

<b>Zeitschrift:</b>	Bulletin de la Société Vaudoise des Sciences Naturelles
<b>Herausgeber:</b>	Société Vaudoise des Sciences Naturelles
<b>Band:</b>	70 (1968-1970)
<b>Heft:</b>	330
<b>Artikel:</b>	Étude de facteurs susceptibles de modifier l'activité insulinaire du sang
<b>Autor:</b>	Ruedi-Bettex, Madeleine
<b>DOI:</b>	<a href="https://doi.org/10.5169/seals-276262">https://doi.org/10.5169/seals-276262</a>

### **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. [Mehr erfahren](#)

### **Conditions d'utilisation**

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. [En savoir plus](#)

### **Terms of use**

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. [Find out more](#)

**Download PDF:** 12.01.2026

**ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>**

## Etude de facteurs susceptibles de modifier l'activité insulinaire du sang

PAR

MADELEINE RUEDI-BETTEX

### *Summary*

Blood insulin activity variations have been studied in relation to oxygenation and deoxygenation of the intact erythrocytes, of stroma and of hemoglobin. The importance of insulin- $I^{131}$  adsorption to different containers and its prevention has also been investigated.

### INTRODUCTION

Peu de molécules protidiques ont reçu autant d'attention que l'insuline. Son histoire est jalonnée de faits marquants : la découverte par LANGERHANS (1869) des structures pancréatiques qui portent son nom, l'observation par von MERING et MINKOWSKI (1890) d'un diabète expérimental fatal provoqué chez le chien par pancréatectomie totale, l'extraction pancréatique de l'hormone pratiquée avec succès par BANTING et BEST (1921), et les applications cliniques qui suivirent aussitôt. L'élucidation de sa structure chimique (SANGER, 1960) reste un des points saillants de la biochimie moderne et sa récente synthèse (KATSOYANNIS, 1964) vient couronner cette lignée de recherches. Si les effets biologiques de l'insuline sur le métabolisme gluco-lipidique sont bien connus et largement appliqués en clinique, il n'en reste pas moins que son mode d'action au niveau cellulaire n'a pas encore trouvé une explication satisfaisante et que diverses théories s'affrontent actuellement au sujet de ses formes de sécrétion et de transport sanguin. Les discordances entre les taux insuliniques fournis par les diverses méthodes de dosage actuellement disponibles (méthodes biologiques utilisant le muscle dia-phragmatique ou le tissu adipeux épидidymaire de rat, méthodes immuno-logiques et immunoélectrophorétiques) ainsi que les données contradictoires présentées par de nombreux travaux ont attiré l'attention sur la présence d'antagonistes et d'inhibiteurs sériques de l'insuline.

Les travaux de YOUNG (1961) et de GARDINER et coll. (1960) démontrent des variations d'activité insulinaire du sérum suivant l'état d'oxygénéation du sang, l'oxygénéation *in vivo* et *in vitro* augmentant l'activité

insulinique sérique à condition que les érythrocytes soient présents. Ces résultats nous incitent à étudier les points suivants :

- Fixation et libération d'insuline endogène et d'insuline iodinée par des érythrocytes intacts suivant leur degré d'oxygénéation.
- Variations de l'activité insulinique de plasma ou de sérum humains ou de solutions d'insuline bovine entraînées par leur incubation avec des stromas érythrocytaires oxygénés ou désoxygénés, élution secondaire de ces stromas par divers éluants et mesure de l'effet stimulant ou dépressif de l'éluat sur l'activité biologique d'une solution d'insuline bovine de taux connu.
- Possibilités de liaison de l'insuline- $I^{131}$  avec l'hémoglobine et variation de cette liaison suivant l'état d'oxygénéation.
- Possibilités de liaison d'insuline avec certaines protéines sériques : liaison d'insuline iodinée dans des expériences d'ultracentrifugation du même type que celles réalisées par YALOW et BERSON (1961 a), liaison d'insuline endogène étudiée par liaison compétitive d'insuline- $I^{131}$  avec son anticorps spécifique dans le système immunologique de HALES et RANDLE (1963).
- Rôle joué par certaines surfaces (verre, plastique, verre siliconé) dans l'adsorption de l'insuline- $I^{131}$  et sa prévention par des solutions protéiques.

#### MATÉRIEL ET MÉTHODES

Le sang utilisé a été fourni par le Centre de transfusion de la Croix-Rouge à Lausanne. Pour les expériences utilisant les érythrocytes, le sang est prélevé en solution ACD, pour celles utilisant les plasmas, il est recueilli dans une solution de citrate de sodium sans dextrose.

L'insuline bovine cristalline pure est fournie par « Burrough Wellcome & Co », Londres. Les solutions sont additionnées de 0,1 % d'albumine bovine pure ou de 0,2 % de gélatine pour éviter l'adsorption de l'insuline à la verrerie.

L'insuline iodinée est fournie par « Hoechst & Co », Frankfurt-Main (insuline- $I^{131}$ ).

Les dosages insuliniques sont exécutés suivant :

- la méthode biologique du tissu adipeux epididymaire de rat décrite par MARTIN et coll. (1958) ;
- la méthode immunologique décrite par HALES et RANDLE (1963).

Les appareils utilisés pour les mesures de radioactivité sont des compteurs Nuclear, Chicago, Model 181 B, C 115 et C 120-1.

#### I. INSULINE ET ÉRYTHROCYTES INTACTS

*Fixation et libération d'insuline endogène par les érythrocytes humains* : Du sang complet en solution ACD est oxygéné ou désaturé, puis les érythrocytes

isolés du plasma sont soumis à un lavage par du chlorure de sodium physiologique en présence d'oxygène de manière à réaliser les conditions où l'érythrocyte est supposé le moins apte à retenir l'insuline qu'il aurait fixée au contact du plasma. Le dosage immunologique d'insuline pratiqué dans les liquides de lavage permet de comparer la libération d'insuline par les érythrocytes suivant leur degré d'oxygénéation.

*Fixation d'insuline iodinée sur des érythrocytes humains :* Les érythrocytes humains sont lavés en présence d'oxygène avec l'idée de les libérer au maximum de l'insuline endogène plasmatique qui pourrait être attachée à leur surface. Ils sont secondairement désaturés par du gaz carbonique puis incubés avec des solutions d'insuline-I<sup>131</sup> à diverses concentrations et séparés en deux groupes distincts d'échantillons, dont les uns sont alors lavés en présence d'oxygène, les autres en présence de gaz carbonique, jusqu'au moment où la radioactivité des culots globulaires ne varie plus. La mesure de la radioactivité dans les culots permet de calculer le pourcentage de fixation d'insuline marquée sur les érythrocytes suivant leur degré d'oxygénéation.

La concentration de la suspension globulaire est telle que 0,5 ml de cette suspension additionné de 7,0 ml d'eau distillée donne une extinction de 0,600 à une longueur d'onde de 546 mμ. Elle contient environ 10<sup>6</sup> globules/mm<sup>3</sup> et 0,96 % d'hémoglobine. 0,1 ml de cette suspension d'hématies est incubé avec 0,3 ml de solution d'insuline-I<sup>131</sup> en concentrations telles que chaque échantillon contienne finalement 1000 ou 100 mμg, soit 2500 ou 250 mμg/ml.

## II. INSULINE ET STROMAS ÉRYTHROCYTAIRES

Les possibilités de liaison de l'insuline aux stromas érythrocytaires ont été étudiées, dans une première étape, par l'incubation de stromas avec du plasma ou du sérum humains et avec des solutions d'insuline bovine cristalline. Ces expériences ont été réalisées dans diverses conditions d'oxygénéation. L'activité insulinaire des solutions incubées avec les stromas a été testée par la méthode du tissu adipeux. Ultérieurement à cette incubation, les stromas ont subi diverses élutions et l'activité insulinaire des éluats a été dosée par la méthode du tissu adipeux.

Les stromas érythrocytaires sont préparés par lyse d'érythrocytes humains (prélevés par centrifugation dans du sang citraté) avec de l'eau distillée ou par congélation. Après plusieurs lavages et centrifugations à 22 600 g les stromas sont utilisés en suspension dans du chlorure de sodium physiologique. Leur concentration est déterminée par leur teneur en azote dosée par la méthode de Kjeldahl, ou par leur poids sec après carbonisation et dessiccation.

Les plasmas ou sérums incubés avec les stromas sont préparés à 4°C puis congelés jusqu'à l'emploi.

*Incubation des stromas avec du plasma ou du sérum :* La suspension de stromas homogénéisée est incubée avec du plasma ou du sérum dans une proportion de 1/10 environ, la concentration de stromas dans le milieu d'incubation est de 0,18-1,14 mg d'azote/ml. La dilution du plasma ou du sérum est au maximum de 1/1,3.

L'incubation se poursuit à 4°C pendant 4 heures puis à 0°C pendant 2 heures. Les stromas sont éliminés par centrifugation, la solution surnageante est

décantée et congelée jusqu'au dosage insulinaire. Dans certaines expériences la suspension de stromas est oxygénée ou désaturée avant l'incubation dans un flux d'oxygène ou de gaz carbonique pendant 5 minutes. Des témoins ont été réalisés en remplaçant la suspension de stromas par du chlorure de sodium physiologique.

*Incubation des stromas avec des solutions d'insuline bovine cristalline :* Les solutions sont préparées avec de l'insuline bovine cristalline pure dissoute dans du chlorure de sodium physiologique ou dans les tampons utilisés pour les standards des essais biologiques ou immunologiques de dosage insulinaire. Pour éviter les phénomènes d'adsorption, les solutions contiennent 200 mg % de gélatine. L'incubation de ces solutions est en tous points superposable à celle faite avec du plasma ou du sérum.

*Elution des stromas :* Le culot de stromas obtenu par centrifugation après incubation avec le plasma ou le sérum est lavé à trois reprises par du chlorure de sodium (NaCl 0,15 M, puis deux fois NaCl 0,05 M). Le culot suspendu dans de l'eau distillée ou du chlorure de sodium physiologique est soumis à divers éluants choisis de manière à éviter qu'ils n'exercent à eux seuls une activité dépressive sur le test biologique :

- borohydrure de sodium 0,1 et 0,05 M (fourni par « Merck », Darmstadt) ;
- chlorure de sodium physiologique.

Après une incubation de 60 à 90 minutes, les stromas sont éliminés par centrifugation et le pH ajusté entre 7,1 et 7,4. L'activité insulinaire ou antagoniste de l'insuline de ces éluats est dosée de la manière suivante : un volume déterminé d'éluat est incubé avec un volume identique de plasma ou de solution d'insuline bovine d'activité connue et soumis au dosage insulinaire par la méthode du tissu adipeux.

### III. INSULINE ET HÉMOGLOBINE

*Préparation d'une solution d'hémoglobine :* des érythrocytes humains sont lysés par congélation et décongélation, les stromas sont éliminés par centrifugation à 14 350 g et le surnageant est dialysé contre du chlorure de sodium physiologique.

*Séparation d'hémoglobine et d'insuline-I<sup>131</sup> sur gel Séphadex G 100 :* Des essais préliminaires ont permis de montrer que le gel Séphadex G 100 est le plus adéquat pour la séparation d'insuline-I<sup>131</sup> et d'hémoglobine. On utilise des colonnes de 10 ml de Séphadex G 100 équilibrées avec du tampon phosphate et chlorure de sodium pH 6,7. Trois colonnes identiques reçoivent chacune 0,5 ml d'un mélange contenant 1 % d'hémoglobine, 2,5 µg d'insuline-I<sup>131</sup> et 0,5 mg d'albumine bovine (pour éviter l'adsorption d'insuline). Ces échantillons ont été incubés pendant 18 h à 2°C, soit en présence d'oxygène, soit en présence d'azote ou de gaz carbonique. Dans les cas où l'hémoglobine est désaturée, on utilise du tampon désaturé par de l'azote pour équilibrer et laver la colonne et celle-ci est constamment maintenue dans une atmosphère d'azote. On récolte des fractions de 0,5 ml dans lesquelles la présence d'hémoglobine est notée par la coloration de l'effluent et celle de l'insuline par la radio-activité de l'effluent.

#### IV. INSULINE ET PROTÉINES SÉRIQUES

*Ultracentrifugation d'insuline iodinée incubée avec du sérum :* De l'insuline-I<sup>131</sup> en concentration variable (75, 7,5 et 0,75 m $\mu$ g/ml) est incubée avec du sérum humain normal, puis ultracentrifugée dans une ultracentrifuge Spinco (rotor 50) pendant 14 h à 30 000 rpm dans des tubes de nitrocellulose. Chaque tube est congelé à -60°C et fractionné en segments de 1 ml dont la radioactivité est mesurée dans un compteur à scintillation et rapportée en pourcent de la radioactivité totale du tube.

*Epreuve de fixation compétitive d'insuline iodinée par son anticorps spécifique ou par des protéines sériques :* Un système immunologique analogue à celui préconisé par HALES et RANDLE (1963) pour le dosage immunologique de l'insuline est utilisé dans cette expérience. On mesure la fixation d'insuline-I<sup>131</sup> sur le complexe d'anticorps en fonction du temps, dans divers milieux protéiques (sérum, tampon contenant 7 % ou 0,1 % d'albumine humaine et un taux d'insuline bovine équivalent à celui d'insuline endogène du sérum que l'on dose préalablement) et en utilisant de l'insuline iodinée âgée de quelques jours à 13 jours.

#### V. ADSORPTION D'INSULINE IODINÉE DANS DES RÉCIPIENTS DE VERRE OU DE PLASTIQUE

Les récipients utilisés sont les tubes standard en verre (brut ou siliconé avec du Rodosil 240 de « Rhône Poulenc », Paris) ou en plastique du compteur à scintillation « Nuclear », Chicago. La solution d'insuline iodinée est diluée dans un premier tube A à 4 ml, puis trois fractions de 1 ml sont transvasées à l'aide d'une seringue dans trois autres tubes identiques B, C, D. La radioactivité de chaque tube est indiquée en pourcent de la radioactivité totale des quatre fractions. L'insuline a été utilisée à diverses concentrations, à des âges variables après la iodination et diluée dans du sérum humain, de l'albumine bovine ou de la gélatine.

### RÉSULTATS ET DISCUSSION

Ce travail est basé sur l'observation d'une augmentation de l'activité insulinique mesurée biologiquement dans le sérum de sang oxygéné par rapport au sang désoxygéné (YOUNG, 1961), phénomène qui nécessite la présence des érythrocytes. Deux hypothèses ont été retenues pour rendre compte de cet effet : l'oxygénation agirait soit sur les affinités d'un antagoniste de l'insuline (GARDINER et coll., 1960) soit sur celles de l'insuline elle-même. Les possibilités de liaison de l'insuline avec

- a) l'érythrocyte intact
- b) les stromas érythrocytaires
- c) l'hémoglobine
- d) les protéines sériques

ont été envisagées successivement dans diverses conditions d'oxygénation.

a) *Erythrocyte intact*

L'hypothèse selon laquelle l'affinité de l'insuline pour les érythrocytes serait influencée par leur degré d'oxygénation est confirmée par la possibilité d'éluer des quantités différentes d'insuline immunologiquement réactive de la surface des érythrocytes suivant les conditions réalisées. Ainsi, l'oxygénation diminue cette affinité, rendant les érythrocytes moins aptes à fixer de l'insuline au contact du plasma, et permettant d'éluer une certaine quantité d'insuline présente à leur surface et qui ne peut être éluée si le milieu est désaturé.

TABLEAU 1

EFFET DE L'OXYGÉNATION ET DE LA DÉSATURATION SUR LA FIXATION D'INSULINE ENDOGÈNE PAR L'ÉRYTHROCYTE INTACT (DOSAGE IMMUNOLOGIQUE D'INSULINE DANS LE TAMPON AYANT SERVI AU LAVAGE D'ÉRYTHROCYTES)

Expérience	Dosage du taux insulinique en m $\mu$ g/ml de tampon. Valeurs moyennes et individuelles					
	Erythrocytes oxygénés			Erythrocytes désaturés		
1	0	(0	0 )	0,25	(0,25	0,25)
2	1,1	(1,2	1,0)	1,25	(1,5	1,0 )
3	5,0	(5,5	4,5)	6,7	(6,6	6,8 )

L'augmentation de la fixation d'insuline-I<sup>131</sup> par des érythrocytes désaturés par rapport à celle d'érythrocytes oxygénés n'est pas exclue, mais la différence observée n'est pas significative. Une différence de comportement n'a pas pu être mise en évidence dans une tentative d'hémagglutination d'érythrocytes oxygénés ou désaturés en présence d'insuline endogène plasmatique ou d'insuline bovine et secondairement incubés avec des anticorps anti-insuline. Ce fait n'est pas surprenant, des expériences ultérieures conduites par JACOT-GUILLARMOD et ISLIKER (1964) ayant montré qu'une substance fixée aux érythrocytes ne produit une agglutination par des anticorps que si cette substance est fixée par des liaisons spécifiques ou si elle fait partie intégrante de la surface érythrocytaire.

b) *Stromas érythrocytaires*

L'incubation de sérum avec des stromas érythrocytaires augmente l'activité insulinique sérique mesurée biologiquement par le tissu adipeux.

TABLEAU 2

EFFET DE L'INCUBATION DE PLASMA OU DE SÉRUM AVEC DES STROMAS SUR L'ACTIVITÉ INSULINIQUE PLASMATIQUE OU SÉRIQUE (ILA = « INSULIN LIKE ACTIVITY »), DÉTERMINÉE PAR LA MÉTHODE DU TISSU ADIPEUX

Expérience	Dilution du plasma ou serum	Quantité de stromas par ml d'échantillon		ILA ( $\mu$ U/ml)	
		mg poids sec	mg azote	Echantillon	Témoin
1	1/1,3	15,6	pas mesuré	248	142
2	1/1,3	15,6	» »	357	151
3	1/1,3	10,0	» »	268	136
4	1/1,3	10,0	» »	290	133
5	1/1,3	10,0	» »	263	136
6	1/1,3	10,0	» »	212	133
7	1/1,3	10,0	1,14	372	200
8	1/1,3	10,0	1,14	290	239
9	1/1,1	pas mesuré	0,31	> 500	360
Valeurs moyennes (1-8) $\pm$ erreur moyenne de la moyenne				287 $\pm$ 36	167 $\pm$ 18

N. B. — Les témoins sont obtenus en remplaçant la suspension de stromas par du chlorure de sodium physiologique.

Une augmentation analogue n'est pas observée pour des échantillons identiques soumis au dosage immunologique. La valeur moyenne obtenue pour les sérum incubés avec les stromas est de  $2,95 \pm 0,28 \text{ m}\mu\text{g/ml}$  (= erreur moyenne de la moyenne) et de  $3,3 \pm 0,47 \text{ m}\mu\text{g/ml}$  pour les témoins.

L'oxygénation ou la désaturation des stromas n'intervient pas dans l'augmentation de l'activité insulinique biologique du serum incubé avec les stromas.

L'incubation de solutions d'insuline bovine cristalline avec des stromas augmente significativement ( $P < 0,05$ ) l'activité biologique de la solution, mais ce fait n'a pas pu être confirmé par des déterminations immunologiques. Il semble que les stromas soient capables de libérer une substance d'activité biologique « pseudo insulinique » au contact du serum, du plasma ou de solutions d'insuline, ou encore lors du lavage par du chlorure de sodium physiologique ou d'autres éluants. Il est peu probable que l'augmentation de l'activité insulinique du serum ou du plasma incubés avec les stromas soit due à l'adsorption sur les stromas d'un facteur sérique ou plasmatique inhibiteur de l'insuline ou de la

prise de glucose par le tissu adipeux, puisque cette augmentation apparaît aussi en incubant des solutions d'insuline pure.

L'élution des stromas, préalablement incubés avec du sérum, par du chlorure de sodium physiologique ou du borohydrure de sodium 0,05 M produit une nette stimulation de la prise de glucose par le tissu adipeux. L'activité insulinaire éluée des stromas s'épuise lorsque l'élution est répétée, quel que soit l'éluant. En revanche, trois lavages par du chlorure de sodium physiologique avant l'incubation avec le sérum n'empêchent pas les stromas d'augmenter l'activité du sérum incubé, par rapport au tissu adipeux. Autant de faits paradoxaux qui laissent supposer que les stromas jouent le rôle de surface adsorbante aussi bien pour l'insuline que pour des substances capables d'interférer dans le test biologique du tissu adipeux, mais dont l'activité ne semble pas spécifique de l'insuline et ne peut être décelée par le test immunologique.

### c) *Hémoglobine*

Pour étudier une éventuelle liaison de l'insuline avec l'hémoglobine, liaison qui pourrait s'expliquer par leurs points isoélectriques différents, deux méthodes ont été envisagées.

1<sup>o</sup> Une tentative de précipitation de l'hémoglobine par de l'acétate de zinc a été infructueuse pour séparer un éventuel complexe « hémoglobine-insuline- $I^{131}$  » de l'insuline libre, car elle entraîne de manière non sélective l'insuline dans le précipité d'hémoglobine.

2<sup>o</sup> La séparation d'insuline et d'hémoglobine peut être réalisée par filtration sur gel Séphadex G 100, l'hémoglobine apparaissant dans l'effluent avant l'insuline- $I^{131}$  (fig. 1).

Le pourcentage de radioactivité de l'insuline iodinée mesurée dans les fractions contenant de l'hémoglobine (fractions 8-17) est de 10 % pour l'oxyhémoglobine et de 15 % pour l'hémoglobine désaturée soit par de l'azote soit par du gaz carbonique. La radioactivité apparaissant dans les fractions 16 et 17, où la différence entre oxyhémoglobine et hémoglobine désaturée est la plus marquée, est-elle due à une liaison entre insuline et hémoglobine ? On observe, en effet, une certaine radioactivité inscrite dans cette zone, même en l'absence d'hémoglobine. La proportion de cette radioactivité est la même lorsque l'insuline est filtrée seule ou après incubation avec de l'oxyhémoglobine, et représente 6 % de la radioactivité totale. En revanche, elle est plus élevée de 4-5 % lorsque l'insuline a été incubée avec de l'hémoglobine désaturée. Le traitement de l'insuline par de l'azote sans incubation avec l'hémoglobine provoque un dédoublement du pic radioactif de l'effluent, le premier pic se situant dans les dernières fractions où l'hémoglobine apparaît. La

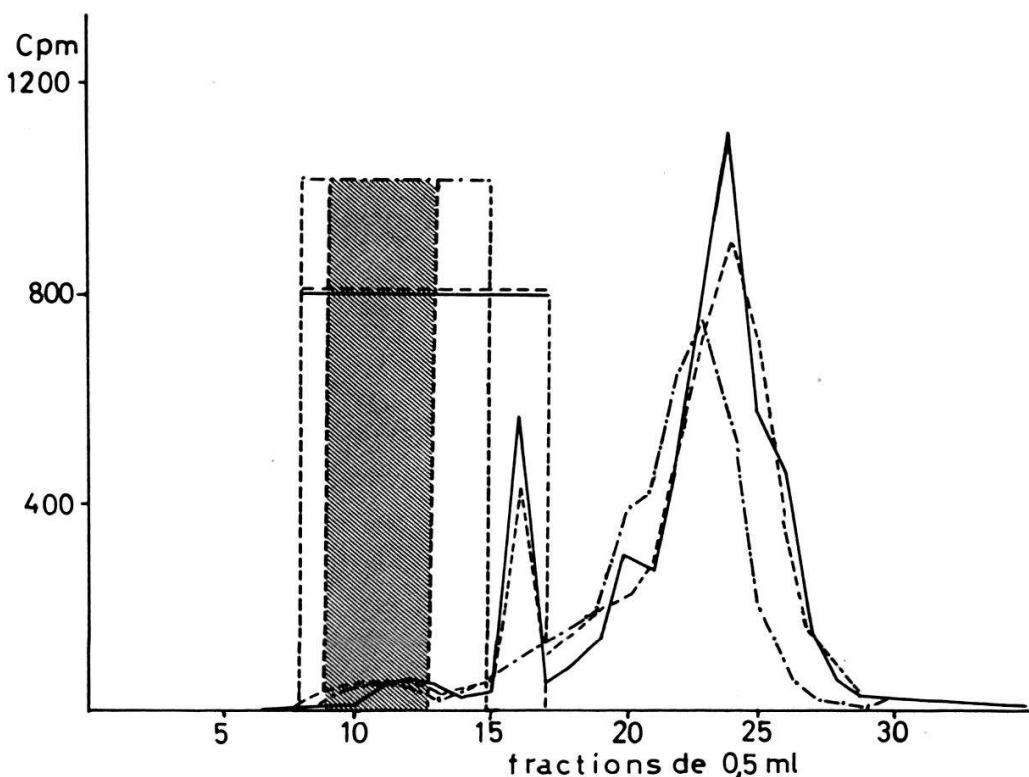


Fig. 1. — Filtration sur gel Séphadex G 100 (colonne de 10 ml) d'hémoglobine oxygénée ou désaturée incubée avec de l'insuline- $I^{131}$ . Les courbes indiquées représentent la radioactivité de l'effluent, les surfaces délimitées par un pointillé notent la présence de la coloration due à l'hémoglobine. La surface hachurée indique les fractions où cette coloration est la plus intense.

— Insuline- $I^{131}$  incubée avec de l'hémoglobine désaturée par  $CO_2$   
 - - - - Insuline- $I^{131}$  incubée avec de l'hémoglobine désaturée par  $N_2$   
 - - - - - Insuline- $I^{131}$  incubée avec de l'oxyhémoglobine

présence de radioactivité dans ces fractions (16-17) lorsqu'on filtre un incubat d'insuline et d'hémoglobine désaturée ne peut donc être interprétée comme résultant d'une liaison entre l'insuline et l'hémoglobine désaturée par opposition à ce que l'on observe pour l'oxyhémoglobine. Il est certain, en revanche, que la différence notée est en relation avec le degré d'oxygénéation de l'insuline.

Les tests biologiques et immunologiques de dosage insulinique sont perturbés lorsque le sang est hémolysé. Les dosages biologiques et immunologiques d'insuline en présence d'hémoglobine attestent une inhibition de l'activité insulinique observée en relation avec le taux d'hémoglobine dans le milieu d'incubation pour des valeurs variant entre 0,1 et 1 %. L'inhibition due à un taux d'hémoglobine de 1 % affecte 60 % de l'activité insulinique. L'augmentation au-delà de 1 % ne semble pas accroître sensiblement cette inhibition (fig. 2 et 3, p. 210).

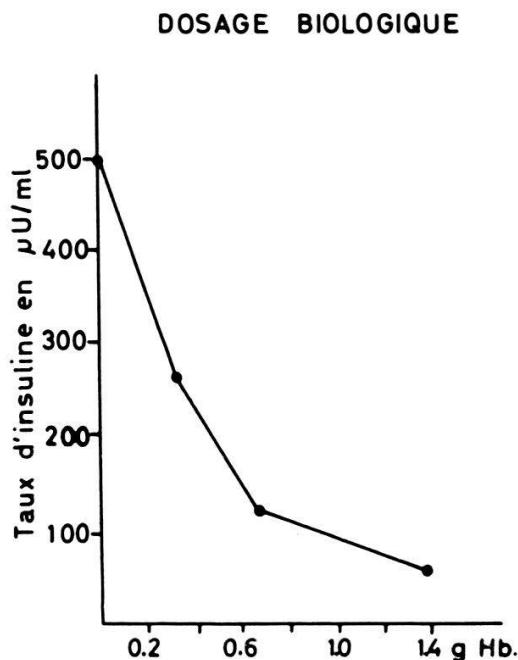


Fig. 2. — Dosage par la méthode du tissu adipeux d'une solution d'insuline de 500  $\mu\text{U}/\text{ml}$  en présence de taux variables d'hémoglobine. Chaque point représente la baisse de l'activité insulinaire enregistrée en fonction de l'augmentation du taux d'hémoglobine.

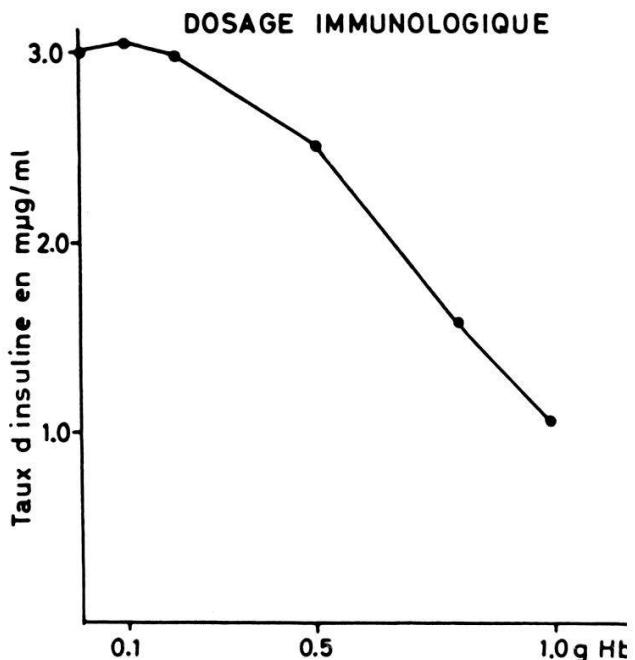


Fig. 3. — Dosage par la méthode immunologique d'une solution d'insuline en présence de taux variables d'hémoglobine. Chaque point représente la baisse de l'activité insulinaire de la solution en fonction de la concentration croissante d'hémoglobine.

#### d) Protéines sériques

Les résultats obtenus dans l'ultracentrifugation d'insuline iodinée à diverses concentrations dans du sérum normal ou du tampon albuminé ne permettent pas de déceler une liaison de cette insuline avec les protéines sériques et concordent avec les données fournies par des travaux antérieurs (YALOW et BERSON, 1961 b et PING-YU CHAO et KARAN, 1963). Ils ne permettent cependant pas d'exclure une telle liaison, car cette technique, bien que capable de déceler des liaisons avec les  $\gamma$ -globulines qui ont pu être révélées chez certains sujets traités à l'insuline, où de fortes proportions d'insuline sont liées par les anticorps, manque probablement de sensibilité pour déceler des liaisons qui ont pu être mises en évidence par d'autres techniques, comme l'immuno-électrophorèse.

La compétition pour la fixation d'insuline- $\text{I}^{131}$  réalisée dans un système immunologique entre le sérum et l'anticorps spécifique de l'insuline, ne permet pas de déceler une liaison d'insuline- $\text{I}^{131}$  par le sérum. Divers points doivent être pris en considération pour l'interprétation des résultats obtenus. La proportion plus faible d'insuline iodinée liée aux anticorps en présence de tampon contenant 7 % d'albumine qu'en présence de sérum ou de tampon contenant 0,1 % d'albumine pourrait signifier une liaison non spécifique d'insuline iodinée à l'albumine.

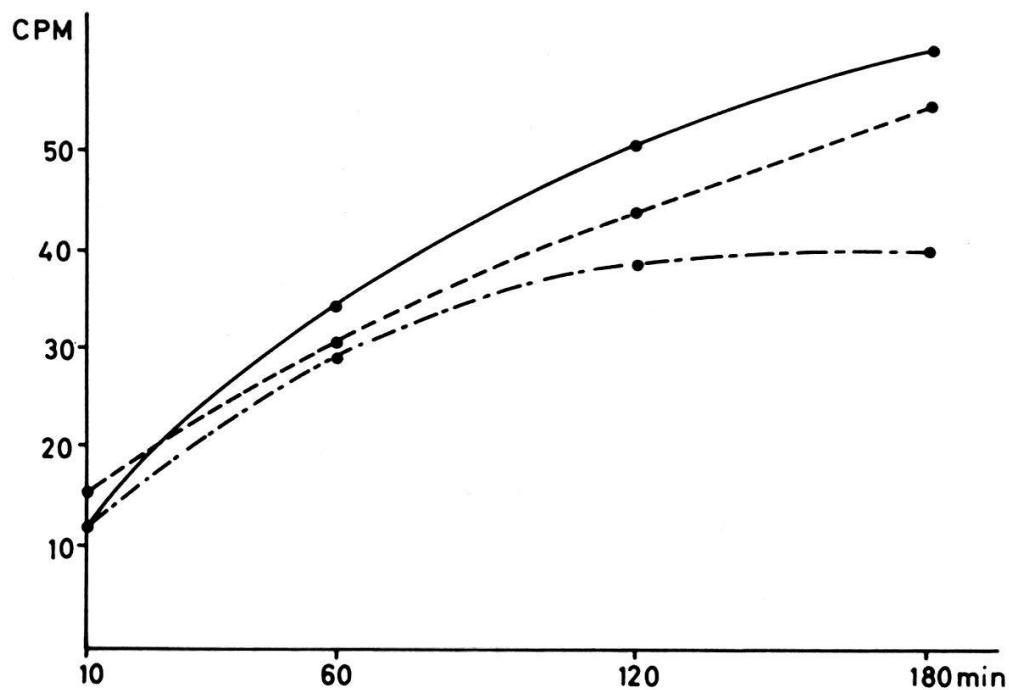


Fig. 4. — Courbe de fixation d'insuline- $I^{131}$  (utilisée 10 jours après iodination, purifiée sur son anticorps spécifique dans divers milieux d'incubation).

— Sérum (insuline endogène déterminée immunologiquement : 6,1 m $\mu$ g/ml)  
 - - - Tampon contenant 0,1 % d'albumine et 6,1 m $\mu$ g/ml d'insuline bovine  
 - - - - Tampon contenant 7 % d'albumine et 6,1 m $\mu$ g/ml d'insuline bovine

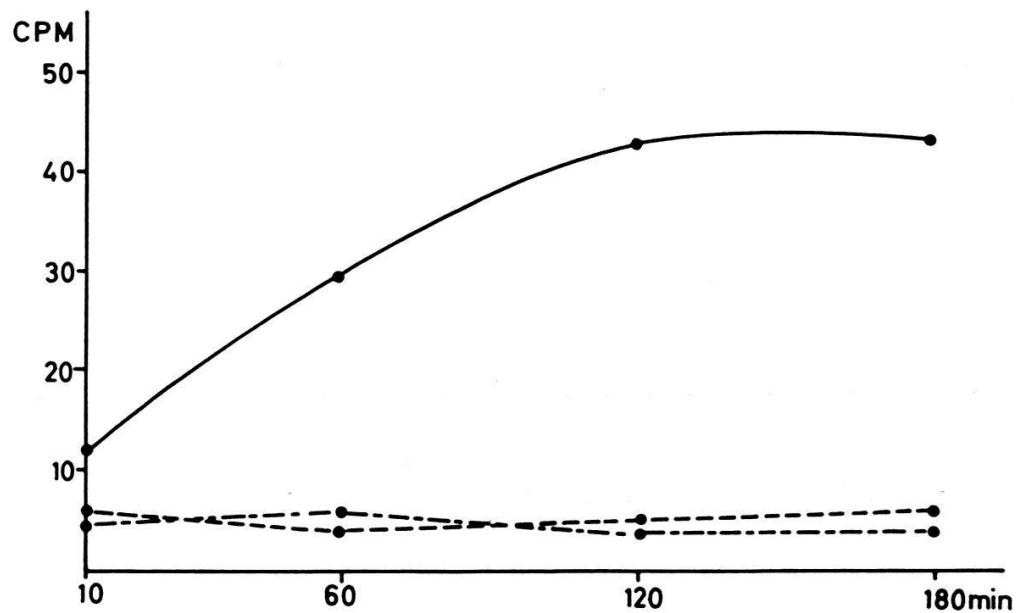


Fig. 5. — Courbe de fixation d'insuline- $I^{131}$  (utilisée 13 jours après iodination, purifiée puis conservée à 2°C) sur son anticorps spécifique dans divers milieux d'incubation

— Sérum (insuline endogène déterminée immunologiquement : 2,6 m $\mu$ g/ml)  
 - - - Tampon contenant 0,1 % d'albumine et 2,6 m $\mu$ g/ml d'insuline bovine  
 - - - - Tampon contenant 7 % d'albumine et 2,6 m $\mu$ g/ml d'insuline bovine

YALOW et BERSON (1961 c) dénoncent des variations de réactivité de l'insuline humaine et de l'insuline bovine avec les mêmes anticorps et suivant les dilutions utilisées. Il paraît donc peu judicieux au premier abord de comparer entre elles les réactivités d'insuline humaine endogène et d'insuline bovine ajoutée à un tampon. Si l'on considère que la disposition des courbes de fixation obtenues avec ces deux insulines s'est révélée reproductible, ces variations ne semblent pas jouer un rôle important dans cette expérience. Il paraît plus hasardeux d'admettre que la réaction antigène-anticorps se produise de manière identique que le milieu d'incubation soit constitué par du sérum ou du tampon contenant 0,1 ou 7 % d'albumine, bien que ce soit dans des conditions analogues que sont déterminées les valeurs standard des essais immunologiques.

L'importance de la composition du milieu d'incubation et de l'âge de l'insuline iodinée dans ce type d'expérience est reflétée par les variations notées dans les figures 4 et 5. Dans l'expérience réalisée avec l'insuline la plus âgée, l'absence de radioactivité liée aux anticorps lorsque le milieu d'incubation contient 0,1 % d'albumine semble infirmer la possibilité de compétition entre l'albumine et les anticorps. Une telle compétition n'est en effet pas observée lorsque le milieu d'incubation est constitué par du sérum, dont la teneur en albumine est supérieure à celle du tampon utilisé. S'il ne nous est pas possible de fournir une explication de ces faits, leur rôle ne semble pas être négligeable pour l'interprétation

TABLEAU 3

RÉPARTITION DE LA RADIOACTIVITÉ POUR DES SOLUTIONS D'INSULINE-I<sup>131</sup> DE CONCENTRATION ET D'ÂGE VARIABLES, ET EN PRÉSENCE DE DIVERSES PROTÉINES (% DE LA RADIOACTIVITÉ TOTALE CONTENUE DANS CHAQUE TUBE A, B, C, D SPÉCIFIÉ SOUS MATÉRIEL ET MÉTHODES. P. 202)

Concentration d'insuline-I <sup>131</sup> (m $\mu$ g/ml)	Age de l'insuline-I <sup>131</sup>	Concentration protéique (g %)			% de radioactivité			
		Albumine bovine	Sérum	Gélatine	A	B	C	D
9000	4 mois	—	—	—	35	21	23	20
2250	4 mois	—	—	—	37	23	21	20
2250	4 mois	—	—	0,15	39	20	20	21
550	28 jours	—	—	—	73	9	9	9
550	28 jours	—	1,75	—	24	24	26	26
30	14 jours	—	0,025	—	26	24	24	26
1,5	< 7 jours	—	—	—	37	20	20	23
1,5	< 7 jours	—	—	0,15	31	21	28	20
0,3	< 7 jours	0,025	—	—	23	23	25	29

des résultats obtenus dans des investigations immunologiques. L'âge de l'insuline iodinée y joue un rôle prépondérant.

L'adsorption d'insuline iodinée aux parois des récipients de verre, déjà signalée par NEWERLY et coll. (1957) et FERREBEE et coll. (1951) est confirmée. En outre, une adsorption tout aussi importante a été démontrée dans des récipients de verre siliconé ou de plastique. Alors qu'une concentration de 0,025 % d'albumine bovine ou de protéines sériques prévient entièrement l'adsorption de l'insuline iodinée, des solutions plus concentrées de gélatine (0,15 %) ne parviennent pas à entraver la perte d'insuline. Le phénomène d'adsorption se produit aussi bien pour des solutions concentrées (9000 m<sup>g</sup>/ml) que pour des solutions diluées. Il est indépendant de l'âge de l'insuline iodinée et de son éventuelle dégradation.

#### BIBLIOGRAPHIE

- BANTING, F. G., BEST, C., 1922. — The internal secretion of the pancreas. *Lab. et Clin. Méd.*, 7, 251.
- FERREBEE, J. W., JOHNSON, B. B., MITHOEFFER, J. C., GARDELLA, J. W., 1951. — Insulin and adrenocorticotropin labelled with radio-iodine. *Endoc.*, 48, 277.
- GARDINER, D. C., MARTIN-HERNANDEZ, D., YOUNG, F. G., 1960. — Influence of oxygenation and deoxygenation on distribution of insulin activity among blood plasma protein fractions. *Lancet*, II, 1269.
- HALES, C. N., RANDLE, P. J., 1963. — Immuno assay of insulin with insulin antibody precipitate. *Lancet*, I, 200.
- JACOT-GUILLARMOD, H., ISLIKER, H., 1964. — Scission réversible des isoagglutinines 19 S : Etude de fixation des subunités. *Vox sang.*, 9, 31.
- KATSOYANNIS, P. G., 1964. — On the problem of the chemical synthesis of proteins with special reference to insulin. *Metab.*, 13, 1059.
- LANGERHANS, P., 1869. — Beiträge zur mikroskop. Anat. der Bauchspeicheldrüse. Inaugural Dissertation. Lange, Berlin.
- MARTIN, D. B., RENOLD, A. E., DAGENAIS, Y. M., 1958. — An assay of insulinlike activity using rat adipose tissue. *Lancet*, II, 76.
- MERING, J. von, MINKOWSKI, O., 1889-1890. — Diabetes mellitus nach Pancreas-extirpation. *Arch. f. Exp. Path. und Pharm.*, 26, 371.
- NEWERLY, K., BERSON, S. A., 1957. — Lack of specificity of insulin-I<sup>131</sup>-binding by rat diaphragm. *Proc. Soc. exp. Biol. and Med.*, 94, 751.
- PING-YU CHAO, KARAN, J. H., 1963. — Study of insulin-I<sup>131</sup> binding by ultracentrifugation. Programm of 23d annual meeting of Am. Diab. Assoc.

- SANGER, F., 1960. — Chemistry of insulin. *Brit. Med. Bul.*, 16, 183.
- YALOW, R. S., BERSON, S. A., 1961 a. — Immunologic aspects of insulin. *A. J. M.*, 31, 882.
- 1961 b. — Plasma insulin in health and disease. *A. J. M.*, 31, 874.
- 1961 c. — Immunologic specificity of human insulin: application to immuno assay of insulin. *J. Clin. Inves.*, 40, 1290.
- YOUNG, F. G., 1961. — Insulin activity in circulating blood plasma. Memoir n° 11 of the Soc. of Endoc., p. 101.

*Manuscrit reçu le 30 avril 1969*