriture (41 %) et, par la suite, elle fut beaucoup plus faible (46 % au 9^e mois).

Afin de suivre l'évolution des activités enzymatiques au cours de cette période de jeûne, à la suite des déterminations effectuées chez les animaux nourris, quatre séries de dosages furent réalisées sur des lots de 4 ou 5 individus non alimentés depuis environ un mois et demi, 3 mois, 6 mois et 9 mois.

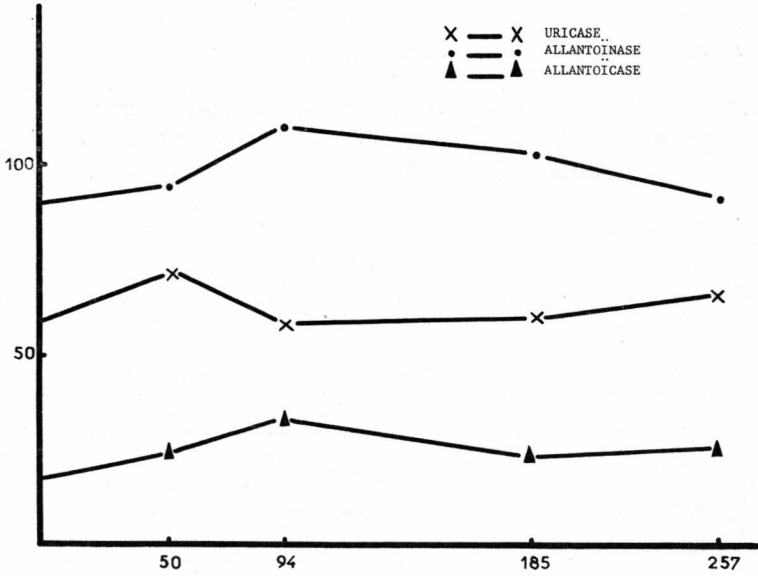


FIG. 1. — Activités uricolytiques du foie rapportées à 1 g de matériel sec. En ordonnée : unités/g de matériel sec. En abscisse : temps de jeûne, en jours.

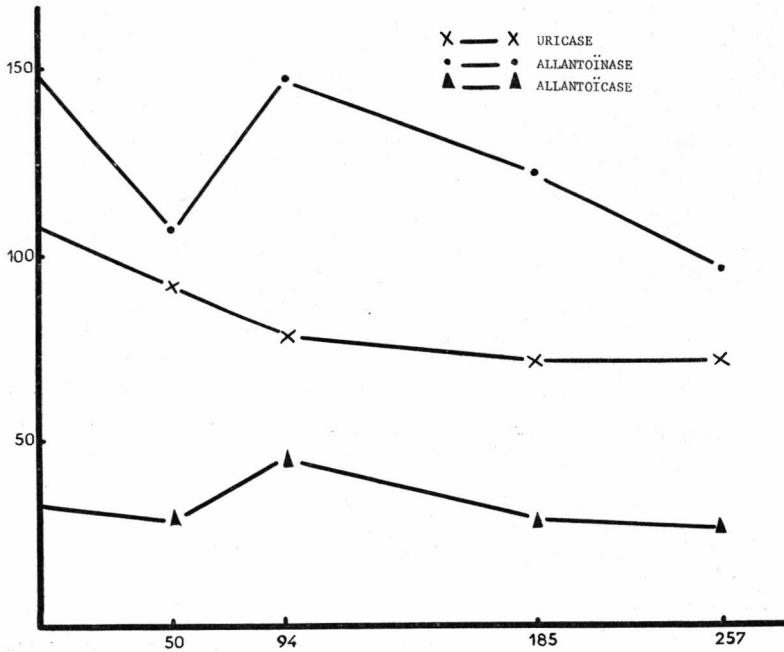


FIG. 2. — Activités uricolytiques du foie rapportées à 0,1 g de N protéique. En ordonnée : unités/0,1 g de N protéique. En abscisse : temps de jeûne, en jours.

L'examen de la figure 1 montre qu'il n'y a pas de variations parallèles entre les réactions des 3 enzymes à une privation prolongée de nourriture. Au 3^e mois, l'activité uricasique diminue tandis que celles de l'allantoïnase et de l'allantoïcase sont augmentées. Cependant, ce mode d'expression des résultats où les valeurs enzymatiques sont rapportées au poids sec, ne peut être entièrement valable : au cours du jeûne, les réserves du foie évoluent et cet organe perd du poids. Il est plus exact de rapporter les résultats à l'azote protéique du foie.

Lorsque les valeurs enzymatiques sont exprimées en fonction de N protéique du foie (*fig. 2*) dont les variations sont données dans le tableau III, on observe une baisse de l'activité des 3 enzymes dans les premiers mois du jeûne. Par la suite, la différence entre les réactions enzymatiques est très nette. L'activité de l'uricase diminue sans cesse. Par contre, celle de l'allantoïnase et de l'allantoïcase s'élève au 3^e mois du jeûne, avant de s'abaisser progressivement.

TABLEAU III. — Azote protéique % du foie de Carpes-miroir au cours d'un jeûne prolongé.

Animaux nourris	Animaux à jeun			
	depuis 50 jours	depuis 94 jours	depuis 185 jours	depuis 257 jours
5,36	7,82	7,50	8,50	9,52

Discussion et conclusion.

Les résultats obtenus au cours de cette étude montrent l'influence marquée que peuvent exercer les trois facteurs envisagés, sur l'activité des enzymes uricolytiques du foie de la Carpe-miroir.

La diminution des valeurs enzymatiques provoquées par la captivité pouvait être soupçonnée. Les conditions de vie de ces animaux gardés en aquarium (lumière, nourriture...) sont loin d'être semblables à celles de leur milieu naturel. Leur comportement physiologique est certainement modifié et leur métabolisme diminué d'où une baisse des activités uricolytiques.

L'augmentation des valeurs enzymatiques pour une élévation de la température du milieu extérieur (de 8° C à 20° C) est en accord avec la biologie de ces Poissons. S'ils supportent des températures assez basses en hiver, leur croissance est faible ou même nulle à

cette époque. Pour croître et se reproduire, il faut à la Carpe un milieu de vie dont la température est assez élevée, c'est-à-dire : 20-23° C.

L'influence du jeûne sur les enzymes uricolytiques de la Carpe, offre un intérêt particulier. Chez les Homéothermes, notamment chez le rat, on a montré [SCHIMKE, 1962] qu'une absence prolongée de nourriture augmentait ou diminuait les activités de certaines enzymes hépatiques. Chez la Carpe, si on observe une diminution de l'activité uricasique, il n'en est pas toujours de même pour l'allantoïnase et l'allantoïcase : elles réagissent différemment suivant le temps de jeûne. Chez ces animaux, le sens des variations des activités des enzymes uricolytiques est fonction de la durée du jeûne.

On notera, en outre, que les modifications uricasiques sont toujours beaucoup plus faibles que celles de l'allantoïnase et de l'allantoïcase, elles sont même différentes dans le cas du jeûne. L'accroissement des valeurs allantoïnasiques et allantoïcasiques après une absence de nourriture de 3 mois, ne s'accorde d'ailleurs pas avec la baisse constante observée pour l'uricase. Si l'élévation de ces deux activités est due à une augmentation du substrat disponible, c'est-à-dire de l'allantoïne, il faudrait donc supposer pour ce composé une origine distincte du métabolisme purique. Ceci rejoindrait les hypothèses déjà émises [ÉCHEVIN, 1940] sur la synthèse in vivo, de cet uréide, par un autre processus, différent de la voie purique.

Ainsi, chez la Carpe-miroir, l'activité des enzymes permettant la dégradation de l'acide urique jusqu'à la formation d'urée, varie en fonction des conditions de vie de l'animal. Les modifications, cependant, sont d'importance inégale suivant l'enzyme considérée.

RÉSUMÉ

Les effets de trois facteurs écologiques (captivité, température, jeûne), sont recherchés sur les activités des enzymes uricolytiques du foie de la Carpe-miroir. On observe que les conditions de vie de l'animal exercent une influence marquée sur l'activité des enzymes étudiées (uricase, allantoïnase, allantoïcase). Les variations obtenues pour l'uricase sont cependant moins importantes que celles des deux autres enzymes; chez les animaux à jeun, elles sont même différentes.

THE EFFECTS OF ECOLOGICAL FACTORS ON THE ACTIVITY OF CARP LIVER URICOLYTIC ENZYMES.

The effects of three ecological factors on uricolytic activities are investigated. Significant alterations of uricasic, allantoïnasic and allantoïcasic activities occur during captivity, variations in temperature, and fasting.

In laboratory aquaria, the bad nutritional status of experimental animals can be responsible for a decrease in enzymic activities.

A direct positive correlation is observed between temperature and enzymic activities variations; this is in conformity with general biology of fishes : their metabolism increases with increases in temperature.

Starved fish do not show similar changes for uricase and allantoinase-allantoïcase systems. A regular decrease is observed for uricase, while allantoinase and allantoïcase increase. It is supposed that allantoin will not be issue from presently know purin metabolism.

AUSWIRKUNG DER ÖKOLOGISCHEN FACTOREN AUF DIE FUNKTION DER URICOLYTISCHEN ENZYME DER LEBER DES SPIEGELKARPFENS.

Es wird die Auswirkung der drei ökologischen Faktoren (Gefangenschaft, Temperatur, Nahrungsentzug) auf die Funktion der urikolytischen Enzyme der Leber des Spiegelkarpfens. Die Lebensbedingungen des Tieres beeinflussen eindeutig die Funktion der untersuchten Enzyme (Urikase, Allantoinase, Allantoïkase). Doch sind die Veränderungen, die bei den Urikasen beobachtet wurden stets weniger bedeutend und weniger differenziert und von den Veränderungen der Allantoinase und der Allantoïcase unterschieden.

TRAVAUX CITÉS

- BROWN jun. (C. W.) and COHEN (P. P.). 1960. — Comparative biochemistry of urea synthesis. III. Activities of urea cycle enzymes in various higher and lower vertebrates. *Biochem. J. (G. B.)*, **75**, (1) : 82-91.
- BRUNEL (A.). 1937. — Métabolisme de l'azote d'origine purique chez les Poissons et les Batraciens. II. Catabolisme de l'azote d'origine purique chez les Téléostéens. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **19** : 1027-1036.
- BRUNEL-CAPELLE (G.). 1950. — Sur la mise en évidence de l'allantoïcase chez les êtres vivants (Animaux). *C. R. Ac. Sci.*, **230** : 1979-1981.
- CREACH (Y.) et SERFATY (A.). 1965. — La protéolyse chez la Carpe commune (*Cyprinus carpio* L.), au cours du jeûne : importance et localisation. *C. R. Soc. Biol.*, **159** : 483-486.
- DUCHATEAU (G.), FLORKIN (M.) et FRAPPEZ (G.). 1941. — Sur les enzymes du catabolisme purique chez les Cyclostomes et les Poissons. *Act. Biol. Belg.*, **1** : 108-109.
- DURAND (G.). 1961. — Sur le dosage de l'acide glyoxylique. *C. R. Ac. Sci.*, **252** : 3479-3481.
- ECHÉVIN (R.), BRUNEL (A.) et SARTORIUS (I.). 1940. — Sur l'origine de l'allantoïne. *C. R. Ac. Sci.*, **211** : 71-72.
- FOSSE (R.), BRUNEL (A.) et DE GRAEVE (P.). 1929. — Analyse quantitative biochimique de l'allantoïne en présence de l'urée. *C. R. Ac. Sci.*, **188** : 1418-1420.

- GOLDSTEIN (L.) and FORSTER (R. P.). 1965. — The role of uricolysis in the production of urea by fishes and other aquatic vertebrates. *Comp. Biochem. Physiol.*, **14** : 567-576.
- KALKAR (H. M.). 1947. — Differential spectrophotometry of purine compounds by means of specific enzymes. *J. Biol. Chem.*, **167** : 429-443.
- SCHIMKE (R. T.). 1962. — Differential effects of fasting and protein-free diets on levels on urea cycle enzymes in rat liver. *J. Biol. Chem.*, **237** : 1921-1924.
- TSUCHIKIYA (Y.) and NOMURA (T.). 1961. — Semiquantitative determination of allantoïnase and allantoïcase in fish organs. *Tohoku J. Agr. Research.*, **12** : 119-124.

(Laboratoire de Biologie Animale,
Faculté des Sciences,
38, rue des Trente-six-Ponts, Toulouse.)