

Régulation hormonale de la glycémie

I- PROTOCOLE EXPERIMENTAL

La manipulation consiste à mettre en évidence la régulation de la glycémie chez le lapin anesthésié grâce à l'action de différentes hormones: insuline et adrénaline

Ces hormones sont injectées par voie intraveineuse à raison de :

-0.4ml d'insuline soit 16 unités

-0.4ml d'adrénaline (à 80mg\Kg).

Des échantillons sanguins sont prélevés et traités afin de mesurer la glycémie. Deux lapins sont utilisés lors de ce protocole.

L'insuline et l'adrénaline sont deux hormones qui agissent dans la régulation de la glycémie. Elles sont respectivement hypoglycémisante et hyperglycémisante. Par leur action antagoniste elles participent à régulation permanente de la concentration du glucose sanguin.

Avant de pratiquer les injections hormonales, il est prélevé à chacun des deux lapins un échantillon sanguin qui servira de témoin. Des prélèvements sanguins auront lieu : 10, 20, 30, 40, 50 et 60 minutes après l'injection hormonale.

Les échantillons sanguins sont ensuite centrifugés, le plasma récupéré et traité afin de mesurer sa densité optique au spectrophotomètre.

II-DETERMINATION DE LA GLYCEMIE (Méthode de détermination par colorimétrie à l'o-toluidine)

En milieu acétique concentré, le glucose est hydraté en 5-hydroxy-méthyl-furfural. Le produit formé se condense en présence de thiourée sur une maine acide (l'ortho-toluidine) pour donner un produit bleu-vert caractéristique des aldohexoses.

1- Etablissement de la gamme d'étalonnage :

Par pesée du glucose RP sec préparer U= 200ml de solution étalon à 10nmol/l

Par dilution de cette solution étalon préparer une gamme de solution étalon contenant 2,4, 6, 8 et 10nmol/l.

2- Colorimétrie

2-1-Gamme étalon

Dans 06 tubes propres et secs, placer :

- 0.1ml de solution étalon de glucose

Concentrations de (0) - (0.5) - (1) - (1.5) - (2) - (2.5) - (3) (3.5) et (4) g/l

- 2ml de réactif à l'O-toluidine (C)

Le blanc (tube zéro) sera réalisé en remplaçant la solution de glucose par de l'eau distillée

Mélanger soigneusement puis placer les tubes 8 minutes au bain- marie bouillant. Refroidir sous un courant d'eau froide.

2-2-Essais

Les essais seront réalisés dans les mêmes conditions sur 0.1 ml de plasma (ou sérum)

2-3-Mesure de l'absorbance (par spectrophotométrie)

Transvaser le contenu de chaque tube dans la cuvette du spectrophotomètre, essuyer les parois , insérer dans le porte cuve et refermer la trape.

L'absorbance des tubes est mesurée contre le blanc de la gamme à 630nm. La coloration est stable environ 30 minutes.

III-RESULTATS

Etablir un tableau de colorimétrie complet

Tracer la courbe d'étalonnage

Déterminer les valeurs de la glycémie de chaque prélèvement et discuter les résultats.