Science & Sports 1997;12:77–9
© Elsevier, Paris

Note brève

Caractérisation in vitro des influences humorales catécholaminergiques et opiatergiques inhibant la sécrétion d'insuline de l'îlot de Langerhans à l'exercice

A Najimi, E Raynaud*, JF Brun, O Bouix, A Orsetti

Service d'exploration physiologique des hormones et des métabolismes, hôpital Lapeyronie, 271, avenue du Doyen-Giraud, 34295 Montpellier cedex 5, France

(Reçu le 19 décembre 1996 ; accepté le 11 février 1997)

Résumé – Des îlots de Langerhans prélevés chez des rats sédentaires et des rats entraînés ont été incubés avec des sérums de sujets ayant pratiqué deux types d'effort (endurance, aigu) et divers agents pharmacologiques : naloxone, isoproténérol, propranolol, phentolamine. Les résultats suggèrent une participation effective catécholaminergique et opiatergique dans l'adaptation insulinique au cours de l'exercice.

insuline / îlots de Langerhans / exercice / catécholamines / opioïdes endogènes

Summary – In vitro evidence that catecholamines and opiates inhibit insulin secretion in pancreatic islets via an humoral pathway. *Panceatic islets of sedentary and exercised rats were incubated with serum of exercised patients, naloxone, isoprotenerol, propranolol, phentolamine. Results support the concept that exercise-induced inhibition of insulin release, which is supposed to result from a neural input, is also mediated by humoral action of opiates and catecholamines, since this action can be mimicked with serum of exercising subjects and is counteracted by naloxone and the α-blocker phentolamine.*

insulin / islets / exercise / catecholamines / opioid

L'exercice musculaire s'accompagne d'une diminution de l'insulinémie, résultant d'un effet sympathique α_2-adrénergique inhibiteur sur le pancréas [1]. L'activation des récepteurs β-adrénergiques des cellules β entraîne un effet inverse, et elle stimule donc la sécrétion d'insuline. Cette régulation de la sécrétion d'insuline par l'îlot de Langerhans à l'exercice semblerait s'expliquer par la sommation d'influences humorales et d'effets du système nerveux végétatif. Les catécholamines circulantes, qui s'élèvent de façon importante lors de l'exercice, devraient logiquement être un élément majeur de la régulation humorale. L'existence de ce mécanisme humoral concourant à l'inhibition de l'insulinosécrétion a cependant été niée [3].

Un autre modulateur potentiel de l'insulinosécrétion à l'exercice est le système des opiacés endogènes. Le rôle exact de la β-endorphine sur la sécrétion d'insuline

**Correspondance et tirés à part :* E Raynaud, même adresse.

demeure controversé. Chez le rat, la β-endorphine semble réduire la concentration plasmatique d'insuline. Chez l'homme, la β-endorphine inhibe l'insulinosécrétion induite par le glucose [2]. Par ailleurs, la β-endorphine produit une augmentation de la concentration plasmatique de noradrénaline et d'adrénaline. On peut donc penser que la libération de β-endorphine au niveau du système nerveux central participerait à la régulation de la production de catécholamines par la médullosurrénale et les terminaisons nerveuses sympathiques.

Dans ces conditions, il devient difficile de différencier in vivo les effets respectifs de ces deux systèmes sur l'insulinosécrétion. Nous proposons donc un modèle d'étude différentiel in vitro de ces diverses influences.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Des rats mâles de souche Wistar, de poids compris entre 200 et 250 g, ont été utilisés. Nous avons travaillé sur des rats sédentaires et sur des rats tenus de nager par groupe de trois jusqu'à épuisement (durée moyenne : 3 heures), dans une eau maintenue à 35 °C.

Pour l'isolement des îlots de Langerhans, nous avons utilisé une méthode dérivant de celle de Lacy et Kostianovsky [4]. En résumé, les rats sont pesés et anesthésiés par injection intrapéritonéale de pentobarbital sodique, à raison de 0,5 mL/kg de poids corporel. Après ablation, le pancréas est lavé et découpé en petits morceaux (1 à 2 mm de section) à l'intérieur d'un mortier disposé dans un bac à glace. Le tissu pancréatique est digéré à 37 °C par action de la collagénase (Serva, 4 mg d'enzyme pour 1 mL de tissu) pendant 10 minutes. Trois lavages successifs dans une solution de Hanks à + 4 °C permettent d'arrêter la digestion et d'éliminer l'enzyme. Le culot de centrifugation obtenu après le troisième lavage est repris dans la solution de Hanks et vigoureusement agité. Les îlots sont prélevés sous loupe binoculaire et placés dans des boîtes de Pétri en milieu RPMI 1640 (Sigma) supplémenté de sérum de veau nouveau-né (10 %), d'antibiotiques (pénicilline 100 U/mL, streptomycine 0,1 mg/mL, amphotéricine B 100 U/mL) et de glucose.

Parallèlement, nous avons collecté des sérums à partir de prélèvements effectués chez des sujets participant à des épreuves d'effort sur cycle-ergomètre (Bodyguard). Deux types de sérums ont été utilisés : sérum dit « d'endurance », prélevé chez des sujets juste avant la fin d'un exercice à intensité modérée (60 % de la fréquence cardiaque maximale théorique pendant 3 heures) ; sérum dit « d'exercice submaximal », prélevé juste avant la fin d'un effort à 80 % de la fréquence cardiaque maximale théorique, pendant 25 minutes.

Les îlots sont préincubés 1 heure dans une solution de glucose à 2 g/L. Pour chaque expérience, dix îlots sont incubés à 37 °C sous 95 % d'O_2 et 5 % de CO_2 en atmosphère humide, dans 2 mL de milieu RPMI 1640 supplémenté de BSA à 1 %. Cette préparation est additionnée de l'un ou l'autre des sérums définis ci-dessus, associés ou non à différents principes actifs (naloxone 0,1 ng/mL, phentolamine 2 μM : alphabloquant, propranolol 2 μM : antagoniste β, isoproténérol 0,01 ng/mL : agoniste β).

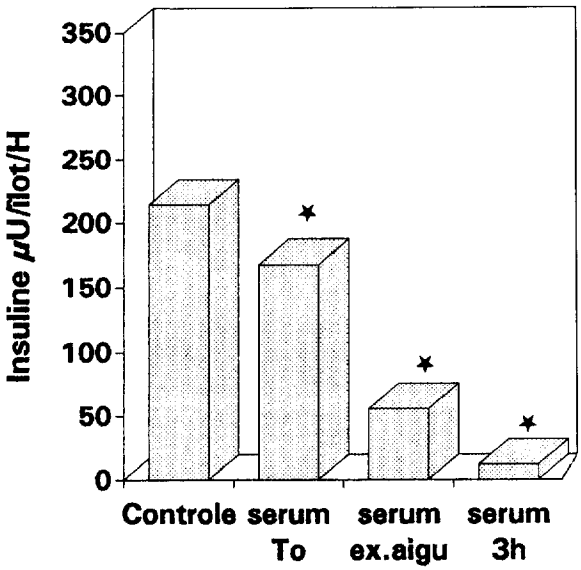

Fig 1. Effet sur l'insulinosécrétion des îlots de Langerhans de rats sédentaires d'un sérum prélevé au repos (T0), d'un sérum prélevé lors d'un exercice submaximal (ex.aigu) et d'un sérum prélevé lors d'un exercice prolongé de 3 heures (sérum 3h). $*p < 0{,}01$.

Les prélèvements en vue du dosage de l'insuline se font après 1 heure d'incubation.

L'insuline est dosée par radio-immunologie. La trousse utilisée (INSIK-5, Sorin Biomedica) est caractérisée par un croisement à 100 % entre l'insuline humaine et l'insuline murine, avec des coefficients de variation intraessai de 6,6 % pour une concentration de 24,1 μU/mL et de 10,6 % à 73,6 μU/mL.

Les valeurs sont données en moyenne ± erreur standard sur la moyenne (SEM). Les comparaisons entre les différentes situations expérimentales ont été effectuées globalement par analyse de variance à un facteur (Anova), puis par le test de Student pour valeurs appariées. Le seuil de significativité a été fixé à $p < 0{,}05$.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

La figure 1 montre l'effet des différents sérums humains sur l'insulinosécrétion des îlots de Langerhans de rats sédentaires. Le sérum prélevé au temps de base

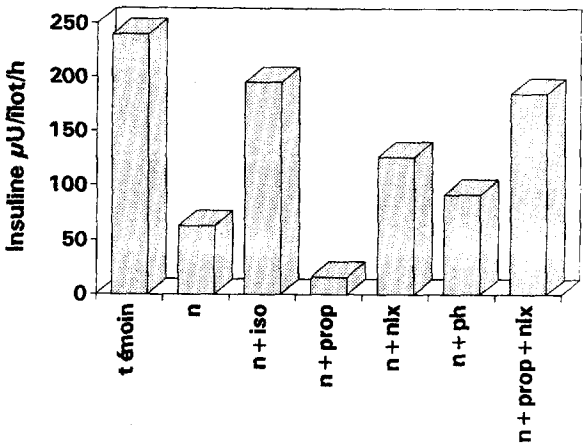

Fig 2. Effet sur l'insulinosécrétion des îlots de Langerhans de rats ayant nagé jusqu'à épuisement. n : rat ayant nagé ; iso : isoproténérol ; prop : propranolol ; nlx : naloxone ; ph : phentolamine.

T0, soit au repos, n'a qu'une action inhibitrice discrète sur l'insulinosécrétion (21,5 %, $p < 0{,}01$). Le sérum d'exercice submaximal présente une action inhibitrice de 74 % ($p < 0{,}01$). Le sérum d'endurance abaisse de 94 % ($p < 0{,}01$) l'insulinosécrétion. La différence entre ces deux derniers sérums est très significative ($p < 0{,}01$).

La figure 2 montre l'effet de différents agents pharmacologiques sur l'insulinosécrétion des îlots de Langerhans de rats ayant nagé jusqu'à épuisement. Sans addition d'agents pharmacologiques, la sécrétion d'insuline est plus faible de 68 % par rapport à des îlots témoins prélevés sur des rats au repos.

L'addition de phentolamine (2 µM), alphabloquant, augmente de 40 % la sécrétion d'insuline ($p < 0{,}05$). Le propranolol (2 µM), antagoniste β, provoque une réduction de 86 % de l'insulinosécrétion. Inversement, l'isoproténérol (0,01 ng/mL), agoniste β, stimule la sécrétion d'insuline de 210 % ($p < 0{,}01$). La naloxone (0,1 ng/mL), antagoniste des opiacés, entraîne un doublement de la sécrétion d'insuline, qui passe de 63 µU par îlot par heure à 122 µU par îlot par heure. L'association naloxone + propranolol supprime l'effet inhibiteur imputable au propranolol.

L'insulinosécrétion est donc plus ou moins diminuée par addition des différents sérums humains prélevés en postexercice. Cet effet, tout à fait analogue à celui observé avec une incubation d'adrénaline, laisse donc supposer que l'inhibition observée pourrait s'expliquer par la présence de catécholamines dans les sérums utilisés. Cependant, cette hypothèse s'oppose aux conclusions de Hermina et al [3], qui pensent que les catécholamines circulantes n'ont aucun rôle dans l'inhibition de l'insulinosécrétion à l'exercice. Nos expériences de blocage adrénergique in vitro sont au contraire en faveur de cette hypothèse : le blocage de l'insulinosécrétion par la phentolamine (alphabloquant) suggère clairement une intervention des catécholamines circulantes, agissant directement sur l'îlot de Langerhans par voie humorale.

À côté des catécholamines circulantes, un autre mécanisme humoral pourrait participer à la régulation de l'insulinosécrétion lors de l'exercice : le système des peptides opioïdes endogènes. En effet, nous observons que la naloxone, antagoniste opioïde µ, lève en partie l'inhibition de l'insulinosécrétion provoquée par le propranolol. On peut donc supposer que les peptides opioïdes endogènes participent à l'inhibition de l'insulinosécrétion à l'exercice, en synergie avec les catécholamines.

L'effet inhibiteur de l'exercice sur la réponse insulinique des îlots de Langerhans persiste in vitro lorsque les îlots sont isolés de l'organisme. Il s'agit donc d'une modification fonctionnelle durable des cellules β lors de l'activité musculaire. Cette inhibition peut être contrecarrée par des alphabloquants et par la naloxone, ce qui suggère que les catécholamines, par un effet alpha, et les opiacés endogènes, par un effet µ, réalisent en synergie une inhibition de la sécrétion d'insuline, jouant un rôle dans cette adaptation à l'exercice.

Au total, ces expériences in vitro suggèrent, contrairement aux conclusions de Hermina et al [3], une incidence certaine des modifications humorales catécholaminergiques et opiatergiques induites par l'exercice sur l'insulinosécrétion par l'îlot de Langerhans. Cette adaptation est durable, puisqu'elle persiste sur l'îlot isolé après exercice.

RÉFÉRENCES

1 Galbo H. *Hormonal and metabolic adaptation to exercise*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 1983

2 Giugliano D, Cozzolino D, Salvatore T, Ceriello A, Torella R. Dual effect of beta-endorphin on insulin secretion in man. *Horm Metab Res* 1987;19:502-3

3 Hermina H, Fränkel KMA, Strubbe JH, Suylichem PTR, Anton BS. Role of sympathoadrenal system in exercise-induced inhibition of insulin secretion. Effects of islets transplantation. *Diabetes* 1995;44:565-71

4 Lacy PE, Kostianovsky M. Method for the isolation of intact islets of Langerhans from the rat pancreas. *Diabetes* 1967;16:35-9