

# Régulation Hormonale de la Glycémie chez le Rat

Durimel, Etienne, Mannoni, Soukchaine  
Licence de Biologie 2001-2002  
Universite des Antilles Guyanes

## *Abstract*

*Experiments on rats are being done to show the effects of adrenalin and insulin over the glycaemia. On this purpose intravenous injections of these hormones are made and blood is sampled at fixed intervals. Samples are analysed for the glycaemia.*

*The injection of insulin increases the glucose in the blood as adrenalin has the opposite effect. After twenty to thirty minutes the trend is reversed and the glycaemia is almost back to normal after an hour.*

*These hormones stimulate and inhibit various metabolic pathways that will either start increasing or decreasing the glycaemia. Regulation mechanisms are then engaged to compensate the variations. Insulin and adrenalin have a direct effect on the glucose rate and therefore play an important role on the homeostasis.*

---

## Résumé

Des expériences réalisées sur des rats males ont pour but de mettre en évidence l'effet de l'insuline et de l'adrénaline sur la régulation de la glycémie par des injections intraveineuses de ces hormones.

L'insuline est injectée sur la moitié des sujets par un cathéter inséré dans une veine jugulaire et l'autre partie reçoit de l'adrénaline par le même moyen. Des prélèvements à intervalles fixes sont fait pendant une heure. Les échantillons sont analysés pour la glycémie.

Ces hormones entraînent respectivement une baisse et une hausse de la glycémie. Les déséquilibres entraînés sont partiellement rétablis au bout d'une heure. L'insuline et l'adrénaline entraînent des variations importantes de la glycémie. Ces hormones stimulent ou inhibent de multiples voies métaboliques liées au glucose. Des mécanismes de régulations hormonaux et métaboliques se mettent en place pour corriger cette variation. Ces deux hormones ont un rôle direct sur l'équilibre de la physiologie du glucose

---

## **Introduction**

La glycémie est la concentration du glucose dans le plasma sanguin, sa valeur normale est comprise entre 0.7 et 1.2 g/l.

Du fait d'une part de l'apport alimentaire discontinu et souvent massif, et d'autre part de l'utilisation permanente et variable par les tissus, la glycémie devrait être soumise à des variations importantes. Un organisme doit donc être capable d'augmenter sa production de glucose quand les besoins sont accrus (effort musculaire intense ou prolonge, froid...) et quand les apports glucidiques sont diminués ou supprimés (période de jeune).

Le maintien du taux de glucose sanguin est assuré principalement par des facteurs endocrinien. Des facteurs nerveux interviennent de manière éventuelle pour compléter l'action fondamentale et principale des glandes endocrines. L'organisme réagit ainsi à deux types de perturbations : l'hyperglycémie et l'hypoglycémie.

Il est établi qu'une hyperglycémie entraîne une augmentation de l'insulinémie dans le sang. Il en résulte une pénétration plus rapide du glucose dans les cellules (l'excédent étant soit oxydé, soit converti en glycogène par le foie). La conséquence est une baisse de la concentration du glucose sanguin.

De même une hypoglycémie entraîne une augmentation de la sécrétion du glucagon pancréatique et celle des hormones médullosurrénales dont la principale est l'adrénaline. Ceci provoque la dégradation du glycogène et donc l'augmentation de la glycémie.

Cette manipulation a pour but de définir le mécanisme de régulation de la glycémie par l'action de deux hormones : l'insuline et l'adrénaline. L'insuline est sécrétée par les cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans du pancréas endocrine. L'adrénaline est libérée par la médullosurrénale.

## **Matériels et méthodes**

12 rats males sont utilisés pour cette expérience. 6 Reçoivent une injection d'insuline et les 6 autres une injection d'adrénaline.

Les rats sont endormis par une injection d'un anesthésique, la kétamine à la dose de 120mg/kg et de concentration 0.1 g/ml. Pour diminuer le stress ressenti par l'animal, une injection d'un calmant, l'acépromazine à la dose de 0.6mg/kg et de concentration 0.5 mg/ml est aussi effectuée.

### **Mise en place des canulations**

La canulation de la jugulaire est effectuée sur 6 animaux. Ils sont rasés et incisés au niveau de la région médiane du cou. La peau est dégagée et à l'aide de pinces, une des deux jugulaires est dégagée par dilacération. Deux fils à ligaturer sont alors placés sous cette veine. Une première ligature est réalisée du côté céphalique. Après l'hémisection de la jugulaire, un cathéter connecté à l'aiguille d'une seringue est mis en place. Ce cathéter est alors fixe en serrant la seconde ligature.

La canulation de la carotide se fait sur les 6 autres rats en prenant soin d'isoler le nerf vague. Une première ligature est placée sur la carotide dégagée le plus haut possible en direction du cerveau ; tandis qu'une pince «clamp » fixée le plus bas possible près de la clavicule bloque la circulation. Un cathéter est alors introduit puis fixé par une seconde ligature, le «clamp » est alors retiré.

Pour éviter les risques de coagulation, une injection immédiate de sérum physiologique hépariné est effectuée.

### **Prélèvement des échantillons sanguins**

Un premier échantillon témoin, de 5 gouttes de sang, est prélevé par les cathéters dans un tube Eppendorf.

De l'insuline est injecté au temps T0 par le cathéter implanté dans la veine jugulaire à la dose de 16 unités à partir d'une solution mère de 40 unités/ml. 5 gouttes de sang sont prélevées par le cathéter de la carotide aux temps : 2, 5, 10, 20, 30, 40, 50 et 60 minutes.

Après injection à T0 d'adrénaline à la dose de 80  $\mu$ g/kg avec une solution à 200  $\mu$ g/ml, des prélèvements de 5 gouttes de sang sont effectués aux temps : 2, 5, 10, 20, 30, 40, 50 et 60 minutes.

Afin de ralentir le processus de glycolyse dans le sang, les échantillons sont conservés dans la glace. Ils sont ensuite centrifugés pendant 3 minutes à 5000 tours/min pour séparer le plasma des hématies.

Mesure de la glycémie

Le Glucose sanguin présent dans les échantillons est mesuré par une méthode enzymatique avec du glucose oxydase et peroxydase.

Dans des cuves de spectrophotomètre, sont préparés des mélanges réactionnels comme suit :

	Blanc	Etalon	Echantillons
Eau Distillée	0.2ml	0.2 ml	200µl
Solution étalon		10 µl	
Surnageant			10µl
Solution	2 ml	2 ml	200µl

Les tubes sont alors incubés pendant 30 minutes à température ambiante. Une lecture de la densité optique (DO) de l'étalon et des échantillons est effectuée à 450 nm après avoir fait le zéro avec le blanc.

**Résultats**

Le taux de glucose est calculé par le rapport suivant

$$G = (DO \text{ Dosage} / DO \text{ Etalon}) \times n$$

n= taux de glucose dans une solution étalon

DO étalon = 0.433

Glycémie des échantillons

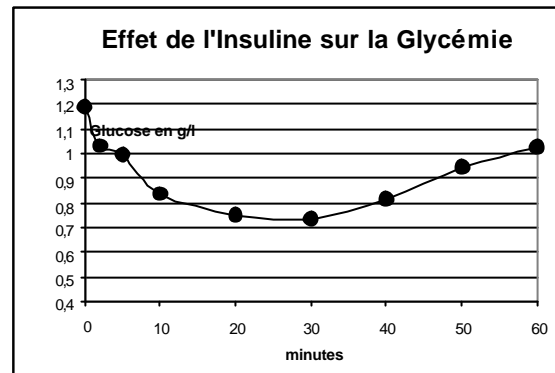
	Temps (minutes)	Insuline		Adrénaline	
		DO moyenne	Glycémie moyenne	DO moyenne	Glycémie moyenne
T0	0	0,514	<b>1,187</b>	0,487	<b>1,125</b>
T1	2	0,445	<b>1,028</b>	0,496	<b>1,145</b>
T2	5	0,430	<b>0,993</b>	0,558	<b>1,289</b>
T3	10	0,362	<b>0,836</b>	0,600	<b>1,386</b>
T4	20	0,324	<b>0,748</b>	0,631	<b>1,457</b>
T5	30	0,318	<b>0,734</b>	0,62	<b>1,432</b>
T6	40	0,352	<b>0,813</b>	0,596	<b>1,376</b>
T7	50	0,408	<b>0,942</b>	0,547	<b>1,263</b>
T8	60	0,443	<b>1,023</b>	0,515	<b>1,189</b>

Insuline	Adrénaline	
0,332 g/l	0,453 g/l	DM : différence maximum en g/l (100%)
0,064 g/l	0,164 g/l	D1 : différence après 1 heure (g/l0)

<b>19,28%</b>	<b>36,20%</b>	D1/DM : Variation résiduelle après une heure
---------------	---------------	--

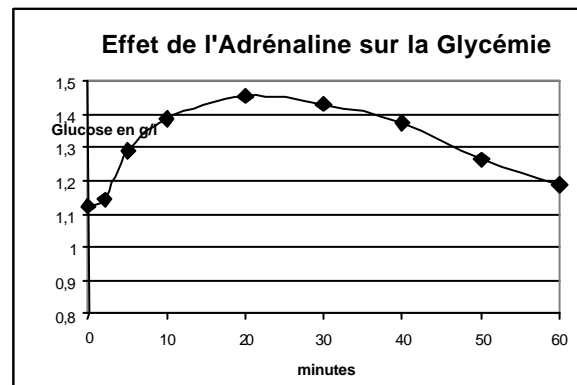
Résultats après injection de l'insuline

Avant l'injection d'insuline, la glycémie est de 1.187 g/l. Suite à cette injection, la concentration en glucose sanguin est diminuée pendant les 30 premières minutes et passe de 1.187 à 0.734 g/l. 40 à 60 minutes après l'injection, une augmentation de la glycémie est observée allant de 0.813 a 1.033 g/l. le taux de glycémie après une heure n'est toujours par revenu à la valeur initiale, il reste un écart d'environ 20% de la variation maximum.



Résultats après injection de l'adrénaline

Avant l'injection de l'adrénaline, la glycémie est de 1.125 g/l. Suite à l'injection de cette hormone il est observé une augmentation du taux de glucose sanguin pendant les 20 premières minutes avant de 1.145 a 1.432 g/l. 40 a 60 minutes après l'injection une diminution de la glycémie est observée allant de 1432. a 1.189. Le taux de la glycémie après 60 minutes n'est toujours pas revenu a la valeur initiale relevée par le témoin. Il reste une variation de 36% de la variation maximum



## Discussion

### Structure et biosynthèse de l'insuline

L'insuline est formée de deux chaînes polypeptidiques a et b. La chaîne a est constituée de 20 acides aminés et la chaîne b de 30 acides aminés. Les deux chaînes sont reliées par des ponts disulfures entre a7 et b7 et entre a20 et b19. Un autre pont disulfure se trouve entre a6 et b11.

L'insuline est synthétisée au niveau des cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans sous forme d'un précurseur de plus gros poids moléculaire : la proinsuline. La proinsuline est synthétisée dans le réticulum endoplasmique rugueux ; elle migre vers l'appareil de Golgi dans des microvésicules, puis se trouve renfermée dans des granules de sécrétion. Le clivage protéolytique de la proinsuline en insuline se fait dans l'appareil de Golgi et dans les granules de sécrétion. La proinsuline permet l'appariement correct des ponts disulfures.

### Action de l'insuline

L'insuline agit sur les voies métaboliques des glucides, lipides et protéines donc sur la mise en réserve de l'énergie. Ses principaux organes cibles sont le muscle, les tissus adipeux et le foie.

#### -La transcription et traduction des gènes

Dans le foie, l'insuline se fixe sur son récepteur membranaire tétramérique. Il y a activation des sous-unités  $\beta$  et phosphorylation des tyrosines. Celles-ci vont acquérir les propriétés de protéines kinases et vont en présence d'ATP catalyser la phosphorylation d'une protéine régulatrice. Cette protéine régulatrice provoque une cascade d'événements aboutissant à la modification de l'activité de plusieurs gènes (schéma A).

Il y a augmentation de la transcription et de la traduction des gènes :

- de la glucokinase qui permet la formation de glucose-6-phosphate à partir de glucose et d'ATP.
- de la phosphofructokinase qui produit du fructose-1,6-bisphosphate à partir du fructose-6-phosphate et d'ATP.

- de la pyruvate kinase qui catalyse la formation du pyruvate à partir du phosphoénol pyruvate. Donc il y a augmentation de la concentration des enzymes indispensables pour la glycolyse. La glycolyse est la voie métabolique anaérobie de transformation oxydative du glucose en pyruvate.

Simultanément il y a diminution de la transcription et traduction des gènes :

- de la phosphoénolpyruvate kinase qui catalyse la formation du pyruvate à partir du phosphoénolpyruvate.
- de la glucose-6-phosphatase qui catalyse la production du glucose à partir du glucose-6-phosphate.

Donc il y a diminution de la concentration d'enzymes indispensables pour la néoglucogenèse.

La néoglucogenèse est la synthèse hépatique à partir soit du lactate et de l'alanine du muscle, soit du glycérol des tissus adipeux soit des acides aminés.

La glycolyse et la néoglucogenèse utilisent les mêmes métabolites intermédiaires et les mêmes réactions réversibles (schéma B). Il y a une régulation réciproque de ces deux voies métaboliques c'est-à-dire que lorsque la glycolyse est activée la néoglucogenèse est désactivée et vice-versa

#### -L'absorption du glucose

L'insuline favorise l'absorption du glucose (dans les cellules du muscle et du tissu adipeux mais pas dans le foie) en augmentant la quantité de transporteurs GLUT-4.

#### -La synthèse du glycogène

L'augmentation de l'absorption du glucose dans le muscle et l'augmentation de la concentration de glucose-6-phosphate dans le foie (grâce à la glycolyse) vont stimuler la synthèse du glycogène qui est un polymère ramifié du glucose. L'insuline stimule la synthèse de la glycogène synthase qui permet la liaison a 1-4 entre les glucoses.

#### -Le tissu adipeux

La stimulation par l'insuline des transporteurs membranaires GLUT-4, permet de fournir le glucose nécessaire à la formation de triacylglycérols. L'insuline empêche l'action de la triglycéride lipase donc l'hydrolyse des triglycérides.

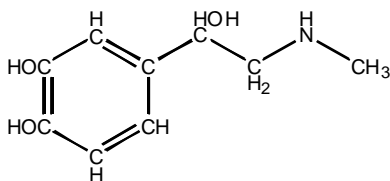
En somme l'insuline stimule l'absorption du glucose dans le muscle et le tissu adipeux, son utilisation par la glycolyse, son stockage par la synthèse du glycogène. L'insuline permet donc la baisse de la glycémie. C'est ce qui est observé pendant la première demi-heure de l'expérience pour aboutir à une hypoglycémie.

L'hypoglycémie induite active la libération de glucagon par les cellules  $\alpha$  des îlots de Langerhans du pancréas. Ce phénomène se traduit par la remontée du taux de glucose sanguin après les trente premières minutes. Cette augmentation compensatrice s'explique aussi par le fait que l'insuline exogène injectée est dégradée et donc n'a plus d'effet sur la glycémie.

### Structure et biosynthèse de l'adrénaline

L'adrénaline est une hormone produite par la glande médullosurrénale, c'est une catécholamine synthétisée à partir de la tyrosine en quatre étapes. Lors de la dernière étape la noradrénaline est méthylée enadrénaline par la N-méthyl-transférase. C'est une hormone soluble dans le sang qui est transportée librement.

L'adrénaline est une hormone produite par la glande médullosurrénale. C'est une catécholamine, enzyme soluble synthétisée à partir de la tyrosine en 4 étapes.



4-(1-Hydroxy-2-méthylamino-éthyl)-benzène-1,2-diol

### LA MOLECULE D'ADRENALINE

### Action de l'adrénaline

L'adrénaline exerce ses actions sur différents types de récepteurs par l'intermédiaire de seconds messagers. Son action se manifeste par de multiples effets différents selon les organes. Les effets sont entre autres :

- sur le cœur, par fixation sur les récepteurs  $\beta$  elle entraîne un tachycardie et une augmentation du débit sanguin

- sur les vaisseaux, elle entraîne une vasoconstriction différente selon les territoires. Cela étant dû à une répartition différente des récepteurs  $\alpha$  et  $\beta$  sur le muscle lisse vasculaire. C'est une adaptation à l'effort.
- sur le système nerveux central avec sécrétion d'ACTH. L'injection provoque un sentiment immédiat d'anxiété.
- enfin sur le métabolisme glucidique, l'adrénaline provoque de l'hyperglycémie par glycogénolyse hépatique. Le glycogène musculaire est également dégradé mais n'induit pas une augmentation de la glycémie.

### -Dégradation du glycogène ou glycogénolyse

L'adrénaline se fixe sur des récepteurs  $\beta$  qui sont couplés positivement à la production d'un second messager : L'AMPc dans les cellules du foie et du muscle (schéma C).

Après fixation sur ses récepteurs la protéine Gs est activée. Cette protéine migre vers la face interne de la membrane de la cellule pour aller activer l'adénylate cyclase (AC) qui catalyse la transformation de l'ATP en AMPc.

Ce second messager active la protéine kinase A (PKA) en scindant les sous-unités régulatrices des sous-unités catalytiques. Les sous-unités catalytiques, par phosphorylation en présence d'ATP, activent la phosphorylase kinase. Cette dernière va ainsi phosphoryler la glycogène phosphorylase qui permet une phosphorylation séquentielle du glycogène en produisant du glucose-1-phosphate. Le glucose-1-phosphate s'isomérisse en glucose-6-phosphate par la phosphoglucomutase.

Dans le foie seulement, le glucose-6-phosphate est phosphorylé en glucose par la glucose-6-phosphatase. Le glucose obtenu est sécrété dans le sang.

L'AMPc agit également sur une autre protéine kinase A. La sous-unité régulatrice va désactiver la glycogène synthétase par phosphorylation en présence d'ATP ce qui va entraîner une diminution de la synthèse du glycogène (schéma D).

Dans le muscle, il n'y a pas de glucose-6-phosphatase. Donc le glycogène ne donne pas de glucose-1-phosphate mais du glucose-6-phosphate puis du fructose-6-P et enfin de l'acide lactique qui peut être utilisé par le foie

pour redonner du glycogène. Ce mécanisme se fait dans le cytosol des cellules hépatiques en transformant d'abord le lactate en glucose (néoglucogenèse) puis en glycogène. Ce transport du glucose et du lactate entre le foie et le muscle est le cycle de Cori.

L'action de l'adrénaline entraînant la sécrétion de glucose dans le sang explique les résultats obtenus après injection de cette hormone. En effet, une augmentation de la glycémie est observée durant les trente premières minutes de l'expérience pour aboutir à une hyperglycémie.

Le glucose en surconcentration dans le sang pénètre alors dans les cellules  $\beta$  du pancréas par les transporteurs GLUT-2. L'hydrolyse du glucose provoque une augmentation du rapport ATP/ADP. Celui-ci inhibe les canaux  $K^+$  dits ATP dépendants, provoquant une dépolarisation membranaire qui active des canaux calciques voltages-dépendants. L'augmentation de  $Ca^{++}$  intracellulaire provoque l'exocytose de vésicules contenant de l'insuline. Ainsi l'insuline rétablit le taux normal du glucose sanguin. D'où la baisse de la glycémie après les trente premières minutes.

Peu à peu, l'adrénaline exogène injectée est hydrolysée et donc perd son action hyperglycémisante. L'équilibre se rétablit alors.

### Conclusion

Les courbes des résultats obtenus sont opposées mais ont la même allure générale du point de vue cinétique. Moins de deux minutes après l'injection d'hormones la glycémie commence à varier. Le changement dans la variation de la glycémie renseigne sur la réaction de l'organisme à la présence d'une de ces hormones. La vitesse de variation de la glycémie est maximum les cinq premières minutes (pente maximale). Au-delà, la tendance à augmenter ou à réduire se fait plus faible et après plus de vingt minutes l'organisme commence juste à inverser la tendance. Le rétablissement de l'équilibre du glucose prendra plus d'une heure.

L'insuline et l'adrénaline ont une action quasi instantanée sur de multiples voies métaboliques. Ces voies sont activées rapidement, néanmoins, bien que les effets de la contre-réaction soient

visibles de façon quasi-immédiate, inverser la tendance de variation de la glycémie est un processus beaucoup plus long et le rétablissement de la glycémie au taux de départ l'est encore plus.

La régulation de la glycémie participe à l'homéostasie générale. Les organismes vivants doivent réguler constamment leur milieu intérieur afin de conserver des conditions propices au fonctionnement des voies métaboliques et donc à leur survie. La multiplicité des mécanismes de régulation permet à l'organisme d'agir à plusieurs niveaux et donc de parer à des faiblesses de certains de ces moyens de régulation.

L'homéostasie du glucose est un phénomène qui a été largement étudié. C'est la compréhension approfondie de ce processus qui a permis de traiter de nombreuses maladies telles que le diabète.