

ACTIONS DE L'INSULINE, DEREGLEMENTATION DANS LE DIABETE

Les cours porte sur les mécanismes **moléculaires** qui régulent les voies de signalisation de l'insuline. On va voir plus précisément la régulation **négative**, de la voie de signalisation de l'insuline qui va conduire à l'établissement de la **résistance**.

I. ACTION DE L'INSULINE :

Tout d'abord, l'insuline est la **seule** hormone **hypoglycémiant**e de l'organisme.
Schématiquement voici tous les mécanismes moléculaires qui sont induits par l'insuline qui vont être détaillés :

- L'insuline se fixe sur son **RECEPTEUR**
- Cela induit une **activation** et une **autophosphorylation** de ce récepteur sur un certains nombre de **résidus tyrosines**.
- Ces résidus tyrosine, et en particulier la **tyrosine 960**, vont pouvoir interagir avec un certains nombres de **PROTEINES SUBSTRATS** (en particulier les IRS)
- Les sites phosphorylés des substrats, vont servir de *points d'ancrage* à d'autres molécules : les **MOLECULES ADAPTATRICES**
- Les molécules adaptatrices vont ensuite engager **DEUX VOIES** différentes :
 - Soit la voie des MAP kinase
 - Qui passe par le complexe grab2soc ? et raf/rap ?
 - Soit la voie de la PIP3 kinase
 - Plus complexe, avec énormément de kinases qui s'activent en cascade
- Pour conduire finalement aux **EFFETS** biologiques de l'insuline

1. RECEPTEUR DE L'INSULINE :

L'insuline va agir avec un récepteur spécifique qui se trouve au niveau des tissus dits « *insulino-sensible* ». Ce récepteur possède :

- une activité **tyrosine kinase** en **s'auto-phosphorylant**, et
- induit la **phosphorylation** d'un certains nombres de substrats
 - en particulier, on verra : les IRS : insulin receptor substrates.

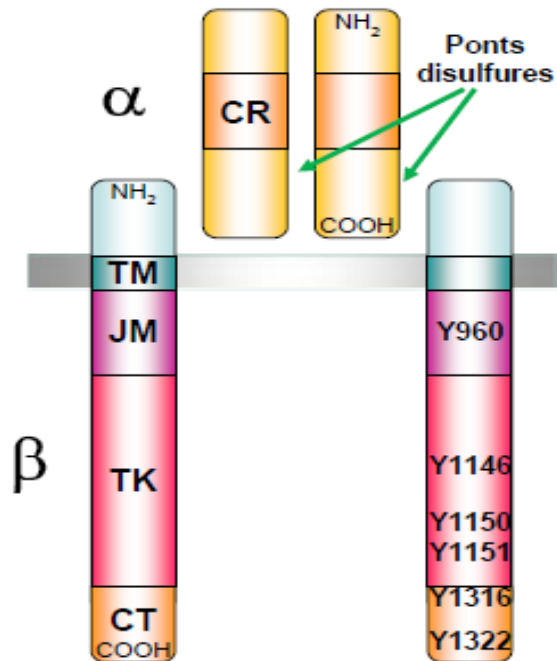
S T R U C T U R E

- C'est un **hétérotétramère**.
- Il est constitué de **2 sous unités alpha** et **2 sous unités Beta**.
 - **Les 2 sous unités alpha**,
 - sont strictement **extra-cellulaires**,
 - c'est elles qui vont **liées à l'insuline**.
 - **Les 2 sous unités beta**
 - sont transmembranaires.



- On distingue une partie qui est :
 - o extra cellulaire
 - o transmembranaire
 - o Intra cytoplasmique : au niveau de la partie intra cytoplasmique, on découvre un certain nombre de domaines :

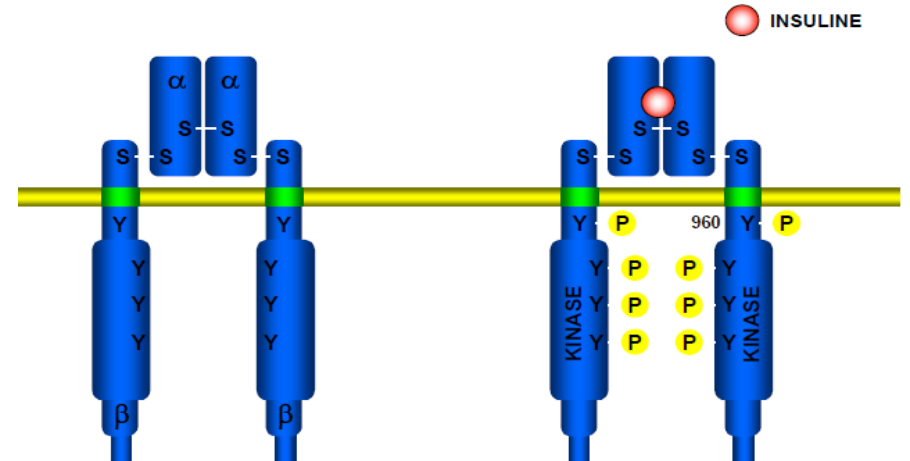
- Le domaine juxta-membranaire
 - situé directement sous la membrane
- Le domaine tyrosine kinase,
 - c'est lui qui possède l'activité kinase du récepteur
- le domaine C terminal



F O N C T I O N :

L'AUTOPHOSPHORYLATION

Le récepteur à l'insuline possède intrinsèquement une activité **tyrosine kinase**, il est donc capable de **s'autophosphoryler**.



Pour mettre en évidence cette autophosphorylation, c'est très facile :

1. **Incubation** de cellules avec du phosphate³² (élément radioactif)
2. Lorsqu'il y a phosphorylation, il y a **incorporation** de ce phosphate.
3. Stimulation et incubation des cellules avec **l'insuline**
4. **Immunoprécipitation** du récepteur à l'insuline avec un anticorps spécifique (*ici plus particulièrement on va utiliser un anticorps qui est dirigé vers les sous unités beta du récepteur*).
5. **Séparation** des immunoprécipitats sur un gel polyacrilamide,
6. **Autoradiographie**

On arrive à obtenir un **signal radiographique** qui représente la phosphorylation de la sous unité beta, à des concentrations **très faibles** d'insuline (10^{-10} M)

On constate aussi que la **phosphorylation** est **proportionnelle** à la dose **d'insuline** que l'on a utilisée pour stimuler nos cellules.

Comment se passe l'autophosphorylation ?

Le récepteur de l'insuline, est déjà à l'**état basal** (contrairement à ce que l'on aurait pu apprendre avec Mister Guidicelli) sous forme **d'hétérotétramère** (toutes les sous unités sont déjà reliées entre elles par des ponts disulfures)

Lorsqu'il y a association de l'insuline avec les sous unités **alpha :**

- **Changement de conformation** du récepteur
 - qui va se produire au niveau des sous unités **beta** du récepteur,
- Permet l'activation de l'**activité kinase** et de son autophosphorylation.

Les différentes autophosphorylations :

Son autophosphorylation, se fait sur un certains nombres de résidus (représentés sur la diapo). En définitive, chacun des **résidus de tyrosine phosphorylé** ne vont **pas** avoir la même fonction :

Tyrosine 960	Importante Site majeur, pour le recrutement des substrats de l'insuline.
Tyrosines 11-46, 11-50, 11-51	vont permettre l' activation maximale du récepteur.
Tyrosines 13-16, et 13-22	dans la partie c terminal

Ces molécules vont permettre la fixation d'autres molécules de signalisation : les protéines substrats

Le récepteur de l'insuline, une fois qu'il a interagit, est internalisé pour être **recyclé**.

2. LES PROTEINES SUBSTRATS

On a vu jusqu'à présent l'insuline qui se fixait sur son récepteur, qui va induire son autophosphorylation sur les tyrosines. Mais il va y falloir, que ce signal se transmette **plus en aval**, et c'est pour cela que les tyrosines vont interagir avec un certain nombre de protéines.

Les protéines IRS sont des protéines substrats.
Ces protéines IRS, une fois phosphorylées, vont pouvoir interagir avec d'autres protéines adaptatrices.



Ce système va pouvoir, en définitive, **médier**, les effets biologiques de l'insuline sur les tissus cibles (comme par exemple : le transport du glucose, ou encore la croissance, la différenciation cellulaire, la synthèse de lipides, glycogène...)

Les domaines d'interactions :

Pour qu'il y ait interaction, il faut qu'il y ait un certains nombres de **domaines d'interactions** présents dans les protéines substrats :

PTB

DEF : PTB: Phospho Tyrosine Binding Domain
C'est un domaine qui fait à peu près 150 acides aminés

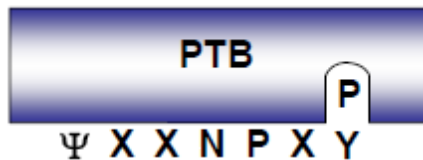
PTB reconnaît spécifiquement : les tyrosines phosphorylées qui sont placées dans une séquence consensus particulières de type :



(Asparagine -Proline - n'importe quel AA - Tyrosine)
Il a été montré que très souvent on avait en amont de cette séquence NPXY, un acide aminé hydrophobe Ψ

C'est exactement là où l'on va trouver cette **tyrosine 950**

Rôle : L'interaction du PTB avec la tyrosine 950, va permettre une localisation des protéines au niveau de la **membrane plasmique**, on va rapprocher les substrats du récepteur au niveau de la membrane plasmique, *puisque la tyrosine 950 se trouve dans le domaine juxta-membranaire*



SH2

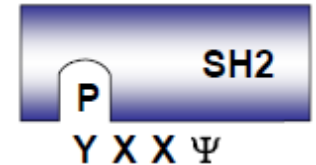
DEF : SH2 : Src Homology 2
C'est un domaine qui fait à peu près 100 acides aminés

SH2 reconnaît spécifiquement comme le domaine PTB, reconnaît des tyrosines phosphorylées, mais ne reconnaît pas les mêmes : il reconnaît les tyrosines placées dans une séquence consensus :

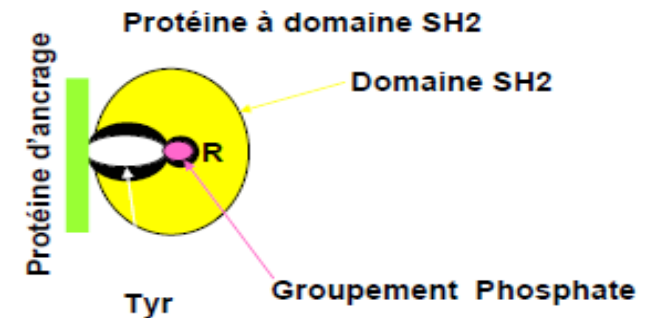


C'est très souvent une méthionine qui se trouve en dernière position, donc souvent on parle de **Y-X-X-M**.

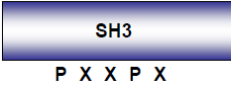
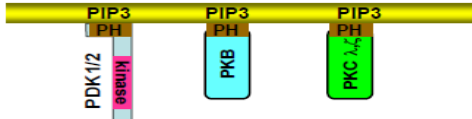
Cette liaison met en jeu une **arginine** particulière, très conservée. Elle va de part sa charge **positive**, crée un **proche d'ancrage**. C'est à l'intérieur de



cette poche d'ancrage que va venir le **phosphate**, qui lui est chargé négativement
Il va donc y avoir une attirance de la **tyrosine négative** (du fait de son phosphate) avec **l'arginine positive** comprise dans la poche du domaine SH2.



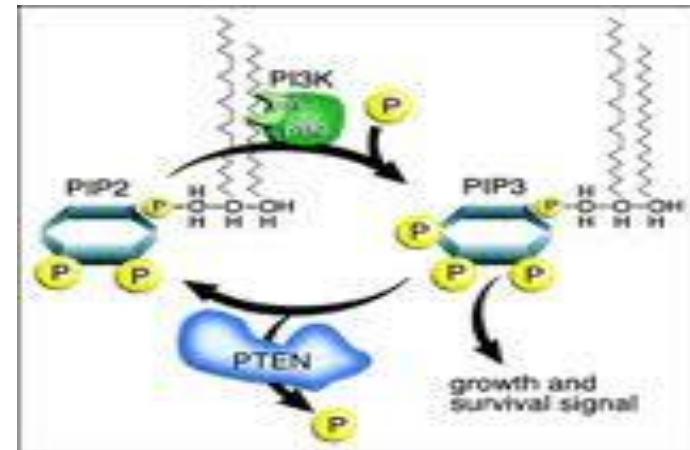
On quitte les domaines qui vont interagir avec les tyrosines phosphorylées.

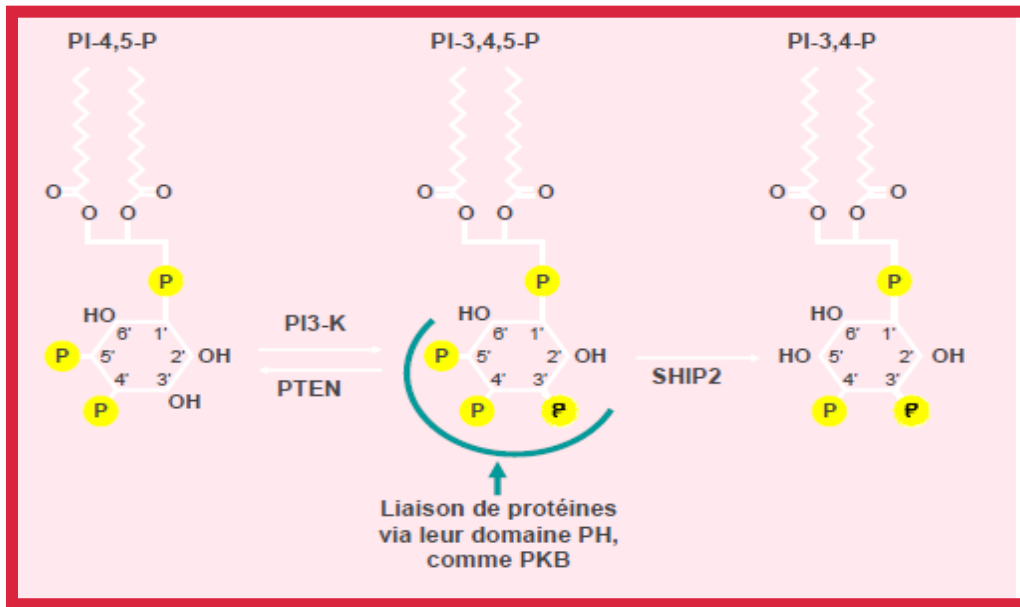
SH3	<p>DEF : SH3 est un domaine riche en proline. C'est un domaine qui fait à peu près 50 acides aminés.</p> <hr/> <p>Il est caractérisé par un grand sillon, dont le fond est tapissé de résidus aromatiques, où vont venir s'insérer justement les motifs riches en proline.</p> <hr/> <p>SH3 reconnaît spécifiquement : les séquences de types :</p> <div style="display: flex; align-items: center; justify-content: center;"> <div style="border: 1px solid red; padding: 2px; margin-right: 10px;">P - X - X - P</div> <div style="text-align: center;">  <p>SH3 P X X P X</p> </div> </div> <p>La proline est souvent proche d'un résidu aliphatique.</p>
PH	<p>DEF : plextrine homology domain Constitué de 120 acides aminés</p> <hr/> <p>Rôle : Il permet de diriger une protéine vers la membrane, et d'ancrer cette protéine dans la membrane.</p> <p>Pourquoi ? Parce que le domaine PH est capable d'interagir avec les phosphoinositines membranaires.</p> <p>Le domaine PH interagit plus particulièrement avec le PIP3. En effet le phosphatidyl inositol au niveau de la membrane peut-être phosphorylé sous de nombreuses formes (<i>cf ci-dessous</i>)</p> <div style="text-align: center;">  </div>

Le Phosphatidyl inositol non phosphorylé est un élément de la *bicouche lipidique* qui constitue la membrane plasmique. **Le phosphatidyl inositol** possède trois sites probables de phosphorylation en 3', 4', et 5'.

- **A l'état basal, le phosphatidyl inositol : est trouvé sous forme de**
 - phosphatidyl inositol bi phosphate,
 - donc **2 fois phosphorylé**
 - en position 4 et 5.
- **Lorsqu'il y a activation de la voie de signalisation de l'insuline : il va y avoir :**
 - transformation de ce **PIP2 (PIP4, 5 phosphate)** en **PIP3**
 - donc avec **3 phosphates (PIP3, 4, 5 phosphate)**

La kinase qui est responsable de cette réaction **PIP2 → PIP3** est la **PI3 kinase** (enzyme qui s'engage lors de l'action de l'insuline)





Effet de cette réaction :

Création d'un site de **liaison** pour les protéines qui possèdent un site **PH** (comme par exemple la kinase PKB)

Il faut savoir que ce **PIP3** ne va pas rester sous la forme de **PIP3**, c'est une forme qui est **réversible** :

- par la phosphatase **PTEN** : **PIP3** → **PIP2** (PI 4, 5 phosphate)
- Par la phosphatase **SHIP2** : **PIP3** → **PIP2** (PI 3, 4 phosphate)

La forme **PI3, 4 phosphate** en revanche, est **irréversible** : on ne peut pas à travers cette forme recréer du **PI3, 4, 5 phosphate**.

Les substrats de l'insuline :

On distingue plusieurs substrats au récepteur de l'insuline :

Protéines IRS ++

- **IRS** : insulin receptor substrate
- séquences assez **conservées**
- elles possèdent toutes un domaine PH en Nterm,
 - qui va donc permettre l'ancrage à la **membrane**
 - car interagit avec les **PIP3**
- Elles possèdent également un domaine PTB
 - qui lui va interagir avec la **tyrosine 960** du récepteur
- Enfin elles possèdent, une partie C term assez variable
 - qui contient les différents **résidus tyrosines**
 - qui vont pouvoir être **phosphorylé** par le récepteur.

Protéine SHC

Au niveau des 3 isoformes de SHC, c'est essentiellement **P46**, et **P52** qui sont impliqués au niveau de la voie de signalisation de l'insuline.

La protéine GAP1

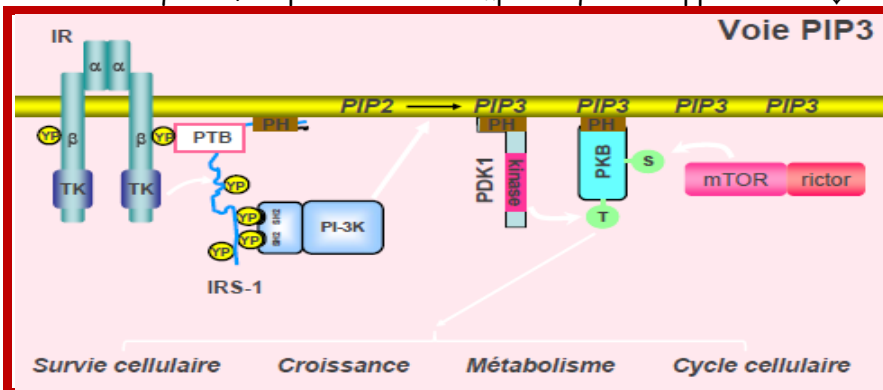
Les protéines STAT5A, STAT5B qui sont des facteurs de **transcription**

3. L'ENGAGEMENT DES VOIES :

PI3 kinase :

Chronologiquement :

- Protéines substrats : IRS-1 :**
 - Phosphorylation des **tyrosines**.
- Molécules adaptatrices : PI3 kinase**
 - Les tyrosines phosphorylées sur IRS1 vont pouvoir reconnaître d'autres protéines qui possèdent des domaines **SH2**
 - Notamment sur la sous unité **P86** régulatrice de la **PI3 kinase**
- Engagement de la voie PI3 Kinase :**
 - Cette **PI3 kinase** est capable de transformer **PIP2** → **PIP3**
 - Le fait d'avoir créer le **PIP3** permet le recrutement d'autres kinases comme **PDK1**, et **PKB**
 - qui vont être impliqués en cascade, agissent les uns sur les autres.
 - La kinase **PKB** est une **sérine-thréonine kinase**
 - qui pour être complètement activée, doit également être phosphorylée sur sa sérine 473,
 - qui se fait par un autre complexe que l'on appelle **MTOR** ↓

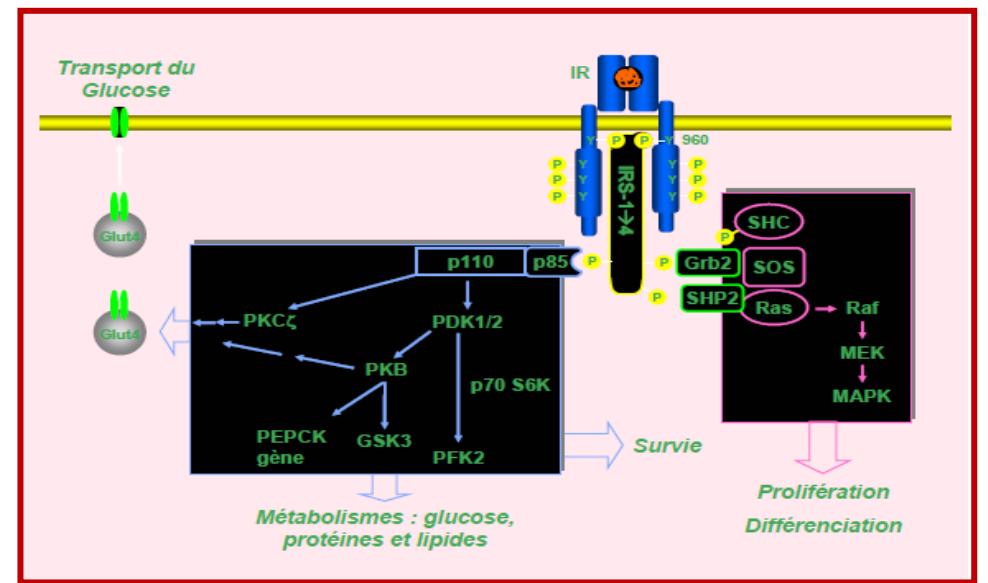


L'engagement de cette voie PI3 kinase implique la **survie cellulaire**, la **croissance**, ou l'**avancement du cycle cellulaire**, c'est plus une voie métabolique.

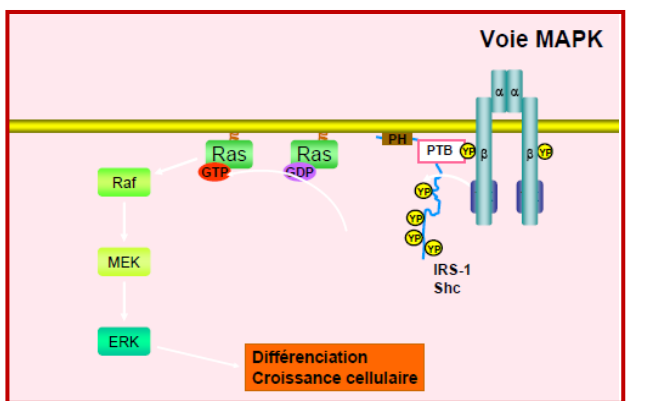
La MAP kinase :

Chronologiquement :

- Protéines substrats : IRS1- SHC**
- Molécules adaptatrices : GRB2 & SHP2**
 - La protéine adaptatrice **GRB2** est complexée au facteur d'échange **SOS**
- Engagement de la voie MAP kinase:**
 - SOS** permet la transformation du **RAS GDP** en **RAS GTP**,
 - Cela conduit à l'activation de la cascade **RAS/RAF**
 - Qui conduit à l'activation de la kinase **MEP/MEK**, et **MAP kinase (= ERK)**.



Cette voie MAP kinase plus dédiée à l'induction de la **différenciation, et la croissance cellulaire.**



4. EFFET DE LA VOIE DE SIGNALISATION :

Cette voie va par exemple permettre :

- la translocation de GLUT4 au niveau de la membrane plasmique
- la transformation en glycogène

Tout cela permet de réguler l'**homéostasie** du glucose.

Super site pour mieux comprendre, si cela vous paraît flou :

http://www.facbio.com/content/index.php?option=com_content&task=view&id=71&Itemid=96#IR

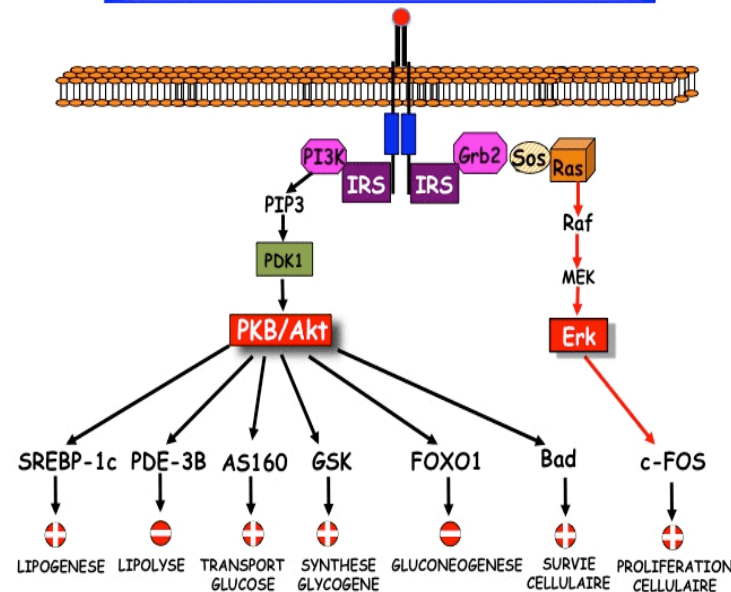
Question de MARC® : Comment sait-on quelle voie l'insuline va-t-elle choisir puisqu'elle passe toutes les deux par IRS1 ?

Réponse : C'est une très bonne question (☺), on ne connaît pas encore tout sur la spécificité, c'est-à-dire, qu'est-ce qui va faire qu'une voie va être engagée plus que l'autre. En fait, lorsque vous avez activation du récepteur par l'insuline, vous avez rarement une voie ou l'autre qui va être engagée, vous avez les deux voies qui vont être engagées, mais plutôt du côté MAP kinase, ou plutôt du côté PI3 kinase. C'est une question d'équilibre

La voie de signalisation de l'insuline, passe beaucoup par des phosphorylations :

- **soit sur tyrosines**, au niveau **des premières étapes**
- **soit sur sérine/thréonine**, qui se passe **plutôt en aval**, au niveau des substrats

VOIES DE SIGNALISATION ET REPONSES CELLULAIRES



II. REGULATION, ET DEREGLEMENTATION DANS LE DIABETE

Il faut **réguler** cette voie de l'insuline, même dans les cas normaux.

Une fois que la cellule a mis en place cette voie de signalisation, elle va devoir **l'inhiber** pour pouvoir être **re-activée**. S'il n'y avait pas ce système de rétro-contrôle négatif, vous auriez une **stimulation constante** de l'insuline.

Quels sont les signaux qui vont permettre de moduler les voies de signalisation de l'insuline ?

Baisse du niveau d'expression des protéines clés

c'est par exemple le cas :

- Du récepteur à l'insuline,
- Du récepteur de glucose glut4,
- D'IRS-1
- De la P85 : sous unité régulatrice de la PI3-kinase
 - o *inhibe la voie de signalisation de l'insuline lorsqu'elle augmente.*

Si on **diminue** l'expression de ces **protéines**, on va **diminuer l'effet de l'insuline**.

Comment a-t-on pu démontrer tout cela ?

En laboratoire, on a pris un certain nombre de modèles animaux, qui sont des modèles **KO** (knock-out), c'est-à-dire des souris dans lesquelles on a **inhibé** l'expression d'une protéine particulière.

On a inhibé l'expression du récepteur à l'insuline, dans un tissu bien particulier soit :

- au niveau du muscle,
- au niveau du foie,
- au niveau du tissu adipeux,
- au niveau des cellules beta du pancréas.

On a alors étudié l'impact de **la non expression du récepteur à l'insuline** dans les tissus particuliers.

Qu'a-t-on montré ?

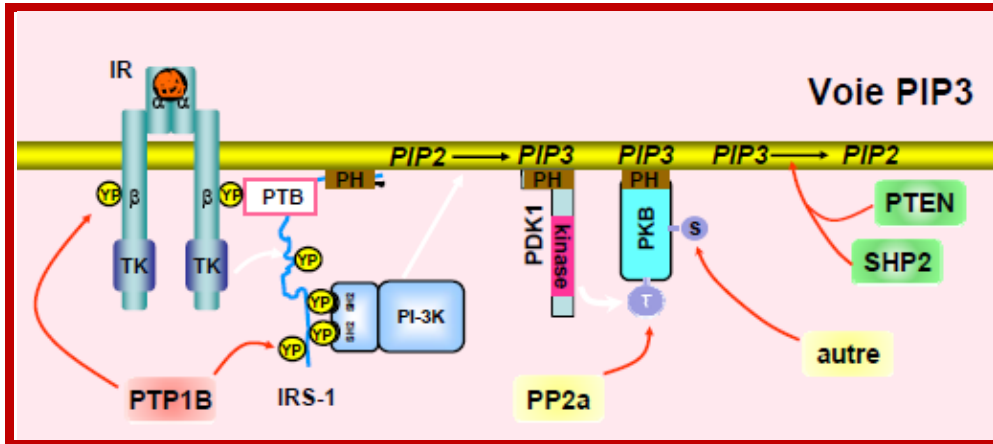
- **Chez les souris chez lesquelles on a inhibé partiellement l'expression du récepteur de l'insuline, de GLUT-4, ou d'IRS-1 :**
 - o on n'a finalement pas d'impact au niveau de la physiologie
 - o ces souris sont parfaitement **normales**.
 - o L'expression était suffisante pour maintenir une homéostasie glucidique.
- **Chez les souris qui possèdent à la fois une diminution du récepteur à l'insuline, et une diminution du récepteur GLUT-4**
 - o on a obtenu des souris **diabétiques**.
- **Chez les souris chez lesquelles on a diminués à la fois l'expression du récepteur à l'insuline et les protéines IRS :**
 - o On a obtenu des souris **diabétiques**

Les études concernant l'implication des protéines IRS ont permis de montrer une certaine spécificité entre IRS-1 et IRS-2 :

- **Chez des souris qui n'expriment plus IRS-1,**
 - o ce sont des souris qui sont de petites tailles
 - o qui présentent une résistance à l'insuline assez **modérée**.
- **Chez des souris qui ne présentent plus IRS-2** (protéine finalement très homologue à IRS-1)
 - o cette fois ci on a des animaux qui deviennent très **diabétiques** et très tôt.

Il y a donc une spécificité des substrats dans la voie de signalisation de l'insuline.

Puisque cette voie fait intervenir de nombreuses **phosphorylations**, on va voir intervenir des **phosphatases** : soit des **protéines** phosphatases, soit des **lipides** phosphatases

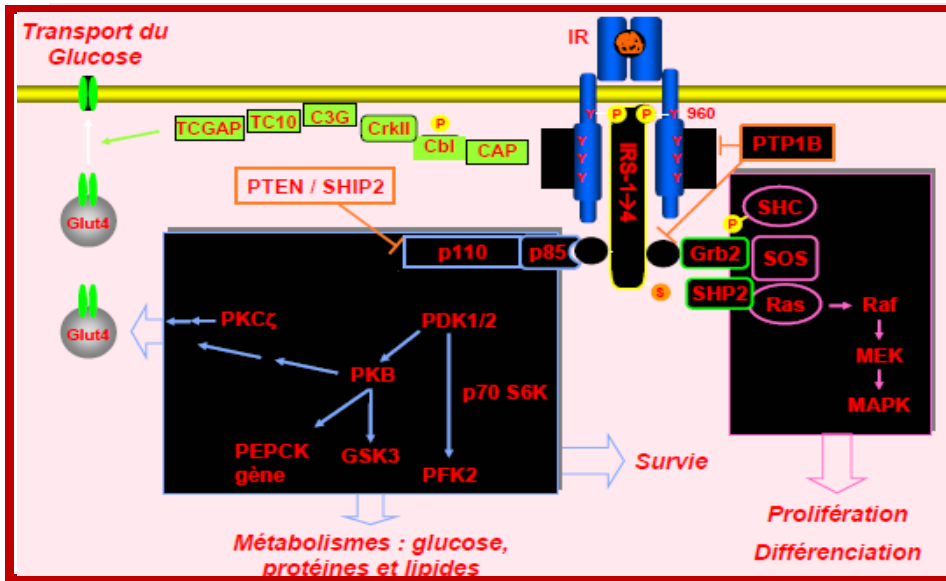


SHP2	<ul style="list-style-type: none"> • Son expression est capable de diminuer la phosphorylation sur : <ul style="list-style-type: none"> ○ tyrosines, ○ le récepteur à l'insuline, ○ IRS1.
PTEN	<ul style="list-style-type: none"> • Phosphatase membranaire • exprime son activité du côté cytoplasmique. • Son expression diminue la phosphorylation sur tyrosines d'IRS2. • Par immuno précipitations, il y a un contact direct entre la phosphatase et le récepteur. • Suit le cycle d'internalisation du récepteur de l'insuline. • Exprimé dans des tissus insulino dépendants • impliqué dans la résistance à l'insuline, et augmentée lors de l'obésité.

Lors de l'étude du diabète, on a pensait que c'était des cibles potentielles pour le traitement du diabète. Le problème : les protéines sont **ubiquistes** : elles sont exprimées dans un certains nombres de tissus, mais également ne vont pas agir seulement sur la voie de signalisation de l'insuline.

Protéines phosphatases ↑	
Les tyrosines phosphatases :	
PTP1B	<ul style="list-style-type: none"> • Très étudiées • protéine cytosolique d'environ 50kDa • Peut agir directement avec le récepteur à l'insuline activé • diminue la phosphorylation de tyrosines sur ce récepteur • Associée à la résistance de l'insuline. • Expression augmentée lors de l'obésité <p>➤ Chez des souris n'ayant plus PTP1B :</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ sont hypersensibles à l'insuline, et résistant à l'obésité.

Les Thréonines phosphatases :	
PP2A	<ul style="list-style-type: none"> • sont capables de déphosphoryler PKB sur thréonine



SHP2

- Déphosphoryle les phosphatidyl inositol
 - mais **uniquement** en position 5'
 - va créer une forme **irréversible** de PIP2

Corrélation entre certains polymorphismes de **SHP2** et l'apparition du diabète de type 2 :

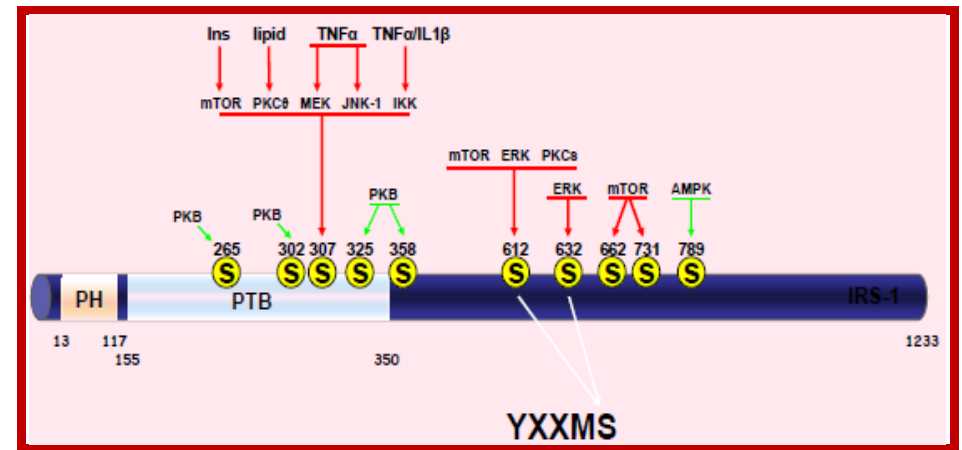
- Chez des animaux chez lesquelles on inhibe l'expression de **SHP2** :
 - on observe une **hyperactivation** de la voie de la **PI3 Kinase** en réponse à l'insuline
 - spécifiquement dans le foie et dans le muscle

Les lipides phosphatases : ↑

➤ Vont être capables de transformer le PIP3 en PIP2

PTEN

- Déphosphoryle les phosphatidyl inositol
 - en position 3'
 - va donner une forme de PIP2 qui va pouvoir redonner du PIP3
- La **surexpression** de **PTEN** au niveau des adipocytes
 - est capable de **réduire** le transport de glucose en réponse à l'insuline
- **L'inhibition** de **PTEN** chez des souris diabétiques,
 - est capable de **diminuer l'hyperglycémie** et **diminue l'insulino résistance**.



La phosphorylation sur sérines ↑

Au niveau du récepteur :

On pense aussi que le récepteur peut également être phosphorylé sur des résidus sérines, notamment par la kinase PKC. On suppose, que d'autres kinases telles que la PKA, ou la MAPkinase, pourrait aussi induire une phosphorylation sur sérine du récepteur.

Au niveau des protéines substrats :

Il va y avoir une phosphorylation sur sérines, particulièrement sur celles des **IRS**, via des sérines kinases :

Les sérines kinases ne jouant pas de régulation négative :
PKB, AMPk

➤ Il y a à l'état **basal**, des sérines qui sont phosphorylées sur les IRS, et qui ne jouent **pas** un rôle de régulation négative, par exemple : celles en **vert** (schéma d'au dessus). Elles ont plutôt un rôle **positif** sur la voie.

Pourquoi ?

- Elles sont **juxtaposées** à des résidus tyrosines phosphorylées,
- Elles **protègent** alors les résidus de tyrosines
 - en **empêchant** l'action de tyrosines phosphatases.

Les sérines kinases jouant une régulation négative
mTOR, ERK

Ce sont les phosphorylations sur sérines qui vont jouées en rôle **négatif** sur la voie de signalisation de l'insuline, par exemple celle en **rouge**.

Exemple 1 :

- **La sérine 307** se situe dans le domaine **PTB** de l'IRS1.
- Une fois cette sérine **phosphorylée** cela va **empêcher** l'interaction d'IRS-1 avec le récepteur à l'insuline.

Exemple 2 :

- **Les Sérine 612, sérine 632 bloquent** le signal en aval, car elles **empêchent** l'action d'IRS1 avec les protéines adaptatrices qui possèdent un domaine **SH2**
 - *comme par exemple la protéine p85 de la PI3 kinase.*

Les phosphorylations sur sérine d'IRS :

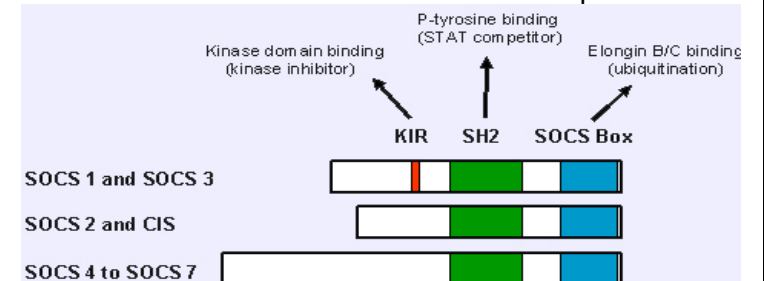
- sont **augmentées** en cas d'**obésité**,
- vont **diminuer** l'interaction d'IRS
 - avec le récepteur
 - avec les protéines en aval.

Protéines inhibitrices :

Supressor Of Cytokine Signaling-3

Ce qui a été très étudié au niveau de la voie de signalisation de l'insuline, ce sont les protéines SOCS1, 2, 3

- **inhibe** la voie de l'insuline par **compétition**
- Rentre dans la famille des protéines SCOS :
 - 8 membres de SOCS 1 à SOCS 7 + la protéine 6.



- SOCS 4 to SOCS 7
 - Les domaines :↑
 - **Domaine Nterm**
 - assez variable.
 - **Domaine SH2**
 - très conservé
 - permet d'interagir avec tyrosines phosphorylées
 - **Domaine SOCS box :**
 - domaine très conservé
 - impliqué dans la *dégradation de ces protéines par le protéasome.*
 - **Le domaine KIR :**
 - Kinase inhibitor regions :
 - Domaine retrouvé spécifiquement au niveau de SOCS1 et SOCS 3,
 - **inhibe l'activité kinase** de protéines auxquelles il s'associe,

SOCS 3

SOCS 3

SOCS 3

SOCS

3

- **Domaines ESS :**
 - retrouvé dans SOCS3
 - impliqué dans l'interaction avec les tyrosines phosphorylées
- **Domaine PEST :**
 - Retrouvé dans SOCS3
 - Impliqué dans le recyclage/turn over de la protéine

SOCS
3

- **Petites protéines :**
 - 30 / 60 KDa
- Protéines **peu** ou **pas** exprimées à l'état **basal**
- Comme elles interviennent dans des mécanismes de rétro-contrôle négatif :

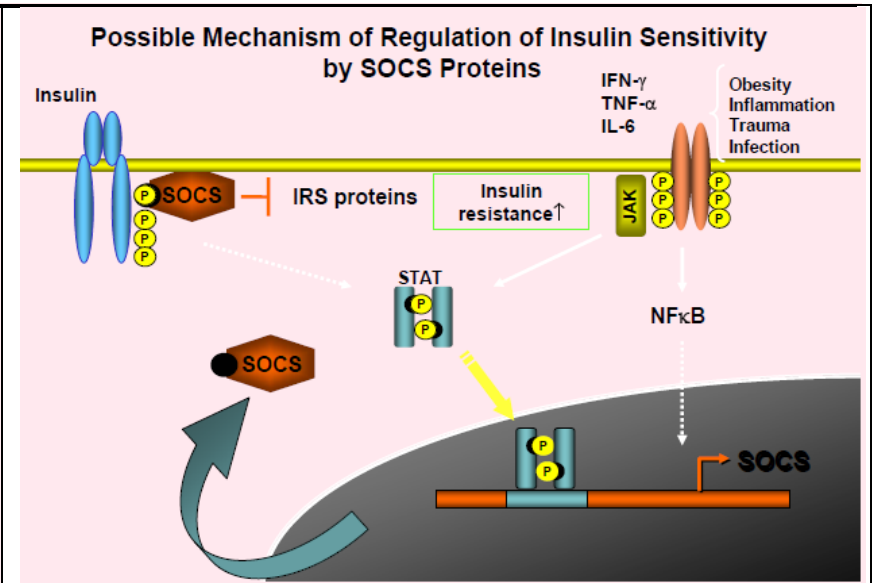
SOCS
3

- la régulation de leur expression est assez **fine**
- Elles présentent une expression qui est :
 - très **rapide** et
 - très **transitoire**

- Cette expression ce fait en réponse à des stimulus très particuliers :
 - **Les cytokines, les facteurs de croissance, les hormones** (insuline, leptine)
 - Les **stimuli** vont **induire** l'expression de **SOCS**
 - **SOCS** va venir **inhiber** la voie de signalisation qui a permis leur expression
- L'expression de SOCS est **ubiquiste**
- La cinétique d'expression dépend du tissu, du stimulus
- L'expression de SOCS est **augmentée** dans certaines conditions pathologiques :
 - *condition d'inflammation, de résistance à l'insuline*

SOCS
3

SOCS
3



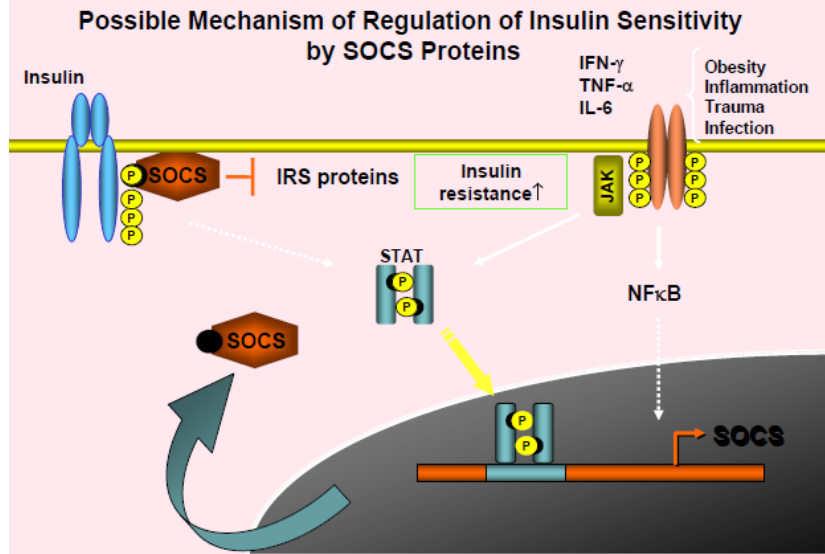
SOCS
3

Expression des SOCS en réponse à l'insuline : ↑
Chronologiquement pour le récepteur à l'insuline : (à gauche)

SOCS
3

- Insuline se fixe au récepteur
- Activation du récepteur
- Interaction avec IRS (*non visualisée sur schéma*)
- Le récepteur recrute le facteur de transcription **STAT5B**
- **STAT5B** interagit avec la tyrosine 960 de ce récepteur
- **Phosphorylation** de **STAT5B** par le récepteur
- Induction de la formation de **dimères** de **STAT5B**
- Sous cette forme de **dimère exclusivement** que **STAT5B** va pouvoir être ciblé au **noyau**
- Induction de l'expression de gènes : comme **SOCS3**
- **SOCS 3** va:
 - Effectuer un **rétro-contrôle négatif** sur la voie de **signalisation de l'insuline**.
 - **Mais aussi inhiber** la voie de **signalisation des cytokines** (cf ci-dessous)

SOCS
3



SOCS
3

Chronologiquement pour le récepteur des cytokines : (A droite)

- le **récepteur des cytokines** ne possède pas d'activité tyrosine kinase intrinsèque.
- D'où le Recrutement d'une **kinase JAK**
- **JAK** induit le **recrutement** et l'**activation** de **STAT**
- **dimérisation** de **STAT**
- expression de **SOCS3**,
 - **rétro contrôle** de **SOCS3** sur la voie des **cytokines**

SOCS
3

Voilà les deux exemples de **rétro contrôle négatif** de **SOCS 3** sur la voie de signalisation qui a induit son expression
Il peut y avoir des **connexions** entre les différentes voies de signalisations. On va voir comment les **cytokines** peuvent induire l'**inhibition** de la voie de **signalisation de l'insuline** : +++

- Si **activation** du **récepteur des cytokines** :
 - *via interféron gamma, TNF-alpha, ou interleukine 6*
 - *qui sont des cytokines que l'on trouve augmenté dans des cas d'obésité ou d'inflammation par exemple*
- Donc **activation** de **STAT** :
- Donc **activation** de l'expression de **SOCS 3**
- Donc **SOCS 3** va avoir :
 - une action **en plus** de la **voie de signalisation des cytokines**
 - une action sur la **voie de signalisation de l'insuline** :
 - Qu'il va venir inhiber en faisant **compétition** au niveau du récepteur
- Cela va : **empêcher** l'interaction des **protéines IRS** avec le **récepteur**
 - Donc **inhibition** par **compétition**
- Cela va : **Diminuer** le signal en aval des IRS
 - Donc induire un état **d'insulino-résistance**.

Les protéines **SOCS** sont capables également de réguler la voie de signalisation de l'insuline par un **autre** mode :
les dégradations des protéines IRS via le protéasome.
Elles induisent leur **ubiquitination**, et leur dégradation par le protéasome.

Il existe donc une double action des protéines SOCS

SOCS a des effets variés selon le tissu que l'on considère : elles sont capables d'inhiber certaines voies de signalisation (cytokine, insuline), mais elles sont également capables d'inhiber la voie de signalisation de *l'hormone de croissance, de la leptine.*

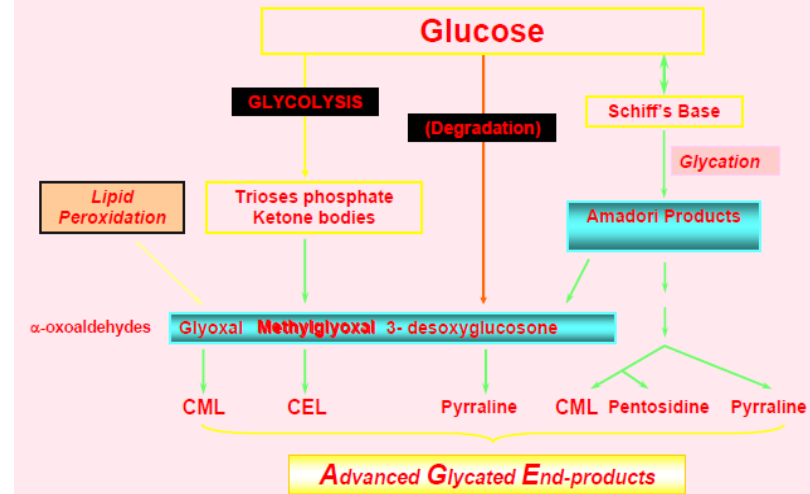
Protéines Glyquées

Protéines Glyquées

Protéines Glyquées

Protéines Glyquées

The AGE Pathway



(La Prof ne s'attarde pas sur cette partie, cf cours de Guidicelli)
 Ces produits de glycation sont produits par une hyperglycémie chronique :

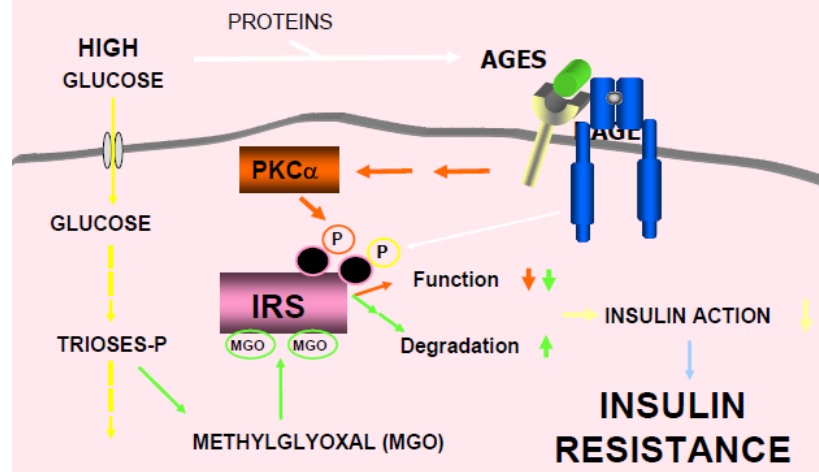
- Formés par des réactions non enzymatiques
 - entre les groupements aminés des protéines et le glucose (ou un de ses dérivés)
- Formés soit à l'extérieur de la cellule :
 - à ce moment là ils utilisent le glucose,
- Soit à l'intérieur de la cellule :
 - ils utilisent les précurseurs alpha-céto-aldéhyde,
 - où l'on forme du
 - glyoxane,
 - 3déoxy glucosome ,
 - méthyl glyoxane
- Formation des produits de glycation :
 - **1^{ère} étape** : formation d'une **base de schiff**.
 - Se fait assez rapidement (qlq heures).
 - Réaction non enzymatique, réversible.

Protéines Glyquées

Protéines Glyquées

- **2^{ème} étape** : formation des **produits d'Amadori**.
 - Réactions en quelques jours.
 - Produits Stables. Réaction irréversible.
- **3^{ème} étape** : **Produits d'Amadori transformés**
 - soit par une **voie oxydative**
 - en CML ou pentosidine,
 - soit en utilisant une **voie non oxydative**
 - en formant du pyrraline.
- **Les réarrangements des produits d'Amadori peuvent aboutir aux alpha-oxo-aldéhyde :**
 - glyoxal, méthyl glyoxal, et le 3déoxy glucosome
 - produits de glycation avancés.
- **Ces oxoalpha aldéhyde peuvent également être formés à partir :**
 - de produits de la glycolyse,
 - mais aussi par le biais de la peroxydation des lipides.

Modulation of insulin action by glucose and derivatives



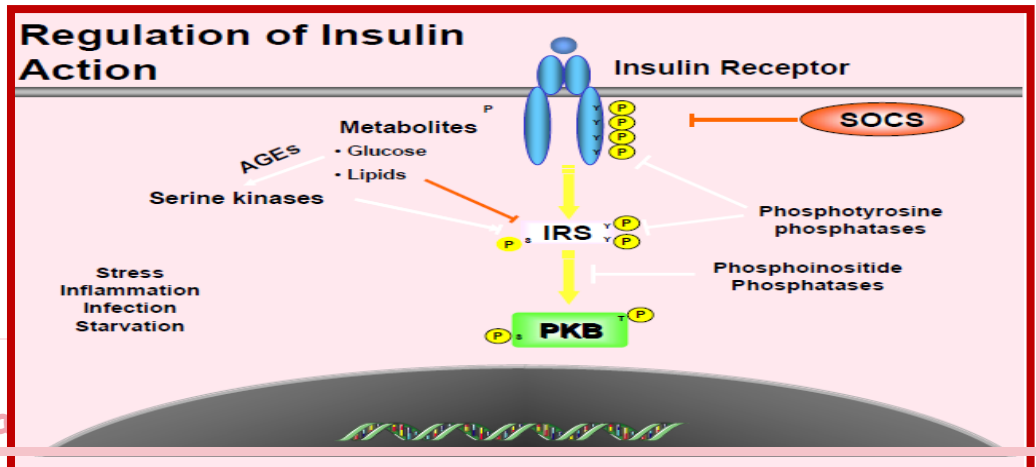
- **Produits de glycation extra cellulaire** : Pour avoir un effet intra cellulaire : ↑
 - Interaction avec des récepteurs **RAGE**
 - Activation de la kinase **PKC alpha**
 - Induction de la phosphorylation sur sérine des **IRS**
 - donc **diminution** de la fonction des IRS
- **Produits de glycation intra cellulaire** (plus particulièrement aux méthyl glyoxal)
 - Fixation directement sur les protéines **IRS**, donc :
 - **diminution** de la fonction des IRS +
 - **augmentation** de leur **dégradation**
 - **Diminue** l'effet de l'insuline

Joue donc un rôle **important** dans la résistance de l'insuline

SYNTHESE :

Les différents mécanismes moléculaires impliqués dans la **résistance** à l'insuline : (schéma ci-dessous)

Les phosphotyrosines phosphatases	qui interviennent dans les premières étapes des la voie de signalisation de l'insuline sur les substrats
Les phosphoinositides phosphatases	action plus en aval
Les protéines inhibitrices	comme SOCS qui vont induire <ul style="list-style-type: none"> - soit la dégradation des substrats - mais également la compétition du substrat au niveau du récepteur
Les sérines kinases :	capables de phosphoryler les substrats IRS sur sérine
Les produits de glycation	notamment les produits de glycation avancés qui vont avoir un effet négatif



III. SIGNAL PRIMAIRE INDUISANT LA RESISTANCE A L'INSULINE

Le diabète de type 2 est caractérisé par deux mécanismes majeurs :

- Une résistance à l'insuline
- Un défaut de sécrétion d'insuline

L'origine de ce diabète de type 2 est **multifactoriel** : facteurs **environnementaux** et **génétiques**.

1. LES FACTEURS ENVIRONNEMENTAUX

Ces facteurs environnements sont :

dits extérieurs	<i>excès caloriques, surpoids, obésité, manque d'activité physique...</i>
dits intérieurs	produits de la cellule en réponse aux facteurs environnementaux : les adipokines (sécrétées par l'adipocyte), l' adipotoxicité , la lipotoxicité

- Physiologiquement, en réponse à une augmentation de la glycémie il y a
 - **synthèse d'insuline** par les cellules beta pancréatiques,
 - insuline va être **ciblé** au niveau de tissus périphériques majeurs
 - pour induire les **effets biologiques** de la régulation de la glycémie.
- Lorsque l'on a une résistance qui s'établit au niveau de ces tissus périphériques :
 - la première chose qui va se produire : **hyperinsulinémie** qui s'installe
 - *liée à une hypersécrétion d'insuline des cellules beta*
 - *pour contrer la résistance à l'insuline*
 - *Cela marche un temps.*

- On arrive alors à une **insuffisance des cellules beta**
 - *l'insulinémie est n'est plus capable de contrer la résistance à l'insuline,*
 - aboutissant à une **hyperglycémie chronique** → diabète

Le principal phénomène qui intervient dans la résistance à l'insuline c'est une **hyperinsulinémie**, c'est donc très bon indicateur de résistance à l'insuline
 Cette hyper insulinémie conduit à un état **d'hyper phosphorylation** sur **sérine d'IRS1**

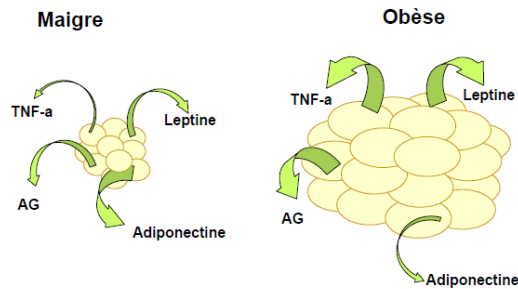
L'hyperglycémie, génèrent des effets toxiques :

- en diminuant l'activité du récepteur à l'insuline,
- en diminuant la sécrétion d'insuline par les cellules beta,
- en augmentant la glycation des protéines

Les Adipokines :

Ce sont des molécules qui sont capables d'être synthétisées et sécrétées par **le tissu adipeux**. Pendant longtemps, on a pensé que le tissu adipeux jouait un rôle de stockage des graisses. En fait pas du tout, c'est un organe **sécréteur** à part entière, tel que : la leptine, les cytokines (TNF alpha, interleukine 6), des acides gras circulants, la résistine, ou encore l'adiponectine

ADIPOKINES



Chez un sujet mince	le tissu adipeux, va être capable de synthétiser en grande capacité <ul style="list-style-type: none"> • la leptine • les cytokines, • la résistine, • les acides gras circulants et • l'adiponectine.
Chez un sujet obèse	profil différent : les adipocytes vont : <ul style="list-style-type: none"> • hypersécrétés la leptine, les cytokines, la résistine, les acides gras circulants, en revanche, • il va y avoir une baisse de l'adiponectine.

Pourquoi cette baisse d'adiponectine est importante ?

L'adiponectine, est la **seule** adipokine qui joue un **rôle positif** sur la voie de signalisation de l'insuline. *Toutes les autres adipokines ont un rôle négatif.*

Dans l'obésité on va alors :

- **augmenter** les **adipokines** qui ont un **rôle négatif** sur la voie de l'insuline, et
- **diminuer** la **seule adipokine** qui a un **rôle positif** sur la voie de l'insuline

Le diabète de type 2 est corrélé à un dérèglement de la balance énergétique.

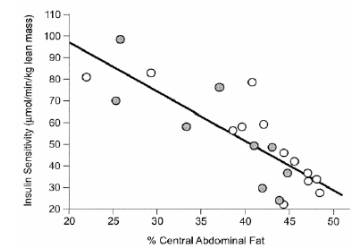
- La balance énergétique **normalement** prend en compte deux paramètres :
 - la prise alimentaire, et
 - la dépense énergétique
 - qui sont tout deux en **équilibre.**
- Lors d'une **dérégulation** de la balance énergétique on a souvent
 - une prise alimentaire disproportionnée par rapport
 - à la dépense énergétique,
 - on va avoir apparition d'obésité.

Cette obésité est souvent associée à des désordres métaboliques comme le diabète de type 2 ou les maladies cardio vasculaires.

Sur un diagramme simple, on s'est rendu compte très tôt, qu'il y avait une très forte corrélation entre :

- la présence de graisse viscérale et
- la sensibilité à l'insuline d'un individu
- ce sont deux paramètres **inversement** proportionnels.

Relation graisse viscérale et sensibilité à l'insuline



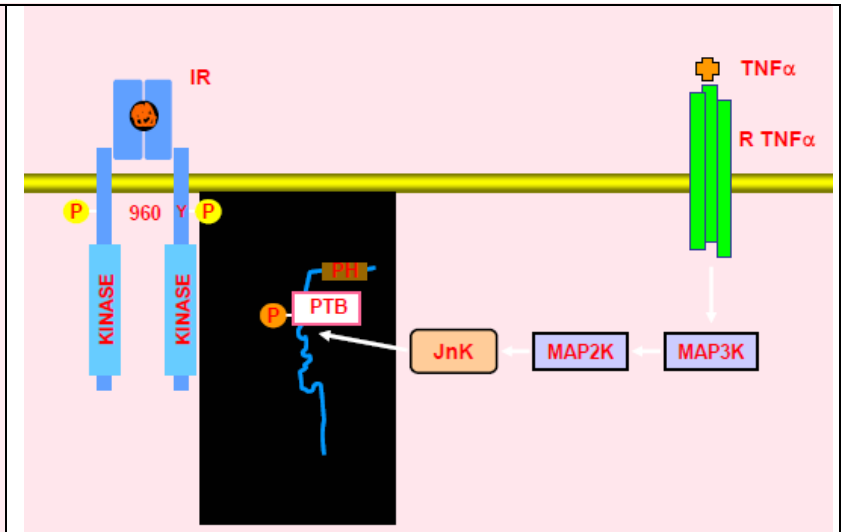
Les différentes adipokines :

Le TNF alpha

- fait parti des **cytokines**,
 - capable de **diminuer** la signalisation de l'insuline
 - en diminuant l'activité tyrosine kinase du récepteur,
 - **diminue** la quantité
 - de transporteur de glucose GLUT4, et
 - du récepteur de l'insuline
 - In vivo, lorsqu'on **neutralise** le TNF-alpha chez des souris obèses :
 - on arrive à **augmenter** la sensibilité à l'insuline.
- Problème : résultats de neutralisation chez l'homme décevants

Comment se passe la régulation des cytokines sur la voie de signalisation de l'insuline ?

C'est un bon exemple, montrant l'**inter-relation** entre deux voies (tout cela n'agit pas de manière isolé).



- ↑ Le **TNF**, quand il agit avec son **récepteur**, permet l'activation des **kinases de stress** (par ex : **JnK**)
- induisant des **phosphorylations** sur **sérines** des **IRS** :
 - **rôle négatif** dans la voie de l'insuline

La résistine

- sécrétée par les **adipocytes**.
 - **Surexprimée** dans l'obésité.
 - Lien entre l'obésité et la résistance à l'insuline.
 - L'**administration de résistine** à des souris :
 - **augmente** la **résistance à l'insuline**.
 - Sa **neutralisation**
 - **augmente** la **sensibilité à l'insuline**
- le problème : reproduction des résultats chez l'homme., car la résistine chez l'home est très très peu exprimée par rapport à l'animal.

La leptine

- l'hormone de la **satiété** (au niveau de l'hypothalamus).
- **Surexprimée** lors de l'obésité.
- *Joue-t-elle- un rôle inhibiteur sur la voie de l'insuline ? encore à l'état d'hypothèse.*

Adiponectine

- **seule** adipokine qui a un rôle **sensibilisant** sur la voie de l'insuline.
- **Particularité** : seulement produite par les adipocytes de **petite** taille
 - que l'on trouve donc chez des individus plutôt minces.

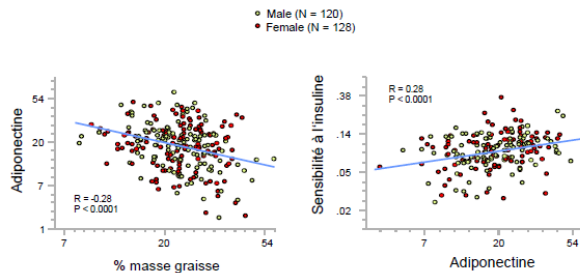
Adiponectine

- **Son taux plasmatique est diminué**
 - lors de l'obésité et
 - diabète de type 2.
- **Lorsque l'on injecte l'adiponectine** :
 - on est capable de **diminuer l'obésité**,
 - on **augmente** la **sensibilité à l'insuline**.

Adiponectine

- **Son effet** : par **l'augmentation de l'oxydation des acides gras libres** :
 - amélioration de la signalisation de l'insuline
 - inhibition de la néoglucogenèse.

ADIPONECTINE
Stimulateur endogène de l'effet de l'insuline ?

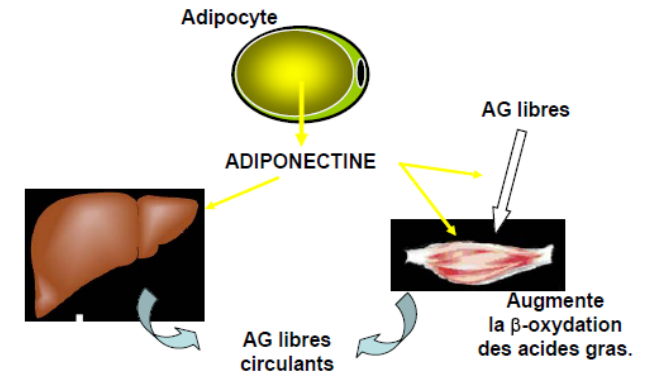


Adiponectine

Adiponectine

- La corrélation entre le pourcentage de masse grasse et la quantité d'adiponectine :
 - inversement proportionnel
- La sensibilité à l'insuline en fonction de la quantité d'adiponectine :
 - proportionnel

Adiponectine



Adiponectine

Diminution de la production hépatique de glucose.

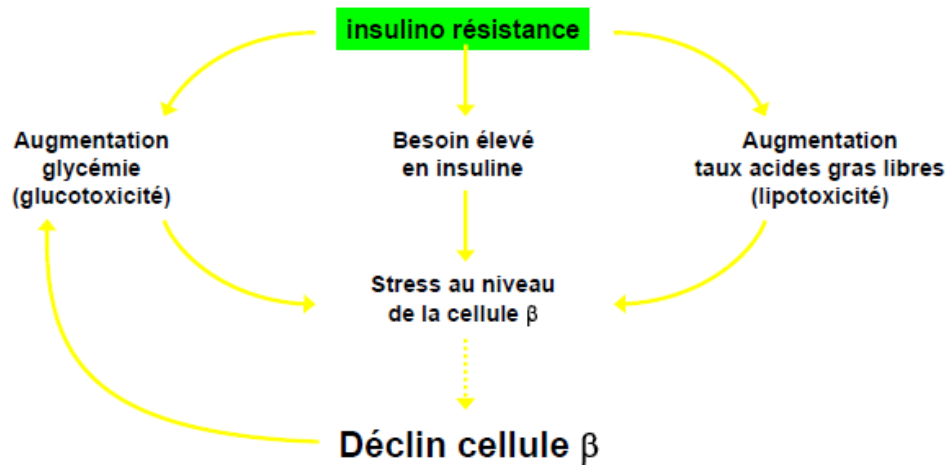
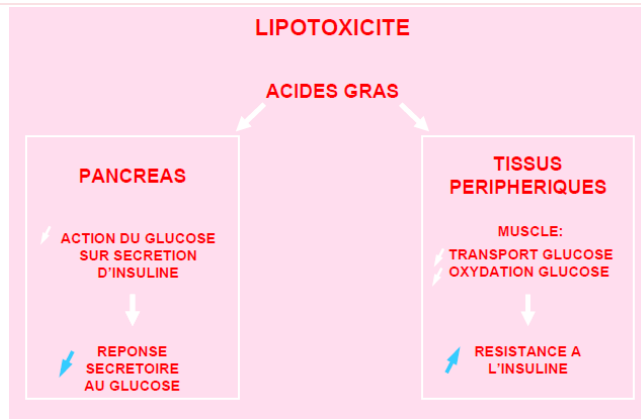
En résumé : l'adiponectine est synthétisé par l'adipocyte, ciblé au niveau du foie, muscle squelettique.

Adiponectine

- Induite au niveau du foie permet :
 - **diminution** de **production de glucose**
 - **augmentation** l'oxydation des acides gras au niveau du muscle

Ce qui conduit à une diminution des acides gras libres circulants, cela est important, puisqu'ils ont eux aussi un effet délétère sur la voie de l'insuline.

Les acides gras libres : sont augmentés lors de l'obésité, induisent une résistance à l'insuline, diminuent l'utilisation du glucose par le muscle, induisent une lipotoxicité des cellules beta



L'effet délétère au niveau des cellules beta, c'est ce qui va faire basculer l'état d'insulino-résistance vers un diabète de type 2.

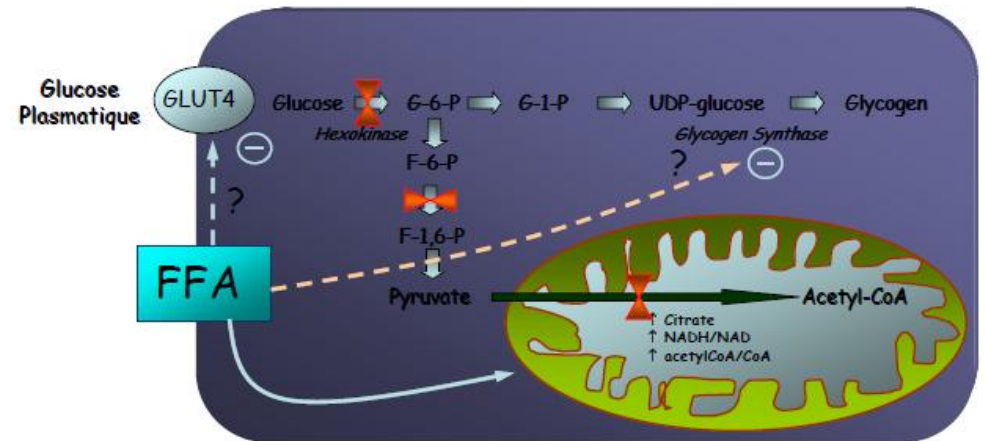


Schéma récapitulatif des différents niveaux d'action des acides gras libres

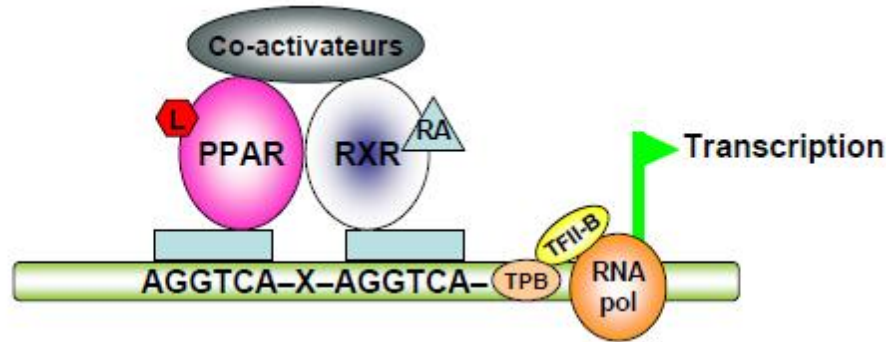
(=FFA) au niveau de la cellule musculaire : ↑

Les FFA ont un rôle au niveau de la mitochondrie, mais également au niveau des différentes étapes du métabolisme du glucose, mais également peuvent avoir un rôle sur la glycogène synthase et inhiber le stockage sous forme de glycogène.

2. FACTEURS GENETIQUES

Derniers facteurs pour la régulation de la signalisation de l'insuline . Le diabète de type 2 fait à la fois intervenir des facteurs environnementaux et des facteurs génétiques. On pense qu'une part des prédispositions génétiques seraient liés à des **facteurs de transcription PPAR** .

En effet, ces **facteurs de transcriptions PPAR** jouent un rôle important dans l'homéostasie glucidique. Il y a différentes formes des facteurs PPAR : qui vont être plus ou moins spécifiques du tissu que l'on considère.



<h2>PPAR alpha</h2>	<ul style="list-style-type: none"> • joue un rôle important au niveau du foie • augmente l'oxydation des acides gras, • augmente la lipolyse • augmente les HDL • Induit la diminution des triglycérides, • Cela a donc un effet plutôt bénéfique des lipides circulants.
<h2>PPAR beta, ou delta</h2>	<ul style="list-style-type: none"> • Au niveau du muscle et des adipocytes • Augmente l'oxydation des acides gras • augmentation des HDL • Effet : diminue la masse corporelle et augmente la sensibilité à l'insuline
<h2>PPAR gamma</h2>	<ul style="list-style-type: none"> • a des effets au niveau de l'adipocyte, du foie, et du muscle. • Au niveau de l'adipocyte : diminue la sécrétion de facteurs circulants.

On pense que des modifications d'origine génétique de l'expression de ces facteurs PPAR, pouvaient prédisposer à un état d'insulino-résistance.

