

Etude de l'absorption de l'acide oléique en culture organotypique d'intestin de souris. Influence de la monensine et du nocodazole., par A. BERNARD, Hélène CARLIER, J. S. HUGON (*). *Physiologie de la Nutrition, ENS. BANA et U. A. C.N.R.S. 273, Campus Universitaire Montmuzard, 21100 Dijon, France.* (*) Département de Pathologie, Faculté de Médecine, Sherbrooke, J1H 5N4 Québec, Canada.

Nous avons montré que les explants jéjunaux de Souris adulte, en culture organotypique, possédaient une bonne capacité de prélèvement et d'estérification des acides gras ainsi que de sécrétion des lipides estérifiés (Carlier *et al.*). Le présent travail se propose de tester la fiabilité du modèle expérimental, en analysant la régulation de certaines étapes de l'absorption des lipides au niveau cellulaire. Pour cela nous avons utilisé la monensine et le nocodazole, deux drogues reconnues, la première pour modifier l'ultrastructure des organites impliqués dans le transport intraentérocytaire des lipides (Tartakoff, 1983 ; Boss *et al.*, 1984), la seconde pour provoquer la dépolymérisation des microtubules, donc perturber comme la colchicine le transport intracellulaire et la sécrétion des particules lipoprotéiques, mais dont l'utilisation ne peut être conduite qu'« *in vitro* ».

Après un temps de culture donné, les explants sont incubés pendant 15 min dans 10 ml d'un milieu de culture approprié oxygéné (95 % O₂ - 5 % CO₂) à 37 °C, contenant un mélange lipidique (1,2 mM) équimolaire de monopalmitine, d'acide palmitique et d'acide oléique, additionné de 1,5 µCi d'acide oléique ¹⁴C, émulsionné par du taurocholate de sodium (2,4 mM). La monensine (100 µM) est présente pendant les trois heures de culture des explants qui précèdent leur incubation dans le milieu lipidique enrichi dans les mêmes conditions en monensine. Le nocodazole (10 µg/ml) est présent les trois dernières heures d'une culture de 4 heures pour un lot expérimental d'explants et, pour un autre lot expérimental d'explants, après ce temps d'action et rinçage des explants, la culture est poursuivie trois heures dans un milieu de culture renouvelé, sans nocodazole. Quel que soit le type d'expériences, des explants témoins sont cultivés dans les mêmes conditions de temps et de renouvellement des milieux de culture sans drogue. Les lipides sont extraits du milieu d'incubation et l'analyse est effectuée sur les fractions estérifiées (phospholipides et triglycérides) séparées par chromatographie sur couches minces de gel de silice.

Par rapport aux explants témoins, la monensine, ionophore carboxylique, qui provoque une dilatation des corps de Golgi de l'entérocyte, augmente significativement (+ 65 %), la sécrétion des triglycérides marqués par les explants après trois heures de culture de ces explants en sa présence. Le nocodazole, agent antimicrotubulaire, diminue significativement (- 28 %), par rapport aux explants témoins, la sécrétion des triglycérides marqués après 3 h de culture de ces explants dans un milieu de culture enrichi en nocodazole. Cette action du nocodazole sur le cytosquelette intraentérocytaire et secondairement sur la sécrétion des lipides est réversible, puisqu'elle disparaît lorsque la culture est poursuivie dans le même milieu de culture dépourvu de nocodazole ; en effet, dans ces conditions, la capacité de sécrétion des explants est restaurée puisque non significativement différente de celle des explants témoins.

Ces résultats apportent une confirmation supplémentaire de l'utilisation possible des cultures organotypiques de jéjunum de Souris pour étudier dans des conditions fiables le prélèvement, l'estérification des acides gras et la sécrétion des lipides estérifiés.

Carlier H., Labussière H., Bernard A., Hugon J. S. Lipid esterification and secretion by the mouse intestine in organ culture. *Comp. Physiol. Biochem.*, (Submitted).

Tartakoff A. M., 1983. Perturbation of the structure and function of the Golgi complex by monovalent carboxylic ionophores. *Meth. Enzymol.*, **98**, 47-59.

Boss W. F., Morre D. J., Mollenhauer H. K., 1984. Monensin-induced swelling of Golgi apparatus cisternae mediated by a proton gradient. *Eur. J. Cell Biol.*, **34**, 1-8.