

Contrôle de la libération de la GH par le GRF et la prostaglandine E₂ dans un système de périfusion de cellules anté-hypophysaires de rat

Véronique FAFEUR (*), C. TIBERGHYEN, France HAOUR, F. DRAY

*INSERM U.207 — URIA,
Institut Pasteur, 28, rue du Dr Roux, 75015 Paris*

Summary. *Control of GH release by GRF and prostaglandin E₂ in superfused rat pituitary cells.*

Using superfused rat pituitary cells we showed that the growth hormone-releasing factor (GRF) and prostaglandin E₂ (PGE₂) increased growth hormone (GH) secretion in a similar manner in terms of kinetics and amplitude of responses. Moreover, our data suggest that they stimulate GH secretion mainly by cAMP-dependent mechanisms.

Le facteur hypothalamique de libération de l'hormone de croissance (GRF) et la prostaglandine E₂ (PGE₂) stimulent la libération de l'hormone de croissance (GH). Nous avons comparé leurs effets sur la GH dans un système de périfusion de cellules anté-hypophysaires de rat, modèle approprié pour étudier les changements rapides de sécrétion hormonale.

Des cellules d'hypophyses de rats mâles, dissociées par de la collagénase, sont placées dans des tubes contenant du Biogel P₂ (4-8 · 10⁶ C/ml). Elles sont maintenues à 37 °C et périfusées en continu (500 $\mu\text{l}/\text{min}$) avec du milieu de culture [Dulbecco's Modified Eagle, contenant de la BSA (0,25 %), de l'Hepes (25 mM) et des antibiotiques] placé sous atmosphère de 95 % O₂-5 % CO₂. Une période d'équilibration de 3 h précède le recueil des fractions par 2,5 ou 5 min. La GH est mesurée dans les effluents par dosage radioimmunologique.

Une injection de GRF ou de PGE₂ induit une augmentation de la GH qui retourne en quelques minutes au niveau de base à la fin de la stimulation. Le niveau de base de la GH décroît de manière linéaire au cours du temps et n'est pas affecté par les stimulations pendant la durée de l'expérience. Lors de stimulations brèves (2,5 min) par le GRF ou la PGE₂, réalisées dans un ordre croissant ou aléatoire à intervalles de 30 min, la GH est stimulée de manière dose-dépendante.

(*) Boursière SANOFI.

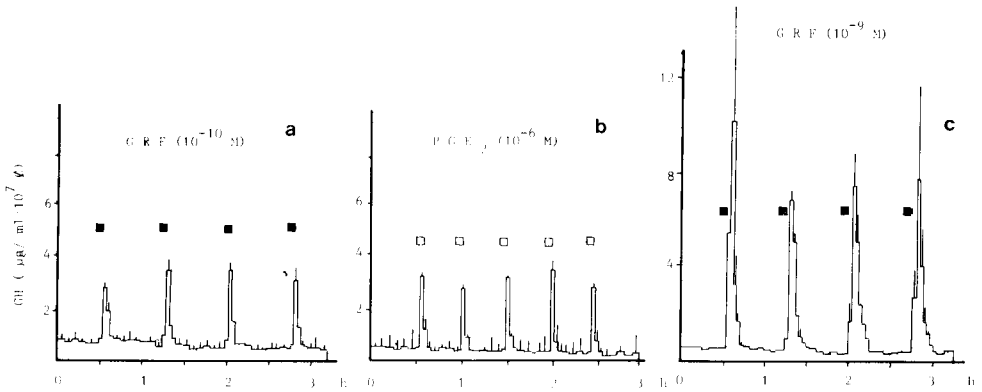


FIG. 1. — *Effets du GRF (a, c) ou de la PGE₂ (b) sur la libération de la GH par des cellules hypophysaires de rat, lors de stimulations de 2,5 min (a, b : doses submaximales, c : dose maximale) (n = 3).*

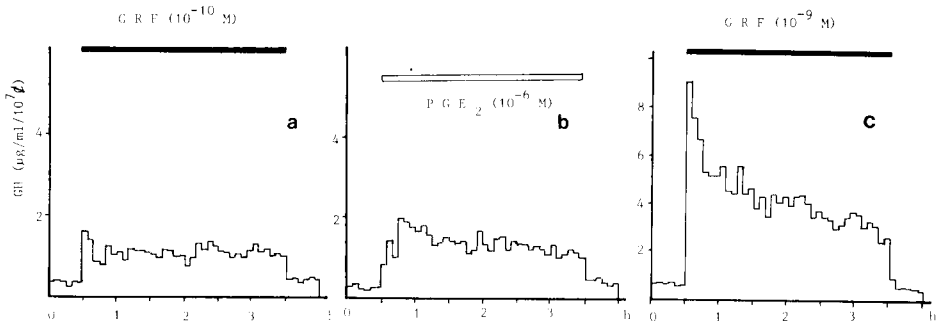


FIG. 2. — *Effets du GRF (a, c) ou de la PGE₂ (b) sur la libération de la GH par des cellules hypophysaires de rat, lors d'une stimulation de 3 h (a, b : doses submaximales, c : dose maximale).*

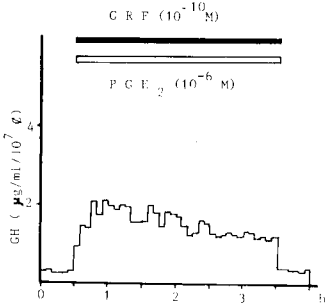


FIG. 3. — *Effets du GRF et de la PGE₂ sur la libération de la GH (■, □ : 3 h) (à comparer aux fig 2a et 2b).*

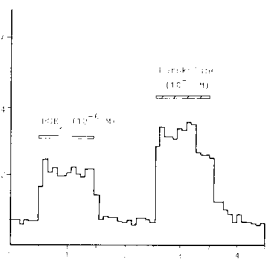


FIG. 4. — *Effet de la PGE₂ ou de la forskoline sur la libération de la GH (□, ▨ : 1 h).*

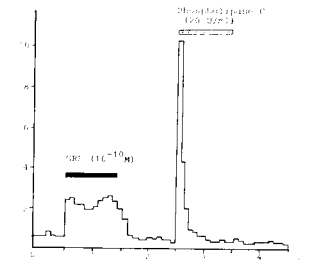


FIG. 5. — *Effet du GRF ou de la phospholipase C sur la libération de la GH (■, □ : 1 h).*

Les effets minimaux et maximaux sont obtenus pour des concentrations respectives de 10^{-12} et 10^{-9} M de GRF et 10^{-9} et 10^{-5} M de PGE₂ (coefficient d'amplification maximale : 20 fois). Cependant, la reproductibilité de la réponse à une forte stimulation n'est pas conservée. Ce phénomène a été étudié en mesurant les réponses en GH pour des stimulations de concentration identique. A doses sub-maximales, le GRF (10^{-10} M) et la PGE₂ (10^{-6} M) entraînent des réponses reproductibles en GH pour des stimulations brèves (fig. 1a, b) et qui se maintiennent pour des stimulations continues de 3 h (fig. 2a, b). Pour des stimulations brèves de GRF à dose maximale (10^{-9} M) une première réponse importante en GH est observée, suivie de réponses plus faibles mais qui ne diminuent pas entre elles au cours des stimulations successives (fig. 1c). En revanche, lors d'une stimulation continue de 3 h en GRF à 10^{-9} M la libération de la GH diminue au cours du temps (fig. 2c). Dans ces conditions, l'effet de l'addition simultanée des deux agents a été étudié pour des concentrations non maximales. Lors d'une stimulation de 3 h, la présence de GRF et de PGE₂ n'entraîne que peu ou pas d'effet additif (fig. 3 à comparer aux effets respectifs des agents en fig. 2a et 2b). Ceci suggère qu'ils mettent en jeu des événements intra-cellulaires du même type. Nous avons utilisé la forskoline qui permet une accumulation intra-cellulaire d'AMP_c. L'injection de forskoline à 10^{-5} M pendant 1 h entraîne une libération de la GH qui se maintient au-dessus du niveau de base (fig. 4). Ce type de profil n'est pas retrouvé avec un agent qui met en jeu des événements Ca⁺⁺-phospholipides dépendants, puisque la phospholipase C (20 U/ml), injectée pendant 1 h, entraîne une réponse aiguë, qui retourne au niveau de base avant la fin de la stimulation (fig. 5). Ainsi, seule la production soutenue d'AMP_c est capable d'entretenir le signal.

Ces résultats démontrent que le GRF et la PGE₂ induisent des profils de réponse très semblables aussi bien en cinétique qu'en amplitude. Des phénomènes de type désensibilisation ne sont pas observés pour des stimulations brèves de GRF (10^{-10} ou 10^{-9} M) ou de PGE₂ (10^{-6} M), alors qu'ils le sont pour des stimulations prolongées de GRF à 10^{-9} M. La faible additivité entre les deux agents et la similarité des réponses avec un activateur de la voie cyclasique suggèrent que le GRF et la PGE₂ stimulent la sécrétion de la GH principalement par des mécanismes AMP_c-dépendants.