

Etude biochimique et immunochimique de la stimulation des peptidases de la bordure en brosse entérocytaire par un régime hyperprotéique, par Christine GAUCHER et A. PUIG-SERVER. *Centre de Biochimie et de Biologie Moléculaire du CNRS, B.P. 71, 13402 Marseille Cedex 9.*

Dans le cadre de l'étude des phénomènes d'adaptation nutritionnelle au niveau intestinal chez le rat, nous avons mis en œuvre deux méthodes d'évaluation des réponses enzymatiques. La première, par dosage de l'activité hydrolytique des enzymes étudiées et la seconde, par quantification des protéines immunoréactives correspondantes, grâce à la technique d'immunoélectrophorèse en « roquette ». Cette approche a été réalisée dans le cas de l'adaptation de jeunes rats mâles Wistar (100 g) à un régime hyperprotéique à 65 % de caséine, pendant 48 h. En raison des modifications morphologiques et fonctionnelles importantes que provoque un jeûne de 48 h au niveau intestinal (Gaucher, 1984), nous avons opté pour un protocole excluant ce type de traitement préliminaire, mais comportant une période de pré-adaptation de 10 jours sur un régime sub-optimal à 10 % de caséine supplémenté en méthionine (0,2 %), isocalorique au régime hyperprotéique testé.

A l'issue de 2 jours d'alimentation hyperprotéique, aucune modification morphologique de l'intestin n'est observée : les poids de l'intestin et de la muqueuse recueillies sont identiques chez les animaux témoins et expérimentaux. Les protéines totales mesurées dans les homogénats ne varient pas de façon significative entre les deux types de régime. Par contre, les activités des deux peptidases membranaires étudiées, la leucine-aminopeptidase (LAP) et la dipeptidyl-peptidase IV (DPP-IV), sont nettement stimulées par le régime hyperprotéique. Les activités totales de ces deux enzymes sont en effet augmentées de 60 % pour la LAP et 80 % pour la DPP-IV, ainsi que leurs activités spécifiques de 40 % et 60 %, respectivement. Les immunoélectrophorèses « en roquette » sont réalisées sur un surnageant contenant l'ensemble des protéines membranaires solubilisées. Celui-ci est obtenu par homogénéisation de la muqueuse en présence de 2 % d'émulphogène suivie d'une incubation pendant 1 h à 4 °C puis 15 min à 37 °C sous agitation et, enfin, d'une ultracentrifugation à 105 000 g pendant 45 min. L'utilisation d'un antisérum dirigé contre l'ensemble des protéines des bordures en brosse entérocytaires purifiées et traitées à l'émulphogène à 2 %, permet de précipiter les hydrolases membranaires solubilisées présentes dans les surnageants à l'émulphogène. La caractérisation individuelle de chaque enzyme étudiée est ensuite effectuée par une révélation spécifique. Cette technique immunoélectrophorétique permet donc d'éviter une purification préalable des protéines enzymatiques à étudier contrairement au dosage radioimmunologique. Deux systèmes d'expression de la quantité immunoréactive des peptidases ont été adoptés : hauteur des pics d'immunoprécipitation rapportée à la quantité totale des protéines chargées sur le gel (quantité spécifique) ou extrapolée à la quantité totale de protéines immunoréactives présentes dans la muqueuse intestinale (quantité totale). Ainsi, nous avons pu constater une augmentation des quantités immunoréactives de la LAP et de la DPP-IV parallèle à leur réponse hydrolytique : de 50 et 60 % respectivement pour les quantités totales, et de 34 et 45 % pour les quantités spécifiques. Aucun phénomène d'activation significatif n'est par conséquent observé au cours de cette réponse adaptative intestinale à l'alimentation hyperprotéique.

D'après nos résultats, le phénomène majeur de la régulation nutritionnelle des peptidases de la bordure en brosse entérocytaire par un régime hyperprotéique résiderait donc dans la modulation de leur biosynthèse au niveau cellulaire. Un processus analogue a déjà été mis en évidence dans le cas de l'adaptation de la saccharase à une alimentation hyperglucidique, associé cependant à un phénomène mineur (20 à 30 % de la réponse adaptative) d'activation de l'enzyme (Cézard *et al.*, 1983).

Gaucher C., 1984. Thèse de Docteur-Ingénieur de Biologie Cellulaire et Moléculaire, Université d'Aix-Marseille II.

Cézard J. P., Broyard J. P., Cuisinier-Gleizes P., Mathieu H., 1983. Sucrase-isomaltase regulation by dietary sucrose in the rat. *Gastroenterology*, 84, 18-25.