

## Distribution le long de l'intestin du chien des enzymes de la bordure en brosse des entérocytes

par Geneviève LEVANTI, M. FEHLMANN, Mireille STARITA-GERIBALDI, P. SUDAKA

Laboratoire de Biochimie, Faculté de Médecine de Nice,  
Chemin de Vallombrose, 06100 Nice.

**Summary.** *Distribution of brush border enzymes along dog intestine.*

Distribution of lactase (EC.3.2.1.23), cellobiase (EC.3.2.1.21), trehalase (EC.3.2.1.28), maltase (EC.3.2.1.20), glucoamylase (EC.3.2.1.3), sucrase (EC.3.2.1.48),  $\alpha$ 1 $\rightarrow$ 6 glucosidase (hydrolyzing palatinose), alkaline phosphatase (EC.3.1.3.1), aminopeptidase (hydrolyzing L-leucyl- $\beta$ -naphthylamide) and  $\gamma$ -glutamyl-transferase (EC.2.3.2.2) activities have been studied along dog small bowel. Enzymatic assays have been carried out on purified microvillar membrane preparations. Specific activities were found to be maximum in the jejunum for these brush border enzymes.

### Introduction.

La répartition le long de l'intestin grêle des enzymes de la bordure en brosse des entérocytes a été déterminée dans différentes espèces animales (Malhotra et Philip, 1964, 1965 ; Welsh et Walker, 1965, 1972 ; Hietanen, 1973) et chez l'Homme (Aurichio *et al.*, 1963 ; Dahlqvist et Lindberg, 1966). Tous ces travaux ont été effectués sur des homogénats de muqueuse intestinale brute. Nous rapportons ici les résultats d'une étude réalisée sur des préparations purifiées de membranes microvillositaires d'entérocytes de chien.

### Matériel et méthodes.

L'intestin provient d'un chien mâle adulte de 20 kilos soumis pendant une période préliminaire d'un mois, à une alimentation standard (aliment complet chien UAR, France). L'animal est tué par saignée et son intestin, après avoir été lavé avec une solution glacée de NaCl 0,15 M, est divisé en 11 segments. Le premier segment correspond au duodénum. Le jéjunum et l'iléon sont divisés chacun en 5 segments de longueurs égales. A partir de la muqueuse provenant de chaque segment intestinal des préparations de membranes microvillositaires sont obtenues selon une méthode précédemment décrite (Starita-Geribaldi, Fehlmann et Sudaka, 1977) et schématisée sur la figure 1.

— Les culots  $C_6$  sont repris par de l'eau distillée glacée de façon à obtenir une concentration en protéines de 0,35 mg par ml.

— Cette préparation après des dilutions variables (1/2 à 1/300), est utilisée pour doser les différentes activités enzymatiques.

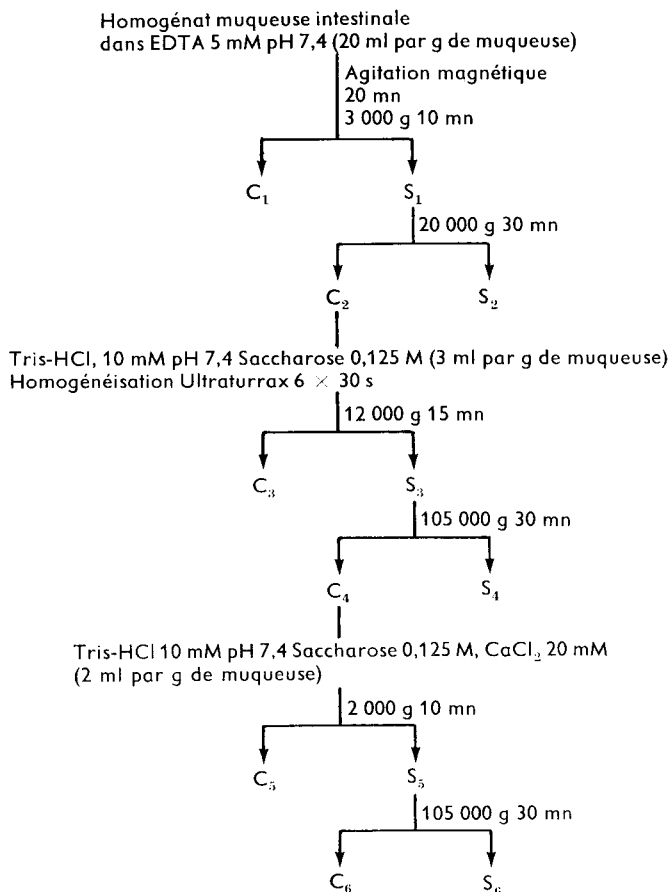


FIG. 1. — Schéma de la méthode de préparation des membranes microvillositaires d'entérocytes de chien.

#### Dosages enzymatiques :

Les disaccharides utilisés sont le lactose, le cellobiose, le tréhalose, le maltose, le saccharose et le palatinose tous d'origine Merck. L'hydrolyse de ces substrats par les disaccharidases est déterminée à pH 6. L'activité glucoamylase a été dosée en employant une solution d'amidon Merck à 1 p. 100 dans du tampon citrate pH 5,4. L'amidon a été au préalable dialysé contre le même tampon. Toutes les activités glucosidases sont déterminées par la méthode de Dahlqvist (1968).

L'activité phosphatase alcaline est dosée par la méthode de Bessey, Lowry et Brock (1946), utilisant l'hydrolyse du paranitrophénylphosphate disodique à pH 10,5.

Le dosage de l'activité aminopeptidase est effectué par la technique de Goldberg et Rutenburg (1958) utilisant comme substrat la L-leucyl- $\beta$ -naphthylamide. La réaction d'hydrolyse est effectuée à pH 7.

L'activité  $\gamma$ -glutamyltransférase est dosée selon la méthode de Szasz (1969), utilisant les réactifs commercialisés par Boehringer ( $\gamma$ -glutamyl-p-nitranilide et glycylglycine à pH 8,25).

Les protéines totales sont dosées par la méthode de Lowry *et al.* (1951). Le réactif au tartrate est remplacé par un réactif au citrate selon Eggstein et Kreutz (1955).

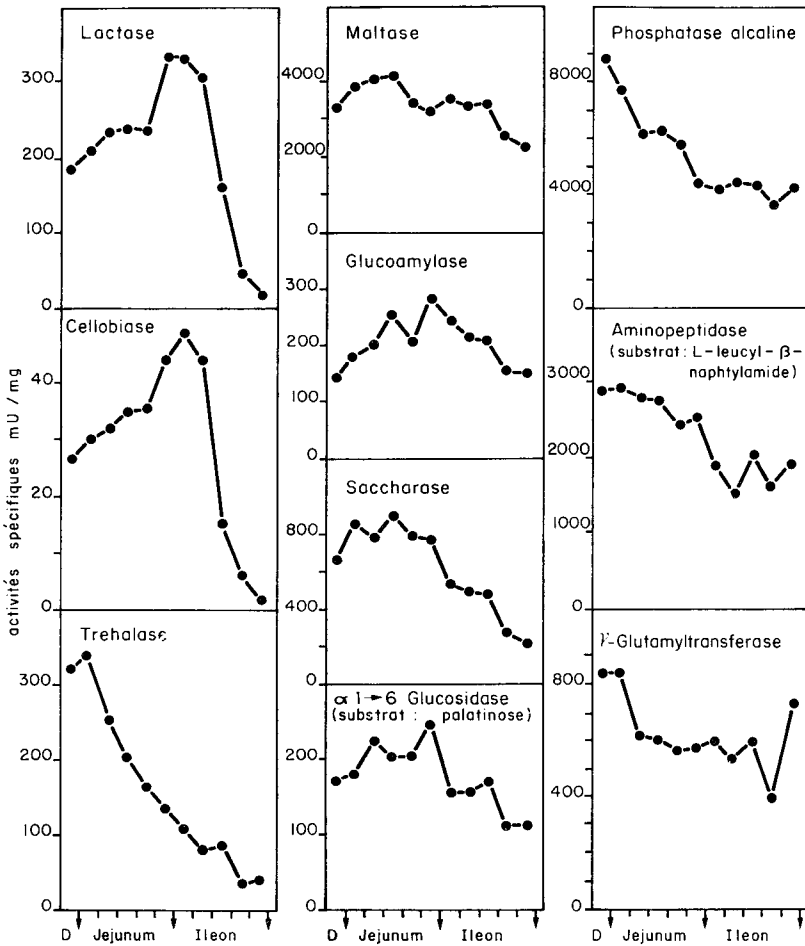


FIG. 2.

FIG. 3.

FIG. 2. — Distribution des différentes activités glucosidases de la bordure en brosse des entérocytes de chien.

FIG. 3. — Distribution des activités phosphatase alcaline, aminopeptidase et  $\gamma$ -glutamyl transférase de la bordure en brosse des entérocytes de chien.

— Les dosages sont effectués sur des préparations purifiées de membranes microvillositaires. Les valeurs indiquées sur chaque courbe sont exprimées en activité spécifique.

Les résultats sont exprimés en activités spécifiques (nombre d'unités enzymatiques par g de protéines ; une unité enzymatique étant définie comme la quantité d'enzyme qui hydrolyse une micromole de substrat par minute). Pour l'activité glucoamylase, l'unité enzymatique correspond à la quantité d'enzyme qui libère une micromole de glucose.

## Résultats.

Les distributions de la lactase et de la cellobiase sont très comparables. Les deux courbes (fig. 2), montrent en effet, des activités maximales à la limite jéjuno-iléale et très faibles au niveau de l'iléon distal. Cette similitude des tracés n'apparaît pas dans les études de Malhotra et Philip (1965) chez le chien.

L'activité tréhalase décroît de façon régulière et rapide du jéjunum proximal à l'iléon distal. Cette distribution qui distingue la tréhalase des autres  $\alpha$ -glucosidases a été retrouvée chez le chien (Malhotra et Philip, 1965).

L'activité maltase se maintient à un niveau relativement constant tout au long du jéjunum et de l'iléon proximal, puis décroît au niveau de l'iléon distal. Cet enzyme présente l'activité spécifique la plus élevée de toutes les  $\alpha$ -glucosidases.

L'activité glucoamylase présente sa valeur la plus élevée à la limite jéjuno-iléale et diminue de part et d'autre de cette zone, atteignant à l'extrémité distale de l'iléon une valeur encore égale à 50 p. 100 environ de la valeur maximale. Il n'existe pas à notre connaissance, d'autres études concernant la répartition de la glucoamylase le long de l'intestin de chien.

Les distributions des activités saccharase et  $\alpha$  1  $\rightarrow$  6 glucosidase (hydrolysant le palatinose) sont comparables. Des valeurs maximales sont trouvées tout au long du jéjunum, alors qu'au niveau de l'iléon ces activités diminuent.

L'activité phosphatase alcaline décroît rapidement le long du jéjunum et se maintient au niveau de l'iléon à une valeur relativement constante (égale à la moitié de celle existant au début du jéjunum). Notons par ailleurs, que c'est au niveau du duodénum que nous avons trouvé les taux les plus élevés de phosphatase alcaline. Ces résultats sont comparables à ceux obtenus par Welsh et Walker (1965) chez le chien.

La répartition des activités aminopeptidase et  $\gamma$ -glutamyltransférase est indiquée sur la figure 3. Nous n'avons pas retrouvé dans la littérature d'autres études concernant la distribution le long de l'intestin de chien de ces deux enzymes.

## Conclusion.

Les résultats obtenus nous paraissent justifier les deux remarques suivantes :

Chez le chien, c'est dans le jéjunum que les entérocytes présentent au niveau de leur bordure en brosse les activités enzymatiques à leur taux le plus élevé.

La distribution le long de l'intestin des différentes enzymes de la bordure en brosse des entérocytes est habituellement déterminée à partir de dosages effectués sur des homogénats de muqueuse brute. Il nous semble cependant que la mesure des activités spécifiques réalisée sur des préparations purifiées de membranes microvillositaires fournit une image plus exacte de la richesse en enzyme de la surface de la muqueuse

intestinale. En effet, certaines hydrolases et en particulier les  $\beta$ -galactosidases ne sont pas exclusivement localisées au niveau de la bordure en brosse des entérocytes (Asp *et al.*, 1971).

Reçu en janvier 1978.

Accepté en mars 1978.

Remerciements. — Ce travail a bénéficié de l'aide de l'INSERM (CRL n° 71-1-147-7).

### References

- ASP N. G., BERG N. O., DAHLQVIST A., JUSSILA J., SALMI H., 1971. The activity of three different small-intestinal  $\beta$ -galactosidases in adults with and without lactase deficiency. *Scand. J. Gastroenterol.*, **6**, 755-762.
- AURICCHIO S., RUBINO A., TOSI R., SEMENZA G., LANDOLT M., KISTLER H., PRADER A., 1963. Disaccharidase activities in human intestinal mucosa. *Enzymol. biol. clin.*, **3**, 193-208.
- BESSEY O. A., LOWRY O. H., BROCK M. J., 1946. A method for the rapid determination of alkaline phosphatase with five cubic millimeters of serum. *J. biol. Chem.*, **164**, 321-329.
- DAHLQVIST A., 1968. Assay of intestinal disaccharidases. *Analyt. Biochem.*, **22**, 99-107.
- DAHLQVIST A., LINDBERG T., 1966. Development of the intestinal disaccharidase and alkaline phosphatase activities in the human foetus. *Clin. Sci.*, **30**, 517-528.
- EGGSTEIN M., KREUTZ F. H., 1955. Vergleichende Untersuchungen zur quantitativen Eiweissbestimmung im Liquor und eiweissarmen Lösungen. *Klin. Wochenschr.*, **33**, 879-884.
- GOLDBARG J. A., RUTENBURG A. M., 1958. The colorimetric determination of leucine aminopeptidase in urine and serum of normal subjects and patients with cancer and other diseases. *Cancer*, **11**, 283-291.
- HIETANEN E., 1973. Interspecific variation in the levels of intestinal alkaline phosphatase, adenosine triphosphatase and disaccharidases. *Comp. Biochem. Physiol.*, **46**, 359-369.
- LOWRY O. H., ROSEBROUGH N. J., FARR A. L., RANDALL R. J., 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. biol. Chem.*, **193**, 265-275.
- MALHOTRA O. P., PHILIP G., 1964. Hydrolytic enzymes of mammalian intestines. Distribution of hydrolytic enzymes in the goat and pig intestines. *Indian J. Med. Res.*, **52**, 68-74.
- MALHOTRA O. P., PHILIP G., 1965. Hydrolytic enzymes of mammalian intestines. Distribution of hydrolytic enzymes in dog, guinea-pig, squirrel, albino rat and rabbit intestines. *Indian J. Med. Res.*, **53**, 410-416.
- STARITA-GERIBALDI M., FEHLMANN M., SUDAKA P., 1977. Etude des protéines de la bordure en brosse des entérocytes du chien. *Arch. int. Physiol. Biochim.*, **85**, 245-254.
- SZASZ G., 1969. A kinetic photometric method for serum  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase. *Clin. Chem.*, **15**, 124-136.
- WELSH J. D., WALKER A., 1965. Intestinal disaccharidase and alkaline phosphatase activity in the dog. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, **120**, 525-527.
- WELSH J. D., WALKER A., 1972. Intestinal disaccharidase activity of non-human primates. I. Tupaiidae cebidae and cercopithecidae. *Comp. Biochem. Physiol.* **41**, 719-726.
-