

## ORIGINALS

## Insulino-sécrétion étudiée sur le pancréas isolé et perfusé du rat II. Action des catécholamines et des substances bloquant les récepteurs adrénergiques

A. LOUBATIÈRES, M. M. MARIANI et J. CHAPAL

Faculté de Médecine, Institut de Biologie, Montpellier, France

Reçu le 17 février, 1970

*Insulin secretion studied on isolated perfused rat pancreas. II. Effects of catecholamines and adrenergic blocking drugs*

**Summary.** Our experiments carried out on isolated perfused rat pancreas, the insulin secretion of which is slightly stimulated by glucose at a concentration of 1.5 g/l, led to the following findings: — 1. L-adrenaline and L-noradrenaline at low concentrations (0.0055  $\mu\text{M/l}$  and 0.011  $\mu\text{M/l}$ ) provoke a marked decrease of insulin secretion. L-adrenaline has a stronger inhibitory effect than L-noradrenaline. At a concentration of 0.05  $\mu\text{M/l}$ , L-isoprenaline, first stimulates insulin secretion, then provokes a progressive decrease. — 2. The inhibition provoked by L-adrenaline is partially or totally suppressed by phenoxybenzamine depending on the concentration of the alpha adrenergic blocking drug used (0.6  $\mu\text{M/l}$  or 6  $\mu\text{M/l}$ ); this inhibition is not modified by propranolol (1  $\mu\text{M/l}$ ). — Propranolol (1  $\mu\text{M/l}$ ) counteracts the first stimulation phase induced by isoprenaline; phenoxybenzamine (6  $\mu\text{M/l}$ ) seems to counteract the second inhibitory phase. — 3. The effects of alpha and beta adrenergic blocking drugs (phenoxybenzamine and propranolol) have been studied on insulin secretion using increasing concentrations; these substances exert different effects depending on their concentration and the phase in which their action is studied.

**Résumé.** Nos expériences réalisées sur le pancréas isolé et perfusé du rat, dont la sécrétion est légèrement stimulée par le glucose à la concentration de 1.5 g/l, nous ont permis de constater les faits suivants: — 1. La L-adréraline et la L-noradrénaline à faibles concentrations (0.0055  $\mu\text{M/l}$  et 0.011  $\mu\text{M/l}$ ) provoquent une diminution importante de la sécrétion d'insuline. La L-adréraline a une action plus fortement inhibitrice que la L-noradrénaline. La L-isoprénaline, à la concentration de 0.05  $\mu\text{M/l}$  stimule d'abord l'insulino-sécrétion puis provoque une diminution progressive. — 2. L'inhibition provoquée par la L-adréraline est supprimée partiellement ou totalement par la phénoxybenzamine suivant la concentration de bloquant alpha adrénergique utilisée (0.6  $\mu\text{M/l}$  ou 6  $\mu\text{M/l}$ ); elle n'est pas modifiée par le propranolol (1  $\mu\text{M/l}$ ). — Le propranolol (1  $\mu\text{M/l}$ ) s'oppose à la première phase stimulante de l'isoprénaline;

la phénoxybenzamine (6  $\mu\text{M/l}$ ) paraît s'opposer à la deuxième phase inhibitrice. — 3. Les substances bloquant les récepteurs alpha ou bêta adrénergiques (phénoxybenzamine, propranolol) dont l'étude sur l'insulino-sécrétion a été réalisée à l'aide de concentrations croissantes peuvent manifester des effets très différents suivant la concentration utilisée et suivant la phase au cours de laquelle leur action est étudiée.

*Untersuchungen der Insulinsekretion am isolierten perfundierten Rattenpankreas. II. Wirkung von Katecholaminen und adrenergen Rezeptorenblockern*

**Zusammenfassung.** Unsere Untersuchungen am isolierten, perfundierten Rattenpankreas, dessen Sekretion durch eine Glucoselösung von 150 mg% leicht stimuliert wurde, erlaubten uns, folgende Tatsachen festzustellen: — 1. Geringe Konzentrationen (0.0055  $\mu\text{M/l}$  und 0.011  $\mu\text{M/l}$ ) von L-Adrenalin und L-Noradrenalin rufen eine erhebliche Verringerung der Insulinsekretion hervor. Diese Hemmwirkung ist bei L-Adrenalin stärker ausgeprägt als bei L-Noradrenalin. Bei einer Konzentration von 0.05  $\mu\text{M/l}$  stimuliert L-Isoprenalin zunächst die Insulinsekretion, bewirkt aber später eine fortschreitende Verringerung. — 2. Die durch L-Adrenalin ausgelöste Hemmung läßt sich teilweise oder vollständig durch Phenoxybenzamin aufheben und zwar je nach der verwandten Konzentration dieses Alpha-Rezeptorenblockers (0.6  $\mu\text{M/l}$  oder 6  $\mu\text{M/l}$ ), sie wird durch 1  $\mu\text{M/l}$  Propranolol nicht modifiziert. — Das Propranolol (1  $\mu\text{M/l}$ ) hemmt aber die erste Stimulationsphase des Isoprenalins; das Phenoxybenzamin (6  $\mu\text{M/l}$ ) scheint der zweiten Hemmpphase entgegen zu wirken. — 3. Die Hemmer der adrenergen  $\alpha$ - und  $\beta$ -Rezeptoren (Phenoxybenzamin, Propranolol), deren Wirkung auf die Insulinsekretion wir bei steigenden Konzentrationen untersucht haben, können je nach angewandter Konzentration und je nachdem, während welcher Phase man ihren Effekt prüft, ganz verschiedene Wirkungen entfalten.

**Key-words:** Insulin secretion, isolated perfused pancreas, catecholamines, adrenergic blocking drugs, adrenergic receptors.

Le travail que nous présentons constitue la deuxième partie d'une étude de l'insulino-sécrétion réalisée sur le pancréas isolé et perfusé du rat en vue d'explorer le comportement de la cellule bêta des îlots de Langerhans du pancréas, lorsque cet organe se trouve en fonctionnement autonome, sans qu'interviennent les mécanismes de régulation extrinsèques à la glande.

Dans la première partie [9] nous avons rapporté les modifications de l'insulino-sécrétion provoquées sur cette préparation par l'action du glucose et des sulfamides hypoglycémiantes.

Le présent exposé concerne les effets des catécholamines et des substances bloquant les récepteurs adrénergiques. Certains de nos résultats ont fait l'objet de communications préliminaires fragmentaires [10, 8, 13, 14].

### Méthode

La technique de perfusion du pancréas est celle qui a été précédemment indiquée [9] et décrite en détails [11]. Nos expériences ont été conduites de la manière suivante: une fois la perfusion installée et le pancréas mis en place, une période d'adaptation de 30 min s'écoule avant

que soit effectué le premier prélèvement de liquide efférent du pancréas, afin d'y doser l'insuline. Deux échantillons sont toujours prélevés avant l'addition d'une drogue au liquide de perfusion. Ces deux prélèvements effectués à 15 min d'intervalle représentent les échantillons témoins.

Dès sa mise en perfusion, l'organe est irrigué avec la solution physiologique dont nous avons donné précédemment la composition [9] et qui contient du glucose à la concentration de 1.5 g/l.

Les produits dont on désire étudier les effets sur l'insulino-sécrétion sont introduits de façon continue dans le liquide de perfusion à l'aide d'un perfuseur Braun.

Le débit du liquide de perfusion efférent de l'organe a été dans tous les cas enregistré, la pression à l'entrée de l'organe était maintenue constante tout au long de l'expérience; le débit du liquide effluent se situait autour de 2.5 ml/min.

L'insuline contenue dans le liquide efférent a été dosée par la méthode radioimmunologique B de Hales et Randle [7].

Les variations du débit d'insuline ont été exprimées en pourcentages par rapport à la valeur enregistrée immédiatement avant l'addition de la drogue, c'est-à-dire au temps 45 min.

Les temps portés en abscisses sur les graphiques sont comptés à partir de la mise en perfusion de l'organe.

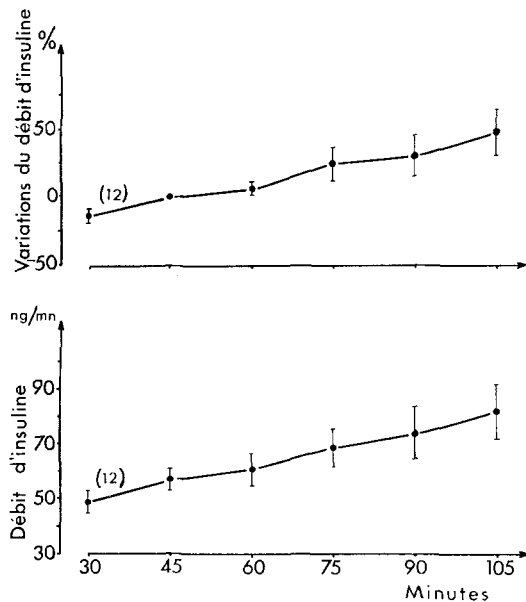


Fig. 1. Evolution de la sécrétion d'insuline par le pancréas isolé et perfusé du rat sous l'effet du glucose à la concentration de 1.5 g/l. Les résultats sont exprimés d'une part en débit d'insuline (ng/min) et d'autre part en variations du débit, ces variations étant évaluées en pourcentages par rapport à la valeur au temps 45 min. Chaque point représente la moyenne des valeurs et porte indication de l'erreur standard de la moyenne. Le nombre de pancréas est indiqué entre parenthèses

### Résultats

Avant d'exprimer les résultats que nous avons obtenus avec les différentes drogues utilisées, il convient d'insister sur le fait que dans toutes nos expériences le liquide de perfusion de base de notre préparation renfermait 1.5 g de glucose par litre. De ce fait les cellules bêta insulino-sécrétrices des îlots de Langer-

hans étaient dans un état de stimulation et libéraient l'insuline sous un débit qui est représenté sur la fig. 1. C'est sur cet état de stimulation modérée que nous avons fait agir nos drogues. On remarquera que les débits insuliniques sont représentés sur la fig. 1 d'une part en valeur absolue (ng par minute), d'autre part en pourcentages par rapport au débit enregistré au temps 45 min. Selon Glieman [6] l'activité biologique de l'insuline de rat est en moyenne de 19  $\mu$ U/ng.

### I. Effets des catécholamines

Dans un premier groupe d'expériences, l'étude de trois catécholamines (L-adrénaline, L-nor-adrénaline et L-isoprénaline) nous a permis d'établir les faits suivants:

#### 1. Effets de la L-adrénaline

Les concentrations d'adrénaline utilisées ont été de 1  $\mu$ g/l et 2  $\mu$ g/l, soit en micromoles, respectivement de 0.0055  $\mu$ M/l et 0.011  $\mu$ M/l. L'infusion de cette catécholamine dans le liquide de perfusion a duré dans tous les cas 30 min et l'évolution de la sécrétion pancréatique a été suivie pendant et après l'infusion.

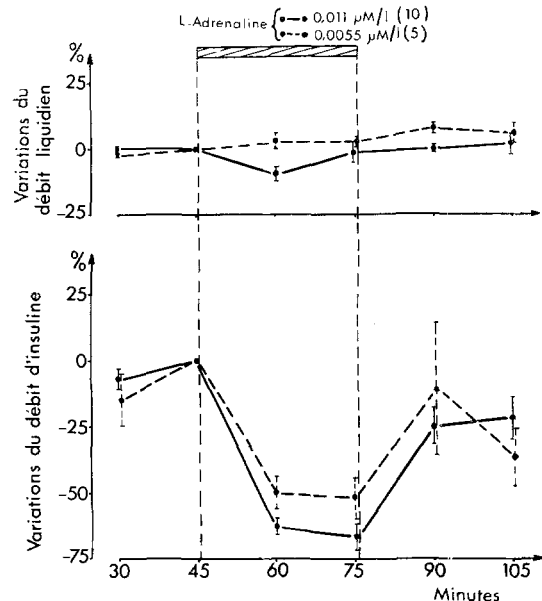


Fig. 2. Variations du débit d'insuline et du débit du liquide efférent du pancréas isolé et perfusé du rat sous l'effet de l'adrénaline. Les doses utilisées ont été de 0.0055  $\mu$ M/l et 0.011  $\mu$ M/l soit 1  $\mu$ g/l et 2  $\mu$ g/l. Chaque point représente la moyenne des valeurs et porte indication de l'erreur standard de la moyenne. Le nombre de pancréas est indiqué entre parenthèses

Nous avons rapporté sur la fig. 2 les variations du débit du liquide de perfusion efférent du pancréas ainsi que les variations du débit d'insuline sécrétée par ce même pancréas.

On remarquera qu'aux concentrations utilisées, l'adrénaline n'a pas ou peu d'effet sur le débit vasculaire: à 0.0055  $\mu$ M/l l'adrénaline ne diminue pas le

débit et il n'apparaît qu'une légère réduction pour  $0.011 \mu\text{M/l}$ . Cependant nous avons pu constater expérimentalement qu'à des concentrations plus élevées, l'adrénaline détermine une diminution importante de débit ou même l'arrêt de la perfusion. C'est ainsi que pour  $10 \mu\text{g/l}$  ( $0.055 \mu\text{M/l}$ ) la réduction est d'environ 40% et pour  $100 \mu\text{g/l}$  ( $0.55 \mu\text{M/l}$ ) la circulation est pratiquement arrêtée.

Par contre, pour les faibles concentrations d'adrénaline infusées, l'effet sur l'insulino-sécrétion est particulièrement important; la réduction du débit d'insuline est en moyenne à la quinzième minute de 50% à  $0.0055 \mu\text{M/l}$  et de 63% à  $0.011 \mu\text{M/l}$ ; pour ces mêmes concentrations les diminutions enregistrées sont à la trentième minute respectivement de 53% et de 67%.

L'effet inhibiteur se manifeste immédiatement après le début de l'infusion de la catécholamine comme le montrent en particulier les expériences représentées sur la fig. 6, il va en s'accusant pendant les premières minutes et persiste pendant toute la durée de l'infusion (30 min). Dès la suppression de l'adrénaline du liquide de perfusion, la sécrétion tend à revenir à son niveau initial mais sans y parvenir totalement. Nous avons pu constater par ailleurs que si l'infusion est maintenue beaucoup plus longtemps (90 min) l'effet inhibiteur persiste aussi important pendant toute sa durée.

### 2. Effets de la L-noradrénaline

Les expériences effectuées avec la noradrénaline ont été réalisées dans des conditions identiques à celles où l'adrénaline a été utilisée.

Les mêmes concentrations molaires ont été choisies soit  $0.0055 \mu\text{M/l}$  et  $0.011 \mu\text{M/l}$ , ce qui représente en poids  $0.925 \mu\text{g/l}$  et  $1.85 \mu\text{g/l}$ .

Les résultats enregistrés sont représentés sur la fig. 3. A ces faibles concentrations, la noradrénaline ne manifeste pas d'effet inhibiteur sur le débit du liquide efférent du pancréas, mais il apparaît une diminution nette du débit d'insuline sécrétée par ce même pancréas. Cette diminution est, à 15 min, respectivement de 33% et 46% pour les concentrations de  $0.0055 \mu\text{M/l}$  et de  $0.011 \mu\text{M/l}$ .

Nous pouvons remarquer que pour la noradrénaline, comme pour l'adrénaline, l'effet inhibiteur augmente avec la dose pour les concentrations utilisées et demeure pendant les 30 min d'infusion de la drogue. Dès l'arrêt de celle-ci, la sécrétion reprend son évolution normale; le pancréas endocrine paraît se libérer plus facilement de l'action inhibitrice de la noradrénaline que de celle de l'adrénaline.

Quelques expériences non rapportées ici, et au cours desquelles des prélèvements ont été effectués dès le début de l'infusion, nous ont permis de constater que la diminution de l'insulino-sécrétion provoquée par la noradrénaline est immédiate.

D'après les résultats obtenus, la noradrénaline possède une action inhibitrice moins puissante que l'adrénaline sur l'insulino-sécrétion.

### 3. Effets de la L-isoprénaline

La troisième catécholamine dont nous avons recherché les effets sur l'insulino-sécrétion est l'isoprénaline (isopropylnoradrénaline), catécholamine considérée comme stimulant essentiellement les récepteurs bêta-adrénergiques.

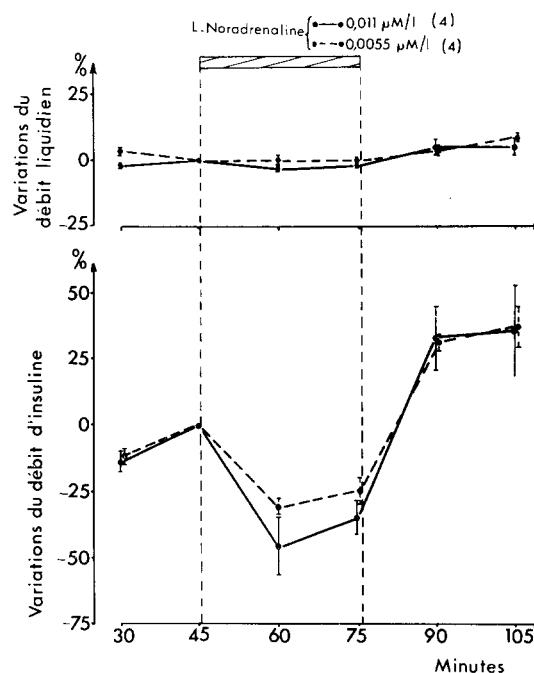


Fig. 3. Variations du débit d'insuline et du débit du liquide efférent du pancréas isolé et perfusé du rat sous l'effet de la noradrénaline. Les doses utilisées ont été de  $0.0055 \mu\text{M/l}$  et  $0.011 \mu\text{M/l}$  soit  $0.925 \mu\text{g/l}$  et  $1.85 \mu\text{g/l}$ . Chaque point représente la moyenne des valeurs et porte indication de l'erreur standard de la moyenne. Le nombre de pancréas est indiqué entre parenthèses

Dans nos expériences, la L-isoprénaline a été infusée à différentes concentrations, durant 30 min, et l'étude du débit d'insuline a été poursuivie même après l'arrêt de l'infusion (fig. 4).

La première concentration molaire testée correspond à une concentration nettement active en ce qui concerne l'adrénaline et la noradrénaline:  $0.01 \mu\text{M/l}$ , soit  $2.1 \mu\text{g/l}$  d'isoprénaline. Nous avons constaté qu'à cette concentration cette catécholamine ne présente pas d'effet stimulant sur la sécrétion d'insuline; il apparaît même une inhibition qui va en s'accroissant dans le temps; après 30 min de perfusion la sécrétion enregistrée est diminuée d'environ 20% par rapport à celle obtenue immédiatement avant l'addition d'isoprénaline. Cette inhibition persiste et s'accroît même après l'arrêt de l'infusion.

Pour une concentration 5 fois plus élevée ( $0.05 \mu\text{M/l}$  soit  $10.5 \mu\text{g/l}$ ) il apparaît d'abord une stimulation brève de la sécrétion insulinique qui est elle-même suivie par une inhibition progressive et durable.

Une concentration 10 fois plus forte que la précédente, correspondant à  $0.5 \mu\text{M/l}$  ou  $105 \mu\text{g/l}$ , n'a pas

mis en évidence d'effet insulino-sécréteur plus important.

Il est nécessaire de souligner que pour les concentrations où l'action stimulante de l'isoprénaline apparaît, celle-ci est brève et suivie d'une diminution de la sécrétion d'insuline. L'action de cette substance sur l'insulino-sécrétion est donc biphasique.

L'enregistrement des débits du liquide efférent du pancréas au cours de ces expériences n'a pas révélé, pendant l'infusion, d'effet notable de l'isoprénaline sur le débit vasculaire.

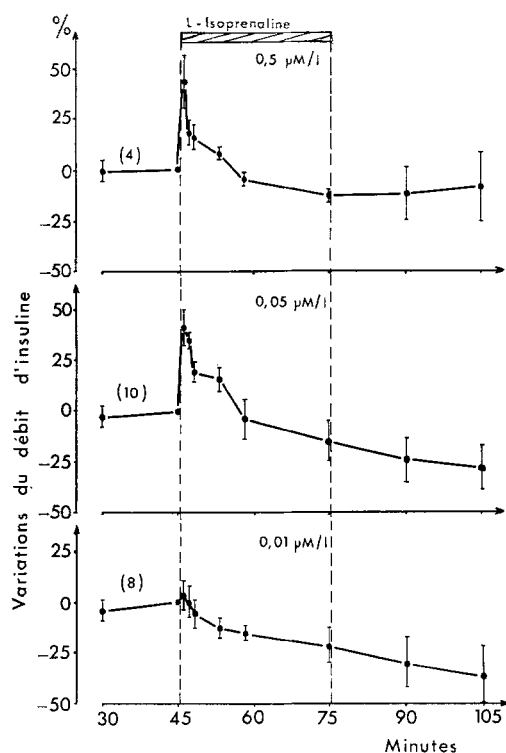


Fig. 4. Effets sur l'insulino-sécrétion de l'isoprénaline à différentes concentrations: 0.01  $\mu\text{M/l}$ , 0.05  $\mu\text{M/l}$  et 0.5  $\mu\text{M/l}$  correspondant respectivement à 2.1  $\mu\text{g/l}$ , 10.5  $\mu\text{g/l}$  et 105  $\mu\text{g/l}$ . Chaque point représente la moyenne des valeurs et porte indication de l'erreur standard de la moyenne. Le nombre de pancréas est indiqué entre parenthèses

## II. Modifications de l'action des catécholamines par les substances bloquant les récepteurs adrénergiques

Dans un deuxième groupe d'expériences, nous avons recherché comment des substances capables de bloquer les récepteurs adrénergiques seraient susceptibles de modifier l'action de certaines catécholamines (adrénaline, isoprénaline). Pour ce faire, deux substances bloquantes ont été utilisées: d'une part, la phénoxybenzamine bloquant les récepteurs alpha; d'autre part, le propranolol bloquant les récepteurs bêta.

### 1. Modifications apportées aux effets de l'adrénaline

a) La phénoxybenzamine a été la première drogue utilisée dans le but de modifier l'action de l'adrénaline.

Cette substance a été infusée dans le liquide de perfusion pendant 15 min avant l'addition d'adrénaline et son infusion maintenue pendant celle de la catécholamine qui a duré 30 min.

Sur la fig. 5 sont représentés les résultats obtenus en utilisant la phénoxybenzamine à la concentration soit de 0.6  $\mu\text{M/l}$  (182  $\mu\text{g/l}$ ) soit de 6  $\mu\text{M/l}$  (1.82 mg/l) et dans les deux cas l'adrénaline à celle de 0.011  $\mu\text{M/l}$  (2  $\mu\text{g/l}$ ).

Nous pouvons constater que la phénoxybenzamine à la concentration de 0.6  $\mu\text{M/l}$  s'oppose en grande partie

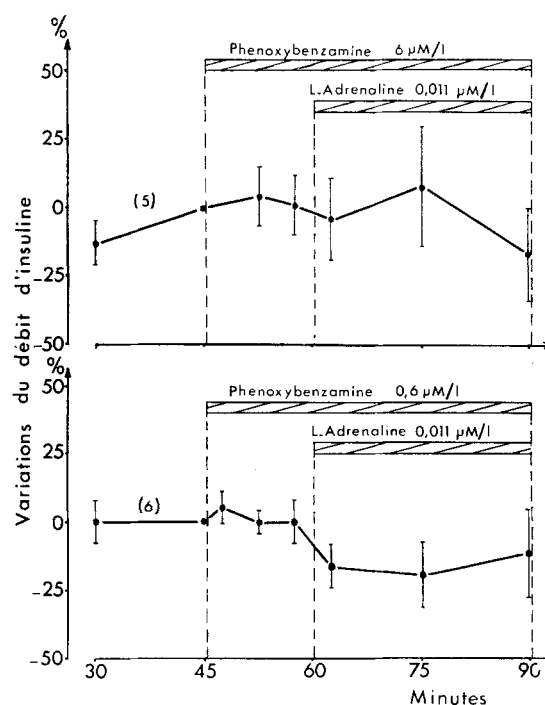


Fig. 5. Effets sur l'insulino-sécrétion de l'adrénaline (0.011  $\mu\text{M/l}$  soit 2  $\mu\text{g/l}$ ) en présence de phénoxybenzamine à deux concentrations (0.6  $\mu\text{M/l}$  soit 182  $\mu\text{g/l}$  et 6  $\mu\text{M/l}$  soit 1.82 mg/l). Chaque point représente la moyenne des valeurs et porte indication de l'erreur standard de la moyenne. Le nombre de pancréas est indiqué entre parenthèses

à l'inhibition de l'insulino-sécrétion provoquée par l'adrénaline, pendant les 30 min où cette substance est infusée.

À la concentration de 6  $\mu\text{M/l}$ , la phénoxybenzamine paraît s'opposer totalement à l'action de l'adrénaline pendant les 15 premières minutes, mais à la trentième minute, il apparaît une diminution de l'insulino-sécrétion qui, nous le verrons plus loin, peut être imputée à l'action propre de la phénoxybenzamine sur l'insulino-sécrétion.

L'action antagoniste de la phénoxybenzamine suggère que l'activation des récepteurs alpha adrénergiques joue un rôle important dans l'inhibition de la sécrétion d'insuline provoquée par l'adrénaline.

Sur le débit vasculaire la phénoxybenzamine aux

deux concentrations utilisées supprime la légère diminution du flux liquidien provoquée par l'adrénaline.

b) La deuxième drogue dont nous avons recherché l'action sur les effets de l'adrénaline a été le *propranolol*.

La concentration utilisée a été de  $1 \mu\text{M/l}$  ( $259 \mu\text{g/l}$ ), concentration à laquelle se manifeste nettement un effet de blocage bêta adrénergique au niveau du cœur selon Blinks [4] et Benfey et Varma [3]; d'autre part, comme nous le verrons par la suite, nous avons pu vérifier que cette concentration de produit n'a aucun effet direct sur la sécrétion d'insuline provoquée par le glucose ( $1.5 \text{ g/l}$ ) pendant les 30 min que dure l'infusion. L'administration du bloquant bêta adrénergique a été commencée 30 sec avant celle d'adrénaline et maintenue pendant la durée de celle-ci.

Les résultats représentés sur la fig. 6 permettent de constater que le propranolol ne paraît pas modifier notablement l'action inhibitrice de l'adrénaline sur l'insulinosécrétion. Par contre si l'on considère l'effet

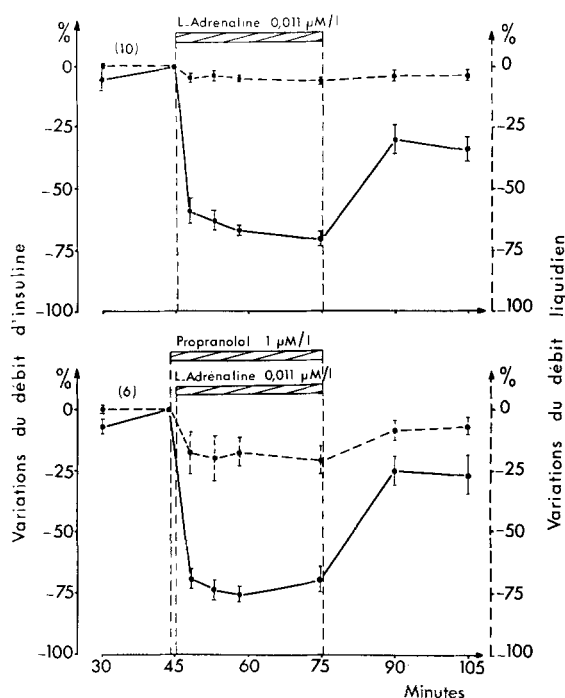


Fig. 6. Variations du débit d'insuline et du débit du liquide efférent du pancréas, sous l'effet de l'adrénaline ( $0.011 \mu\text{M/l}$  soit  $2 \mu\text{g/l}$ ) seule ou en présence de propranolol ( $1 \mu\text{M/l}$  soit  $259 \mu\text{g/l}$ ). Chaque point représente la moyenne des valeurs et porte indication de l'erreur standard de la moyenne. Le nombre de pancréas est indiqué entre parenthèses

sur le débit vasculaire, on peut constater qu'après blocage des récepteurs bêta adrénergiques la diminution du débit liquidien est très nettement accrue: au lieu de se situer autour de  $-5\%$ , elle atteint  $-20\%$ , la composante vaso-dilatatrice de l'adrénaline ayant été supprimée par le propranolol.

## 2. Modifications apportées aux effets de l'isoprénaline

a) En ce qui concerne cette drogue qui stimule essentiellement les récepteurs bêta, nous avons tout d'abord étudié les modifications susceptibles d'être provoquées par le *propranolol*, bloquant de ces récepteurs (fig. 7).

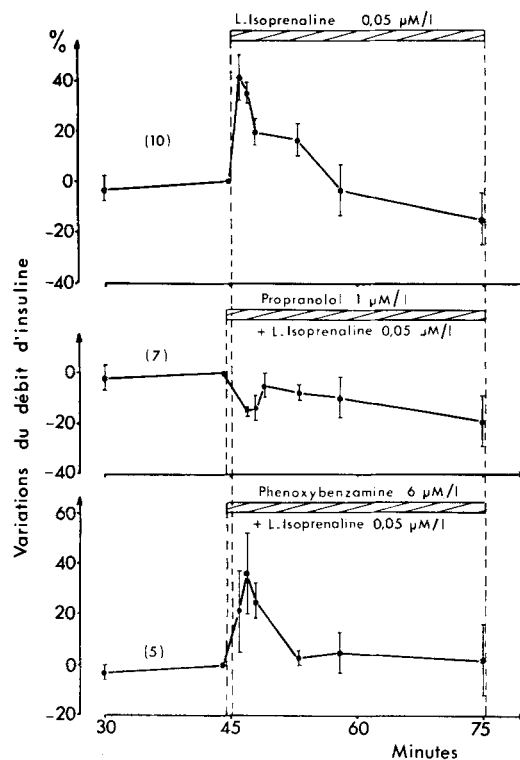


Fig. 7. Effets sur l'insulino-sécrétion soit de l'isoprénaline seule ( $0.05 \mu\text{M/l}$  ou  $10.5 \mu\text{g/l}$ ) soit de l'isoprénaline en présence de propranolol ( $1 \mu\text{M/l}$  ou  $259 \mu\text{g/l}$ ) ou de phénoxybenzamine ( $6 \mu\text{M/l}$  ou  $1.82 \text{ mg/l}$ ). Chaque point représente la moyenne des valeurs et porte indication de l'erreur standard de la moyenne. Le nombre de pancréas est indiqué entre parenthèses

La concentration de propranolol choisie a été identique à celle utilisée en présence d'adrénaline, soit  $1 \mu\text{M/l}$  ( $259 \mu\text{g/l}$ ). Nous avons pu alors constater que le propranolol à cette concentration s'oppose au pic d'insulino-sécrétion provoqué par l'isoprénaline à la concentration de  $10.5 \mu\text{g/l}$ ; il inverse même l'effet stimulant. Cependant le propranolol ne modifie pas l'évolution secondaire de la sécrétion enregistrée avec l'isoprénaline seule, c'est-à-dire qu'il respecte l'inhibition tardive de la sécrétion.

Il en résulte donc que la brève augmentation de l'insulino-sécrétion provoquée par l'isoprénaline paraît bien due à une action stimulante sur les récepteurs bêta adrénergiques qui s'avèrent ainsi, lorsqu'ils sont excités, insulino-sécréteurs.

b) Dans un deuxième temps, l'utilisation de *phénoxybenzamine* à la concentration de  $6 \mu\text{M/l}$  soit  $1.82 \text{ mg/l}$ , et dans les mêmes conditions expérimentales que lors de l'utilisation de propranolol, nous a permis

d'enregistrer les résultats rapportés sur la figure 7. Le pic d'insulino-sécrétion dû à l'isoprénaline à la concentration de  $10.5 \mu\text{g/l}$ , n'est pas supprimé par la phénoxybenzamine, mais par contre cette dernière drogue paraît s'opposer à l'inhibition secondaire de la sécrétion insulinique provoquée par l'isoprénaline.

### III. Effets propres des substances bloquant les récepteurs adrénergiques

Dans un dernier groupe d'expériences nous nous sommes intéressés à l'étude des effets propres que les substances bloquant les récepteurs adrénergiques, utilisées à doses croissantes, pourraient éventuellement manifester sur l'insulinosécrétion provoquée par une concentration de  $1.5 \text{ g}$  de glucose par litre.

#### 1. Effets de la phénoxybenzamine, bloquant alpha-adrénergique

La phénoxybenzamine a été infusée seule pendant un temps relativement long :  $45 \text{ min}$ , et à des concentrations croissantes :  $0.6 \mu\text{M/l}$ ,  $6 \mu\text{M/l}$  et  $60 \mu\text{M/l}$  correspondant respectivement à  $182 \mu\text{g/l}$ ,  $1.82 \text{ mg/l}$  et  $18.2 \text{ mg/l}$ .

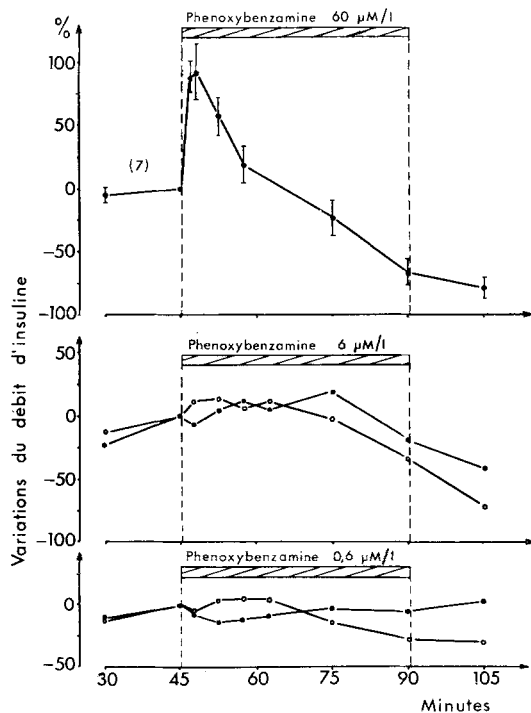


Fig. 8. Effets sur l'insulino-sécrétion de la phénoxybenzamine utilisée à des concentrations croissantes ( $0.6 \mu\text{M/l}$ ,  $6 \mu\text{M/l}$  et  $60 \mu\text{M/l}$  soit  $182 \mu\text{g/l}$ ,  $1.82 \text{ mg/l}$  et  $18.2 \text{ mg/l}$ ). Sur le graphique supérieur la courbe représente la moyenne des valeurs obtenues sur 7 pancréas et porte indication de l'erreur standard de la moyenne. Sur les deux autres graphiques chaque courbe représente les résultats d'une expérience

Les résultats enregistrés sont rapportés sur la fig. 8. On peut constater que la phénoxybenzamine manifeste un effet inhibiteur qui n'apparaît pas immédiatement ;

avec l'augmentation des concentrations, cet effet est de plus en plus important et de plus en plus précoce. A la concentration de  $6 \mu\text{M/l}$  cette inhibition se manifeste nettement à la  $45^{\text{e}}$  min et s'accroît après l'arrêt de la drogue. A la concentration de  $60 \mu\text{M/l}$  elle apparaît plus tôt ; importante à la  $30^{\text{e}}$  min, elle va s'accroissant et persiste après l'arrêt de la phénoxybenzamine ; cette inhibition est accompagnée d'une chute du débit vasculaire ( $-25\%$  à la  $45^{\text{e}}$  min d'infusion). Cependant pour la concentration de  $60 \mu\text{M/l}$  on peut remarquer qu'avant l'inhibition se manifeste une phase de stimulation importante de l'insulino-sécrétion.

#### 2. Effets du propranolol bloquant bêta adrénergique

De même que pour la phénoxybenzamine, nous avons infusé le propranolol à des concentrations croissantes :  $1 \mu\text{M/l}$ ,  $7 \mu\text{M/l}$  et  $175 \mu\text{M/l}$  correspondant à  $259 \mu\text{g/l}$ ,  $1.8 \text{ mg/l}$  et  $45 \text{ mg/l}$ . La durée de l'infusion a été de  $45 \text{ min}$  avec les deux premières concentrations et de  $20 \text{ min}$  avec la troisième.

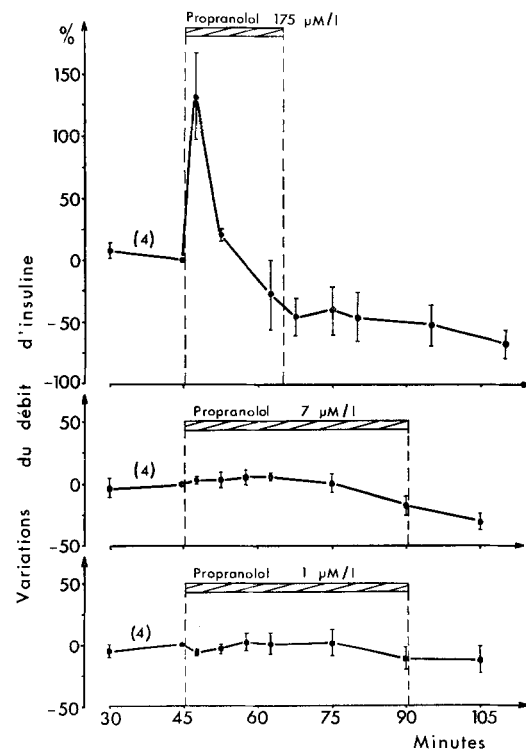


Fig. 9. Effets sur l'insulino-sécrétion du propranolol utilisé à concentrations croissantes ( $1 \mu\text{M/l}$ ,  $7 \mu\text{M/l}$  et  $175 \mu\text{M/l}$  soit  $259 \mu\text{g/l}$ ,  $1.8 \text{ mg/l}$  et  $45 \text{ mg/l}$ ). Chaque point représente la moyenne des valeurs obtenues et porte indication de l'erreur standard de la moyenne. Le nombre de pancréas est indiqué entre parenthèses

Les résultats enregistrés sont rapportés sur la fig. 9. On peut constater que pour  $7 \mu\text{M/l}$  le propranolol qui ne manifeste pas d'effet net sur la sécrétion d'insuline pendant les trente premières minutes d'infusion, révèle une action inhibitrice à partir de la  $45^{\text{e}}$  min, action qui

s'intensifie après l'arrêt. Pour une concentration très supérieure: 175  $\mu\text{M/l}$ , une stimulation importante mais peu durable apparaît; ce pic insulino-sécréteur est immédiatement suivi d'une inhibition prononcée qui persiste après l'arrêt de l'infusion du propranolol.

Sur le débit vasculaire le propranolol à 1  $\mu\text{M/l}$  et 7  $\mu\text{M/l}$  ne manifeste pas d'effet important, mais pour 175  $\mu\text{M/l}$  il apparaît une chute du débit ( $-10\%$  à  $-15\%$ ).

### Discussion

Les concentrations d'adrénaline et de noradrénaline dont nous avons étudié les effets sur l'insulino-sécrétion sont un peu supérieures à celles qui sont présentes dans le plasma humain dans les conditions physiologiques, mais bien inférieures à celles utilisées par d'autres auteurs lors de leurs expériences *in vitro*. Jusqu'à présent, les auteurs n'avaient montré l'action inhibitrice de l'adrénaline et de la noradrénaline sur la sécrétion d'insuline de fragments de pancréas isolés qu'en utilisant des concentrations très importantes. Coore et Randle [5] les premiers ont opéré à l'aide de concentrations d'adrénaline de 200  $\mu\text{g/l}$ . Plus récemment Malaisse et Coll. [12] ont trouvé qu'une action inhibitrice apparaît pour des concentrations d'adrénaline de 0.04  $\mu\text{M/l}$  (soit 7.3  $\mu\text{g/l}$ ); cependant cette inhibition n'est alors que de 20.2%; elle atteint 72.9% à la concentration de 1  $\mu\text{M/l}$  (soit 183  $\mu\text{g/l}$ ). Dans les expériences de ces derniers auteurs, la noradrénaline à la concentration de 1  $\mu\text{M/l}$  (soit 169  $\mu\text{g/l}$ ) a déterminé une diminution de 25.8%. Ces résultats ne paraissent donc pas pouvoir être considérés comme ayant une signification physiologique très importante étant donné les concentrations utilisées.

*Quelle est donc la signification physiologique des recherches que nous venons d'exposer en ce qui concerne les effets de l'adrénaline et de la noradrénaline sur l'insulino-sécrétion?*

Elles démontrent que l'adrénaline ainsi que la noradrénaline sont capables, à des concentrations très faibles (1  $\mu\text{g/l}$  et 2  $\mu\text{g/l}$ ) d'inhiber rapidement et profondément la sécrétion d'insuline. A ces doses cependant, l'inhibition n'est pas totale. D'autre part, il convient d'insister sur le fait que la noradrénaline est moins active que l'adrénaline (fig. 2 et 3).

Elles permettent d'expliquer les hyperglycémies consécutives à des stressés libérateurs de catécholamines, comme dues non seulement à l'action lytique que les catécholamines exercent sur le glycogène du foie, mais aussi à l'inhibition des processus insulino-sécréteurs.

Elles autorisent enfin à considérer la libération d'adrénaline et de noradrénaline qui se produit au cours de l'hypoglycémie profonde ainsi que sa conséquence, l'inhibition insulino-sécrétoire, comme des mécanismes réactionnels de lutte contre l'abaissement du taux du glucose dans le sang.

L'adrénaline et la noradrénaline n'ayant aux concentrations que nous avons utilisées que peu ou pas d'effet sur le débit du liquide efférent du pancréas, il n'est pas possible d'expliquer l'action sur l'insulino-sécrétion comme secondaire à une diminution du débit vasculaire. L'action inhibitrice de l'adrénaline et de la noradrénaline paraît donc plutôt due à une action directe sur les cellules bêta insulino-sécrétrices des îlots de Langerhans.

*En ce qui concerne plus spécifiquement les récepteurs adrénérgiques de ces cellules*, les résultats que nous avons obtenus mettent en évidence le rôle respectif des différents récepteurs dans les mécanismes de l'insulino-sécrétion.

1. Si l'on considère l'inhibition de la sécrétion insulinaire par les catécholamines, nos expériences apportent des arguments qui tendent à prouver qu'elle résulte de l'activation des récepteurs  $\alpha$  adrénérgiques.

En effet, pour une même concentration de 0.01  $\mu\text{M/l}$ , l'adrénaline est celle des trois amines sympathomimétiques étudiées qui provoque la plus forte inhibition et l'isoprénaline celle qui manifeste l'effet le moins important (figs. 2, 3 et 4). Selon Ahlquist [1, 2], les récepteurs  $\alpha$  sont ceux qui sont à l'origine des réponses pour lesquelles l'ordre de puissance des amines sympathomimétiques est: adrénaline > noradrénaline > isoprénaline.

D'autre part, l'action inhibitrice de l'adrénaline et de l'isoprénaline est supprimée par la phénoxybenzamine qui bloque les récepteurs  $\alpha$  (figs. 5 et 7), alors qu'elle n'est pas modifiée par le propranolol qui bloque les récepteurs  $\beta$  (figs. 6 et 7).

Ces résultats concernant les récepteurs  $\alpha$  sont en accord avec ceux obtenus par Porte chez l'homme [18, 17] et ceux obtenus par Malaisse et Coll. [12] *in vitro*, sur des fragments de pancréas de rat mis à incuber; dans ce dernier cas cependant nous pouvons souligner que les concentrations de catécholamines et d'agents bloquants étaient très importantes et de beaucoup supérieures à celles que nous avons utilisées. Ceci est probablement dû au fait que dans nos expériences, la circulation normale est respectée et les substances étudiées apportées directement au contact des cellules.

2. Si l'on considère la brève augmentation de l'insulino-sécrétion provoquée par l'isoprénaline (fig. 4), elle paraît bien en rapport avec une action sur les récepteurs  $\beta$ . Elle est en effet supprimée et même inversée par le propranolol alors qu'elle n'est pas modifiée par la phénoxybenzamine (fig. 7). Ces résultats confirment ceux précédemment obtenus par Porte chez l'homme [16]. Cependant dans nos expériences *in vitro* sur le pancréas de rat, l'action stimulante de l'isoprénaline est moins durable que celle observée par cet auteur *in vivo* chez l'homme<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Depuis la date à laquelle nous avons remis cet article, nous avons publié des résultats obtenus chez le chien *in vivo* (Loubatières, A. L., Mariani, M. M., Savi, L. et Sorel, G.: «Étude pharmacologique du rôle des récepteurs bêta-

3. De l'ensemble des résultats que nous avons obtenus sur le pancréas isolé et perfusé du rat, il ressort que le rôle inhibiteur dû à l'activation des récepteurs  $\alpha$  adrénergiques est plus important que celui stimulant dû à l'activation des récepteurs  $\beta$  adrénergiques sur la régulation de l'insulinosécrétion. Trois arguments plaident en faveur d'une telle interprétation :

Si l'on considère les concentrations respectives de catécholamines utilisées (adrénaline et isoprénaline) la sensibilité des récepteurs  $\alpha$  est supérieure à celle des récepteurs  $\beta$  : les concentrations d'adrénaline de 0.0055  $\mu\text{M/l}$  permettent d'obtenir une inhibition nette de la sécrétion insulinique (par action sur les récepteurs  $\alpha$ ) alors qu'il n'apparaît aucune stimulation pour une concentration de 0.01  $\mu\text{M/l}$  d'isoprénaline (stimulant des récepteurs  $\beta$ ) (figs. 2 et 4).

D'autre part l'adrénaline à la concentration de 0.011  $\mu\text{M/l}$  en présence de phénoxybenzamine qui bloque les récepteurs  $\alpha$  ne permet pas, dans les conditions expérimentales où nous avons opéré, l'apparition d'un effet stimulant qui, théoriquement, devrait résulter de l'action excitante exercée par l'adrénaline sur les récepteurs  $\beta$  restés libres (fig. 5).

Enfin si l'on considère par ailleurs la durée d'action de ces substances, l'effet inhibiteur de l'adrénaline persiste et se maintient pendant la durée entière de l'infusion alors que l'effet stimulant de l'isoprénaline n'est qu'un phénomène temporaire et relativement fugace, suivi d'une inhibition progressive (fig. 4). Cette action biphasique de l'isoprénaline, comportant une diminution de la sécrétion relativement importante par rapport à la stimulation permet de donner une interprétation de l'effet inhibiteur de l'isoprénaline rapporté par Malaisse lors d'incubations prolongées de fragments de pancréas [12], la phase de stimulation étant passée inaperçue.

Dans cette étude des effets sur l'insulino-sécrétion, non seulement des catécholamines, mais aussi des substances bloquant les récepteurs adrénergiques, il nous paraît utile de souligner l'importance des concentrations utilisées pour ces dernières drogues. Ces substances, qu'elles soient alpha-bloquantes ou bêta-bloquantes sont susceptibles de ne pas modifier par elles-mêmes la sécrétion d'insuline ou bien de manifester des effets stimulants ou inhibiteurs, suivant leur concentration dans le liquide de perfusion et suivant la période où leur effet est étudié. Une démonstration de ce fait est donnée dans les figs. 8 et 9 où ces substances ont été utilisées à des concentrations progressivement croissantes, les concentrations les plus faibles (graphiques inférieurs) étant des concentrations où ces drogues manifestent un effet bloquant vis-à-vis des effets des catécholamines. Remarquer la différence de

adrénergiques dans l'insulino-sécrétion chez le chien», C.R. Soc. Biol. 164, 632-636 (1970).

Ces résultats sont à rapprocher de ceux de Porte quant à l'évolution de la sécrétion sous l'effet de l'isoprénaline : la stimulation insulinique persiste durant les 60 min de perfusion de la substance.

comportement de l'insulino-sécrétion lorsque de fortes doses sont utilisées ; remarquer également qu'alors, pour les deux drogues, on enregistre un effet biphasique : stimulation d'abord, inhibition ensuite. En ce qui concerne le propranolol, la première phase de stimulation confirme les résultats très fragmentaires signalés par Sussman [19] ; cependant on doit souligner qu'elle n'apparaît que pour des concentrations très élevées et qu'elle est de courte durée. En ce qui concerne l'effet inhibiteur secondaire du propranolol lorsqu'on l'utilise à fortes doses, il est utile de rappeler qu'en plus de son action bloquante au niveau des récepteurs  $\beta$  adrénergiques, cette substance manifeste lorsqu'elle est utilisée à doses suffisamment élevées, d'autres propriétés [15, 3, 4].

Les résultats obtenus en présence des drogues bloquantes adrénergiques, ne doivent donc être pris en pleine considération que dans les cas où les concentrations utilisées sont choisies d'une manière adéquate pour que ne se manifestent pas d'autres propriétés susceptibles d'interférer avec les actions résultant de leurs effets plus spécifiques sur les récepteurs adrénergiques.

En conclusion il convient de souligner que la sécrétion d'insuline est assurée d'abord et d'une manière fondamentale par la concentration en glucose dans le sang. C'est sur cette régulation fondamentale que peuvent s'exercer des actions modulatrices par l'intermédiaire des récepteurs adrénergiques, d'une part celle immédiate, profonde et durable des récepteurs alpha qui est orientée dans un sens inhibiteur, d'autre part celle plus fugace et moins importante des récepteurs bêta qui est orientée dans un sens stimulant. Remarquons cependant que l'importance respective de ces récepteurs a été, dans le cas présent, déterminée chez le rat ; Il est possible qu'il en soit différemment dans d'autres espèces animales.

#### Bibliographie

- Ahlquist, R. P.: A study of the adrenotropic receptors. Amer. J. Physiol. 153, 586-600 (1948).
- Adrenergic drugs. In: Pharmacology in Medicine, 2nd edition, Drill, V. A., Ed., 378-407. New York: McGraw-Hill 1958.
- Benfey, B. G., Varma, D. R.: Antisymphomimetic and antifibrillatory effects of pronethalol and propranolol. Brit. J. Pharmacol. 26, 3-8 (1966).
- Blinks, J. R.: Evaluation of the cardiac effects of several beta adrenergic blocking agents. Ann. N. Y. Acad. Sci. 139, 673-685 (1967).
- Coore, H. G., Randle, P. J.: Insulin secretion from rabbit pancreas in vitro. In: The structure and metabolism of the pancreatic islets, Brodin, S. E., Hellman, B., Knutson, H. edit., 295-309. Oxford: Pergamon Press 1964.
- Gliemann, J.: Assay of insulin-like activity by the isolated fat cell method. I. Factors influencing the response to crystalline insulin. Diabetologia 3, 382-388 (1967).
- Hales, C. N., Randle, P. J.: Immuno-assay of insulin with insulin-antibody precipitate. Biochem. J. 88, 137-146 (1963).



8. Loubatières, A., Mariani, M.M., Chapal, J.: Récepteurs adrénérgiques et insulino-sécrétion. 2ème Réunion de l'Association des Pharmacologistes, Clermont-Ferrand, 15 novembre 1969. *Journal de Pharmacologie* **1**, 157 (1970).
9. — — — Insulino-sécrétion étudiée sur le pancréas isolé et perfusé du rat. I. Synergie entre glucose et sulfamides hypoglycémisants. *Diabetologia* **6**, 457-466 (1970).
10. — — — Portal, A.: Action frénatrice de faibles doses d'adrénaline et de noradrénaline sur l'insulino-sécrétion étudiée sur le pancréas isolé et perfusé du rat. *C.R. Soc. Biol.* **161**, 2578-2582 (1967).
11. — — Ribes, G., De Malbosc, H., Chapal, J.: Etude expérimentale d'un nouveau sulfamide hypoglycémiant particulièrement actif, le HB 419 ou glibenclamide. I. Action bêta-cytotrope et insulino-sécrétoire. *Diabetologia* **5**, 1-10 (1969).
12. Malaisse, W., Malaisse-Lagae, F., Wright, P.H., Ashmore, J.: Effects of adrenergic and cholinergic agents upon insulin secretion in vitro. *Endocrinology* **80**, 975-978 (1967).
13. Mariani, M.M., Chapal, J., Loubatières, A.: Adrénaline, phénoxybenzamine et insulino-sécrétion. Etude sur le pancréas isolé et perfusé du rat. *C.R. Soc. Biol.* **163**, 700-703 (1969).
14. — — — Isoprénaline, propranolol et insulino-sécrétion. Etude sur le pancréas isolé et perfusé du rat. Filiale de Montpellier, Séance du 29 novembre 1969. *C.R. Soc. Biol.* **163**, 2390-2395 (1969).
15. Morales-Aguilera, A., Vaughan Williams, E.M.: The effects on cardiac muscle of beta receptor antagonists in relation to their activity as local anaesthetics. *Brit. J. Pharmacol.* **24**, 332-338 (1965).
16. Porte, D.: Beta adrenergic stimulation of insulin release in man. *Diabetes* **16**, 150-155 (1967).
17. — A receptor mechanism for the inhibition of insulin release by epinephrine in man. *J. clin. Invest.* **46**, 86-94 (1967).
18. — Graber, A.L., Kuzuya, T., Williams, R.H.: The effect of epinephrine on immunoreactive insulin levels in man. *J. clin. Invest.* **45**, 228-236 (1966).
19. Sussman, K.E., Stjernholm, M.R., Vaughan, G.D.: Propranolol and hypoglycaemia. *Lancet* **1967 I**, 626.

Prof. A. Loubatières  
Faculté de Médecine,  
Institut de Biologie,  
Boulevard Henri IV,  
Montpellier, France