

## Surrénale et insuliniémie chez le rat

### II. Corticosurrénale et insuline sérique\*

B. C. J. SUTTER

avec l'assistance technique de Melle G. LEROUX\*\* Mme M. ROTH\*\* et Melle M. HORRENBERGER\*\*\*

Laboratoire de Physiologie Générale, Faculté des Sciences, rue René-Descartes, Strasbourg et C.N.R.S., Département de Biologie, Centre nucléaire de Strasbourg-Cronembourg

Reçu le 13 Novembre 1967

#### *Adrenals and insulinemia in the rat. II. Adrenal cortex and serum insulin*

**Summary.** Adrenalectomy decreased "suppressible" and "nonsuppressible" serum insulin-like activities, which were shown by the rat diaphragm method, and insulin which was measured by an immunological procedure. — We were not able to find any peripheral correlation between corticosteroid hormones and insulin. On the other hand, we have shown the influence of the adrenal cortex on insulin by 3 means. — The relation between serum glucose and serum insulin concentration, which was not present in the adrenalectomized rat, was reestablished after corticosterone or hydrocortisone treatment. It was also seen in the demedullated rat when corticosterone was present in the serum. — During a glucose tolerance test, the pancreatic insulin response was poor in the adrenalectomized rat, but was as good in the demedullated as in the normal rat. — Finally, "in vitro" experiments demonstrated that pancreas fragments obtained from adrenalectomized rats secreted less insulin than pancreas fragments obtained from demedullated or normal animals, when the incubation was carried out in buffer or serum, at physiological glucose levels. When the buffer or serum glucose concentration was raised to 7.5 mg/ml, the amount of insulin secreted by the pancreas obtained from adrenalectomized rats was increased, but it still remained less than the amount of insulin secreted in the other groups. — Therefore, the presence in the serum of corticosteroid hormones was necessary to permit a normal pancreatic insulin secretion in response to changes in blood glucose concentration.

**Résumé.** La surrénalectomie diminue l'insuline «supprimable» et l'insuline «non supprimable» mises en évidence par la méthode du diaphragme ainsi que celle que mesure la technique immunologique. — Nous n'avons pas pu mettre en évidence d'interaction périphérique entre hormones corticosurrénaliennes et insuline. Par contre, nous avons précisé l'influence de la corticosurrénale sur la sécrétion insulinique de trois façons. — La relation glycémie-insuliniémie, qui n'existe pas chez le Rat surrénalectomisé, est rétablie après un traitement par la corticostérone ou l'hydrocortisone. On l'observe chez le Rat à surrénalectomie si son sérum contient de la corticostérone. —

\* 3ème partie d'un travail présenté comme thèse de Doctorat d'Etat ès sciences naturelles le 19. 12. 1967 à la Faculté des Sciences de Strasbourg devant le Jury suivant: MM. les Professeurs F. STUTINSKY (Strasbourg), P. MIALHE (Strasbourg) R. JACQUOT (Reims) et E.F. PFEIFFER (Ulm).

\*\* C.N.R.S.

\*\*\* D.R.M.E.

Lors d'une surcharge en glucose le pancréas du Rat surrénalectomisé répond mal à l'augmentation de la glycémie, alors que le Rat à surrénalectomie énucléée répond aussi bien que le Rat normal. — Enfin, les expériences de sécrétion pancréatique «in vitro» dans un milieu tampon ou dans du sérum ont montré que les fragments de pancréas prélevés sur des rats surrénalectomisés sécrètent moins d'insuline que ceux de rats normaux ou de rats à surrénalectomie énucléée, si la concentration en glucose est dans des limites physiologiques. Pour des concentrations en glucose élevées (7.5 mg/ml) la sécrétion d'insuline du pancréas de rats surrénalectomisés s'accroît, mais n'atteint pas les valeurs observées dans les deux autres groupes de rats. — Par conséquent, la présence d'hormones corticosurrénaliennes dans le sérum est nécessaire pour que la sécrétion insulinique réponde normalement aux variations du glucose sanguin.

#### *Nebenniere und Insulinämie bei der Ratte. II. Nebennierenrinde und Seruminsulin*

**Zusammenfassung.** Die hemmbare und die nicht hemmbare Insulinaktivität (Zwerchfellmethode) und das immunologisch meßbare Insulin wird bei der Ratte durch Nebennierenexstirpation verringert. — Eine gegenseitige Beeinflussung der Nebennierenrinden-Hormone und des Insulins in der Peripherie konnte nicht nachgewiesen werden, dagegen wurde der Einfluß der Nebennierenrinde auf die Insulin-Sekretion bestätigt. — Die lineare Funktion, die zwischen Blutzucker- und Insulinspiegeln bei normalen Tieren besteht, existiert nach der Adrenalectomie nicht mehr, wird aber durch Behandlung der operierten Ratten mit Nebennierenrinden-Hormonen wieder hervorgerufen. — Während einer Glucosebelastung antwortet das Pankreas der adrenalectomierten Ratte nur geringfügig auf die Blutzuckererhöhung, dagegen reagierten Tiere, denen das Nebennierenmark entfernt worden war, mit normaler Insulinausschüttung. — Bei Inkubation von Pankreasstückchen in Pufferlösung oder Serum zeigte sich, daß innerhalb physiologischer Glucosekonzentrationen die Pankreasstücke von adrenalectomierten Ratten auch *in vitro* weniger Insulin ausschütten als die von Normaltieren oder Tieren nach Entfernung des Nebennierenmarkes. Bei hohen Glucosekonzentrationen steigt die Insulinsekretion der Pankreasstücke von nebennierenlosen Tieren geringer als die der Gewebesteilchen der beiden anderen Gruppen an. — Zusammenfassend läßt sich sagen, daß Nebennierenrinden-Hormone im Serum vorhanden sein müssen, um eine normale Anpassung der Insulinausschüttung an Änderungen des Blutzuckerspiegels zu ermöglichen.

**Key-words:** Adrenal cortex, corticosteroids, serum insulin, permissive action.

L'intervention de la corticosurrénale dans le métabolisme glucidique a été amplement démontrée par des travaux sur le Chien, le Chat ou le Rat (c.f. bibliog. in SUTTER, 1964).

Les glucocorticoïdes semblent agir de deux manières : en provoquant l'augmentation du glucose sanguin par néoglucogénèse au détriment des protéines (REYNOLD et ASHMORE, 1960) et en diminuant l'utilisation périphérique du glucose (FRANCKSON et coll., 1953; de BODO et ALTZULER, 1958), peut-être par inhibition de l'effet de l'insuline sérique (BORNSTEIN et PARK, 1953).

Néanmoins, en ce qui concerne les relations cortico-pancréatiques, on ne possède que quelques résultats de RANDLE (1954), pour lequel la surrénalectomie ne modifie pas l'activité insulïnique du plasma chez le Rat. C'est pourquoi nous avons repris, chez le Rat, l'étude de l'intervention de la corticosurrénale dans le métabolisme du glucose, en dosant l'insuline du sérum, dans différentes conditions expérimentales, par la méthode biologique du diaphragme de Rat et par une technique immunologique.

Nous avons tout d'abord mesuré l'insulïnémie chez le Rat normal, chez le Rat à surrénale énucléée et chez le Rat surrénalectomisé dans les conditions de base. Nous avons ensuite montré qu'il existe, dans les conditions de base, une relation linéaire entre les concentrations sériques du glucose et de l'insuline, et étudié ce que devient cette relation chez le Rat surrénalectomisé et chez le Rat à surrénale énucléée ayant des taux de corticostérone sérique variables. Ces études ont été complétées par celle de la sécrétion insulïnique «*in vivo*» et «*in vitro*».

### Matériel et Méthodes

Les techniques utilisées et les conditions expérimentales ont été décrites antérieurement (MIALHE et coll., 1965; SUTTER et coll., 1966; SUTTER, 1968a et 1968b). Tous les rats sont à jeun depuis 18 à 24 h au moment de leur utilisation.

### Résultats

#### 1. Insulïnémie de base et corticosurrénale

Nous avons mesuré dans le sérum de rats normaux, de rats porteurs d'une surrénale énucléée et de rats surrénalectomisés les concentrations en glucose et en corticostérone, ainsi que celle des insulines «supprimable» (IS) et «non supprimable» (INS) estimées par la méthode du diaphragme, et, enfin, le taux de l'insuline immunoréactive (IRI).

#### A. Taux du glucose et de la corticostérone

Les moyennes des concentrations en glucose du sérum sont identiques chez le Rat normal et chez le Rat à surrénale énucléée; après surrénalectomie, la teneur en glucose du sérum n'est plus que 0.95 mg/ml ou même 0.85 mg/ml (Tableau 1 et 2).

La corticostérone, dont les concentrations sériques sont très voisines chez le Rat normal et chez le Rat à surrénale énucléée, (SUTTER, 1968 b) disparaît du sérum après surrénalectomie (Tableau 1).

#### B. Insuline «supprimable», insuline «non supprimable» et insuline immunoréactive du sérum chez le Rat normal et chez le Rat surrénalectomisé

Comme chez le Rat normal et chez le Rat à surrénale énucléée (SUTTER, 1968 b), l'insulïnémie «totale» du sérum entier des animaux surrénalectomisés peut se fractionner en insuline «non supprimable» et en insuline «supprimable»; il en est de même si le sérum est dilué (tabl. 1). Les variations observées sont différentes suivant que les dosages sont faits sur du sérum entier ou sur du sérum dilué.

La surrénalectomie provoque une augmentation apparente de la concentration de l'IS et de l'INS dans le sérum entier (Tableau 1) (SUTTER, 1964; SUTTER et MIALHE, 1964a). En réalité, il y a au contraire une baisse de l'insulïnémie. En effet, d'une part, l'IT, l'IS

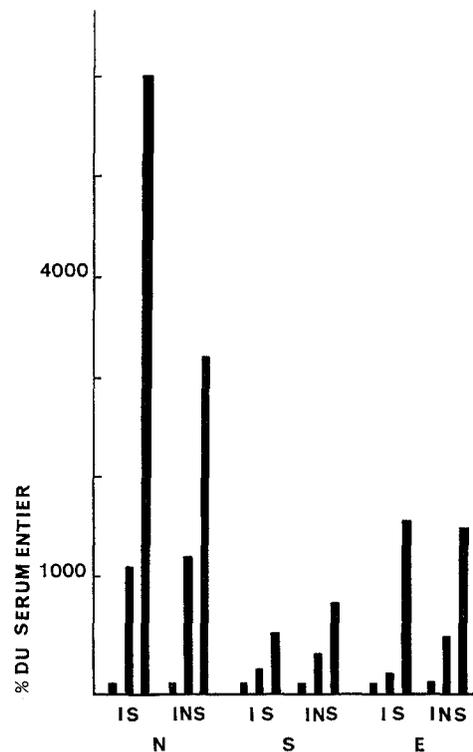


Fig. 1. Effet de la dilution du sérum sur les concentrations de l'insuline «supprimable» (IS) et de l'insuline «non supprimable» (INS) chez le Rat normal (N), le Rat surrénalectomisé (S) et chez le Rat à surrénale énucléée (E). Les résultats sont exprimés en % de la concentration de l'insuline dans le sérum entier. Pour chaque forme d'insuline les trois colonnes qui se suivent représentent les concentrations de cette hormone dans le sérum entier, le sérum dilué au  $1/4$  et le sérum dilué au  $1/16$ .

et l'INS, mesurées dans le sérum dilué, sont plus basses chez l'animal surrénalectomisé que chez le Rat normal (Tableau 1). L'effet de dilution est le plus prononcé chez

l'animal normal; il est plus faible chez le Rat à surrénale énucléée et minime chez le Rat surrénalectomisé (Tableau 1; Fig. 1). D'autre part, l'IRI est très basse chez l'animal surrénalectomisé (Tableau 1). L'ensemble de ces observations est aisément expliqué par la disparition, en absence de médullosurrénale, de l'effet inhibiteur de l'adrénaline (SUTTER, 1968 b).

*C. Influence des corticostéroïdes sur l'insuline du sérum*

Le traitement à l'hydrocortisone ou à la corticostérone des rats surrénalectomisés fait remonter la

rone, corticostéroïde principal du Rat (HECHTER et PINCUS, 1954), leur fait dépasser la valeur observée dans ce groupe d'animaux. Ce phénomène est dû à l'adrénaline sérique du Rat normal, comme d'ailleurs la différence entre les taux d'IS et d'INS du sérum normal et ceux du sérum du Rat à surrénale énucléée (SUTTER, 1968 b).

Chez les rats possédant uniquement une corticosurrénale, l'IT, l'INS et l'IS ainsi que l'insuline immunoréactive du sérum sont supérieures à celles des animaux surrénalectomisés (Tableau 1).

Par conséquent, on peut conclure que la baisse de

Tableau 1. *Insulïnémie «totale» (IT), insuline «non supprimable» (INS), insuline «supprimable» (IS) et insuline «immunoréactive» (IRI) chez le Rat normal, le Rat à surrénale énucléée et chez le Rat surrénalectomisé. Dans chaque case les moyennes sont inscrites sur la 1ère ligne, les limites de confiance 95% sur la 2ème, le nombre total de valeurs sur la 3ème*

Rats	Concentration du sérum en			Insulïnémie du sérum en $\mu\text{U/ml}$			
	glucose mg/ml	corticosté- rone $\mu\text{g}/100\text{ ml}$	adrénaline $\mu\text{g/ml}$	Dilutions	1/1	1/4	1/16
normaux	1.05	36	0.147	IT	160	1938	6838
					112 — 229	1397 — 2690	5721 — 8172
					54	54	54
	1.05	36	0.147	INS	98	1215	3132
					59 — 164	833 — 1771	2331 — 4208
					54	54	54
1.05	36	0.147	IS	62	723	3706	
				IRI	51		
					41 — 61		
33							
à surrénale énucléée	1.02	32	0.010	IT	766	3101	11325
					671 — 875	2713 — 3545	9421 — 13614
					69	69	69
	1.02	32	0.010	INS	512	2704	7382
					411 — 638	1974 — 3702	5409 — 10073
					69	69	69
1.09	28	0.010	IS	254	397	3943	
				IRI	53		
					45 — 61		
28							
surréal- ectomisés	0.95	0	0.006	IT	406	1026	3079
					333 — 494	854 — 1232	2567 — 3694
					40	40	40
	0.95	0	0.006	INS	237	693	1964
					198 — 284	574 — 837	1554 — 2483
					40	40	40
0.95	0	0.006	IS	169	333	1115	
				IRI	31		
					25 — 37		
39							

concentration de l'insulïnémie «totale» du sérum mesurée dans du sérum dilué au  $1/10$ . Cependant, sous l'influence de l'hydrocortisone les valeurs de l'insulïnémie «totale» n'atteignent pas celle qu'on peut observer chez le Rat normal (SUTTER, 1962), alors que la corticosté-

l'insulïnémie provoquée par l'ablation de la surrénale est due à l'absence des hormones corticosurrénaliennes.

Il restait à préciser si l'action de la corticosurrénale s'exerce directement ou indirectement sur la sécrétion insulïnique.

## 2. Relation glycémie-insulínémie et corticosurrénale

A. Relation entre la concentration en glucose et l'insulínémie «totale» du sérum chez le Rat normal, le Rat surrénalectomisé traité ou non à l'hydrocortisone ou à la corticostérone, et chez le Rat à surrénaie énucléée

L'insulínémie «totale» estimée par la méthode du diaphragme de Rat dans des sérums dilués au  $1/10$ , est une fonction linéaire de la concentration en glucose du sérum chez les rats des différents groupes sauf chez les rats surrénalectomisés pour lesquels le coefficient de régression de la courbe ne diffère pas de zéro (Fig. 2)

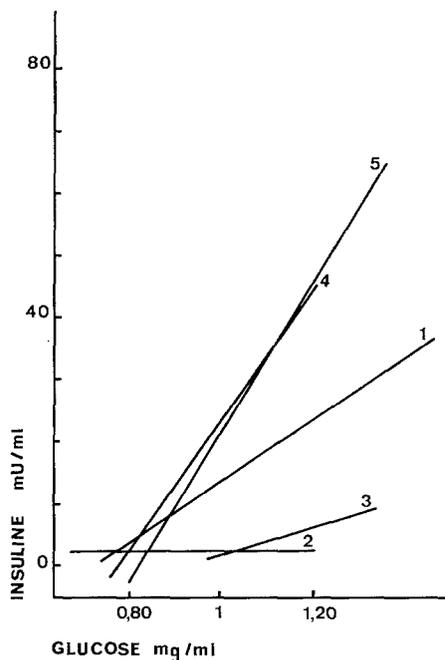


Fig. 2. Relation linéaire entre les concentrations en glucose et l'insulínémie «totale» chez le Rat normal (1), le Rat surrénalectomisé (2), le Rat surrénalectomisé traité à l'hydrocortisone (3) ou à la corticostérone (4) et chez le Rat à surrénaie énucléée (5)

Courbe n°	1	2	3	4	5
Pente de la courbe	47	1	20	98	106
limites de confiance	38 - 57	-2 - 4	6 - 34	57 - 139	71 - 141
nombre de valeurs	18	14	10	18	24
F	111.96 <sup>b</sup>	0.55	9.69 <sup>a</sup>	25.75 <sup>b</sup>	39.82 <sup>a</sup>
Index de précision ( $\lambda$ )	0.094	1.400	0.320	0.199	0.158
Coefficient de corrélation ( $r$ )	0.93	0.20	0.73	0.78	0.80

<sup>a</sup> significatif au seuil de 5%

<sup>b</sup> significatif au seuil de 1%

Chaque valeur correspond à un mélange de sérums provenant de 8 à 12 animaux

(SUTTER et MIALHE, 1964 b et 1965). Les valeurs élevées de l'insulínémie sont dues à l'emploi, pour la fabrication des standards d'insuline, de tampon non gélatiné. La différence de pente qu'on observe entre le groupe des animaux normaux d'une part, et le groupe des rats surrénalectomisés traités à la corticostérone et celui des

rats porteurs d'une surrénaie énucléée d'autre part, est due à l'inhibition par l'adrénaline de l'action de l'insuline (SUTTER, 1968 b).

Il semble donc que la présence dans le sérum de corticostéroïdes soit nécessaire pour que la relation entre la glycémie et l'IT existe. Nous avons étendu ces observations à la relation entre la glycémie et les différentes formes d'insuline sérique.

B. Relation entre la concentration du glucose et les trois formes d'insuline du sérum (IT, INS et IS) chez le Rat normal, le Rat surrénalectomisé et le Rat à surrénaie énucléée

Dans une nouvelle série d'expériences, l'insuline sérique a été estimée par la méthode du diaphragme dans les sérums dilués au  $1/16$ . Les standards d'insuline ont été préparés avec du tampon gélatiné à 1<sup>0</sup>/<sub>00</sub>, ce qui explique les concentrations en insuline plus faibles que celles qui ont été observées dans le paragraphe précédent. D'autre part, nous avons cherché à obtenir différentes concentrations de corticostérone sérique, en variant les conditions de sacrifice des animaux: rats maintenus en groupe et sortis de la pièce d'élevage 1 h environ avant la décapitation (corticostérone sérique élevée) ou animaux maintenus isolés et tués dans la pièce d'élevage (corticostérone sérique basse ou nulle).

Il existe une relation linéaire entre la glycémie et l'insulínémie «totale» du sérum chez le Rat normal et chez le Rat à surrénaie énucléée dont le sérum contient 4 ou 30  $\mu$ g/100 ml de corticostérone. Chez le Rat à surrénaie énucléée ayant 30  $\mu$ g de corticostérone dans 100 ml de sérum la droite de régression a une pente significativement plus élevée que celle qui a été obtenue chez le Rat normal.

Aucune relation n'est observée chez le Rat surrénalectomisé et chez le Rat à surrénaie énucléée sans corticostérone sérique (Fig. 3).

La relation linéaire entre la glycémie et l'INS existe dans le groupe des animaux normaux et dans ceux des rats à surrénaie énucléée ayant de la corticostérone

dans le sérum. Néanmoins, les pentes ne diffèrent pas significativement d'un groupe à l'autre. Il n'y a de relation, ni chez les rats surrénalectomisés, ni chez les rats à surrénale énucléée sans corticostérone sérique (Fig. 4).

Enfin, le taux de l'IS s'accroît linéairement en fonction de la concentration en glucose du sérum chez

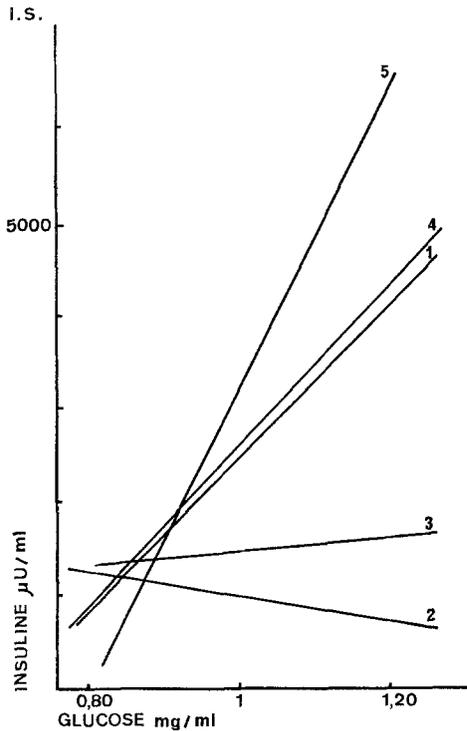


Fig. 3. Relation linéaire entre la concentration en glucose et l'insulinémie «totale» (IT) du sérum, chez le Rat normal (1), le Rat surrénalectomisé (2), le Rat à surrénale énucléée sans corticostérone sérique (3) ou avec 4 µg (4) ou 30 µg (5) de corticostérone pour 100 ml de sérum. — Méthode du diaphragme — sérum dilué au 1/16 — standards avec gélatine. Chaque valeur correspond à un mélange de 3 sérums

la pente est plus forte dans le groupe des rats à surrénale énucléée dont la corticostérone est élevée (30 µg/100 ml). Enfin, il n'y a pas de relation chez le Rat surrénalectomisé et chez le Rat à surrénale énucléée sans corticostérone sérique (Fig. 5).

Nous pouvons donc conclure à la nécessité de la présence de corticostérone dans le sérum pour que les relations glycémie-INS et glycémie-IS existent.

Tableau 2. Influence du traitement à l'hydrocortisone ou à la corticostérone sur l'insuline sérique des rats surrénalectomisés. Les valeurs élevées de l'insulinémie proviennent de la préparation des standards d'insuline avec un tampon sans gélatine. Les moyennes sont portées sur la 1ère ligne, les limites de l'intervalle de confiance à 95% sur la 2ème et le nombre de valeurs sur la 3ème. Chaque valeur correspond à un mélange de sérums de 10 à 15 animaux. Le sérum est dilué au 1/10

Animaux	Concentration en glucose du sérum	Insuline sérique (mU/ml)
Normaux	1.01	13 (11 — 15) 16
Surrénalectomisés	0.85	2 (1 — 3) 14
Surrénalectomisés + hydrocortisone	1.21	6 (4 — 8) 10
Surrénalectomisés + corticostérone	1.01	25 (17 — 33) 18

Courbe n°	1	2	3	4	5
Pente de la courbe	13608	313	— 4633	24143	30222
limites de confiance	7749 — 19467	— 4055 — 4681	— 10691 — 1425	14570 — 33716	20226 — 40218
nombre de valeurs	21	20	18	22	20
nombre de rats	63	60	54	66	60
F	23.41 <sup>b</sup>	0.022	2.051	27.23 <sup>b</sup>	39.53 <sup>b</sup>
Index de précision (λ)	0.207	6.700	0.622	0.191	0.159
Coefficient de corrélation (r)	0.74	0.03	0.34	0.76	0.82

<sup>b</sup> significatif au seuil de 1%

le Rat normal et chez le Rat à surrénale énucléée ayant de la corticostérone dans le sérum. Les pentes des droites de régression sont identiques dans le groupe des animaux normaux et dans celui des rats à surrénale énucléée avec 4 µg/100 ml de corticostérone sérique;

C. Concentration en glucose et insuline immunoréactive du sérum après surcharge intrapéritonéale en glucose chez le Rat à surrénale énucléée et chez le Rat surrénalectomisé

La concentration en IRI du sérum après une sur-

charge intrapéritonéale en glucose est significativement plus faible, 18 minutes après l'injection, chez le Rat surrénalectomisé que chez le Rat déméduillé. Au même moment, la concentration en glucose est encore

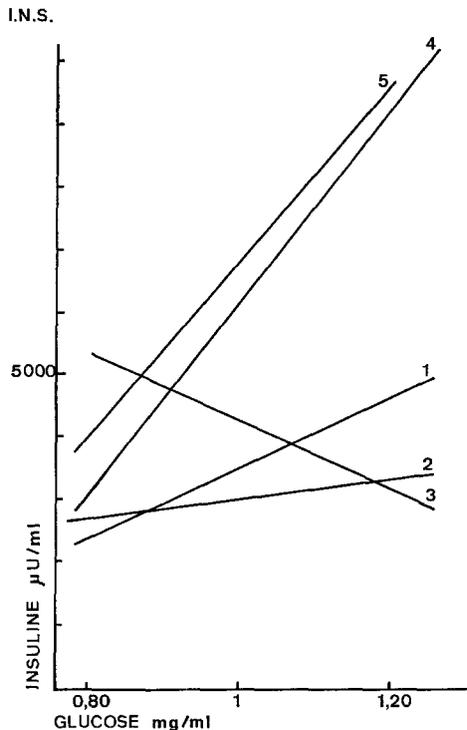


Fig. 4. Relation linéaire entre la concentration en glucose et l'insuline «non supprimable» (INS) du sérum, chez le Rat normal (1), le Rat surrénalectomisé (2), le Rat à surrénale énucléée sans corticostéroïde sérique (3) ou avec 4 µg (4) ou 30 µg (5) de corticostéroïde pour 100 ml de sérum. — Méthode du diaphragme — sérum dilué au 1/16 — standards avec gélatine. Chaque valeur correspond à un mélange de 3 sérums

Courbe	1	2	3	4	5
Pente de la courbe	5561	1431	— 5515	15 624	14 094
limites de confiance	207 — 10 915	— 2793 — 5655	— 11 109 — 79	8034 — 23 314	5238 — 22 950
nombre de valeurs	21	20	18	22	20
nombre de rats	63	60	54	66	60
F	4.66 <sup>a</sup>	0.49	4.30	18.23 <sup>b</sup>	10.96 <sup>b</sup>
Index de précision (λ)	0.462	1.419	0.483	0.234	0.302
Coefficient de corrélation (r)	0.44	0.16	0.46	0.69	0.61

<sup>a</sup> significatif au seuil de 5%

<sup>b</sup> significatif au seuil de 1%

très élevée chez l'animal surrénalectomisé alors qu'elle commence à diminuer chez le Rat à surrénale énucléée (Fig. 6). Il semble donc que la sécrétion insulinaire «in vivo» en réponse à une forte augmentation du glucose sérique, se fasse mal si la corticosurrénale est absente. Ceci pouvait se vérifier par des expériences de sécrétion insulinaire «in vitro».

### 3. Insuline sécrétée «in vitro» par des fragments de pancréas prélevés sur des rats normaux, des rats à surrénale énucléée et des rats surrénalectomisés

La sécrétion d'insuline par des fragments de pancréas incubés dans du tampon ou du sérum a été étudiée par la méthode du diaphragme et la technique immunologique.

#### A. Méthode du diaphragme

a. Incubation des pancréas dans du tampon. Comme l'insuline sécrétée par les fragments de pancréas prélevés sur des rats normaux ou des rats à surrénale énucléée, l'hormone sécrétée par des pancréas provenant de rats surrénalectomisés est entièrement inhibée par un sérum anti-insuline si la concentration en glucose des milieux d'incubation est 1 mg/ml. La quantité sécrétée par les pancréas prélevés sur les rats surrénalectomisés est moindre que celle que sécrètent les pancréas des deux autres groupes (Tableau 3) (SUTTER et MIALHE, 1967).

Une concentration élevée en glucose du milieu d'incubation des pancréas provoque une sécrétion accrue de l'IS par le pancréas des rats surrénalectomisés; elle est cependant légèrement inférieure à celle due au pancréas du Rat normal. Il est curieux de noter que les pancréas des rats porteurs d'une surrénale énucléée, sécrètent moins d'insuline que ceux des rats surrénalectomisés. Dans les trois cas la sécrétion d'IS est accompagnée d'une faible sécrétion d'INS (Tableau 3).

b. Incubation des pancréas dans le sérum des rats surrénalectomisés. Nous avons justifié antérieurement le choix du sérum de rats surrénalectomisés comme milieu d'incubation des pancréas (SUTTER, 1968 b).

L'insuline sécrétée dans un sérum à concentration physiologique de glucose (1 mg/ml), est totalement inhibée par le sérum anti-insuline dans les trois groupes de

rats (Tableau 3). Quand le taux de glucose du milieu d'incubation est 7.5 mg/ml, la sécrétion d'IS n'est pas augmentée, mais elle est accompagnée d'une sécrétion d'INS, ce qui augmente la totalité de l'insuline sécrétée.

Pour les deux concentrations en glucose utilisées les deux formes d'insuline sont sécrétées en moindre quantité par les fragments de pancréas provenant des rats surrénalectomisés que par ceux prélevés sur les rats des deux autres groupes.

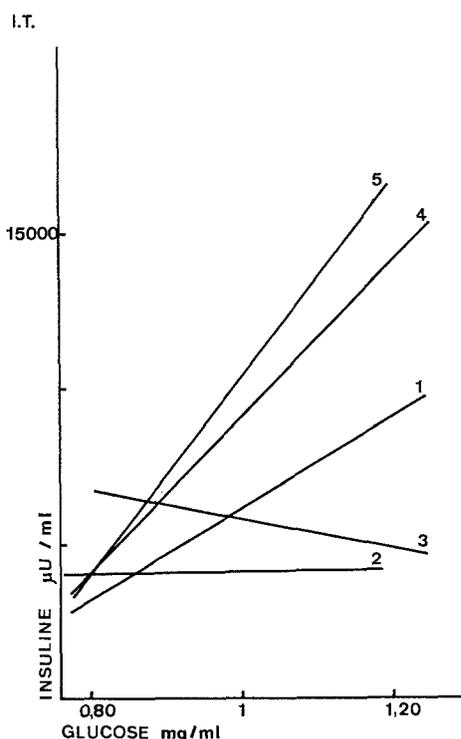


Fig. 5. Relation linéaire entre la concentration en glucose et l'insuline «supprimable» (IS) du sérum, chez le Rat normal (1), le Rat surrénalectomisé (2), le Rat à surrénale énucléée sans corticostéroïde sérique (3) ou avec 4 µg (4) ou 30 µg (5) de corticostéroïde pour 100 ml de sérum. — Méthode du diaphragme — sérum dilué au 1/16 — standards avec gélatine. Chaque valeur correspond à un mélange de 3 sérums

Courbe n°	1	2	3	4	5
Pente de la courbe	8047	— 1117	881	8530	16127
limites de confiance	4538 — 11 556	— 5142 — 2908	— 3779 — 5541	4790 — 12270	11 761 — 20493
nombre de valeurs	21	20	18	22	20
nombre de rats	63	60	54	66	60
F	22.7 <sup>a</sup>	0.33	0.15	22.28 <sup>b</sup>	56.30 <sup>b</sup>
Index de précision ( $\lambda$ )	0.209	1.73	2.51	0.210	0.130
Coefficient de corrélation ( $r$ )	0.73	— 0.23	0.09	0.72	0.87

<sup>b</sup> significatif au seuil de 1%

#### B. Insuline immunoréactive sécrétée, «in vitro», dans du sérum de rats surrénalectomisés

Les fragments de pancréas prélevés sur des rats surrénalectomisés sécrètent moins d'insuline que ceux

provenant de rat des deux autres groupes, pour les deux concentrations en glucose utilisées. Dans les trois groupes de rats la réponse pancréatique s'accroît si la concentration en glucose des milieux d'incubation s'élève (Tableau 4).

#### Discussion

Nous avons justifié ailleurs le choix de nos méthodes de dosage de l'insuline sérique (SUTTER, 1968a). Rappelons, cependant, que la méthode du diaphragme mesure deux formes d'insuline du sérum d'origine pancréatique directe ou indirecte, l'IS et l'INS. Il n'était donc pas sans intérêt d'étudier l'influence de la corticosurrénale sur ces deux formes d'insuline du sérum ainsi que sur l'insuline immunoréactive. Nos résultats nous amènent à discuter les points suivants:

##### 1. Inhibition de l'action de l'insuline et corticostéroïde sérique

Une des causes du diabète dû au traitement des rats par certains corticostéroïdes est pour FRANCKSON et coll. (1953) la réduction de l'utilisation périphérique du glucose, les hormones corticosurrénaliennes inhibant l'effet de l'insuline sur les tissus. En ce qui concerne l'hydrocortisone, nos résultats pourraient être expliqués par une telle action; en effet, injectée à des rats surrénalectomisés, elle peut faire monter la glycémie au-dessus de la valeur normale, sans toutefois rétablir la relation linéaire entre la glycémie et l'insulinémie de façon comparable à ce que l'on observe chez le Rat normal, chez le Rat surrénalectomisé traité à la corticostéroïde ou chez le Rat à surrénale énucléée. Son effet serait alors analogue à celui de la cortisone qui semble exercer une action inhibitrice de l'activité insulinique

chez le Rat normal (FRANCKSON et coll., 1953), ainsi que chez le Rat alloxanisé (BORNSTEIN et PARK, 1953).

Néanmoins le faible effet de l'hydrocortisone sur l'insulinémie de nos rats pourrait également provenir

du fait que cette hormone n'est pas le corticostéroïde principal du Rat; l'effet inhibiteur de cette hormone serait alors d'ordre purement pharmacologique.

cette augmentation subsiste chez le Rat à surrénale énucléée, on aurait pu penser que la corticostérone joue un rôle analogue à celui de l'adrénaline; mais

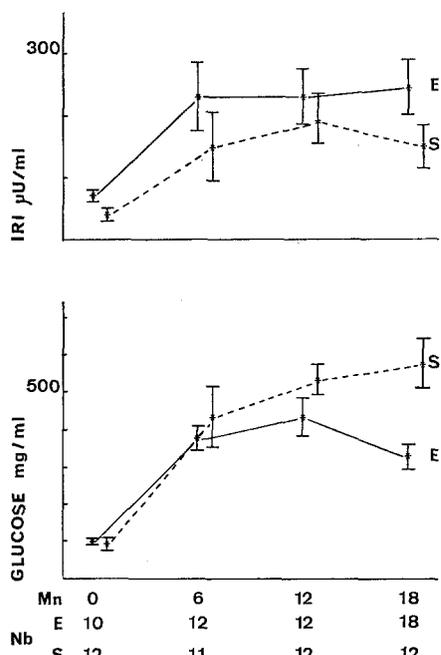


Fig. 6. Variations des concentrations de l'insuline immuno-réactive (IRI) et du glucose sériques au cours d'une surcharge intrapéritonéale en glucose, chez le Rat à surrénale énucléée (E) et chez le Rat surrénalectomisé (S). Le temps, exprimé en minutes, est porté sur la 1ère ligne et le nombre d'animaux sur la 2ème et la 3ème lignes

Tableau 4. *Sécrétion pancréatique «in vitro»*. Quatre fragments de pancréas pesant chacun 2.5 mg, incubent dans 1 ml de sérum de rats surrénalectomisés. L'insuline sécrétée, dosée par la méthode immunologique, est exprimée en % de la sécrétion des pancréas de rats normaux incubant à 1 mg/ml de glucose. Le taux de l'insuline sécrétée est porté sur la 1ère ligne, les limites de confiance à 95% sur la 2ème et le nombre de valeurs sur la 3ème

Origine des pancréas	Concentration en glucose du sérum d'incubation	
	1 mg/ml	7.5 mg/ml
Rats normaux	100 (85 - 115) 12	212 (170 - 254) 9
Rats à surrénale énucléée	90 (73 - 107) 14	206 (155 - 257) 13
Rats surrénalectomisés	62 (52 - 72) 10	117 (88 - 146) 9

l'effet de dilution persiste également chez le Rat surrénalectomisé avec une intensité analogue à celle qu'on observe chez le Rat porteur d'une surrénale énucléée. Ceci semble exclure une action périphérique de la corticostérone, opposée à celle de l'insuline.

Comme l'absence de corticosurrénale entraîne une chute de l'insuline plasmatique il semble que cette

Tableau 3. *Sécrétion pancréatique «in vitro»*. L'estimation de l'insuline sécrétée est faite par la méthode du diaphragme. 150 mg de pancréas, découpés en fragments de 2 à 3 mg, incubent pendant 6 h dans 25 ml de tampon ou de sérum de rats surrénalectomisés. Les concentrations d'insuline sont exprimées en µU/ml

Origine des pancréas	Forme de l'activité insulinique	Milieu d'incubation		Sérum glucosé		Dilution du sérum au moment du dosage
		Tampon glucosé	Sérum glucosé	à 1 mg/ml	à 7.5 mg/ml	
Rats normaux	IS	807	2903	452	369	1/1
	INS	0	596	0	261	
	IS			2929		1/4
	INS			0		
Rats à surrénale énucléée	IS	788	882	644	513	1/1
	INS	0	935	0	375	
	IS			2048		1/4
	INS			0		
Rats surrénalectomisés	IS	329	1990	242	254	1/1
	INS	0	288	0	164	
	IS			1156		1/4
	INS			0		

Par ailleurs, rien ne permet de supposer que la corticostérone joue un rôle inhibiteur de l'insuline. L'augmentation de l'insuline sérique après dilution du sérum est due en partie à l'inhibition de l'insuline par l'adrénaline (MIALHE et coll., 1965; SUTTER, 1968 b). Comme

glande doit influencer la sécrétion insulinique. Il est peu probable en effet — mais nous ne l'avons pas vérifié «in vivo» — que la surrénalectomie diminue le temps de la demi-disparition de l'insuline, ce qui aurait aussi pour effet de faire décroître la concentration sanguine de

l'hormone; les expériences de sécrétion pancréatique *«in vitro»* sont par contre en faveur d'un effet direct ou indirect de la corticostérone sur le pancréas. L'action de l'hormone pourrait s'exercer soit directement sur les cellules B du pancréas, soit par l'intermédiaire de la concentration en glucose du sérum, qui est, en moyenne, diminuée après surrénalectomie.

### 2. Sécrétion d'insuline et corticostérone sérique

Comme les variations physiologiques du glucose sérique se font dans les mêmes limites chez le Rat surrénalectomisé et le Rat à surrénale énucléée sans corticostérone sérique, que chez les animaux des autres groupes, on peut conclure que la corticostérone n'exerce pas son effet sur la sécrétion insulinique de base en élevant la concentration en glucose du sérum; son action n'est donc pas indirecte.

La relation glycémie-insuliniémie n'existe dans les conditions de base que chez les rats dont le sérum contient de la corticostérone. La présence d'hormones corticosurrénales dans le sérum est donc nécessaire pour que la sécrétion insulinique augmente en fonction de la concentration du glucose sérique.

De même, à la suite d'une surcharge en glucose, ou dans les expériences de sécrétion pancréatique *«in vitro»*, le pancréas du Rat surrénalectomisé répond moins bien à l'augmentation de la concentration en glucose, que celui des rats normaux ou des rats à surrénale énucléée.

Récemment MALAISSE et coll. (1967) ont obtenu chez le Rat, des résultats analogues aux nôtres: le cortisol, injecté *«in vivo»*, ramène à une valeur normale la sécrétion insulinique *«in vitro»* de pancréas de rats surrénalectomisés.

Nous pouvons donc conclure que la présence des hormones corticosurrénales endogènes est nécessaire pour que la réponse pancréatique aux variations du glucose sanguin soit normale.

### 3. Effet permissif de la corticostérone

L'effet de la corticosurrénale sur le pouvoir sécréteur des cellules B du pancréas endocrine est du type «permissif» suivant la définition de INGLE (1954). Par cette expression l'auteur caractérise l'influence d'une glande endocrine sur une réponse à un stimulus. Les conditions sont les suivantes: (1) la réponse a lieu quand la glande est fonctionnelle (2) elle n'existe pas si la glande est enlevée, et (3) elle réapparaît lors d'un traitement hormonal de remplacement; elles sont remplies dans le cas de l'action des hormones corticosurrénales sur la réponse pancréatique aux variations basales du glucose sanguin.

De même chez le Hamster chinois, des injections répétées de cortisone provoquent une augmentation de l'insuline plasmatique pour un niveau glycémique inchangé (CAMPBELL et coll. 1966). Chez le Chien, l'hormone de croissance injectée pendant quelques jours, inhibe l'action de l'insuline circulante mais augmente en même temps la réponse insulinique du pancréas, lors

d'une surcharge en glucose et après un repas (CAMPBELL et RASTOGI, 1966a et b).

La cortisone et l'hormone de croissance exogène exercent ainsi dans certaines espèces deux actions: inhibition de l'effet périphérique de l'insuline et effet «permissif» sur la sécrétion insulinique. La corticostérone sérique d'origine surrénalienne semble chez le Rat, ne jouer qu'un seul rôle, celui de favoriser la réponse des cellules B du pancréas endocrine aux variations du glucose sanguin. Néanmoins, il n'est pas exclu que dans des cas pathologiques, comme l'hypercorticisme, les hormones corticosurrénales ne puissent apparaître comme des antagonistes de l'insuline.

### Conclusion

Les relations entre corticosurrénale et sécrétion insulinique ont été étudiées à l'aide d'une technique immunologique de dosage de l'insuline plasmatique et de la méthode du diaphragme de Rat; celle-ci a permis de mettre en évidence et de suivre les variations de deux formes d'insuline du sérum chez le Rat, l'insuline «supprimable» et l'insuline «non supprimable» toutes deux d'origine pancréatique directe ou indirecte. Il reste cependant à préciser le rôle de l'insuline «non supprimable».

La corticostérone sérique d'origine endogène n'interfère pas, chez le Rat, avec l'effet périphérique de l'insuline.

Par contre, la présence d'hormones corticosurrénales est nécessaire pour que la sécrétion insulinique réponde normalement aux variations du glucose sanguin; elles exercent donc un effet «permissif» sur la sécrétion des cellules B du pancréas endocrine.

L'action de la corticosurrénale s'oppose ainsi à celle de la médullosurrénale, puisque l'adrénaline sécrétée par une médullosurrénale normale n'exerce aucune action sur la sécrétion insulinique, mais inhibe l'effet de l'insuline sur les tissus périphériques, muscles et tissu adipeux.

Chez le Rat normal, les relations entre la surrénale et l'insuline du sérum se résument donc en deux points importants:

1. L'adrénaline sécrétée par la médullosurrénale est un inhibiteur périphérique de l'insuline.
2. La corticostérone sécrétée par la corticosurrénale a un effet «permissif» sur la sécrétion insulinique.

*Remerciements.* Nos remerciements les plus vifs vont à: Monsieur le Professeur F. STUTINSKY qui nous a accueilli dans son laboratoire. — Monsieur le Professeur P. MIALHE qui a guidé ce travail et qui nous a prodigué son aide et ses encouragements. — Messieurs les Professeurs R. JACQUOT et E. F. PFEIFFER pour avoir bien voulu faire partie du Jury de thèse. — Mlle V. MEYER et Mme M-Th. STROSSER pour les discussions constructives que nous avons eues ensemble. — Mlle M. HORRENBERGER, Mme M. ROTH et Mme G. SOMMERMEYER-LEROUX pour leur aide technique, si précieuse. — Mlle D. HAGENSTEIN et A.-M. SCHMITT pour la dactylographie du manuscrit.

*Bibliographie*

- BORNSTEIN, J., and C.R. PARK: Inhibition of glucose uptake by the serum of diabetic rats. *J. biol. Chem.* **205**, 503—511 (1953).
- CAMPBELL, J., and K.S. RASTOGI: Growth hormone induced diabetes and high levels of serum insulin in dogs. *Diabetes* **15**, 30—43 (1966a).
- Augmented insulin secretion due to growth hormone. *Diabetes* **15**, 749—758 (1966b).
- and H.R. HAUSLER: Hyperinsulinemia with diabetes induced by cortisone, and the influence of growth hormone in the chinese Hamster. *Endocrinology* **79**, 749—756 (1966).
- DE BODO, R.C. and N. ALTSZULER: Insulin hypersensitivity and physiological insulin antagonists. *Physiol. Rev.* **38**, 389—445 (1958).
- FRANCKSON, J.R.M., W. GEPTS, P.A. BASTENIE, V. CONARD, N. CORDIER et L. KOVACS: Observations sur le diabète stéroïde expérimental du Rat. *Acta endocr.* **14**, 153—169 (1953).
- HECHTER, O., and G. PINCUS: Genesis of the adrenocortical secretion. *Physiol. Rev.* **34**, 459—496 (1954).
- INGLE, D.J.: Permissibility of hormone action. A review. *Acta endocr.* **17**, 172—186 (1954).
- MALASSE, W.J., F. MALASSE-LAGAE, E.F. MC CRAW, and P.M. WRIGHT.: Insulin secretion in vitro by pancreatic tissue from normal, adrenalectomized, and cortisoltreated Rats. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **124**, 924—928 (1967).
- MIALHE, P., B.C.H.J. SUTTER et V. MEYER: L'adrénaline, inhibiteur de l'insuline sérique chez le Rat. *Diabetologia* **1**, 63—71 (1965).
- RANDLE, P.J.: Studies on the metabolic influence of insulin. Ph. D. Thesis, University of Cambridge (1954).
- RENOLD, A.E., and J. ASHMORE: Metabolic effects of adrenal corticosteroids. In WILLIAMS, R.M.: "Diabetes", p. 198 New York: Hoeber Inc. 1960.
- SUTTER, B.C.H.J.: Activité insulínique du plasma chez le Rat surrénalectomisé traité à l'hydrocortisone. *Ann. Endocr. (Paris)* **23**, 741—746 (1962).
- Surrénale et insuline plasmatique chez le Rat à jeun. *Path. Biol.* **12**, 550—557 (1964).
- Signification de l'insuline «supprimable», de l'insuline «non supprimable» et de l'insuline immunoréactive. En préparation (1968a).
- Surrénale et insulinémie chez le Rat. I. Médullosurrénale et insuline sérique. *Diabetologia* **4**, 286—294 (1968).
- V. MEYER et P. MILAHE: Effets de la corticosurrénale et de la médullosurrénale sur l'insulinémie "apparente" chez le Rat. Symposium Technicon Européen. Paris 2—4 Nov. 1966.
- , et P. MIALHE: Effet de la surrénalectomie sur l'activité insulínique du plasma chez le Rat. *Ann. Endocr. (Paris)* **25**, 127—130 (1964a).
- — Surrénales et action du glucose sur l'activité insulínique du plasma chez le Rat à jeun. *J. Physiol. (Paris)* **56**, 444—445 (1964b).
- — Médullosurrénale, corticosurrénale et action de la glycémie sur l'«insulinémie apparente» du sérum chez le Rat. *J. Physiol. (Paris)* **57**, 705—706 (1965).
- — Sécrétion d'insuline «in vitro» par le pancréas du Rat normal, surrénalectomisé ou à surrénales énucléées. *J. Physiol. (Paris)* **59**, 299—300 (1967).

Dr. BERNARD C.J. SUTTER  
Laboratoire de Physiologie Générale  
Rue René-Descartes — Esplanade  
F-67 Strasbourg