

COMMUNICATIONS ORALES

Métabolisme 1

O31 Signification physiopathologique de la surexpression musculaire d'ApN en cas de stress métabolique

J Jortay¹, M Senou², L Noël¹, MC Many², S Brichard¹¹Endocrinologie – Métabolisme, Université Catholique de Louvain, Bruxelles, Belgique ;²Unité de Morphologie Expérimentale, Université Catholique de Louvain, Bruxelles, Belgique.

Introduction : L'adiponectine (ApN), sécrétée quasi exclusivement par l'adipocyte, présente des effets susceptibles de contrecarrer plusieurs facettes du syndrome métabolique. Nous avons précédemment montré une induction a priori surprenante d'ApN dans le muscle squelettique de souris génétiquement obèses et diabétiques de type 2 (*ob/ob*). Nous postulons que l'induction musculaire d'ApN serait un mécanisme local de protection contre des réactions inflammatoires/oxydatives excessives au cours d'un stress métabolique.

Matériels et Méthodes : Afin de tester *a contrario* cette hypothèse, des souris déficientes en ApN (KO-ApN) et des souris sauvages ont été soumises soit à un régime obésogène soit à un régime standard. Nous avons recherché si le muscle des souris KO-ApN était plus vulnérable à l'agression métabolique et si ces anomalies pouvaient être corrigées en transfectant le gène d'intérêt dans le muscle.

Résultats : L'expression d'ApN était plus marquée dans les myocytes des souris sauvages sous régime obésogène que sous régime standard. Après 6 semaines de ce régime, les deux types de souris développaient une obésité. Cependant, les souris KO-ApN étaient plus obèses et résistantes à l'insuline. Comparativement aux souris sauvages, il existait, à l'état basal, dans le muscle *tibialis anterior* des souris KO-ApN, une augmentation de l'immunomarquage des peroxyrédoxines 3 et 5 et de l'hydroxynonéol, tous trois impliqués dans le stress oxydatif, du TNF- α , impliqué dans l'inflammation, ainsi que de la caspase-6, impliquée dans l'apoptose. Sous régime obésogène, ces anomalies étaient fortement accentuées chez les souris KO-ApN et s'accompagnaient d'une atteinte musculaire. Par rapport aux souris sauvages, l'activation du facteur nucléaire NFkB était doublée dans le muscle des souris KO-ApN sous régime standard et augmentait davantage sous régime obésogène. La transfection par électroporation du gène de l'ApN dans le muscle *tibialis anterior* a prévenu ces anomalies.

Conclusion : L'inactivation du gène de l'ApN entraîne une atteinte musculaire qui est accentuée suite au régime obésogène. Ces effets délétères sont minorés par l'injection locale d'ApN. Ces données appuient l'hypothèse selon laquelle l'ApN musculaire jouerait un rôle protecteur dans le cadre d'un stress métabolique.

O32 Absence d'effet direct de l'AMPK sur la production hépatique de glucose

M Foretz, S Hébrard, J Leclerc, B Viollet

Institut Cochin, Inserm U567, Cnrs Umr8104, Département Endocrinologie Métabolisme et Cancer, Inserm-Cnrs, Paris.

Introduction : L'AMPK participe à la régulation du métabolisme énergétique en réponse à divers signaux métaboliques et hormonaux. En particuliers, l'AMPK inhibe la production hépatique de glucose. Ces propriétés confèrent à l'AMPK un rôle de cible pharmacologique dans le traitement du diabète de type 2. Ainsi, il a été suggéré que la metformine améliore l'hyperglycémie chez des diabétiques en inhibant la gluconéogenèse hépatique via l'activation de l'AMPK. Cependant, nous avons montré récemment que la metformine est capable d'inhiber la production de glucose en absence de l'AMPK. Ces résultats inattendus nous ont conduit à réévaluer le rôle de l'AMPK dans la régulation de la gluconéogenèse hépatique. Afin d'étudier précisément le rôle de l'AMPK dans le contrôle de la production hépatique de glucose, nous avons utilisé des souris délétées des gènes AMPK $\alpha 1$ et $\alpha 2$ (KO) dans le foie et réaliser des cultures primaires d'hépatocytes traitées avec le composé A-769662, un nouvel activateur direct de l'AMPK.

Résultats : La délétion de l'AMPK dans le foie n'a pas d'effet sur la glycémie chez des souris à l'état nourri ou à jeun. De même, dans des hépatocytes dépourvus d'AMPK, la production de glucose basale ou stimulée par l'AMPK est comparable au contrôle. L'addition d'AICAR, un activateur de l'AMPK, dans le milieu de culture entraîne une inhibition de la production de glucose et de l'expression des gènes de la gluconéogenèse ainsi bien dans les hépatocytes sauvages que KO. Ces résultats suggèrent que les effets de l'AICAR sur la gluconéogenèse sont indépendants de l'AMPK. Contrairement à l'AICAR et à la metformine, le composé A-769662 est un activateur direct de l'AMPK. Cette molécule active l'AMPK en interagissant directement avec le complexe $\alpha\beta\gamma$ de l'AMPK. L'addition de A-769662 dans le milieu de culture d'hépatocytes contrôles entraîne une activation de l'AMPK et la phosphorylation de l'acétyl-CoA carboxylase (ACC), une cible de l'AMPK. En absence d'AMPK ou de LKB1, la phosphorylation de l'ACC est abolie. De manière étonnante, malgré

l'activation de l'AMPK, l'A-769662 ne modifie ni la production de glucose, ni l'expression des gènes de la gluconéogenèse.

Conclusion : Nos résultats montrent que l'inactivation et l'activation spécifique de l'AMPK dans le foie n'ont pas de conséquence sur la régulation de la gluconéogenèse. Nous proposons que les effets bénéfiques de l'activation de l'AMPK sur la glycémie chez des diabétiques de type 2 impliquent un mécanisme indirect.

O33 Rôle de Glut2 et SGLT3 dans la détection portal de glucose : deux mécanismes pour une sensibilité fine aux variations glycémiques

F Delaere¹, A Duchamp¹, P Seyer², L Mounien², C Duraffourd¹, C Zitoun¹, B Thorens², G Mithieux¹¹U855 Inserm-Ucb Lyon1, Université de Lyon, Lyon ;²Centre Intégratif de Génomique, Université de Lausanne, Lausanne, Suisse.

Introduction : Les régimes hyperprotéiques augmentent la satiété et améliorent le contrôle glycémique. Ces effets sont initiés par la détection du glucose produit par l'intestin dans la veine porte, signal transmis au cerveau par les afférences nerveuses périphériques. Le transporteur GLUT2, et le catabolisme glucidique, ont été impliqués dans l'initiation de ce signal, notamment pour des perfusions de glucose équivalentes à la production endogène. Afin de proposer un modèle général pour la détection portale, nous avons étudié le rôle éventuel de mécanismes alternatifs de détection du glucose, dans les conditions de sa production en réponse aux protéines alimentaires.

Matériels et Méthodes : Le rôle de GLUT2 dans la détection du glucose issu de l'intestin a été évalué par la mesure de la prise alimentaire de souris C57BL6/J dépourvues du transporteur et soumises à un régime hyperprotéique. Des rats Sprague-Dawley adultes ont reçu des perfusions portales d'activateurs ou d'inhibiteurs des autres voies de détection étudiées, et leur prise alimentaire a été mesurée pour évaluer les mécanismes du signal glucose portal.

Résultats : Les souris dépourvues du transporteur GLUT2 recevant un régime riche en protéines diminuent leur prise alimentaire du même ordre de grandeur que les souris sauvages (-20 %). La perfusion portale d'édulcorants (sucralose, acésulfame K) à des doses suffisantes pour activer les récepteurs au goût sucré n'a pas eu d'effet sur la prise alimentaire des animaux. La perfusion à 25 $\mu\text{mol/kg/min}$ d'alpha-méthylglucose (activateur des transporteurs couplés au sodium, SGLTs), mais pas celle de 3-O-méthylglucose (activateur de SGLT1), diminue la prise alimentaire des individus avec une efficacité similaire au glucose (-37 %). L'ajout de 0,2 $\mu\text{mol/kg/min}$ de phlorizine à une perfusion de glucose annule l'effet de ce dernier sur la satiété, sans que cet inhibiteur des SGLTs ne modifie la prise alimentaire s'il est perfusé seul. Enfin, la présence de SGLT3 et GLUT2 dans la zone portale a été confirmée par Western blot.

Conclusion : Nos résultats suggèrent l'existence de deux mécanismes de détection du glucose dans la veine porte, qui confèrent à ce site une sensibilité à la fois à des variations de glycémie importantes (via GLUT2), et plus faibles (via SGLT3).

O34 Identification d'une voie de sortie du glucose indépendante de Glut2

J Chilloux, M Soty, G Mithieux, A Gautier-Stein

Inserm U855, Université de Lyon, Inserm, Lyon.

Introduction : La régulation de la glycémie dépend de la production du glucose par les cellules néoglucogéniques et de sa libération dans le sang. Glut2 est actuellement l'effecteur supposé de cette libération. L'étude des souris invalidées pour le gène codant cette protéine a cependant permis de mettre en évidence une voie de sortie du glucose alternative, dépendante de mouvements membranaires. Nos travaux portent sur l'identification de cette voie et se basent sur l'hypothèse selon laquelle les cavéoles, vésicules d'endo et d'exocytose, permettraient la libération du glucose dans le milieu extracellulaire.

Matériels et Méthodes : La libération de glucose d'hépatocytes de souris C57/Bl6j (5 semaines, n = 8) en culture primaire a été étudiée en présence d'un inhibiteur chimique de Glut2 (Cytochalasin B, 50 μM , 1 h) et/ou de la formation des cavéoles (Méthyl- β -Cyclodextrin, 10 mM, 1 h). De plus, la colocalisation de l'enzyme clé de la production de glucose, la Glucose-6-phosphatase, avec la protéine de structure des cavéoles, la cavéoline-1, a été étudiée par microscopie.

Résultats : La libération de glucose est diminuée de 23 % ($p < 0,05$) en présence de l'inhibiteur chimique de Glut2 et de 33 % ($p < 0,05$) en présence de l'inhibiteur de la formation des cavéoles. En présence de ces deux inhibiteurs, la libération de glucose est diminuée de 43 % ($p < 0,05$). Enfin, les études de microscopie confocale ont permis de mettre en évidence une colocalisation de la glucose-6-phosphatase et de la cavéoline-1.

Discussion : Ces résultats suggèrent fortement l'implication des cavéoles dans le processus de sortie du glucose mais aussi dans la régulation de la production du glucose. La spécificité des inhibiteurs chimiques utilisés étant relative, nous analysons actuellement l'effet de l'inhibition plus spécifique de ces deux voies par shRNAs.