

the hypothesis that spinal nociceptive pathways use a transmitter other than an excitatory amino-acid. In conclusion therefore, D<sub>a</sub>AA offers a useful pharmacological tool to elucidate potential amino-acid mediated synaptic excitation in the central nervous system.

- 1 Present address: Dept of Physiology, Duke University Medical Center, Durham, North Carolina, USA.
- 2 J.G. Hall, H. McLennan and H.V. Wheal, *J. Physiol.* 272, 52P (1977).
- 3 T.J. Biscoe, R.H. Evans, A.A. Francis, M.R. Martin, J.C. Watkins, J. Davies and A. Dray, *Nature* 270, 743 (1977).

- 4 T.J. Biscoe, J. Davies, A. Dray, R.H. Evans, M.R. Martin and J.C. Watkins, *Brain Res.* 148, 543 (1978).
- 5 G.A.R. Johnston, D.R. Curtis, J. Davies and R.M. McCulloch, *Nature* 248, 804 (1974).
- 6 R.M. McCulloch, G.A.R. Johnston, C.J.A. Game and D.R. Curtis, *Exp. Brain Res.* 21, 515 (1974).
- 7 J. Davies and A. Dray, *Br. J. Pharmac.* 63, 87 (1978).
- 8 L.T. Graham, R.P. Shank, R. Werman and M.H. Aprison, *J. Neurochem.* 14, 465 (1967).
- 9 D.R. Curtis and G.A.R. Johnston, *Ergebn. Physiol.* 69, 97 (1974).
- 10 J.L. Henry, *Brain Res.* 114, 439 (1976).
- 11 M. Randic and V. Miletic, *Brain Res.* 128, 164 (1977).
- 12 T. Hokfelt, A. Ljungdahl, L. Terenius, R. Elde and G. Nilsson, *Proc. nat. Acad. Sci.* 74, 3081 (1977).

## Modification des équilibres acido-basiques par le jejunum de rat, in vitro

### Acid-base changes across the rat jejunum, in vitro

C. Dolisi, D. Crenesse et J.L. Ardisson

*Laboratoire de Physiologie, Faculté de Médecine, avenue de Vallombrose, F-06034 Nice Cédex (France), 8 mai 1978*

**Summary.** Everted sacs of rat jejunum are able to adjust to near 6.5 any solution whose pH is situated between 5.5 and 9.5. Beyond these limits the adjustment becomes incomplete. Changes in PCO<sub>2</sub> and total CO<sub>2</sub> associated with changes in mucosal pH-values suggest that bicarbonate or CO<sub>2</sub>-movements toward the jejunal lumen involved in this adjustment process are predominant.

In vivo, le pH du jejunum varie selon les espèces; c'est ainsi qu'il se situe, en dehors des périodes prandiales, aux environs de 7,2 chez le lapin<sup>1</sup>, 7,0 chez le chien<sup>2</sup>, 7,4 chez l'homme<sup>3</sup> et 6,5 chez le rat<sup>4,5</sup>. De nombreux auteurs ont cherché dans quelle mesure les portions proximales de l'intestin étaient susceptibles d'ajuster à des valeurs proches de celles observées chez l'animal entier, le pH de solutions provenant soit directement de l'estomac<sup>6,7</sup>, soit perfusées dans des anses isolées (type Thiry<sup>8</sup> ou Thiry-Vella<sup>9</sup>). Meyer et coll.<sup>10</sup>, Dorricott et coll.<sup>8</sup>, Dolisi et coll.<sup>11</sup> ont montré que le jejunum de chien est capable, in vivo, d'amener rapidement à des valeurs proches de la neutralité des solutions luminales dont le pH est compris entre 1,7 et 11,3. Cependant, cette technique chez l'animal entier, ne permet pas de mettre en évidence les mécanismes précis de cet ajustement qui participe à la régulation du milieu intérieur. C'est pourquoi, nous nous proposons d'entreprendre une étude parallèle de ces phénomènes, in vitro, en cherchant, dans un premier temps, si le jejunum de rat présente les mêmes possibilités d'adaptation. Nous avons utilisé la technique du «sac retourné» de Wilson et Wiseman<sup>12</sup>, cette méthode ayant permis de mesurer, entre autres, des transports de substances très diverses, telles que le glucose et les acides aminés<sup>13</sup>, le sodium<sup>14</sup>, l'eau<sup>15</sup>.

Le but de ce présent travail est de tester les capacités d'ajustement du jejunum de rat en mesurant simultanément, d'une part, la pression partielle de gaz carbonique et le contenu total en CO<sub>2</sub>, d'autre part, les mouvements des ions monovalents principaux (Na<sup>+</sup> et Cl<sup>-</sup>) qui traversent la paroi intestinale.

**Matériel et méthodes.** Des rats mâles, Wistar, pesant 200-250 g, ayant accès à la nourriture et à l'eau ad libitum, sont anesthésiés à l'éther. Un segment de jejunum d'environ 15 cm de long est prélevé et directement transféré dans une solution saline (selon Krebs, modifié: NaCl 117 mM; MgSO<sub>4</sub>, 7H<sub>2</sub>O 1,2 mM; KCl 5,7 mM; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 2H<sub>2</sub>O 1,2 mM; CaCl<sub>2</sub> 2,5 mM; NaHCO<sub>3</sub> 12 mM; glucose 5 mM), à pH 7,4 maintenue à 37°C et gazée par de l'air. Le contenu

intestinal est vidangé par le passage de 20 ml de solution saline. Le fragment est alors retourné et coupé en 3 parties. Chaque portion est montée sur une canule de polyéthylène afin de constituer un sac que l'on remplit de la solution de Krebs. Celle-ci contient, en outre, dans certaines expériences, un marqueur radioactif, le <sup>36</sup>Cl (Biochemical Centre, Amersham, Angleterre) destiné à mesurer le flux unidirectionnel séreux-muqueux de cet ion. L'ensemble «canule+intestin» est introduit dans un tube renfermant 5 ml d'une des solutions mucosales à tester. Celles-ci contiennent au départ 105 mM de NaCl et 75 mM de glucose; les différents pH sont obtenus en ajoutant en quantités convenables soit du glycocolle et de la soude (pour les pH compris entre 8,0 et 11,0), soit de l'acide citrique et du phosphate disodique (pour les pH compris entre 2,2 et 8,0) soit de l'acide chlorhydrique 0,1 N (pour les pH inférieurs à 2,2). L'osmolarité des milieux muqueux et séreux est maintenue proche de 310 mOsm afin d'éviter tout gradient de pression osmotique. Le tube est ensuite hermétiquement fermé autour de la canule supportant le sac. La préparation est incubée pendant 60 min à 37°C. A la fin de l'incubation, on mesure dans la solution baignant la muqueuse, le pH (pH-mètre Orion Research 601), les concentrations de sodium (spectrophotomètre d'absorption atomique Perkin-Elmer, 103) et de chlore (chloridomètre radiometer), l'apparition de l'isotope (compteur à scintillation liquide, Intertechnique, SL 32), la pression partielle en CO<sub>2</sub> (Corning pH-blood gases 165) ainsi que le contenu total en CO<sub>2</sub> par la méthode manométrique de Van Slyke. Vérifiées systématiquement sur un échantillon témoin, les variations du pH des solutions utilisées ne dépassent jamais 0,05 unité pH à la fin des 60 min d'incubation.

**Résultats.** Ajustement du pH muqueux final. Comme on le voit sur la figure, A, lorsque le pH muqueux initial est compris entre 5,5 et 9,5, le pH luminal obtenu en fin d'incubation se situe vers 6,5. On n'obtient pas de résultats significativement différents si le côté séreux est gazé soit par de l'air soit par un mélange O<sub>2</sub>:CO<sub>2</sub> (95:5%). En

dehors des valeurs précédemment citées, le fragment de jéjunum n'est capable que d'un ajustement très partiel, mais sensiblement plus efficace dans la zone des pH alcalins.

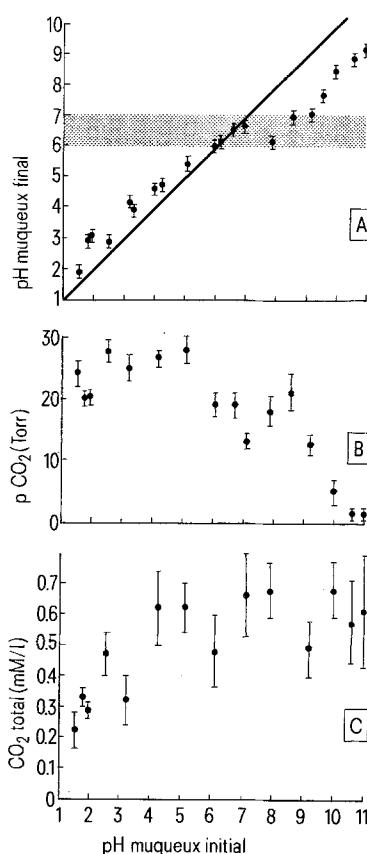
Echanges simultanés de  $\text{Na}^+$  et  $\text{Cl}^-$ . Les flux nets de  $\text{Na}^+$  et  $\text{Cl}^-$  ne varient pas significativement quel que soit le pH du milieu d'incubation et sont respectivement de  $-18,66 \pm 1,86$  et  $+5,19 \pm 0,7 \mu\text{Eq}/\text{h}/\text{cm}^2$ . Les 2 transports s'effectuent en sens opposé, le sodium étant absorbé (contre un gradient de concentration) et le chlore étant sécrété (exsorption). D'autre part, la valeur du flux unidirectionnel sérieux-muqueux de chlore ne présente pas, dans ces mêmes conditions expérimentales, de modifications significatives ( $J_{\text{sm}}\text{Cl}^- = 4,17 \pm 0,20 \mu\text{Eq}/\text{h}/\text{cm}^2$ ): le passage de cet ion vers la lumière intestinale ne semble pas être influencé par les variations du pH du milieu mucosal. On peut en conclure que le flux opposé (muqueux-séreux) ne varie pas non plus avec le pH luminal.

Gaz carbonique et  $\text{CO}_2$  total. La pression partielle en gaz carbonique dissous, située aux environs de 25 Torr aux pH acides, diminue brusquement aux pH les plus alcalins et devient presque nulle à pH 11 (figure, B); entre les 2 se situe une zone de pH intermédiaires caractérisée par une  $\text{PCO}_2$  légèrement inférieure à 20 Torr. Les valeurs du contenu total en  $\text{CO}_2$  évoluent en sens inverse: elles sont faibles pour les pH acides, s'accroissent jusqu'à pH 5, puis au-delà ne présentent pas de différences significatives et se situent aux environs de 0,60 mM/l (figure, C).

**Discussion.** Les résultats que nous avons obtenus permettent d'évaluer la disparition maximale d'acidité titrable à  $6 \mu\text{Eq}/\text{h}/\text{cm}^2$ . Pour les ions alcalins, les capacités de neutralisation de la muqueuse semblent être voisines puisqu'on retrouve une valeur proche ( $7 \mu\text{Eq}/\text{h}/\text{cm}^2$ ). Certains paramètres, comme la  $\text{PCO}_2$  et le contenu total en  $\text{CO}_2$ , sont étroitement dépendants du pH des solutions

perfusées. Dans notre expérimentation, aux pH les plus acides, la  $\text{PCO}_2$  présente sa valeur maximale alors que le contenu total en  $\text{CO}_2$  est fortement diminué. Comme l'ont montré Rune et Henriksen<sup>16</sup>, Winship et Robinson<sup>17</sup>, Turnberg<sup>18</sup>, en présence d'ions  $\text{H}^+$  dans la lumière, la muqueuse intestinale sécrète des ions bicarbonates qui les neutralisent. L'acide carbonique produit se décomposant ensuite en  $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$ , la  $\text{PCO}_2$  s'élève alors que le contenu total en  $\text{CO}_2$  reste faible. Dorricott et coll.<sup>8</sup> estiment que, dans le duodénum, 67% des ions  $\text{H}^+$  sont ainsi neutralisés par des bicarbonates. Cependant, pour Turnberg et coll.<sup>19</sup>, ce mécanisme ne serait pas le seul en cause et un échange  $\text{Na}^+ - \text{H}^+$  intervient. L'évolution de la  $\text{PCO}_2$  et du  $\text{CO}_2$  total que nous avons observée semble confirmer l'hypothèse d'un mécanisme faisant intervenir une sécrétion de bicarbonates. L'ajustement du pH des solutions les plus alcalines résulterait d'une libération dans la lumière d'ions  $\text{H}^+$  contre des ions  $\text{Na}^+$ <sup>20,21</sup> et d'une absorption de bicarbonates<sup>9</sup>. Nous avons utilisé des solutions salines muqueuses ne contenant pas de bicarbonates. En présence de solutions alcalines, l'observation d'une diminution très significative de la  $\text{PCO}_2$  par rapport aux valeurs obtenues pour les pH neutres ou acides et d'une augmentation du contenu total en  $\text{CO}_2$  suggère un processus de neutralisation faisant intervenir l'acide carbonique élaboré par les entérocytes à partir du  $\text{CO}_2$ . Dans la lumière, le  $\text{CO}_2$  est consommé et sa pression partielle diminue tandis que le contenu total en  $\text{CO}_2$ , sous forme combinée, augmente en proportion inverse. Parallèlement à ce mécanisme, il peut exister un échange  $\text{H}^+ - \text{Na}^+$ , de faible intensité, que nous n'avons pas pu mettre en évidence par la technique utilisée.

En conclusion, chez le chien<sup>8,10,11</sup> et chez le lapin<sup>22</sup>, la muqueuse jéjunale est capable, *in vivo*, de ramener à un pH voisin de la neutralité des solutions acides ou alcalines. La technique *in vitro*, utilisée dans le présent travail, met en évidence, chez le rat, un mécanisme semblable dont l'amplitude est cependant beaucoup plus faible. *In vivo*, le pH jéjunal se situe aux environs de 6,5<sup>5,23,24</sup> et *in vitro*, les capacités d'ajustement sont efficaces lorsque le pH muqueux est compris entre 5,5 et 9,5. Au-delà de ces valeurs, les capacités de la muqueuse jéjunale semblent être dépassées. Les différences quantitatives que l'on observe avec les résultats de Dolisi et coll.<sup>11</sup>, soulignent le rôle majeur du milieu intérieur au niveau intestinal. En effet, chez l'animal entier, les variations de pH dans la lumière jéjunale sont rapidement corrigées<sup>25,26</sup> par des mouvements ioniques à partir d'un compartiment plasmatique constamment renouvelé. Au contraire, dans notre étude, le fragment jéjunal reste en contact avec les mêmes solutions pendant toute l'incubation limitant ainsi l'amplitude des modifications de l'équilibre initial.



Evolution du pH muqueux final (A), de la pression partielle de  $\text{CO}_2$  (B) et du contenu total en  $\text{CO}_2$  (C) en fonction du pH muqueux initial. Chaque point représente la moyenne de 6 expériences  $\pm$  SEM.

- 1 J. Catala, C.R. Acad. Sci., Paris 281, 1991 (1975).
- 2 E.J. de Beer, C.G. Johnston et D.W. Wilson, J. biol. Chem. 108, 113 (1935).
- 3 L.A. Turnberg, J.S. Fordtran, N.W. Carter et F.C. Rector, Jr, J. clin. Invest. 49, 548 (1970).
- 4 T.H. Wilson et L. Kazyak, Biochim. biophys. Acta 24, 124 (1957).
- 5 R.B. Podesta et D.F. Mettrick, Am. J. Physiol. 232, E62 (1977).
- 6 L.C. McGee et A.B. Hastings, J. biol. Chem. 142, 893 (1942).
- 7 B. Thjodleifsson et K.G. Wormsley, Scand. J. Gastroenterol. 4, 273 (1975).
- 8 N.J. Dorricott, R.G. Fiddian-Green et W. Silen, Am. J. Physiol. 228, 268 (1975).
- 9 J.H. Swallow et C.F. Code, Am. J. Physiol. 212, 717 (1967).
- 10 J.H. Meyer, L.W. Way et M.I. Grossman, Am. J. Physiol. 219, 971 (1970).
- 11 C. Dolisi, C. Ozon, A. Soummer et J.L. Ardisson, J. Physiol., Paris 72, 893 (1976).
- 12 T.H. Wilson et G. Wiseman, J. Physiol., Lond. 123, 116 (1954).