

Contrôle du transport du glucose par l'insuline

Il existe trois types de transporteurs du glucose : l'un est un transporteur actif dépendant du sodium, capable de réabsorber le glucose contre un gradient de concentration (actif dans le tubule rénal et l'intestin grêle). Les deux autres sont des molécules assurant une diffusion facilitée dans le sens du gradient de concentration ; le transporteur sensible à l'insuline est retrouvé au niveau du tissu adipeux brun et blanc et du muscle alors que le transporteur insensible à l'insuline est largement répandu dans les autres types cellulaires. Dans le tissu adipeux et le cœur, l'insuline agit à la fois en provoquant une translocation du transporteur, depuis ses réserves intracellulaires jusqu'à la membrane plasmique, et en augmentant son efficacité. Le mode d'action de l'insuline sur le muscle squelettique, principal tissu consommateur de glucose en réponse à l'hormone, reste mal connu.

Françoise Assimacopoulos-Jeannet

Bernard Jeanrenaud

L'entrée du glucose dans la cellule représente la première étape du contrôle de son utilisation. La diffusion du glucose à travers les membranes biologiques étant très lente, elle ne pourrait fournir à la cellule tout le glucose dont celle-ci a besoin. Le glucose traverse donc la membrane plasmique par un système de transport assuré par une protéine membranaire spécifique : le transporteur du glucose. Ce transport de glucose par diffusion facilitée, dont le « moteur » est le gradient de concentration de glucose entre l'extérieur et l'intérieur de la cellule, est à distinguer du transport actif de glucose dépendant du sodium qui s'effectue contre le gradient de concentration, retrouvé dans la membrane de la bordure en brosse de l'intestin et dans la membrane basale du tube contourné proximal dans le rein.

L'insuline n'agissant que sur la diffusion facilitée du glucose, et ceci seulement dans certains tissus, c'est ce système de transport insulino-

dépendant que nous allons décrire, tout en gardant présent à l'esprit qu'un transport de glucose par diffusion facilitée existe aussi dans de très nombreux autres tissus où il n'est pas affecté par l'insuline (foie, barrière hémato-encéphalique, cerveau, érythrocytes, etc.).

Les transporteurs de glucose

On a dénombré jusqu'à maintenant trois types de transporteurs de glucose assurant trois types de transport aux propriétés différentes : le transport par diffusion facilitée de l'érythrocyte et du cerveau ne répondant pas aux hormones ; le transport par diffusion facilitée répondant à l'insuline, caractéristique du muscle strié et du tissu adipeux ; et, enfin, le transport actif dépendant du sodium, du tubule contourné proximal du rein et de la membrane basale des entérocytes.

Le transporteur de glucose le plus étudié, celui de l'érythrocyte, est une glycoprotéine d'un poids moléculaire

ADRESSE

F. Assimacopoulos-Jeannet : *Maître d'enseignement et de recherche*. B. Jeanrenaud : *Professeur ordinaire à la faculté de médecine de Genève, médecin-chef des laboratoires de recherches métaboliques*. Laboratoires de recherches métaboliques, université de Genève, faculté de médecine, 64, avenue de la Roseraie, 1211 Genève 4, Suisse.

RÉFÉRENCES

1. Mueckler M, Carouso C, Baldwin SA, *et al.* Sequence and structure of a human glucose transporter. *Science* 1985 ; 228 : 941-5.
2. Birnbaum MJ, Haspel HC, Rosen OM. Cloning and characterization of a cDNA encoding the rat brain glucose-transporter protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986 ; 83 : 5784-8.
3. James DE, Brown RR, Navarro J, Pilch PF. Insulin-regulatable tissues express a unique insulin-sensitive glucose transport protein. *Nature* 1988 ; 333 : 183-5.
4. Hediger MA, Coody MJ, Ikeda TS, Wright EM. Expression cloning and cDNA sequencing of the Na/glucose co-transporter. *Nature* 1987 ; 330 : 379-81.
5. Ferré P, Leturque A, Pénicaud L, Girard J. A method to quantify glucose utilization *in vivo* in skeletal muscle and white adipose tissue of the anesthetized rat. *Biochem J* 1985 ; 228 : 103-10.
6. Toyoda N, Flanagan JE, Kono T. Reassessment of insulin effects on the Vmax and Km values of hexose transport in isolated rat epididymal adipocytes. *J Biol Chem* 1987 ; 262 : 2737-45.
7. Whitesell RR, Abumrad NA. Modulation of basal glucose transporter Km in the adipocyte by insulin and other factors. *J Biol Chem* 1986 ; 261 : 15090-6.
8. Wardzala LJ, Cushman SW, Salans LB. Mechanism of insulin action on glucose transport in the isolated rat adipose cell. *J Biol Chem* 1978 ; 253 : 8002-5.
9. Suzuki K, Kono T. Evidence that insulin causes translocation of glucose transport activity to the plasma membrane from an intracellular storage site. *Proc Natl Acad Sci USA* 1980 ; 77 : 2542-5.
10. Block J, Gibbs EM, Lienhard GE, Slot JW, Genze HJ. Insulin-induced translocation of glucose transporters from post-Golgi compartments to the plasma membrane of 3T3-L1 adipocytes. *J Cell Biol* 1988 ; 106 : 69-76.

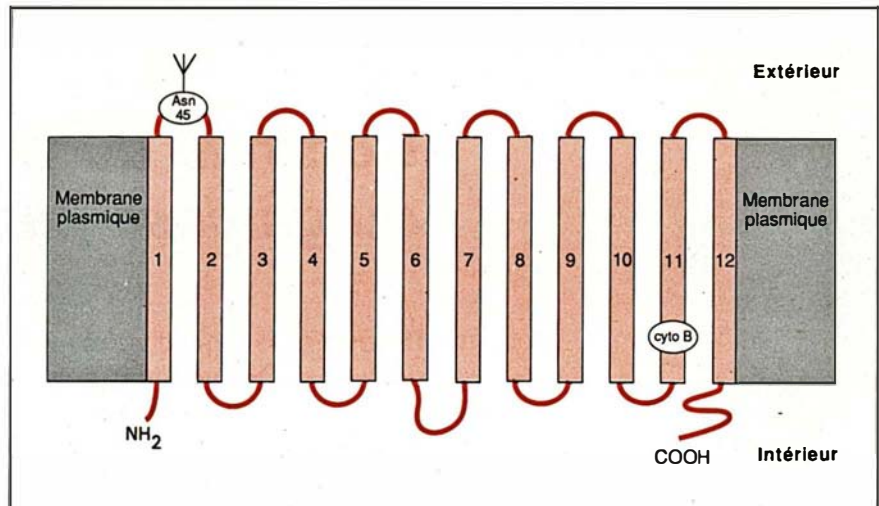


Figure 1. **Schéma proposé par Mueckler et al. [1] pour l'orientation du transporteur de glucose dans la membrane plasmique.** Les 12 domaines transmembranaires sont schématisés par des rectangles roses numérotés. Le site de glycosylation est probablement l'asparagine en position 45 (Asn 45). Le site de liaison de la cytochalasine B est mentionné (cyto B). Les boucles intracellulaires (rouges) contiennent plusieurs sites de clivage tryptique.

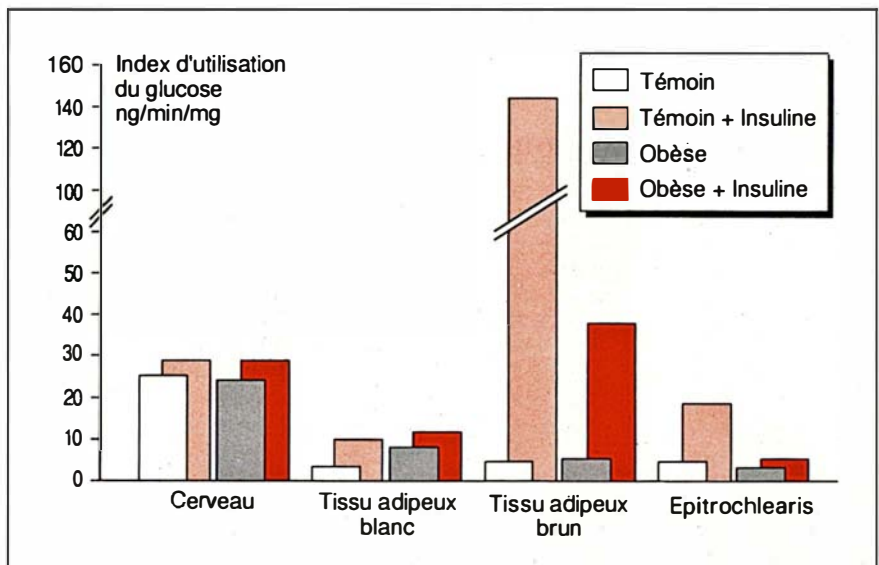


Figure 2. **Effet de l'insuline sur l'utilisation du glucose (transport plus phosphorylation) dans différents tissus de rats témoins et obèses insulino-résistants in vivo.** Les expériences ont été effectuées chez le rat anesthésié en utilisant le clamp euglycémique, hyperinsulinémique combiné à la technique du 2-désoxyglucose marqué. Chez l'animal témoin, l'effet de l'insuline varie d'un tissu à l'autre. Le muscle strié, à cause de sa masse, représente 35 % de l'utilisation totale du glucose à l'état basal et 50-75 % chez le rat à l'état stimulé [5]. Ces résultats mettent également en évidence la résistance à l'insuline du muscle strié, ici l'épitrachéaris (également présente dans d'autres muscles), des tissus adipeux blanc et brun chez le rat fa/fa âgé de neuf semaines. L'insulinémie atteinte est celle qui provoque un effet maximal sur l'utilisation du glucose dans chaque groupe, soit 400 $\mu\text{U}/\text{ml}$ pour le groupe témoin et 3000 $\mu\text{U}/\text{ml}$ pour le groupe obèse. L'utilisation du glucose par le cerveau, qui n'est pas modifiée par l'insuline, est mentionnée à titre de comparaison.

laire apparent de 55 kDa*. Cette protéine assure le transport stéréospécifique du D-glucose lorsqu'elle est purifiée et reconstituée dans des vésicules de phospholipides. Les anticorps contre le transporteur de glucose de l'érythrocyte humain réagissent avec des transporteurs d'autres tissus. Un tel anticorps a été utilisé pour cribler une banque d'ADNc préparée à partir de cellules hépatomateuses humaines (Hep G2) [1] ou de cerveau de rat [2]. Cet ADNc a permis de déterminer la séquence complète des acides aminés du transporteur de glucose des deux tissus étudiés. Les deux protéines présentent entre elles plus de 95 % d'homologies. Il s'agit dans les deux cas d'une protéine de 492 acides aminés avec un site de glycosylation. L'analyse de la structure primaire suggère la présence de 12 domaines transmembranaires (*figure 1*) dont plusieurs pourraient contenir des groupes amidés ou hydroxylés qui participeraient à la liaison du glucose ou formeraient un pore transmembranaire à travers lequel le glucose passerait. Les extrémités amino- et carboxy-terminales seraient toutes deux exposées sur la face interne de la membrane. Quant au transporteur de glucose insulino-dépendant, sa structure n'est pas encore élucidée. La preuve de son existence et de sa différence avec les transporteurs de glucose non insulino-dépendants est fondée sur la production d'un anticorps monoclonal contre le transporteur des cellules adipeuses qui ne réagit qu'avec le transporteur du muscle strié et du tissu adipeux [3], mais pas avec celui du cerveau, du foie ou de l'érythrocyte, suggérant que les tissus insulino-dépendants ont un système de transport du glucose qui leur est propre. Des preuves directes de la différence entre les transporteurs de glucose insulino-dépendants et les autres types de transporteurs sont encore nécessaires. La structure primaire du système de transport actif de glucose, dépendant du sodium, ne présente aucune homologie avec les systèmes de trans-

port par diffusion facilitée [4]. Plusieurs méthodes permettent actuellement de quantifier les transporteurs de glucose : (1) La liaison de la cytochalasine B radioactive. Cette substance inhibe le transport du glucose dans les tissus sensibles ou non à l'insuline. Elle se lie avec une très grande affinité au transporteur de glucose. Cette liaison peut être déplacée par un excès de D-glucose mais non de L-glucose. La fraction de cytochalasine B liée qui peut être déplacée par le D-glucose est considérée comme une mesure des transporteurs de glucose. De telles mesures, effectuées avec des concentrations croissantes de cytochalasine B, permettent donc de calculer le nombre total de transporteurs (B_{max}) et la constante de dissociation (K_d). (2) La reconstitution des transporteurs semi-purifiés dans les liposomes, suivie de la mesure du transport du D-glucose. Le transport du D-glucose est alors proportionnel à la quantité de transporteurs présents. (3) La purification du transporteur suivie d'une immunotitration avec un anticorps préparé contre le transporteur de glucose de l'érythrocyte.

Effet de l'insuline sur le transport et les transporteurs de glucose

L'insuline augmente de façon considérable le transport du glucose dans le muscle strié, le cœur, le diaphragme et les tissus adipeux blanc et brun. La plupart des études décrivant cet effet ont été réalisées en utilisant des adipocytes blancs ou bruns. Ces préparations sont d'un emploi facile et elles répondent bien à l'insuline. Les cellules isolées permettent une étude sur des temps très courts (5-10 secondes) où on admet n'étudier que l'effet de l'insuline sur le transport, indépendamment de celui sur le métabolisme. L'utilisation de cellules isolées évite les problèmes de diffusion du substrat, que l'on rencontre en travaillant sur des tissus entiers. D'autres études ont été réalisées avec des analogues du glucose (3-O-méthylglucose, arabinose, allose, etc.) qui utilisent le même système de transport que le glucose, mais sont transportés plus lentement

à cause de leur moindre affinité pour le transporteur, et qui ne sont pas métabolisés. Le transport du glucose dans le muscle strié est étudié dans des muscles incubés où des problèmes de diffusion peuvent se poser sur des temps courts. C'est la raison pour laquelle la plupart des travaux ont utilisé le 2-désoxyglucose, un analogue du glucose qui utilise le même transporteur que le glucose, est phosphorylé mais non métabolisé. Dans ce cas, on mesure en fait le transport plus la phosphorylation du glucose. Il faut enfin mentionner une technique qui permet d'évaluer *in vivo* le transport et la phosphorylation du glucose en glucose-6-phosphate [5]. Cette technique, initialement décrite pour le cerveau, utilise le 2-désoxyglucose radioactif injecté sous forme d'un bolus dont on mesure l'activité spécifique dans le plasma en fonction du temps. Après un temps donné (généralement 30-60 minutes), l'animal est sacrifié et le contenu en 2-désoxyglucose-6-phosphate des différents tissus est mesuré. Ce contenu est corrélé à l'activité spécifique du 2-désoxyglucose sanguin, ce qui permet, à l'aide d'un facteur de correction, de calculer la quantité de glucose transportée et phosphorylée par unité de temps. Pour que ces expériences soient valables, la glycémie ne doit pas varier durant les 30-60 minutes de l'expérience. C'est pourquoi cette technique peut être utilisée, combinée au clamp euglycémique hyperinsulinémique (*décrit dans m/s n° 7, vol. 3, p. 394-402*) pour évaluer l'effet de l'insuline *in vivo* sur l'utilisation du glucose dans différents types de muscles striés et dans le tissu adipeux blanc et brun. Sans avoir la « maniabilité » des expériences réalisées *in vitro*, de telles études permettent de mieux cerner le rôle respectif des différents tissus dans l'utilisation globale du glucose et de quantifier l'effet de l'insuline sur ses tissus cibles (*figure 2*).

Mécanisme d'action de l'insuline sur le transport du glucose

Pour analyser le mécanisme d'action de l'insuline, il est important de savoir si l'hormone modifie la capacité maximale de transport (V_{max})

* kDa : kilodalton.

RÉFÉRENCES

11. Karnieli E, Zarnowski MJ, Hissin PJ, Simpson IA, Salans LB, Cushman SW. Insulin-stimulated translocation of glucose transport systems in the isolated rat adipose cell: time-course, reversal, insulin concentration dependency, and relationship to glucose transport activity. *J Biol Chem* 1981; 256: 4772-7.
12. Wardzala LJ, Jeanrenaud B. Potential mechanism of insulin action on glucose transport on the isolated diaphragm. *J Biol Chem* 1981; 256: 7090-3.
13. Zaninetti D, Greco-Perotto R, Assimacopoulos-Jannet F, Jeanrenaud B. Effects of insulin on glucose transport and glucose transporters in rat heart. *Biochem J* 1988; 250: 277-83.
14. Greco-Perotto R, Assimacopoulos-Jannet F, Jeanrenaud B. Insulin modifies the properties of glucose transporters in rat brown adipose tissue. *Biochem J* 1987; 247: 63-8.
15. Baly DH, Horuk R. Dissociation of insulin-stimulated glucose transport from the translocation of glucose carriers in rat adipose cells. *J Biol Chem* 1987; 262: 21-4.
16. Joost HG, Weber TM, Cushman SW, Simpson IA. Activity and phosphorylation state of glucose transporters in plasma membranes from insulin-, isoproterenol-, and phorbol-ester-treated rat adipose cells. *J Biol Chem* 1987; 262: 11261-7.
17. Kuroda M, Honnor RC, Cushman SW, Londos C, Simpson IA. Regulation of insulin-stimulated glucose transport in the isolated rat adipocyte. cAMP-independent effects of lipolytic and antilipolytic agents. *J Biol Chem* 1987; 262: 245-53.
18. Joost HG, Weber TM, Cushman SW. Qualitative and quantitative comparison of glucose transport activity and glucose transporter concentration in plasma membranes from basal and insulin-stimulated rat adipose cells. *Biochem J* 1988; 249: 155-61.
19. Kahn BB, Cushman SW. Mechanism for markedly hyperresponsive insulin-stimulated glucose transport activity in adipose cells from insulin-treated streptozotocin diabetic rats. Evidence for increased glucose transporter intrinsic activity. *J Biol Chem* 1987; 262: 5118-24.
20. Hissin PJ, Foley JE, Wardzala LJ, et al. Mechanism of insulin-resistant glucose transport in the enlarged adipose cell of the aged, obese rat: relative depletion of intracellular glucose transport systems. *J Clin Invest* 1982; 70: 780-90.
21. Hissin PJ, Karnieli E, Simpson IA, Salans LB, Cushman SW. A possible mechanism of insulin resistance in the rat adipose cell with high fat/low-carbohydrate feeding: depletion of intracellular glucose transport systems. *Diabetes* 1982; 31: 589-92.

qui pourrait résulter d'une augmentation du nombre de transporteurs, si elle rend chaque transporteur plus efficace en modifiant son affinité (K_m)* pour le glucose qui serait la conséquence d'une modification de l'activité intrinsèque du transporteur, ou si elle produit simultanément ces deux effets. Dans l'adipocyte isolé, on a longtemps considéré que l'insuline augmentait la capacité maximale de transport (V_{max}), sans changer l'affinité (K_m) du transporteur pour le glucose. Des travaux récents ont cependant remis en question ce dogme et montré une diminution du K_m (correspondant à une augmentation de l'affinité) du transport de glucose en réponse à l'insuline [6, 7]. Il semble que les conditions expérimentales soient responsables de ces divergences. La situation n'est pas plus claire dans les études réalisées sur le muscle strié dans lequel des effets de l'insuline ont été observés soit uniquement sur le V_{max} , soit sur le V_{max} et le K_m . Il est à noter que dans la plupart des expériences décrites, le K_m du transport de glucose est de l'ordre de 4-8 nM, une valeur proche de celle de la glycémie. Des variations de celle-ci peuvent donc modifier de façon notable le transport de glucose et ceci sans l'intervention de l'insuline. L'augmentation de la V_{max} du transport pourrait être la conséquence d'une activation ou d'un démasquage de transporteurs préexistants sur la membrane plasmique ou d'un recrutement de transporteurs présents à l'intérieur de la cellule. En 1978-1980, deux groupes utilisant des techniques différentes ont démontré indépendamment l'existence de la deuxième hypothèse [8, 9]. Dans des adipocytes isolés, d'une part, les auteurs ont mesuré le transport de glucose après addition d'insuline, d'autre part ils ont séparé les membranes plasmiques et microsomales et quantifié les transporteurs de glucose dans ces deux populations de membranes

(figure 3). Les deux façons de quantifier les transporteurs (liaison de la cytochalasine B et reconstitution des transporteurs dans des liposomes) ont clairement montré que l'insuline déplace les transporteurs d'un pool intracellulaire vers la membrane plasmique. Cette « translocation » a été récemment confirmée par une étude immunocytochimique dans des adipocytes en culture [10]. On voit sur la figure 2 qu'il faut 5 à 10 minutes pour que les transporteurs aient atteint leur nombre maximal sur la membrane plasmique et leur minimum dans la fraction microsomale. C'est également le temps qu'il faut à l'insuline pour avoir son effet maximal sur le transport de glucose [11].

D'autres études ont permis de démontrer que cette « translocation » du transporteur de glucose en réponse à l'insuline peut être mise en évidence *in vitro* dans le diaphragme [12] et le cœur [13], et *in vivo* dans le tissu adipeux brun [14]. Cependant la « translocation » du transporteur n'est pas toujours proportionnelle aux changements du transport de glucose et d'autres modifications du transporteur une fois présent dans la membrane plasmique doivent être envisagées. Par exemple : • Le traitement de cellules adipeuses par la cycloheximide, un inhibiteur de la synthèse des protéines, ne modifie pas le transport de glucose en réponse à l'insuline, mais il diminue le nombre de transporteurs de glucose sur la membrane plasmique [15]. • L'addition d'isoproterenol, un agoniste β -adrénergique, à des cellules adipeuses stimulées par l'insuline inhibe le transport de glucose sans modifier le nombre de transporteurs sur la membrane plasmique [16]. • De plus, le transport de glucose stimulé par l'insuline peut être modulé par des agents agissant *via* la protéine G^* activatrice (G_a) ou *via* la protéine G inhibitrice (G_i) de l'adénylate cyclase. Cet effet est indépendant de l'effet de ces

* K_m : la constante de Michaelis ou K_m est égale à la concentration de substrat pour laquelle la vitesse de réaction ou de transport est la moitié de la vitesse maximale.

* Les protéines G sont des éléments régulateurs (activateurs ou inhibiteurs) entre le récepteur et l'effecteur (activité enzymatique, canal ionique, processus sécrétoire) [3].

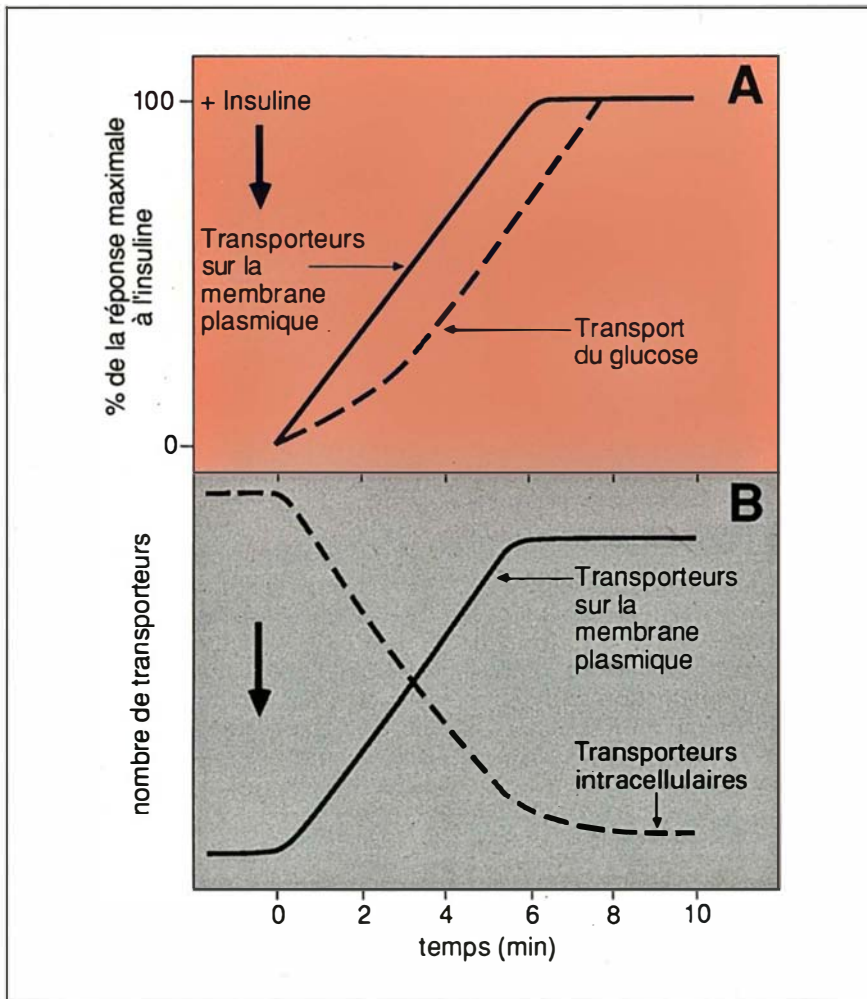


Figure 3. **A.** Effet de l'insuline sur l'apparition des transporteurs de glucose sur la membrane plasmique et sur le transport de glucose dans des adipocytes blancs isolés de rat. L'augmentation des transporteurs précède l'augmentation du transport de 2 à 3 minutes. Il faut 7 à 10 minutes pour atteindre l'effet maximal de l'insuline sur la translocation des transporteurs et sur le transport de glucose. L'effet de l'insuline est réversible. **B.** L'apparition des transporteurs sur la membrane plasmique est corrélée à une diminution des transporteurs dans un pool intracellulaire correspondant à une fraction riche en enzymes marqueurs de l'appareil de Golgi (la fraction microsomale légère). A l'état basal, la plus grande partie des transporteurs est associée au pool intracellulaire. (Adapté de [11].)

gents sur l'adénylate cyclase et n'est pas accompagné de translocation des transporteurs, suggérant que l'activité du transporteur peut être modulée par une ou des protéines G [17].

- A 22 °C, l'insuline augmente d'environ dix fois le transport de glucose, mais le nombre de transporteurs quantifié par immunoréactivité ne fait que doubler [18]. Ces observations indiquent claire-

ment qu'il faut compléter la notion de changement du nombre de transporteurs par celle d'un changement de l'activité intrinsèque du transporteur. Cette activité intrinsèque a été étudiée sur le cœur de rat perfusé, dans lequel le transport de glucose a été estimé par la mesure de l'efflux de 3-0-méthylglucose, un analogue du glucose qui est transporté sans être phosphorylé. Le cœur est initia-

lement « chargé » en 3-0-méthylglucose et l'effet de l'insuline est étudié sur l'efflux, le transport de glucose étant symétrique dans ce système. La courbe décrivant le transport de glucose en fonction de la concentration, montre que l'insuline augmente le transport maximal, mais diminue également le K_m , suggérant une modification des propriétés des transporteurs vis-à-vis du glucose. L'insuline augmente également la sigmoïdité de la courbe (transport = b [concentration de 3-0-méthylglucose]) indiquant une interaction coopérative entre les sites de liaison du glucose sur le transporteur*. Lorsque la liaison de la cytochalasine B, déplaçable par un excès de D-glucose, est mesurée sur des membranes plasmiques et microsomales, isolées à partir de cœurs perfusés avec et sans insuline, on constate que celle-ci provoque une translocation des transporteurs qui se traduit par une diminution de la liaison de la cytochalasine B aux membranes microsomales et une augmentation de la liaison aux membranes plasmiques. De plus (Tableau I), une analyse approfondie de la liaison de la cytochalasine B aux membranes plasmiques montre que celle-ci est modifiée par l'insuline qui, d'une part augmente l'affinité du transporteur pour la cytochalasine B, d'autre part induit une coopérativité positive**. Ces modifications ne sont pas observées dans les membranes microsomales. On peut

* Lorsque la liaison d'un substrat à un site d'une enzyme ne modifie pas l'affinité des autres sites pour le substrat, la courbe : vitesse de modification du substrat = f (concentration en substrat) est une hyperbole. Dans le cas où l'occupation d'un site augmente l'affinité des sites non encore occupés (on parle alors de coopération allostérique positive), la courbe est une sigmoïde. Une augmentation de la sigmoïdité indique donc une augmentation de la coopérativité ; elle se mesure par la valeur mathématique n (n de Hill) qui est de 1 pour une enzyme non allostérique et supérieure à 1 pour une enzyme allostérique. Ce qui vient d'être dit pour une protéine enzymatique peut être étendu à toute protéine non enzymatique liant spécifiquement un ligand.

** Coopération positive : augmentation, provoquée par l'occupation préalable d'un (ou d'une partie) des sites, de l'affinité pour un substrat des sites encore libres d'une enzyme ou d'une protéine non enzymatique.

conclure de ces résultats que, dans le cœur perfusé, l'insuline augmente le nombre de transporteurs sur la membrane plasmique et augmente l'efficacité de ces transporteurs. Cette augmentation de l'efficacité est corrélée à des changements des propriétés du transporteur vis-à-vis de la cytochalasine B. Des modifications semblables du transporteur vis-à-vis de la cytochalasine B ont été observées dans le tissu adipeux brun stimulé par l'insuline (figure 4).

Situations physiopathologiques liées à une altération de la réponse à l'insuline

Le diabète insulino-dépendant chez l'homme, de même que le diabète induit par la streptozotocine chez le rat, est associé à une diminution de l'effet de l'insuline sur le transport du glucose dans les adipocytes et dans le muscle strié. Dans les adipocytes de rat, cette diminution est partiellement expliquée par une dimi-

nution du *pool* intracellulaire des transporteurs de glucose (Tableau II) [19]. Après traitement de l'animal à l'insuline, les cellules adipeuses répondent à l'hormone *in vitro* par une augmentation du transport du glucose qui est trois fois plus importante que celle des animaux témoins, alors que le nombre de transporteurs est redevenu normal. Le traitement à l'insuline de rats diabétiques est donc accompagné d'une augmentation de l'activité intrinsèque des transporteurs de glucose de la membrane plasmique. Une situation similaire à celle du diabète a été observée dans le cas des rats âgés [20] ou des animaux étudiés après administration d'un régime riche en graisses et pauvre en glucides [21], deux modèles où l'on observe une insulino-résistance et une diminution du *pool* intracellulaire des transporteurs de glucose entraînant une réduction du nombre de transporteurs mobilisables vers la membrane plasmique sous l'action de l'hormone.

Le nombre de transporteurs n'est pas le seul paramètre qui est modifié dans l'insulino-résistance. Par exemple dans le cœur des rats fa/fa (une souche de rats obèses et insulino-résistants), on observe une réduction des effets de l'insuline sur le transport du glucose. Ce défaut est associé à une diminution du nombre total de transporteurs, mais aussi à un défaut d'activation des transporteurs une fois présents dans la membrane plasmique, défaut qui se manifeste par une absence de changement d'affinité et de coopérativité après stimulation par l'insuline (Tableau III) [22]. Les adipocytes provenant de patients obèses avec un diabète non insulino-dépendant présentent aussi les mêmes modifications du nombre et de l'activité des transporteurs [23]. Les défauts « post-récepteurs » de l'insulino-résistance pourraient donc résulter d'une diminution du nombre de transporteurs, accompagnée ou non d'une modification de leur activité intrinsèque dont il n'existe actuellement que des mesures indi-

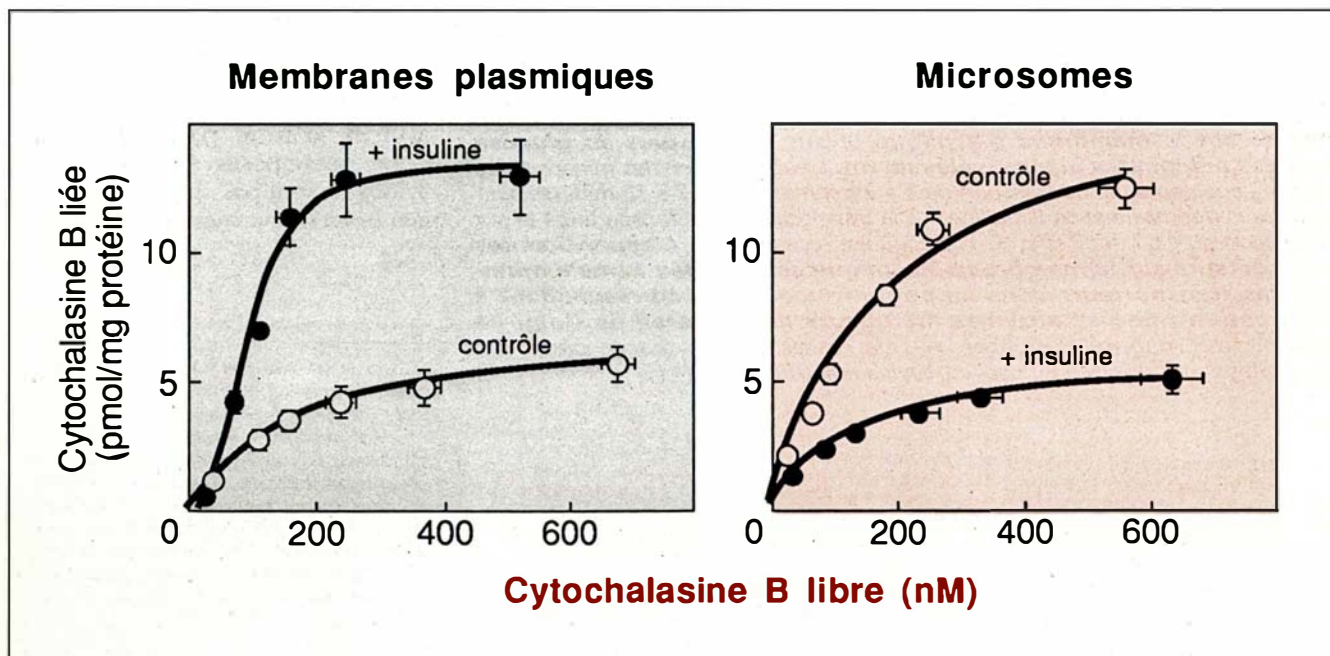


Figure 4. **Mesure de la liaison de la cytochalasine B à des membranes plasmiques et microsomales de tissu adipeux brun à l'état basal ou après un clamp euglycémique hyperinsulinémique.** L'insuline augmente les transporteurs du glucose associés aux membranes plasmiques et diminue ceux qui sont associés aux membranes microsomales. L'insuline modifie aussi la liaison de la cytochalasine B aux membranes plasmiques en augmentant l'affinité du ligand pour le transporteur et en induisant une coopérativité entre les sites de liaison (courbe sigmoïde), alors qu'à l'état basal il n'y a aucune interaction entre les sites de liaison du ligand. Les modifications d'affinité et de coopérativité des transporteurs vis-à-vis de la cytochalasine B pourraient refléter les mêmes modifications vis-à-vis du glucose.

Tableau I						
EFFET DE L'INSULINE SUR LE TRANSPORT ET LE TRANSPORTEUR DU GLUCOSE DANS LE CŒUR PERFUSÉ						
L'augmentation de l'affinité du glucose pour le transporteur, de même que l'apparition d'une coopérativité pour le transport du glucose se retrouve dans les propriétés du transporteur vis-à-vis de la cytochalasine B : augmentation de l'affinité du transporteur pour la cytochalasine B, augmentation de la coopérativité entre sites de liaison de la cytochalasine B.						
	Transport du glucose			Transporteur du glucose de la membrane plasmique		
Condition	V _{max} (μmol/min/g)	K _d (mM)	Coefficient de Hill	B _{max} (pmol/g)	K _d (nM)	Coefficient de Hill
Basale	18	6,9	1,9	540	230	1,6
Insuline	34	2,7	3,1	1 030	136	2,7

V_{max} = vitesse maximale ; B_{max} = liaison maximale de cytochalasine B ; K_d = constante de dissociation, inversement proportionnelle à l'affinité d'un ligand pour son site de liaison ; coefficient de Hill = index de la coopérativité entre les sites de liaison d'un ligand. Un coefficient de 1 indique une absence de coopérativité.

Tableau II					
MODIFICATION DU TRANSPORT ET DU TRANSPORTEUR DU GLUCOSE DANS LES ADIPOCYTES BLANCS DE RATS DANS DIFFÉRENTES SITUATIONS PHYSIOPATHOLOGIQUES					
	Diabète	Diabète traité par l'insuline	Vieillessement + obésité	Régime riche en graisses	Hyper-insulinémie chronique
Transport basal	=	=	=	=	↑
Transport stimulé par l'insuline	↓	↑	↓	↓	↑
Nombre de transporteurs dans le pool intracellulaire	↓	↑	↓	↓	↑
Rapport Transport stimulé/ Nombre de transporteurs*	=	↑			=
Références	[19]	[19]	[20]	[21]	[25-27]

* Une élévation de ce rapport indique une augmentation de l'activité intrinsèque des transporteurs.

Tableau III						
EFFET DE L'INSULINE SUR LES PROPRIÉTÉS DU TRANSPORT ET DU TRANSPORTEUR DU GLUCOSE DANS LE CŒUR PERFUSÉ DE RATS TÉMOINS ET OBÈSES INSULINO-RÉSISTANTS (fa/fa)						
	Transport du glucose			Transporteur du glucose sur la membrane plasmique		
Effet de l'insuline chez les rats	V _{max}	Affinité	Coefficient de Hill	B _{max}	Affinité	Coefficient de Hill
Témoins	↑↑	↑	↑	↑	↑	↑
Obèses	↑	=	=	↑	=	=

Le signe = signifie qu'il n'y a pas de changement par rapport aux conditions basales.

RÉFÉRENCES

22. Zaninetti D, Greco-Perotto R, Assimakopoulos-Jeannet F, Jeanrenaud B. Dysregulation of glucose transport and transporters in perfused hearts of genetically obese (fa/fa) rats. *Soumis pour publication*.

23. Garvey TW, Huecksteadt TP, Matthaei S, Olefsky JM. Role of glucose transporters in the cellular insulin resistance of type II non-insulin dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1988; 81 : 1528-36.

24. Trimble ER, Weir GC, Gjinovci A, Assimakopoulos-Jeannet F, Benzi R, Renold AE. Increased insulin responsiveness *in vivo* consequent to induced hyperinsulinemia in the rat. *Diabetes* 1984; 33 : 444-9.

25. Wardzala LJ, Hirshman M, Pofcher E, *et al.* Regulation of glucose utilization in adipose cells and muscle following long term experimental hyperinsulinemia in rats. *J Clin Invest* 1985; 76 : 460-9.

26. Kahn BB, Horton ES, Cushman SW. Mechanism for enhanced glucose transport response to insulin in adipose cells from chronically hyperinsulinemic rats. *J Clin Invest* 1987; 79 : 853-8.

27. Guerre-Millo M, Lavau M, Horne JS, Wardzala LJ. Proposed mechanism for increased insulin-mediated glucose transport in adipose cells from young obese Zucker rats. *J Biol Chem* 1985; 260 : 2197-2201.

28. Klip A, Ramlal T, Young DA, Holloszy JO. Insulin-induced translocation of glucose transporters in rat hindlimb muscles. *FEBS Lett* 1987; 224 : 224-30.

29. Wang C. The D-glucose transporter is tissue-specific. Skeletal muscle and adipose tissue have a unique form of glucose transporter. *J Biol Chem* 1987; 262 : 15689-95.

30. Gibbs EM, Allard WJ, Lienhard GE. The glucose transporter in 3T3-L1 adipocytes is phosphorylated in response to phorbol ester but not in response to insulin. *J Biol Chem* 1986; 261 : 16597-603.

31. Kono T, Suzuki K, Dansey LE, Robinson FW, Blevins TL. Energy-dependent and protein synthesis-independent recycling of the insulin-sensitive glucose transport mechanism in fat cells. *J Biol Chem* 1981; 256 : 6400-7.

32. Neer EJ, Clapham DE. Role of G protein subunits in transmembrane signalling. *Nature* 1988; 333 : 129-34.

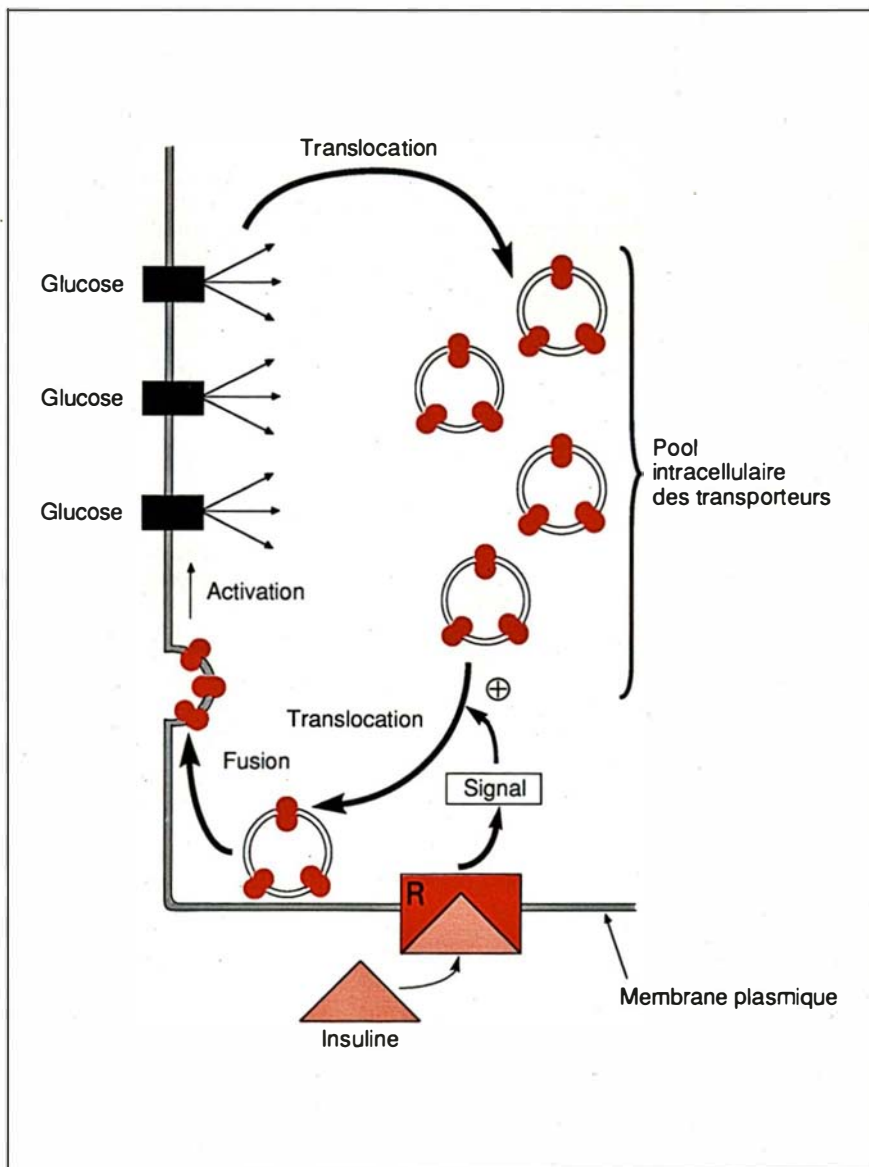


Figure 5. **Modèle hypothétique de l'effet de l'insuline sur le transport du glucose.** La liaison de l'insuline à son récepteur (R) produit un signal encore inconnu, probablement effectué via l'activité kinasique du récepteur. Ce signal accélère le mouvement des vésicules intracellulaires contenant le transporteur vers la membrane plasmique. Ces vésicules se lient, puis fusionnent avec la membrane plasmique. L'insertion des transporteurs dans la membrane plasmique est suivie d'une activation de ces transporteurs, activation dont la mesure est encore inconnue. L'insuline ne provoque pas de phosphorylation des transporteurs [30]. Après la dissociation de l'insuline de son récepteur, les transporteurs sont internalisés et rejoignent le pool intracellulaire. La translocation dans les deux directions nécessite de l'ATP [31]. R = récepteur de l'insuline.

rectes.

On a, en revanche, observé dans certains tissus du rat exposé à une hyperinsulinémie chronique (obtenue par perfusion d'insuline), une augmentation du transport du glucose [24, 25], elle-même la consé-

quence d'une augmentation du pool intracellulaire des transporteurs (due à une augmentation générale de la synthèse des protéines intracellulaires) et à une augmentation correspondante des transporteurs de la membrane plasmique après stimula-

tion par l'insuline [26]. Une même augmentation de la réponse à l'insuline a été mesurée dans les adipocytes blancs de jeunes rats obèses hyperinsulinémiques, accompagnée d'une augmentation du pool des transporteurs intracellulaires [27]. Un rôle régulateur éventuel de l'insuline et/ou du glucose sur la biosynthèse des transporteurs de glucose reste à démontrer.

Le muscle strié : de nombreuses questions non résolues

Si le rôle de la mobilisation du *pool* intracellulaire de transporteurs de glucose est bien démontré dans le tissu adipeux blanc et brun, dans le cœur et le diaphragme, peu de résultats sont publiés sur le muscle strié qui, par sa masse, est probablement le site principal d'action de l'insuline *in vivo*. Le muscle strié est-il riche en transporteurs de glucose ? On pourrait s'y attendre, et pourtant, les résultats publiés montrent très peu de sites de liaison de la cytochalasine B déplaçables par le glucose sur les membranes plasmiques purifiées de muscles de rat [28], en fait moins que dans le tissu adipeux blanc. La quantité de membranes par unité de poids compense-t-elle cette différence ? Ceci est difficile à évaluer au vu des faibles rendements lors de la préparation de membranes isolées. Existe-t-il un *pool* intracellulaire de transporteurs dans le muscle strié ? La réponse à cette question est, selon les auteurs [28], oui ou non [29]. A quelle structure les transporteurs sont-ils associés ? Que fait l'insuline sur ces transporteurs ? Autant de questions qui n'ont encore pas reçu de réponses satisfaisantes. Il existe pourtant des situations physiopathologiques où l'on observe une insulino-résistance du muscle strié (*figure 2*). Est-elle produite par une modification du nombre et/ou des propriétés des transporteurs de glucose, comme dans le cœur de rat *fa/fa* ? Ce sont là autant de questions non résolues, quant au mécanisme d'action de l'insuline sur le transport du glucose dans son tissu cible principal *in vivo*, qui illustrent l'effort qui reste à faire pour comprendre l'une des actions princeps de cette hormone ■

m/s n° 1 vol. 5, janvier 89

Summary

Most of the cells contain an integral plasma membrane protein which carries out specific D-glucose transport. In skeletal muscle, heart, diaphragm, white and brown adipose tissues, glucose transport is stimulated by insulin. This effect is blunted in tissues from insulin resistant humans and animals. At least three types of glucose transporters have been described, among which the insulin-sensitive glucose transporter, present in adipose tissue (white and brown), skeletal muscle, heart and diaphragm. In the perfused heart, insulin has been shown to stimulate glucose transport by three complementary mechanisms : (a) a translocation of glucose transporters from an intracellular pool to the plasma membrane resulting in an increased number of transporters ; (b) an increase in the affinity of the transporter for glucose and for cytochalasin B ; (c) interaction between the binding sites of glucose resulting in the appearance of positive cooperativity, reflected by an increase in the Hill coefficient. The two last modifications contribute to an increased intrinsic activity of the transporter. Post-receptor insulin-resistance can be associated to a decreased number of transporters and/or in a decreased effect of insulin on the intrinsic activities of the transporters. An important question however remains unanswered : by which mechanism does insulin increase glucose transport in skeletal muscle, the most important target of the hormone ?

Remerciements

Les travaux des laboratoires sont financés par le Département de l'Instruction publique de la République et Canton de Genève, par le Fonds National Suisse de la Recherche Scientifique (Berne). (Requête n° 3.822-086) et par Nestlé S.A. (Vevey, Suisse).

TIRÉS A PART

B. Jeanrenaud.