

Reprod. Nutr. Dévelop., 1981, 21 (5B), 807. — Assoc. Fr. Nutr., nov. 1980.

**Contrôle de l'accumulation d'AMP cyclique et de la sécrétion amylasique de l'acinus pancréatique de chien**, par Jacqueline LAVAL, G. BOMMELAER, C. SÉNARENS, G. ROZENTAL, A. RIBET, INSERM U 151, CHU Rangueil, Bt L3, 31054 Toulouse Cedex, France.

Les études concernant la régulation de la sécrétion enzymatique du pancréas réalisées *in vivo* chez le chien n'ont pas permis de répondre définitivement à un certain nombre de questions : la sécrétine et le VIP ont-ils un effet sécrétagogue direct ? Quel est le type d'interaction, directe ou indirecte entre les peptides « secretin-like » et les peptides « CCK-like » ? Quel est le mécanisme d'action sécrétoire du peptide apparenté à la bombésine ? Dans le but de répondre à ces différentes questions, nous avons étudié l'action isolée ou combinée de différents sécrétagogues sur la sécrétion amylasique de l'acinus isolé de chien. Parallèlement, la régulation de l'accumulation d'AMP cyclique fut également étudiée.

Les acini sont préparés selon la méthode décrite par Amsterdam, Solomon et Jamieson (1978), partiellement modifiée. Elle repose sur l'association de 2 types de dissociation : une dissociation enzymatique par la collagénase de lobules préalablement découpés, suivie d'une dissociation mécanique par pipetage et filtration. Les acini ainsi préparés répondent de façon satisfaisante à un certain nombre de critères de viabilité (exclusion du bleu de Trypan supérieure à 95 p. 100, rétention de l'activité lactico-deshydrogénase supérieure à 95 p. 100 pendant au moins 1 h, une sécrétion enzymatique de base inférieure à 5 p. 100, une réponse sécrétoire aux sécrétagogues pancréatiques). La sécrétion enzymatique est contrôlée par le dosage de l'amylase, selon la technique de Bernfeld (1951). Le résultat est exprimé en pourcentage par rapport à l'activité totale. L'accumulation d'AMP cyclique sur des acini préparés en présence de théophylline 5 mM (inhibiteur des phosphodiesterases) est suivie par dosage radio-immunologique selon la technique de Steiner, Parker et Kipnis (1972). Les résultats sont exprimés en pourcentage par rapport au taux basal non stimulé.

Les peptides agissant par l'intermédiaire de l'AMP cyclique, selon le schéma de Gardner (1979) tels la sécrétine et le VIP, quelle que soit la dose utilisée (de  $10^{-11}$  M à  $10^{-6}$  M), n'entraînent pas de sécrétion enzymatique lorsqu'ils sont administrés seuls. Associés à des sécrétagogues tels que la caeruleine ou le carbachol, ils ne modifient pas la réponse sécrétoire de ces peptides. Les peptides « CCK-like », caeruleine, gastrine et le carbachol stimulent la sécrétion enzymatique des acini pancréatiques ; leur  $D_{max}$  étant respectivement de  $3 \times 10^{-9}$  M,  $10^{-5}$  M et  $10^{-5}$  M. Par contre, le nonapeptide de la bombésine n'a pas d'effet stimulant direct sur la sécrétion enzymatique (de  $10^{-11}$  M à  $10^{-5}$  M) alors que la bombésine 14 présente un effet faiblement stimulant à la dose de  $10^{-5}$  M. Le niveau d'AMP cyclique intracellulaire n'est pas affecté par la caeruleine et le carbachol. Seuls le VIP et la sécrétine entraînent une accumulation intracellulaire d'AMP cyclique. Cette accumulation croît avec la dose de sécrétine utilisée pour atteindre un maximum à  $10^{-8}$  M, alors que la  $D_{max}$  du VIP est de  $10^{-6}$  M.

En conclusion, ni la sécrétine, ni le VIP n'exercent d'effet sécrétoire isolément ou en association avec la caeruleine. La potentialisation observée *in vivo* entre la sécrétine et la caeruleine n'est pas le résultat d'un effet direct intracellulaire. L'effet sécrétagogue de la bombésine dépend étroitement de la longueur de la chaîne peptidique. Enfin, la sécrétine et le VIP provoquent l'accumulation d'AMP cyclique, cette accumulation semblant indépendante de la sécrétion enzymatique.

Amsterdam A., Solomon T. E., Jamieson J. D., 1978. Sequential dissociation of the exocrine pancreas into lobules, acini, and individual cells. *Meth. Cell Biol.*, **20**, 361-378.

Bernfeld P., 1951. Enzymes of starch degradation and synthesis. *Adv. Enzymol.*, **12**, 379-385.

Gardner J. D., 1979. Regulation of pancreatic exocrine function *in vitro* : initial steps in the actions of secretagogues. *Ann. Rev. Physiol.*, **41**, 55-66.

Steiner A. L., Parker C. W., Kipnis D. M., 1972. Radioimmunoassay for cyclic nucleotides. I. Preparation of antibodies and iodinated cyclic nucleotides. *J. Biol. Chem.*, **247**, 1106-1113.