

## L'insulino-résistance

Par le terme insulino-résistance, on désigne une réponse biologique à l'insuline diminuée ou défectueuse *in vivo*. Elle est **caractéristique du diabète non insulino-dépendant** et concerne la majorité des tissus cibles tel que le foie, qui va augmenter sa production de glucose, les muscles squelettiques et le tissu adipeux. L'insulino-résistance constitue, avec les perturbations de l'insulinosécrétion, **un des deux piliers du diabète NID**. Il est cependant malaisé de savoir lequel de ces deux phénomènes cause l'autre, car ils sont extrêmement imbriqués. Il semble bien que la diminution de la sensibilité à l'insuline soit aussi, dans une modeste proportion chez les individus sains, physiologiquement liée à l'âge. Les mécanismes responsables de la perte progressive de la sensibilité à l'insuline peuvent se situer à différents niveaux du métabolisme insulinique, y compris au niveau du **récepteur** à l'insuline des cellules cibles. L'activité de ces derniers est **extrêmement sensible aux taux circulants d'insuline, de glucose mais également de lipides**. Outre les modulations de l'expression génétique, il existe quatre phénomènes provoquant une déplétion du nombre de récepteurs actifs à la surface d'une cellule:

- **une endocytose destructrice**: la densité des récepteurs insuliniques peut fortement diminuer suite à une insuliniémie trop élevée. La demi-vie de ces récepteurs est voisine de 9 h sur un hépatocyte. Chacun transporte environ 200 molécules d'insuline au cours de sa vie. Le complexe insuline-récepteur pénètre dans la cellule par endocytose et, dans les vésicules ainsi formées, l'insuline est dégradée ainsi qu'environ 10% des récepteurs (les 90% restant rejoignant la membrane plasmique). Si la stimulation insulinique est continue et intense, **10% des récepteurs insuliniques sont donc perdus à chaque cycle** du récepteur: leur nombre total en est réduit de façon importante. Cette régulation négative liée à l'hyperinsulinémie explique pour une part l'installation de l'insulino-résistance. Ainsi, des adipocytes incubés dans un milieu riche en insuline perdent leur sensibilité à cette hormone qui des lors n'exerce plus ni d'effets stimulant la lipogénèse ou bien la synthèse de glycogène
- **une endocytose conservatrice** où les récepteurs sont séquestrés dans des vésicules intracytoplasmiques
- **une modification moléculaire des récepteurs les rend inaptes à fixer leur ligand**: des mutations de la séquence du récepteur insulinique ont pu être mises en évidence pour quelques formes rares mais sévères d'insulino-résistance. Ces mutations affectent le site de liaison à l'insuline ou le domaine de fixation à l'ATP de la sous-unité, ce qui diminue son activité tyrosine kinase. Des mutations de la sous-unité peuvent également contrarier l'insertion et la mobilité du récepteur dans la membrane plasmique
- **le ligand se fixe sur un récepteur mais cet ensemble ne produit pas d'effet au niveau intracellulaire**. La régulation de l'activité tyrosine kinase liée au récepteur insulinique est une des voies pouvant conduire à l'inefficacité de la liaison hormone-récepteur. C'est le cas par exemple chez *Psammomys obesus*, une des gerbilles qui développent facilement un diabète NID quand elles sont trop bien nourries: l'activité tyrosine kinase des rares récepteurs insuliniques de cet animal est fortement diminuée,

des protéines kinase provoquant des **phosphorylations multiples au niveau des sérine et thréonine** de la sous unité  $\beta$  du récepteur qui voit alors son efficacité chuter fortement, les cellules ne pouvant plus réagir alors à l'insuline. Une phosphorylation de même type, au niveau du substrat IRS1, a pu être impliqué dans l'insulino-résistance musculaire. On a pu mettre en évidence sur des adipocytes qu'une stimulation insulinique de longue durée induit **un clivage de la sous unité  $\beta$  du récepteur à insuline**. Le fragment de 61 kDa libéré, noté  $\beta$ , **inhibe l'autophosphorylation de la sous unité  $\beta$  du récepteur insulinique**, bloquant ainsi le début de la cascade biochimique de signalisation de la liaison insuline-récepteur. Ce clivage, mis en évidence à l'origine dans des fibroblastes, puis confirmés sur une lignée d'adipocytes *in vitro*, se produit expérimentalement en quelques heures. Le fragment  $\beta$  pourrait avoir une activité tyrosine kinase et, libéré dans le cytoplasme, générerait des phosphorylations malvenues brouillant ainsi fortement la voie intracellulaire de signalisation de l'insuline. La diminution de la formation de  $\beta$  par un inhibiteur des thiol protéase (E64) a montré *in vivo* des effets positifs sur la réduction de l'insulino-résistance du tissu adipeux. Dans ce tissu, l'activité de la tyrosine phosphatase 1B (TP1B) s'oppose à l'action de l'insuline en déphosphorylant son récepteur ainsi que d'autres molécules de sa voie de signalisation comme l'IRS1 ou la phosphoinositol 3 kinase (Pi3K). L'activité de la TP1B est augmentée en cas d'obésité, mais il n'est pas établi que cela ait une influence sur l'insulino-résistance: 45 % seulement de l'activité de phosphorylation des résidus tyrosil médiée par le récepteur à insuline suffisent à assurer la stimulation du transport du glucose.

#### **ORIGINE DE L'INSULINO-RESISTANCE**

L'insulino résistance possède une genèse complexe. Elle est provoquée par l'insuline elle même ainsi que par un taux circulant élevé de glucose et semble liée, chez des modèles animaux comme le Psammomys tout comme chez l'Homme, à une leptino-résistance impliquée dans l'obésité. Son origine peut ainsi mettre en jeu **différents dysfonctionnements prenant leur source dans plusieurs catégories cellulaires, et qui peuvent différer selon ces catégories**. Ainsi, au niveau des adipocytes, il a été suggéré que l'inefficacité du stockage des acides gras en raison d'un défaut dans la voie de la Protéine Stimulant l'Acétylation (ASP) puisse conduire à la résistance à l'insuline et au diabète NID, l'ASP jouant un rôle critique dans le métabolisme et la mise en réserve des acides gras. L'insulino-résistance peut être renforcée par l'obésité, probablement par la production de **TNF $\alpha$** . Cette molécule induit une phosphorylation des résidus sérines de l'IRS1 mais sans intervention de la protéine kinase C. Cette phosphorylation s'oppose à celle des résidus tyrosine obtenus par le récepteur insulinique et interfère donc avec sa voie de signalisation. Le TNF agit également en activant plusieurs protéases qui modifient d'autres protéines présent dans le cytoplasme.

Au niveau musculaire et adipeux, un dysfonctionnement de la protéine-tyrosine phosphatase (PTPase) a pu être observé. Cette molécule déphosphoryle la sous unité  $\beta$  du récepteur insulinique ainsi que nombre de ses substrats. Elle agit selon sa localisation, et une diminution de son action pourrait contrarier la transmission du message insulinique en réalisant une "surstimulation" inadaptée. Expérimentalement, une aggravation brusque de l'insulino-

résistance peut aussi être provoquée par l'injection d'interféron .

Des modifications des mécanismes de transmission intracellulaire de l'information "fixation de l'insuline" sont impliquées dans l'insulino-résistance. L'activation des isoformes et de la protéine kinase C (PKC) est ainsi responsable de la phosphorylation inhibitrice d'un ou de plusieurs substrats impliqués dans le transport du glucose. Le récepteur  $\beta_3$  adrénergique joue également un rôle, son blocage par des agonistes entraînant une amélioration de la sensibilité à l'insuline du tissu adipeux.

#### IMPORTANCE DES SUBSTRATS DU RECEPTEUR A L'INSULINE

Les protéines IRS1 et IRS2 sont normalement, du moins dans les adipocytes, **associées aux fibres du cytosquelette**. Cette localisation leur permet de se lier facilement avec la partie intracytoplasmique du récepteur insulinique. Plusieurs facteurs induisant une perte de sensibilité à l'insuline, comme par exemple une exposition chronique élevée à cette hormone, le PDGF ou l'acide okadaïque, provoquent une libération des IRS en dehors de leur support, dans le cytoplasme. Cette fraction IRS "libre" est alors moins efficace pour la transmission insulinique: les IRS "libres" sont dégradés ou ne peuvent que difficilement être phosphorylés sur leur résidus tyrosine par le récepteur insulinique. **IRS1 et 2 agissent également par le biais de leur site de phosphorylation** au niveau:

- des résidus tyrosine, phosphorylation réalisée par le récepteur insulinique au niveau de sa région juxtamembranaire interne et qui fait partie de la cascade de réactions médiant l'action de l'insuline. La cellule est alors insulino-compétente.
- des résidus sérine ou/et thréonine, phosphorylation réalisée par des facteurs promouvant l'insulino-résistance comme le TNF qui s'oppose à l'appariement des IRS au récepteur insulinique, inhibant la phosphorylation des résidus tyrosine et donc l'action de l'insuline. Il y a alors renforcement de l'insulino-résistance, d'autant plus que les IRS modifiés ne peuvent plus recruter d'autres effecteurs de la voie de signalisation de l'insuline, comme la phosphatidylinositol 3 kinase.

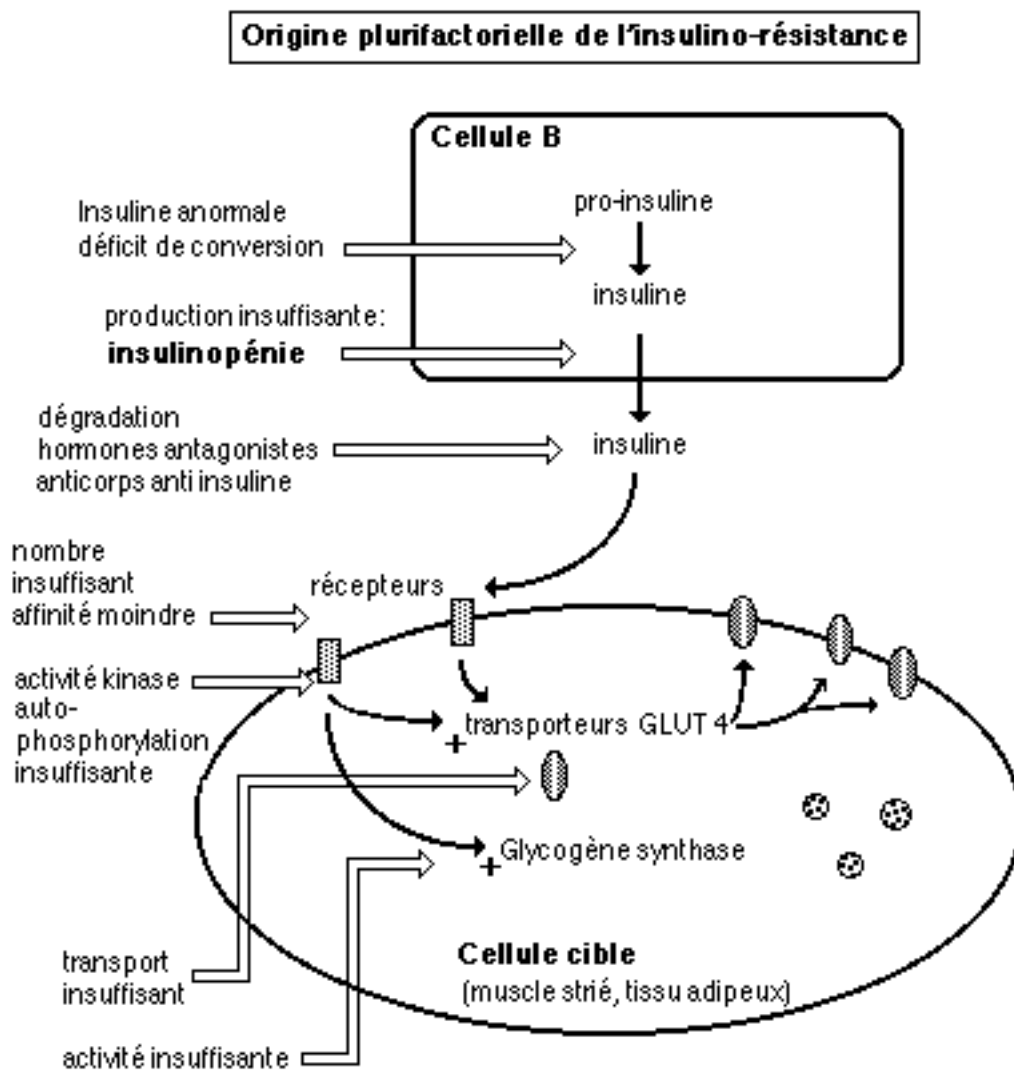
Cette **balance de phosphorylation** se retrouve au niveau du récepteur à insuline dont l'activité est ainsi inhibée physiologiquement, par exemple par le glucagon. L'insuline elle-même, en activant des sérine et thréonine kinases, régule de façon négative l'efficacité de son récepteur. De la même façon, la phosphorylation des résidus sérine et thréonine de la mSos conduit à la dissociation du complexe sos-Grb2, ce qui inhibe la deuxième voie de signalisation de l'insuline, celle de la MAPkinase.

#### L'HYPERGLYCEMIE ENTRAINE ET AGGRAVE L'INSULINO-RESISTANCE

Une situation hyperglycémique augmente l'insulino-résistance musculaire et adipeuse. Cet effet est dû à une **diminution de la translocation des transporteurs du glucose GLUT4 et GLUT1** entre les microsomes de faible densité du compartiment intracellulaire et la membrane. Ceci est la conséquence d'une suractivation du métabolisme du glucose, et en particulier de la voie conduisant à la synthèse des hexosamines, qui ne concerne pourtant que 2 à 3% du glucose entrant dans les cellules. Cette voie permet de former de l'UDP-N-acétyl-glucosamine utilisé comme substrat pour la synthèse de protéoglycannes, de glycoprotéines

et de glycolipides.

Des expériences *in vitro* et *in vivo* ont permis d'établir que l'enzyme limitante de la voie de biosynthèse des hexosamines, la GFAT (Glutamine Fructose 6-phosphate Amino Transférase) est surexprimée, ce qui diminue la sensibilité à l'insuline de la glycogène synthase. Cependant, le moyen d'action principal de l'hyperglycémie est une **diminution de la quantité d'ATP intracellulaire localement disponible** qui induit une réduction de l'autophosphorylation du récepteur à insuline, de la phosphorylation de l'IRS1 et de l'activité PI3 kinase. L'activation insulino-dépendante de la protéine kinase B est également diminuée. On doit noter que la déplétion en ATP reste modérée (moins de 20%) mais exerce des effets amplifiés par les différentes étapes de la voie de signalisation de l'insuline, qui comprend une suite de phosphorylations. Ainsi, une diminution de 50% de la phosphorylation d'IRS1 provoque une inhibition totale de la translocation de GLUT4. Une faible diminution de l'ATP disponible induit donc, dans les adipocytes, **une forte diminution de la sensibilité à l'insuline**. Les applications *in vivo* et la généralisation de cette découverte à d'autres types cellulaires, comme les cellules musculaires et surtout hépatiques, donnerait une nouvelle voie métabolique explicitant l'insulino-résistance.



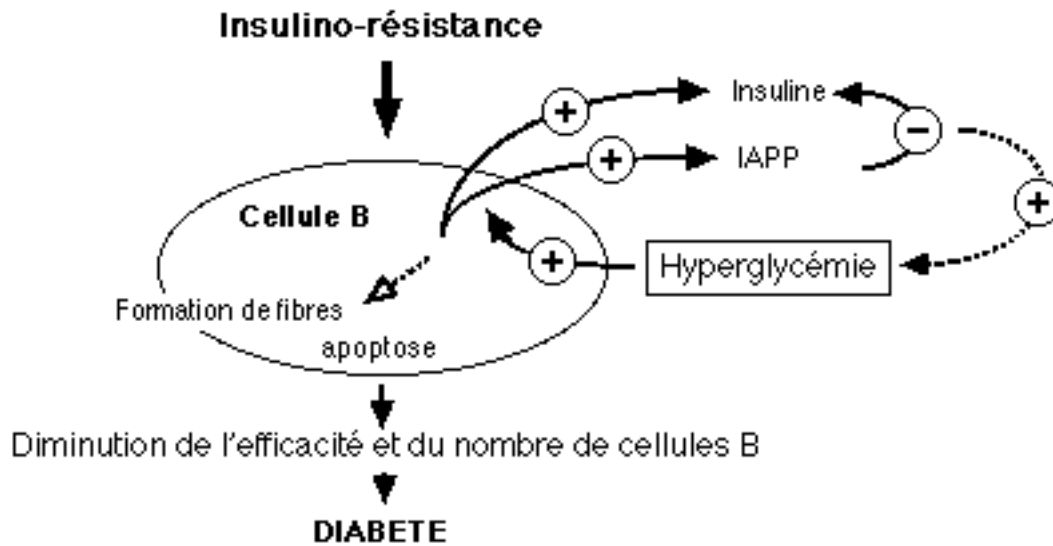
## L'INSULINO RESISTANCE S'INSERE DANS LE CADRE DU SYNDROME DE SURCHARGE METABOLIQUE

L'insulino-résistance s'intègre dans un ensemble plus vaste d'affections, dont le DNID, caractérisant un état de surcharge métabolique appelé syndrome X dont les particularités sont les suivantes:

- des troubles du métabolisme des glucides allant de l'intolérance jusqu'au DNID
- **une Insulino-résistance** périphérique. Les sujets atteints ont encore une glycémie normale car bien que l'insulino-résistance devrait entraîner une hyperglycémie, une sécrétion accrue d'insuline maintient l'euglycémie. Ceci conduit donc à une situation hyperinsulinémique transitoire (un sujet est hyperinsulinique si son sang contient plus de 20  $\mu$ U d'insuline/ml) qui exacerbe les effets délétères de cette hormone sur l'ensemble de l'organisme. En particulier, elle est à l'origine de dyslipidémie, d'une hyper-agrégation plaquettaire et d'une inhibition de la fibrinolyse qui conduit au développement de **conditions pro-thrombiques**, faisant le lit des complications vasculaires accompagnant l'état diabétique. L'insuline en excès perturbe également la thermogénèse (déficiente chez le diabétique) et est à l'origine d'une formation de **radicaux libres oxygénés** très réactifs impliqués dans la dégradation des protéines, entre autres celles de la membrane basale. L'insulino-résistance se trouve donc ici associée à l'**hyperinsulinisme**, aux **maladies coronariennes** et à l'**hypertension**.
- une obésité de type androïde liée à une hyperleptinémie
- une hypertriglycéridémie associée à une diminution des HDL
- une baisse de la sex-binding protéine
- une composante génétique révélée par exemple par l'étude de descendants de diabétiques NID chez lesquels l'influence de l'insuline sur la lipolyse et le management du glucose est diminuée *in vivo* alors même que les sujets sont jeunes et en bonne santé. Cette insulino-résistance modérée n'étant pas mise en évidence *in vitro*, on doit en conclure qu'elle **tire son origine de phénomènes de communication hormonale, neuro-hormonale ou nerveuse** et s'installe extrêmement tôt .

Cet ensemble représente un risque majeur de diabète NID et de ses complications cardiovasculaires, voire chez la femme de cancers hormonaux dépendants. L'insulino-résistance hépatique et musculaire est en effet associée au syndrome polycystique ovarien, où elle se trouve renforcée par l'obésité et provoque une hyperinsulinémie compensatrice.

### Influence de l'IAPP (amyline) dans l'insulino-résistance



L'insulino-résistance se révèle donc être un phénomène extrêmement commun, lié dans une certaine mesure à l'âge et qui est utilisé physiologiquement pour réguler l'efficacité des récepteurs insuliniques. Ce mécanisme exacerbé chez le diabétique NID s'exprime au niveau moléculaire par des phosphorylations activant ou inhibant les voies de signalisation de l'insuline qui sont liées à la disponibilité locale intracellulaire de l'ATP. Les différents indices recueillis indiquent que l'insulino-résistance se développe bien en aval de l'état diabétique dont il constitue un excellent prédicteur. Il semble ainsi précéder les défaillances des cellules B, bien que les dysfonctionnements sécrétoires de celles-ci, liés à une perte de sensibilité à l'insuline et au glucose, puissent également s'interpréter dans le cadre d'une complémentarité de l'insulino-résistance par une gluco-résistance pancréatique qui lui est associée et diminue à son tour l'insulinocompétence des tissus périphériques.