

# Effets tubulaires rénaux du glucagon chez l'homme

Gérard Friedlander, Françoise Blanchet-Benqué, Claire Bailly, Roger Assan et Claude Amiel

## Summary

The well established glucagon-induced increase in glomerular filtration rate and in natriuresis was observed in most cases using pharmacological doses of the hormone. The identification of a glucagon-sensitive adenylate cyclase in the nephron segments where the bulk of divalent cations is reabsorbed has led to demonstrate, in the rat, that glucagon infusion increased calcium and magnesium reabsorption in the loop of Henle and the superficial distal tubule. Moreover, a glucagon-induced impairment of urine acidification was recently evidenced in the rat. These tubular effects were achieved by glucagon concentrations at the upper limit of the physiological range, which do not increase plasma cyclic AMP.

The aim of the present study was to evaluate the renal effects of glucagon infusion in man. Eight normal weight, healthy male volunteers were infused with glucagon ( $4 \text{ ng} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ body wt.}$ ). The glomerular filtration rate (GFR) and the urinary excretion of electrolytes were measured before and during glucagon infusion as well as after the end of infusion. Glucagon infusion resulted in a four-fold increase in plasma concentration of the hormone. It induced an increase in GFR, a decrease of calcium and

L'augmentation du débit de filtration glomérulaire (DFG) et de la natriurèse ont été longtemps les seuls effets rénaux bien établis du glucagon [1]. L'identification d'une adénylate cyclase activée par le glucagon dans plusieurs segments du néphron [2] a stimulé l'intérêt pour d'éventuels effets tubulaires de cette hormone et conduit à démontrer qu'elle provoque, chez le rat, une augmentation de la réabsorption rénale de magnésium [3]. Le caractère non additif des stimulations de l'adénylate cyclase de la branche large ascendante de l'anse de Henle par quatre hormones polypeptidiques, glucagon, hormone parathyroïdienne (PTH), calcitonine et vasopressine, a suggéré un contrôle hormonal multiple de l'enzyme et fait proposer que ces différentes hormones pourraient déterminer les mêmes effets dans ce segment tubulaire [4]. Cette hypothèse a été vérifiée chez le rat par trois travaux menés en parallèle [5, 6, 7]. Le glucagon, comme les trois autres hormones, détermine une augmentation de la réabsorption de calcium et de magnésium dans l'anse de Henle [5]. De plus, il a été montré que les mêmes quatre hormones augmentent la réabsorption de calcium, et trois d'entre elles celle de magnésium, dans le tube distal superficiel [8, 9, 10]. Enfin le glucagon, à la différence des trois autres hormones, induit chez le rat une diminution de la capacité d'excréter des ions  $\text{H}^+$  [11]. L'objet du travail rapporté ici était de mettre en évidence chez l'homme des effets tubulaires éventuels du glucagon semblables à ceux observés chez le rat.

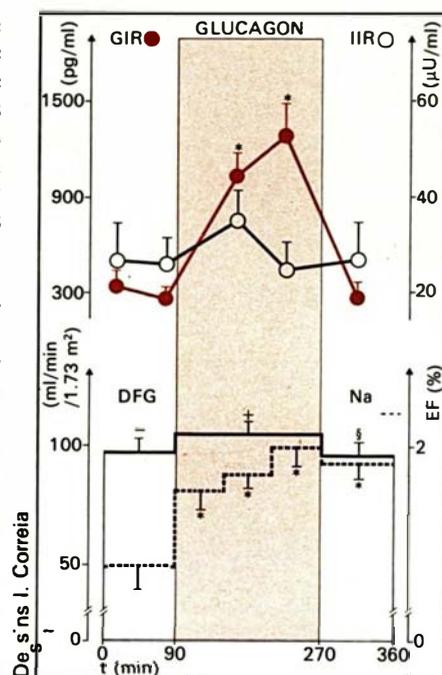


Figure 1. Concentration plasmatique de glucagon (GIR) et d'insuline (IIR) immuno-réactifs, débit de filtration glomérulaire (DFG) et excretion fractionnelle de sodium (EFNa). Les recueils urinaires ont été regroupés en cinq périodes : une basale de 90 minutes, trois périodes successives de 60 minutes pendant la perfusion de glucagon, et une période post-glucagon de 90 minutes. Les valeurs sont exprimées en moyennes  $\pm$  ESM.

\*, \*, \*: significativement différent de la valeur de la période basale (avant perfusion de glucagon) avec, respectivement,  $p < 0,05$ ;  $0,01$  et  $0,001$ .

§ : significativement différent de la valeur pendant la troisième heure de la perfusion de glucagon.

## Summary

magnesium fractional excretion (from  $1.67 \pm 0.24\%$  to  $1.25 \pm 0.18\%$ ;  $p < 0.01$ , and from  $3.45 \pm 0.36\%$  to  $1.62 \pm 0.27\%$ ;  $p < 0.001$ , for calcium and magnesium, respectively), an increase in urinary pH (from  $6.22 \pm 0.25$  to  $6.74 \pm 0.15$ ;  $p < 0.001$ ) and bicarbonate excretion (from  $0.48 \pm 0.16$  to  $2.24 \pm 0.53$  mmol/mmol creatinine;  $p < 0.001$ ) resulting in a decrease of net  $H^+$  ions urinary excretion (from  $2.73 \pm 0.76$  to  $1.32 \pm 0.89$  mmol/mmol creatinine;  $p < 0.02$ ). These variations were not related to changes in systemic parameters, and several of them (GFR, excretion of magnesium, of free and net  $H^+$  ions, and of bicarbonate) were reversed after the discontinuation of glucagon infusion.

These results suggest a direct action of glucagon on transepithelial tubular transport in man. The homeostatic and pathophysiologic significance of these effects remains to be determined.

## Sujets et protocole :

8 adultes volontaires, sains, de sexe masculin, non obèses, âgés de 29 à 35 ans ont été étudiés. Les expériences débutent le matin entre 8 et 9 heures, après un jeûne de 11 à 13 heures.

Une perfusion de soluté salé isotonique est maintenue, pendant les 6 heures de l'expérience, à un débit de  $0,075$  ml/min/kg poids corporel. Après une période d'équilibration de 90 minutes, le glucagon (*Novo Industrie*, Paris,) est perfusé pendant 3 heures, au moyen d'une pompe à débit constant, à raison de  $4$  ng/min/kg ( $1$  µl/min/kg). L'arrêt de la perfusion de glucagon est suivi d'une période d'observation de 90 minutes.

Les urines sont recueillies toutes les 30 minutes, sous huile minérale, de manière quantitative, par mictions spontanées. Des échantillons de sang veineux (identifiés de 1 à 5) sont prélevés au milieu des 1<sup>re</sup>, 3<sup>e</sup>, 6<sup>e</sup>, 8<sup>e</sup> et 11<sup>e</sup> périodes de recueil d'urine. Les déterminations ont été réalisées suivant des techniques usuelles [5, 12-15].

Pour chaque paramètre, une analyse de variance à deux dimensions a été effectuée. Quand la valeur de F le permettait, les différentes comparaisons entre périodes ont été réalisées par un test *t* pairé modifié [16].

## Concentrations plasmatiques de glucagon, d'insuline et de glucose :

La concentration de glucagon atteint 4 à 5 fois la valeur basale au cours de la perfusion de glucagon, alors que la concentration d'insuline n'est pas modifiée (*fig. 1*). La glycémie augmente au début de la perfusion, et revient après 60 minutes à une valeur proche de la valeur basale (*tabl. I*). Les concentrations plasmatiques d'électrolytes sont données dans le *tableau I* : pendant la perfusion de glucagon, les concentrations de sodium, de chlore, de potassium, de  $HCO_3^-$ , de Ca et de Mg ne sont pas modifiées. La phosphatémie diminue à la fin de l'administration du glucagon et la magnésémie immédiatement après.

## Débit de filtration glomérulaire (DFG) et excretion de sodium :

Le DFG est plus élevé pendant l'administration de glucagon que pendant la période qui la précède ou celle qui la suit (*fig. 1*). L'excrétion fractionnelle de sodium augmente pendant la perfusion de l'hormone et ne diminue pas significativement à l'arrêt de celle-ci (*fig. 1*); l'excrétion urinaire de phosphate subit la même évolution (de  $1,7 \pm 0,4$  à  $2,9 \pm 0,3$  mmol/mmol créatinine,  $p < 0,01$  pour les périodes précédant et suivant la perfusion.

Tableau I  
CONCENTRATIONS PLASMATIQUES

échantillon n°	1	2	glucagon		5
			3	4	
Na	$137 \pm 1,00$	$134 \pm 2,4$	$138 \pm 1,3$	$138 \pm 1,2$	$137 \pm 1,4$
Cl	$105 \pm 1,6$	$104 \pm 1,4$	$106 \pm 1,9$	$106 \pm 1,9$	$108 \pm 2,00$
$HCO_3^-$	$21,6 \pm 0,29$	$21,5 \pm 0,32$	$21,6 \pm 0,56$	$21,8 \pm 0,57$	$21,8 \pm 0,24$
K	$3,8 \pm 0,04$	$3,9 \pm 0,06$	$3,9 \pm 0,04$	$3,8 \pm 0,05$	$3,6 \pm 0,03$
Ca	$2,36 \pm 0,05$	$2,24 \pm 0,05^+$	$2,23 \pm 0,06$	$2,24 \pm 0,04$	$2,21 \pm 0,03$
Mg	$0,67 \pm 0,02$	$0,66 \pm 0,01$	$0,65 \pm 0,02$	$0,65 \pm 0,02$	$0,63 \pm 0,02^*$
Pi	$0,98 \pm 0,04$	$0,95 \pm 0,03$	$0,90 \pm 0,04$	$0,85 \pm 0,03^*$	$0,89 \pm 0,03$
glucose	$5,2 \pm 0,05$	$4,8 \pm 0,12^+$	$5,2 \pm 0,18^*$	$4,9 \pm 0,17$	$4,5 \pm 0,19$

Les valeurs sont exprimées en moyennes  $\pm$  ESM, mmoles/l.

Les deux valeurs obtenues avant la perfusion de glucagon (période contrôle) ont été comparées entre elles. Les valeurs obtenues pendant et après la perfusion de glucagon ont été comparées à la deuxième valeur de la période contrôle, prise comme valeur de référence.

<sup>+</sup> Significativement différent de l'échantillon n° 1,  $p < 0,05$ .

\* Significativement différent de l'échantillon n° 2,  $p < 0,05$ .

**Excrétion de Ca et de Mg, (fig. 2) :** L'excrétion absolue et fractionnelle de Ca et de Mg diminue significativement au cours de la perfusion de glucagon. A l'arrêt de celle-ci, l'excrétion de Mg, mais non celle de Ca, augmente significativement.

**Excrétion des ions H<sup>+</sup>, (fig. 3) :** Pendant la perfusion de glucagon, le pH urinaire et l'excrétion de bicarbonate augmentent, l'excrétion nette de H<sup>+</sup> diminue, les excrétions d'AT et de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> ne varient pas significativement. A l'arrêt de la perfusion, le pH urinaire et l'excrétion de bicarbonate baissent significativement et l'excrétion nette d'H<sup>+</sup> augmente significativement, les valeurs atteintes ne diffèrent pas significativement de celles de la période basale.

Les résultats de cette étude chez l'homme indiquent qu'au cours d'une perfusion de glucagon, telle que la concentration plasmatique obtenue soit quatre à cinq fois la concentration basale (deux fois la concentration observée au cours d'un jeûne prolongé [17]), le débit de filtration glomérulaire augmente et les excrétions urinaires de Ca, de Mg et d'ions H<sup>+</sup> diminuent. Ces résultats sont superposables à ceux obtenus dans le même laboratoire chez le rat [3, 5, 8, 11]. Ils suggèrent l'existence de récepteurs tubulaires du glucagon chez l'homme.

Un éventuel effet natriurétique du glucagon n'a pu être mis en évidence car les parts respectives de l'administration de glucagon et de l'expansion du volume extracellulaire, elle-même liée à la perfusion de soluté salé, dans l'augmentation de l'excrétion fractionnelle de sodium ne peuvent être identifiées. Cette expansion du volume extracellulaire [18] et l'alcalinisation des urines [19] pourraient rendre compte de l'augmentation de l'excrétion de phosphate. Par contre, il est clair que les augmentations du DFG et de l'excrétion de bicarbonate sont, au moins en partie, liées à la perfusion de glucagon puisque ces grandeurs reviennent à des valeurs proches des valeurs basales à l'arrêt de la perfusion, alors que la natriurèse reste élevée.

La diminution d'excrétion de Ca et

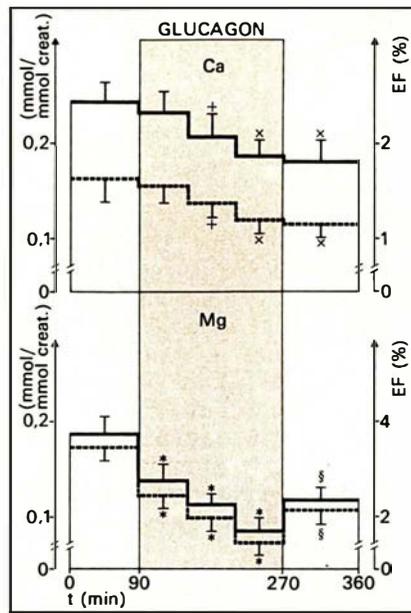


Figure 2. Excrétion absolue et fractionnelle (EF) de calcium (Ca) et de magnésium (Mg). Les recueils urinaires ont été regroupés en cinq périodes : une basale de 90 minutes, trois périodes successives de 60 minutes pendant la perfusion de glucagon, et une période post-glucagon de 90 minutes. Les valeurs sont exprimées en moyennes  $\pm$  ESM. +, x, \* : significativement différent de la valeur de la période basale (avant perfusion de glucagon) avec, respectivement,  $p < 0,05$ ;  $0,01$  et  $0,001$ . § : significativement différent de la valeur pendant la troisième heure de la perfusion de glucagon.

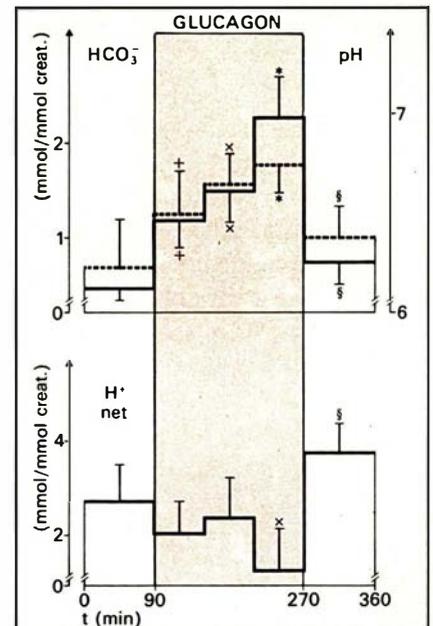


Figure 3. Excrétion de bicarbonate (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>), pH urinaire et excrétion nette d'ion H<sup>+</sup> (H<sup>+</sup> net). Les recueils urinaires ont été regroupés en cinq périodes : une basale de 90 minutes, trois périodes successives de 60 minutes pendant la perfusion de glucagon, et une période post-glucagon de 90 minutes. Les valeurs sont exprimées en moyennes  $\pm$  ESM. +, x, \* : significativement différent de la valeur de la période basale (avant perfusion de glucagon) avec, respectivement,  $p < 0,05$ ;  $0,01$  et  $0,001$ . § : significativement différent de la valeur pendant la troisième heure de la perfusion de glucagon.

de Mg, absolue et fractionnelle, n'est pas liée à une diminution de la charge filtrée. Celle-ci, au contraire, augmente avec le DFG pendant la perfusion de glucagon. De plus, après l'arrêt de la perfusion de glucagon, malgré la diminution de la magnésémie et du DFG, donc de la charge filtrée, l'excrétion de Mg augmente significativement.

En ce qui concerne le rôle éventuel de facteurs systémiques dans la diminution d'excrétion de Ca, de Mg et d'ions  $H^+$ , il convient de noter que : le débit de glucagon est tel que la concentration plasmatique et l'excrétion urinaire d'AMP cyclique ne devraient pas être augmentées [20], d'ailleurs, une telle modification ne pourrait rendre compte que de l'augmentation de l'excrétion de phosphate [5]; d'autre part, aucune modification de la calcémie ou de la kaliémie ne peut être invoquée à l'origine de l'augmentation réversible de l'excrétion de bicarbonate [21, 22]; enfin, une éventuelle augmentation de la sécrétion de PTH, peu probable au demeurant puisque la calcémie n'a pas baissé du fait de l'administration de glucagon, pourrait certes rendre compte des modifications observées pendant l'administration de l'hormone, mais non de leur réversion au-delà. Ainsi les résultats de l'administration de glucagon à l'homme normal et ceux obtenus chez le rat dépourvu des quatre hormones polypeptidiques qui stimulent la réabsorption de calcium et de magnésium sont cohérents.

Ces résultats posent deux questions : les modifications physiologiques de concentration du glucagon affectent-elles la réabsorption tubulaire de calcium et de magnésium? Dans ce cas, il reste à déterminer si cette action constitue un effet parasite ou un contrôle, au sens strict du terme, c'est-à-dire une modulation des fonctions tubulaires concourant à l'homéostasie du milieu intérieur ■

*Remerciements : Les auteurs remercient les volontaires sans lesquels ce travail n'aurait pas été réalisé, Sylviane Couette, Christiane Coureau, Odile Le Bras et Lydie Rene-Corail pour leur aide technique, ainsi que Françoise Carlier pour la préparation du manuscrit.*

m/s avril 85

## RÉFÉRENCES

1. Katz AI, Lindheimer ND. Action of hormones on the kidney. *Ann Rev Physiol* 1977; 39 : 97-134.
2. Bailly C, Imbert-Teboul M, Chabarbès D, et al. The distal nephron of rat kidney: a target site for glucagon. *Proc Natl Acad Sci USA* 1980; 77 : 3422-4.
3. Bailly C, Amiel C. Effect of glucagon on magnesium renal reabsorption in the rat. *Pflügers Arch* 1982; 292 : 360-5.
4. Morel F, Chabardès D, Imbert-Teboul M, Lebouffant F, Hus-Citharel A, Montegut M. Multiple hormonal control of adenylate cyclase in distal segments of the rat kidney. *Kidney Int* 1982; 21 : S55-S62.
5. Bailly C, Roinel N, Amiel C. PTH-like glucagon stimulation of Ca and Mg reabsorption in Henle's loop of the rat. *Am J Physiol* 1984; 246 (Renal Fluid Electrolyte Physiol. 15) : F205-12.
6. Rouffignac C de, Corman B, Roinel N. Stimulation by antidiuretic hormone of electrolyte tubular reabsorption in rat kidney. *Am J Physiol* 1983; 244 (Renal Fluid Electrolyte Physiol 13) : F156-64.
7. Elalouf JM, Roinel N, Rouffignac C de. ADH-like effects of calcitonin on electrolyte transport by Henle's loop of rat kidney. *Am J Physiol* 1984; 246 (Renal Fluid Electrolyte Physiol 15) : F213-20.
8. Bailly C, Roinel N, Amiel C. Stimulation by glucagon and PTH of Ca and Mg reabsorption in the superficial distal tubule of the rat kidney. *Pflügers Arch* 1984; sous presse.
9. Elalouf JM, Roinel N, Rouffignac C de. Stimulation by human calcitonin of electrolyte transport in distal tubule of rat kidney. *Pflügers Arch* 1983; 399 : 167-73.
10. Elalouf JM, Roinel N, Rouffignac C de. Effets of antidiuretic hormone on electrolyte reabsorption and secretion in distal tubules of rat kidney. *Pflügers Arch* 1984; 401 : 167-73.
11. Blanchet F, Friedlander G, Bailly C, Amiel C. Glucagon-induced impairment of urine acidification in the rat. Soumis à publication.
12. Yalow RS, Berson SA. Immunoassay of endogenous plasma insulin in man. *J Clin Invest* 1960; 39 : 1157-75.
13. Aguilar-Parada E, Einsentraut AM, Unger RH. Pancreatic glucagon secretion in normal and diabetic subjects. *Am J Med Sci* 1969; 257 : 415-22.
14. Gips CH, Reitsem A, Wibbens-Alberts M. Preservation of urine for ammonia determination with a direct method. *Clin Chim Acta* 1970; 29 : 501-5.
15. Schiess WA, Ayer JL, Lotspeich WD, Pitts RF. The renal regulation of acid-base balance in man. II. Factors affecting excretion of titratable acid by the normal human subject. *J Clin Invest* 1948; 27 : 57-64.
16. Lison L. Statistique appliquée à la biologie expérimentale. Paris, *Gauthier-Villars* 1958 : 85.
17. Saudek CD, Boulter PR, Arky RA. The natriuretic effect of glucagon and its role in starvation. *J Clin Endocr Metab* 1973; 36 : 761-5.
18. Massry SG, Coburn JW, Kleeman CR. The influence of extracellular volume expansion on renal phosphate reabsorption in the dog. *J Clin Invest* 1969; 48 : 1237-45.
19. Kuntziger HE, Amiel C, Couette S, Coureau C. Localization of parathyroid-hormone-independent sodium bicarbonate inhibition of tubular phosphate reabsorption. *Kidney Int* 1980; 17 : 749-55.
20. Broadus AE, Kaminsky NI, Northcutt RC, Hardman JG, Sutherland EW, Liddle GW. Effects of glucagon on adenosine 3', 5'-monophosphate and guanosine 3'-5'-monophosphate in human plasma and urine. *J Clin Invest* 1970; 49 : 2237-45.
21. Amiel C, Ardaillou R, Lecestre M, Richet G. Acidification de l'urine après injection intraveineuse de gluconate de calcium chez l'homme. *Rev Fr Etudes Clin Biol* 1963; 8 : 647-52.
22. Levine DZ, Walter T, Nash LA. Effect of KCl infusions on proximal tubular function in normal and K-depleted rats. *Kidney Int* 1973; 4 : 318-25.

## TIRÉS A PART

Claude Amiel : Inserm U 251, Département de Physiologie et Laboratoire de Diabétologie Clinique et Expérimentale, Faculté de Médecine Xavier-Bichat, Université Paris-VII, Paris, France.