

Mesure de la production de glucose chez le mouton au moyen d'isotopes stables — Aspects méthodologiques

Françoise DUBOSCLARD, J. P. RIOU (*), D. GRANCHER, C. JEAN-BLAIN

*Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon, 69752 Charbonnières Cedex, France.
(*) Faculté de Médecine Alexis Carrel, 69372 Lyon Cedex 2.*

Summary. 6- 62 D glucose has been used in sheep to measure the turnover rate of glucose by gas chromatography mass spectrometry. Versus a radioactive tracer method, practicability, accuracy and cost are similar, with the advantage of absence of radioactive contaminants in large animals.

L'exploration du métabolisme du glucose chez les ruminants présente un intérêt physiopathologique considérable. La détermination de la production endogène de glucose par les méthodes de dilution isotopique a été réalisée chez le mouton dès 1963 par Bergman (1) puis par de nombreux auteurs (3, 4, 5). La technique de perfusion continue paraît plus généralisable et plus fiable que la technique de l'injection unique. Les conditions expérimentales de sa réalisation ont été affinées par diverses études chez l'homme et le chien (6). Jusqu'à présent, chez le mouton, seuls les traceurs radioactifs ont été utilisés pour ce type d'étude, ce qui pose de sérieux problèmes de pollution, à moins d'avoir des locaux d'expérience très spécialisés. Le but de la présente note est de comparer la mise en œuvre de la technique de dilution continue avec un isotope stable (glucose 6- 62 D) et un isotope radioactif (glucose 6- 3 H).

Matériels et méthodes. La production de glucose à l'équilibre a été mesurée successivement avec les deux types de marqueurs, sur une brebis non gestante de 52 kg, alimentée au foin et équipée de deux cathéters jugulaire et carotidien permanents.

Le protocole des perfusions et prises de sang, commencé le matin à 9 h, est indiqué dans la figure 1. Vitesse de perfusion du glucose (vp) : glucose 6- 62 D = 0,06 mg/kg/min ; glucose 6- 3 H = 0,47 kBq/kg/min ; dose de charge = vp \times 120.

Le sang jugulaire, après déprotéinisation à l'acide trichloracétique et neutralisation au carbonate de potassium est passé sur colonnes DOWEX AG1 x8 puis AG50 Wx8, et évaporé à sec sous courant d'air. On réalise la mesure de l'enrichis-

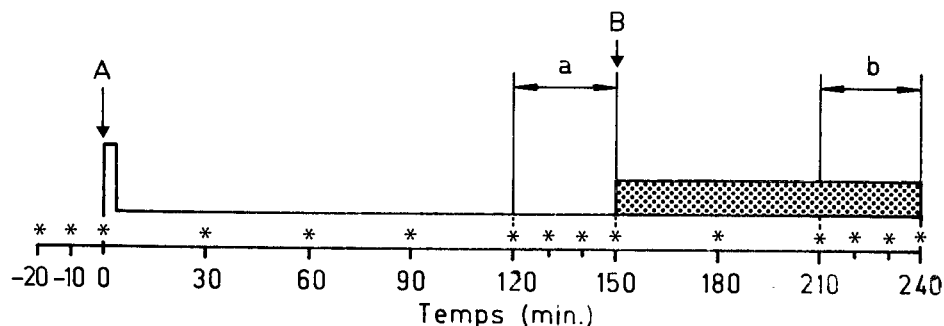


FIG. 1. — *Protocole expérimental.* — A : Injection de glucose marqué (dose-charge + perfusion continue pendant 240 min. a : Equilibre isotopique. B : Début de la perfusion continue (90 min) de glucose non marqué (3 mg/kg/mn). b : Nouvel équilibre isotopique. — Les astérisques (*) correspondent aux prélèvements sanguins.

sement isotopique El sur le dérivé butylboronate du glucose (après action de l'acide n-butylboronique) en GCMS (gaz chromatography mass spectrography) avec un spectromètre de masse Nermag quadripolaire R 10/10.

Résultats et discussion. Les résultats sont indiqués dans le tableau 1. Le temps nécessaire pour atteindre le plateau d'équilibre est de 140 min. Les valeurs de production du glucose (Ra) déterminées après perfusion de glucose stable et radioactif sont très proches. Ces résultats sont conformes à ceux obtenus par Bergman (Ra = 1,39 mg/kg/min) et Wilson (Ra = 1,44 mg/kg/min). On remarque, de plus, que la suppression de la production endogène de glucose par perfusion de glucose non marqué n'est pas totale. Ce phénomène a déjà été observé par Wolfe.

TABL. 1. — Mesure de la production de glucose (Ra) après perfusion de glucose marqué.

Phases de l'expérience	au deutérium 6- ² D				au tritium 6- ³ H		
	Glycémie mg/ml	E I %	Ra mg/kg/min	Ra endogène mg/kg/min	Glycémie mg/ml	Ra mg/kg/min	Ra endogène mg/kg/min
I	0,50	2,59	—	—	0,37	—	—
II	0,50	6,48	1,4	1,4	0,41	1,46	1,46
III	1,02	4,14	3,46	0,46	1,05	3,75	0,75

I : avant perfusion de glucose marqué; II : premier plateau d'enrichissement isotopique; III : second plateau d'enrichissement isotopique après perfusion de glucose non marqué (3 mg/kg/min); E I* :

enrichissement isotopique du glucose $\frac{M + 2}{M + (M + 2)}$.

L'utilisation d'isotopes stables ne présente pas plus de contraintes que l'utilisation de marqueurs radioactifs. La précision des mesures effectuées avec le marqueur stable est au moins équivalente à celle obtenue avec un marqueur radioactif. En effet, on mesure un rapport isotopique ($M + 2/M + (M + 2)$) et non une valeur absolue. Avec la spectrométrie de masse, la précision de la mesure varie de 0,1 ‰ à 1 ‰ selon l'isotope utilisé alors que le comptage d'isotopes radioactifs ne donne qu'une précision de 1 à 3 ‰ (2). Une telle précision permet d'utiliser des quantités faibles d'isotopes stables. Le taux d'enrichissement choisi ici est trop élevé. Un enrichissement égal à 0,9 ‰ de Ra est suffisant pour obtenir une mesure précise (6). Nous l'avons vérifié expérimentalement et dans ces conditions, le coût en isotopes est voisin de celui de la méthode radioactive.

La G.C.M.S. nécessite une mise en œuvre voisine de la méthode radioactive pour la mesure de la production de glucose chez le mouton, avec l'avantage d'éviter toute pollution radioactive par l'air expiré, les urines ou les fécès, ce qui est intéressant avec les gros animaux. Son coût est voisin pour les isotopes marqués au deutérium. Il n'en est pas de même avec le ¹³C dont le prix élevé nécessite l'emploi de la spectrométrie isotopique permettant alors un enrichissement beaucoup plus faible (0,1 ‰).

- (1) Bergman E. N., 1963. *Am. J. Physiol.*, **204**, 147-152.
- (2) Janghorbani M., 1984. Stables isotopes in nutrition and food science. In *Progress in food and nutrition science*. Pergamon Press Ltd. Boston (USA) vol. 8, 303-332.
- (3) Milne J. A., Mayes R. W., 1984. *Proc. Nutr. Soc.*, **43**, 197-204.
- (4) Steele R., Wall J. S., De Bodo R. C., Altszuler N., 1956. *Am. J. Physiol.*, **187**, 15-24.
- (5) Wilson S., MacRae J. C., Buttery P. J., 1983. *Br. J. Nutr.*, **50**, 303-316.
- (6) Wolfe R. R., 1984. *Tracers in metabolic research. Radioisotope and stable isotope/mass spectrometry methods*. Alan R. Liss, New York 287, p.