

# EFFET ANTIDIABÉTIQUE DES THIAZOLIDINEDIONES

par

J.GIRARDI

## INTRODUCTION

Le diabète non insulino-dépendant (DNID) se caractérise par deux défauts majeurs: 1) une résistance à l'insuline des muscles squelettiques et du foie, aboutissant à une diminution de l'utilisation du glucose et une moindre freination de la production de glucose en réponse à l'insuline, 2) un défaut d'insulino- sécrétion en réponse au glucose (revue in [1]). Il existe à l'heure actuelle un certain nombre d'antidiabétiques oraux, couramment utilisés pour traiter ces défauts. Le site d'action de ces molécules est relativement bien connu (fig.1). Les sulfonylurées corrigent le défaut de l'insulino-sécrétion, l'acarbose limite l'absorption intestinale de glucose, la metformine diminue la production hépatique de glucose. Comme l'insulino-résistance est une cause majeure de morbidité et de mortalité dans les pays industrialisés, il est impératif de la traiter avec la plus grande efficacité. La découverte et la mise récente sur le marché d'antidiabétiques oraux d'une nouvelle classe thérapeutique améliorant la sensibilité à l'insuline, les thiazolidinediones (TZD), ont ouvert des perspectives thérapeutiques intéressantes [2-4]. Trois types de TZD ont reçu l'autorisation pour être utilisées chez les DNID aux USA et au Japon: la troglitazone (Rezulin), la rosiglitazone (Avandia) et la pioglitazone (Actos). Ces molécules ont en général des effets assez semblables sur l'insulino-sensibilité. Nous décrirons donc les effets de cette classe thérapeutique et non les effets de chacune de ces molécules. Par contre, ces molécules ont des effets différents sur les paramètres lipidiques (voir article de B.Staels).

FIG.1.—Les différents sites d'action des antidiabétiques oraux couramment utilisés.

## LES THIAZOLIDINEDIONES AMÉLIORENT LA SENSIBILITÉ À L'INSULINE

Les TZD corrigent l'hyperglycémie, l'hyperinsulinémie et l'insulino-résistance dans un grand nombre de modèles animaux de diabète non insulino-dépendant (DNID) d'origine génétique (rats Zucker Diabetic Fatty, rats Goto-Kakizaki) ou expérimentale (rats nourris avec un régime hyperlipidique ou un régime riche en fructose, rats traités par le TNF $\alpha$  ou la glucosamine) [5-8]. Les études réalisées à l'aide de clamp euglycémique ont montré que les TZD amélioraient la sensibilité à l'insuline, aussi bien au niveau de la stimulation de l'utilisation musculaire du glucose que de l'inhibition de la production hépatique de glucose. Par contre les TZD sont sans effet chez les rats rendus diabétiques pas la streptozotocine (modèle de diabète de type 1) (revue par [9]). Ceci est à l'origine de sa classification comme molécule "insulino-sensibilisatrice". Les TZD inhibent la néoglucogenèse in vitro [10] (revue par [9]). Les TZD n'ont pas d'effet sur l'insulino-sécrétion par le pancréas isolé perfusé (revue par [9]). Par contre le traitement chronique par les TZD in vivo augmente la regranulation des cellules  $\beta$  et le contenu en insuline du pancréas des souris diabétiques db/db et KK (revue par [9]). Cet aspect sera examiné dans la dernière partie de cette revue.

À la suite des études réalisées sur l'animal de laboratoire, les effets des TZD ont été étudiés chez l'homme. Les premières études cliniques ont montré que les TZD diminuaient la glycémie postprandiale et postabsorptive et réduisaient l'insulinémie [11, 12]. Les TZD n'ont pas d'effet immédiat et un traitement de 1 à 3 semaines est nécessaire pour observer une diminution de la glycémie [12]. Les études réalisées à l'aide de clamp euglycémique après 15 jours de traitement ont montré de façon reproductible une amélioration de 30% de l'utilisation (musculaire) du glucose en

---

1 Centre de Recherche sur l'Endocrinologie Moléculaire et le Développement, CNRS, 9, rue Jules Hetzel, 92190 Meudon.

réponse à l'insuline [12, 13]. Par contre, les effets sur l'inhibition de la production hépatique de glucose en réponse à l'insuline étaient beaucoup moins reproductibles. Certains trouvaient des effets marqués [12, 14], alors que d'autres n'observaient pas ou peu d'effet [13]. Néanmoins les TZD sont moins efficaces dans l'espèce humaine que chez les animaux de laboratoire. L'amélioration de la sensibilité à l'insuline n'est que de 30% chez l'homme alors qu'elle est quasi totale chez les animaux de laboratoire.

L'amélioration de l'homéostasie glucidique en réponse à l'administration de TZD in vivo est due à une augmentation des effets de l'insuline sur le transport de glucose et son stockage sous forme de glycogène, principalement dans le muscle [15] et à un degré moindre, dans le tissu adipeux. Les TZD augmentent la concentration du transporteur de glucose GLUT4 [16] mais aussi sa translocation sur la membrane plasmique [17, 18]. Il est généralement admis que la voie de signalisation utilisée pour la translocation de GLUT4 comprend l'activation de la phosphatidyl inositol 3 kinase et d'une étape en aval, catalysée soit par la protéine kinase B [19-22] soit par la protéine kinase C  $\tau/\lambda$  [23-26]. Cette dernière semble l'une des cibles des TZD. En effet, le traitement des rats Goto-Kakizaki (modèle génétique de rat ayant un diabète de type 2) pendant 10 à 14 jours avec la rosiglitazone corrige complètement le défaut d'activation (phosphorylation) de la PKC  $\tau/\lambda$  et du transport de glucose dans l'adipocyte [27].

## DES RÉCEPTEURS NUCLÉAIRES, LES PPARS, SONT LA CIBLE MOLÉCULAIRE DES THIAZOLIDINEDIONES

Les TZD ont été découvertes en recherchant des analogues du gemfibrozyl ayant des effets hypolipémiants, antihyperglycémiant et antioxydants (revue par [9]). On a rapidement découvert que ces molécules augmentaient la différenciation adipocytaire [28, 29] (voir article de Grimaldi), ce qui a fortement orienté la recherche de leur cible moléculaire. En effet il avait été démontré que des molécules de la famille des récepteurs nucléaires, les *Peroxisome Proliferator Activated Receptors* (PPARs) induisaient la différenciation adipocytaire [30]. On a ensuite démontré que les TZD étaient des ligands des PPARs (voir article de Vidal).

Il y a trois sous-types de PPARs, codés par trois gènes différents et communément appelés: PPAR $\alpha$ , PPAR $\delta$  et PPAR $\gamma$ . Le PPAR $\alpha$  est exprimé dans le foie et le tissu adipeux brun ainsi que dans le rein, le cœur et les muscles squelettiques. Le PPAR $\delta$  est quant à lui exprimé dans tous les tissus. Le PPAR $\gamma$  existe sous deux isoformes PPAR $\gamma$ 1 et PPAR $\gamma$ 2 (qui a 32 acides aminés de plus dans la région N-terminale) issues de l'épissage alternatif du même gène. L'isoforme PPAR $\gamma$ 2 est uniquement exprimée dans le tissu adipeux. L'isoforme PPAR $\gamma$ 1 est majoritairement exprimée dans le tissu adipeux, mais également dans d'autres tissus, côlon et organes lymphoïdes. Le PPAR $\gamma$  est exprimé de façon prédominante dans l'adipocyte et fonctionne comme un facteur de transcription induisant la différenciation adipocytaire [30]. La première observation importante a été celle démontrant la liaison des TZD à une isoforme d'un récepteur nucléaire, le PPAR $\gamma$ . Le PPAR $\gamma$  est un facteur de transcription qui, après avoir formé un hétérodimère avec le récepteur des rétinoïdes (RXR), se lie à la région régulatrice d'un certain nombre de gènes et en contrôle la transcription.

Les recherches ont ensuite été consacrées aux mécanismes moléculaires par lesquels les TZD amélioraient la sensibilité à l'insuline. Malgré une activité considérable dans ce domaine, les mécanismes moléculaires de l'action antidiabétique des TZD restent encore mal connus.

Un certain nombre d'arguments suggèrent que l'effet antidiabétique des TZD s'effectue via le PPAR $\gamma$ . Les TZD se lient à PPAR $\gamma$  avec une grande affinité (40-200 nM) et il existe une excellente corrélation entre les capacités de liaison des différentes TZD à PPAR $\gamma$  in vitro et leur effet hypoglycémiant in vivo (revue par [31]). D'autre part, les ligands synthétiques sélectifs du RXR (réxinoïde), l'autre partenaire de l'hétérodimère, activent l'hétérodimère PPAR $\gamma$ -RXR et agissent comme des sensibilisateurs à l'insuline [32]. Les réxinoïdes réduisent la glycémie, la triglycémie et l'hyperinsulinémie et améliorent la tolérance au glucose dans deux modèles de souris diabétiques et obèses (ob/ob et db/db). Cet effet est potentialisé en traitant les souris avec un agonistes de PPAR $\gamma$  (rosiglitazone) [32]. Ceci suggère que l'hétérodimère PPAR-RXR fonctionne comme une entité unique intégrant deux types de signaux et ayant des propriétés antidiabétiques.

## LE PARADOXE: LES PPAR $\gamma$ SONT PRINCIPALEMENT EXPRIMÉS DANS LE TISSU ADIPEUX MAIS LE SITE MAJEUR D'UTILISATION DU GLUCOSE EST LE MUSCLE SQUELETTIQUE

La relation qui existe entre PPAR $\gamma$  et homéostasie glucidique n'est pas facile à établir car le principal site d'utilisation du glucose in vivo en réponse à l'insuline et aux TZD est le muscle squelettique (revue par [1, 33]). Une explication possible était qu'en stimulant la différenciation adipocytaire et la génération de petits adipocytes plus

sensibles à l'action de l'insuline, les TZD amélioreraient l'insulino-résistance [34, 35]. Cela ne pouvait pas expliquer l'amélioration de la sensibilité à l'insuline in vivo [36]. Les muscles étaient donc le site principal des effets des TZD in vivo, or ils contiennent des concentrations faibles de PPAR $\gamma$  (environ 10% de la concentration présente dans le tissu adipeux) [37-39]. Cela posait le problème du rôle des PPAR $\gamma$  dans l'amélioration de la sensibilité à l'insuline après traitement par les TZD. Pour expliquer ce paradoxe, il a été suggéré que les TZD agissaient initialement sur l'adipocyte et modifiaient la production de facteurs, acides gras libres (AGL) et *tumor necrosis factor- $\alpha$*  (TNF- $\alpha$ ) ayant un effet inhibiteur de l'utilisation musculaire de glucose en réponse à l'insuline (fig.2). En effet, les TZD augmentent le captage des acides gras par le tissu adipeux et réduisent leur production. Les TZD induisent les gènes codant le transporteur d'acides gras [40], l'acyl-CoA synthétase [41] et la lipoprotéine lipase [40]. L'utilisation musculaire des acides gras est alors diminuée et leur effet inhibiteur sur l'utilisation musculaire de glucose (cycle de Randle) est réduit [42, 43]. Les muscles squelettiques captent alors plus de glucose, expliquant l'effet hypoglycémiant des TZD.

FIG.2.—Mécanismes par lesquels les thiazolidinediones améliorent l'insulino-résistance.

Les TZD diminuent la production de TNF $\alpha$  par le tissu adipeux (revue in [44]). Le TNF $\alpha$  diminue l'autophosphorylation du récepteur de l'insuline et la phosphorylation d'IRS, conduisant à une inhibition de la transduction du message insulinaire [45]. Le TNF $\alpha$  inhiberait l'activité tyrosine kinase du récepteur de l'insuline en phosphorylant la sous-unité bêta et l'IRS sur des résidus sérine/thréonine. Les effets du TNF $\alpha$  sont liés à l'activation de sphingomyélinases et la production de céramides. La baisse de la concentration plasmatique du TNF $\alpha$  en réponse aux TZD conduirait à une amélioration de la sensibilité à l'insuline [46-48].

L'hypothèse d'un effet primaire des TZD sur le tissu adipeux conduisant à une amélioration de la sensibilité musculaire à l'insuline via la réduction des AGL et du TNF $\alpha$  avait été très sérieusement remise en cause par une publication démontrant que les TZD avaient un effet hypoglycémiant chez les souris *partiellement* lipoatrophiques [49]. Or des études très récentes chez des souris *totale*ment dépourvues de tissu adipeux montrent que les TZD n'ont pas d'effet hypoglycémiant [50], ce qui renforce l'hypothèse d'une action primaire des TZD au niveau de l'adipocyte, en ce qui concerne leur action sur le métabolisme du glucose. Par contre, la diminution des AGL et triglycérides plasmatiques en réponse aux TZD se produit normalement chez les souris *totale*ment dépourvues de tissu adipeux [50]. Chez les souris *partiellement* lipoatrophiques les TZD pourraient stimuler, via le tissu adipeux résiduel, la production d'un facteur indispensable aux effets sur le muscle squelettique. Ces facteurs ne seraient pas produits chez les souris *totale*ment dépourvues de tissu adipeux. Cette hypothèse est renforcée par le fait que, chez les souris *totale*ment dépourvues de tissu adipeux, l'implantation chirurgicale de tissu adipeux normalise leur insulino-résistance musculaire et ramène leur glycémie à la normale [51]. La réponse définitive à cette question nécessite l'identification du facteur putatif produit par le tissu adipeux indispensable aux effets des TZD sur le muscle squelettique.

Comme le traitement par les TZD améliorait la sensibilité à l'insuline via l'activation de PPAR $\gamma$ , on s'attendait à ce que l'inactivation du gène de PPAR $\gamma$  chez la souris conduise à une insulino-résistance massive. Les données expérimentales montrent l'inverse. Les souris homozygotes PPAR $\gamma$  (-/-) meurent in utero en raison d'un dysfonctionnement placentaire [52]. Par contre, les souris hétérozygotes PPAR $\gamma$  (+/-), dont l'un des allèles de PPAR $\gamma$  a été invalidé, sont viables. Elles ont un poids identique aux souris témoins et des concentrations plasmatiques normales de glucose, d'insuline et d'acides gras libres, en période postabsorptive [53]. Elles ont une sensibilité normale à l'insuline administrée par voie veineuse lorsqu'elles consomment une alimentation riche en glucides [54]. Par contre, les souris PPAR $\gamma$  (+/-) qui consomment un régime riche en lipides ont une sensibilité à l'insuline exogène améliorée par rapport aux souris témoins consommant le même régime hyperlipidique [54]. Cette amélioration de la sensibilité à l'insuline a été validée en utilisant le clamp euglycémique. La stimulation de l'utilisation du glucose et la suppression de la production hépatique de glucose en réponse à l'insuline étaient améliorées chez les souris PPAR $\gamma$  (+/-) [53]. Ces deux études, parfaitement concordantes, conduisent à une conclusion opposée de celle attendue, au vu des effets insulino-sensibilisateurs des TZD, activateurs de PPAR $\gamma$ . Chez l'homme, certaines mutations dans le gène de PPAR $\gamma$ 2, associées à une perte de fonction de la protéine, sont également corrélées à des améliorations de la sensibilité à l'insuline [55].

Quelle peut être l'interprétation de ces observations? Deux hypothèses ont été proposées [56]. La première est basée sur le fait que les TZD sont des ligand synthétiques qui ne sont que des activateurs partiels des PPAR $\gamma$ . Elles pourraient donc agir en déplaçant un ligand naturel inhibiteur de son site de liaison aux PPAR $\gamma$ , améliorant ainsi la sensibilité à l'insuline. La seconde est basée sur le fait, qu'en absence de ligand, les PPAR $\gamma$  interagiraient avec des co-répresseurs, responsables d'une insulino-résistance. Les TZD en se liant aux PPAR $\gamma$  lèveraient l'inhibition exercée par les co-répresseurs et amélioreraient ainsi la sensibilité à l'insuline. Le problème n'est pas résolu, mais les hypothèses avancées sont intéressantes et serviront de base à des expérimentations futures ayant pour objectif de mieux comprendre les mécanismes par lesquels les TZD (PPAR $\gamma$ ) améliorent la sensibilité à l'insuline.

## LES TZD ONT-ELLES UNE ACTION DIRECTE SUR LES MUSCLES SQUELETTIQUES?

Il est également possible qu'une partie des effets des TZD soit liée à une action directe sur les muscles squelettiques, soit via PPAR $\gamma$  soit indépendamment de PPAR $\gamma$  (voir fig.2).

### **Action musculaire des TZD via PPAR $\gamma$ ?**

Chez les rongeurs, l'administration de TZD induit l'expression du transporteur d'acides gras (FAT) et de l'acétyl-CoA synthétase dans le muscle squelettique [41]. Dans le muscle de l'homme, il existe une corrélation entre l'expression de PPAR $\gamma$  et l'expression des gènes impliqués dans le métabolisme des lipides: lipoprotéine lipase, protéine intracellulaire liant les acides gras (FABP), carnitine palmitoyltransférase 1 [57]. Ceci suggère que les TZD pourraient avoir un rôle direct sur le muscle. Néanmoins l'augmentation des capacités d'oxydation des acides gras dans le muscle est en contradiction apparente avec l'amélioration de l'utilisation du glucose via le cycle glucose-acides gras, sauf si l'effet des TZD est prépondérant sur le tissu adipeux. Dans ces conditions on peut concevoir que le routage préférentiel des acides gras vers le tissu adipeux entraîne une baisse de leur concentration circulante et ne les rend plus disponibles pour une utilisation par les muscles squelettiques.

### **Action musculaire des TZD, indépendante de PPAR $\gamma$ ?**

Les TZD ont des effets à court terme (1-2heures) en absence (insulinomimétiques) et en présence d'insuline (insulino-sensibilisateurs) sur le muscle du rat perfusé ou incubé in vitro. En présence d'insuline, les TZD augmentent le transport de glucose et la glycolyse et diminuent la synthèse de glycogène et l'oxydation du glucose [58-60]. Les TZD ont également des effets insulinomimétiques et insulino-sensibilisateurs sur des muscles de diabétiques de type 2 en culture [61]. L'effet inhibiteur sur la synthèse de glycogène et l'oxydation du glucose est très différent de celui obtenu après traitement chronique in vivo (10 jours) [62]. Les effets rapides in vitro, différents des effets chroniques in vivo, ont conduit à postuler à l'existence d'une action possible des TZD via un mécanisme indépendant de PPAR $\gamma$ . Néanmoins cette hypothèse reste fragile car les TZD augmentent la concentration de PPAR $\gamma$  des muscles en culture [63].

## LES TZD PRÉSERVENT LA FONCTION DE LA CELLULE $\beta$ DANS LES MODÈLES ANIMAUX DE DIABÈTE DE TYPE 2

Dans le DNID il existe une perte de la première phase de l'insulino-sécrétion, une disparition des oscillations sécrétoires, une sécrétion retardée et réduite d'insuline en réponse au repas et une augmentation de la sécrétion de pro-insuline. Les acides gras sont considérés comme des facteurs importants participant à l'étiologie du DNID (revue par [64]).

Le développement du diabète chez le rat Zucker diabetic fatty (ZDF) a de nombreuses analogies avec le DNID de l'homme. Les rats ZDF deviennent obèses à cause d'une mutation (fa) dans le domaine extracellulaire du récepteur de la leptine. À l'état homozygote ils développent une insulino-résistance et une intolérance au glucose entre 3 et 8 semaines et deviennent franchement diabétiques entre 8 et 10 semaines. Les rats hétérozygotes ne présentent ni insulino-résistance, ni intolérance au glucose et ils ne deviennent jamais diabétiques. L'apparition du diabète s'accompagne d'une hypertrophie des îlots et d'une perte de la sécrétion d'insuline en réponse au glucose [65]. La masse de cellules  $\beta$  est réduite de 50%, malgré des capacités prolifératives plus élevées, suggérant une augmentation de l'apoptose [66]. Une évolution similaire est observée dans un autre modèle de rat présentant une hypertriglycéridémie et un DNID, le rat OLETF (Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty) [67].

Des quantités considérables de triglycérides s'accumulent dans les îlots de Langerhans des rats Zucker diabetic fatty (ZDF) au début de la pathologie [68- 70]. Puis 80% des cellules  $\beta$  disparaissent des îlots de Langerhans par apoptose (mort cellulaire programmée) [71]. La surcharge de lipides résulte d'une augmentation de la concentration des acides gras libres et des triglycérides circulants couplée à une capacité accrue de lipogenèse (transformation du glucose en acides gras) (fig.3). L'expression et l'activité des enzymes de la lipogenèse sont augmentées alors que celles des enzymes de l'oxydation des acides gras sont diminuées. L'accumulation de triglycérides dans les îlots de Langerhans est associée à de très nombreuses anomalies: diminution de l'expression du transporteur de glucose GLUT2 et de la sécrétion d'insuline, augmentation de la formation de monoxyde d'azote (NO), et stimulation de l'apoptose. La stimulation de l'apoptose est liée à la réduction du facteur anti-apoptotique Bcl-2 sans modification du facteur

apoptotique Bax. Ce phénomène a été appelé "lipotoxicité" [72] (voir fig.3). La chronologie serait la suivante: 1)le contenu élevé en lipides entraîne une augmentation de la synthèse de céramide, l'excès de palmitoyl-CoA se condensant à la sérine pour former un céramide (un dérivé de sphingosine et un précurseur des sphingolipides), 2)la céramide augmente l'expression de la forme inductible de la mono-oxygénase synthase (iNOs), ce qui se traduit par une surproduction de monoxyde d'azote (NO) qui déclenche l'apoptose. Les arguments expérimentaux en faveur de ce mécanisme sont doubles. Ce scénario peut être reproduit en traitant les îlots de rats ZDF prédiabétiques avec un C2-céramide. Les effets apoptotiques sont entièrement bloqués par les inhibiteurs de la synthèse de céramide (fumonisine B1) et de NO (nicotinamide, aminoguanidine). Le NO et le peroxy-nitrite (produit de réaction de NO et des superoxydes) ont pour cible la mitochondrie. Le NO est un puissant, mais réversible, inhibiteur de la chaîne respiratoire en se fixant au site de liaison de l'oxygène sur la cytochrome C oxydase. Il y a ensuite ouverture du pore de perméabilité de transition (MTP) qui entraîne une fuite de protons et l'hydrolyse de l'ATP (découplage des phosphorylations oxydatives). La mitochondrie gonfle et libère du cytochrome C et un facteur protéique (AIF, *apoptosis inducing factor*) qui activent des protéases cytoplasmiques, les caspases, qui stimulent la protéolyse et la destruction des cellules.

FIG.3.—Mécanismes par lesquels la troglitazone prévient la lipotoxicité et maintient de la masse des cellules  $\beta$  chez le rat Zucker fatty.

La surcharge lipidique des îlots de Langerhans peut être prévenue par administration de troglitazone (voir fig.3). Le traitement des rats ZDF par la troglitazone, diminue l'expression des enzymes impliquées dans l'activation des acides gras (acyl-CoA synthétase) et leur estérification (glycérolphosphate acyltransférase), réduit le contenu en triglycérides des îlots, améliore l'insulinosécrétion en réponse au glucose [73] et prévient l'apoptose [74] (voir fig.3). Cet effet lipostatique de la troglitazone en fait un agent pharmacologique potentiellement intéressant pour ralentir, voir prévenir, le passage des DNID d'un état d'insulino-résistance compensée à un état d'insulino-requérance.

## PERSPECTIVES

Les TZD représentent une avancée importante pour le traitement du diabète de type 2. Nos connaissances de leur mécanisme d'action viendront probablement du nombre croissant de recherches expérimentales réalisées sur les modèles animaux *in vivo* et *in vitro*. La découverte de nouveaux ligands, capables de moduler l'activité des voies métaboliques en réponse à l'insuline de façon tissu-spécifique (SPPARM, *selective PPAR modulator*), à la manière des récepteurs des œstrogènes (SERM, *selective estrogen receptor modulator*) (revue par [56]) sera probablement cruciale pour le développement de cette classe thérapeutique. Enfin, d'autres molécules, capables de moduler l'action des PPAR $\gamma$  pourraient représenter une voie intéressante de recherche. Par exemple, les PPAR $\gamma$  sont inactivés par phosphorylation sur sérine. Les protéines phosphatases sont donc des candidats potentiellement intéressants pour moduler l'activité des PPAR $\gamma$  *in vivo* (revue par [44]).

## BIBLIOGRAPHIE

1. GIRARD J. Fondements physiopathologiques du diabète de type 2. *Rev Prat*, 1999, 49: 22-29.
2. SALTIEL AR, OLEFSKY JM. Thiazolidinediones in the treatment of insulin resistance and type II diabetes. *Diabetes*, 1996, 45: 1661-1669.
3. SCHEEN AJ, LEFEBVRE PJ, TROGLITAZONE. Antihyperglycemic activity and potential role in the treatment of type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 1999, 22: 1568-1577.
4. DAY C. Thiazolidinediones: a new class of antidiabetic drugs. *Diabetic Med*, 1999, 16: 179-192.
5. KRAEGER EW, JAMES DE, JENKINS AB et al. A potent *in vivo* effect of ciglitazone on muscle insulin resistance induced by high-fat feeding of rats. *Metabolism*, 1989, 38: 1089-1093.
6. FUJIWARA T, WADA M, FUKUDA K et al. Characterization of CS-045, a new oral antidiabetic agent. 2) Effects on glycemic control and pancreatic islet structure at a late stage of the diabetic syndrome in C57BL/KsJ-db/db mice. *Metabolism*, 1991, 40: 1213-1218.
7. LEE MK, MILES PDG, KHOURSHEED M et al. Metabolic effects of troglitazone on fructose-induced insulin resistance in the rat. *Diabetes*, 1994, 43: 1435-1439.
8. MILES PDG, HIGO K, ROMEO OM et al. Troglitazone prevents hyperglycemia-induced but not glucosamine-induced insulin resistance. *Diabetes*, 1998, 47: 395-400.
9. HORIKOSHI H, YOSHIOKA T. Troglitazone. A novel antidiabetic drug for treating insulin resistance. *Drug Discovery Today*, 1998, 3: 79-88.
10. FULGENCIO JP, KOHL C, GIRARD J, PEGORIER JP. Troglitazone inhibits fatty acid oxidation and esterification, and gluconeogenesis in isolated hepatocytes from starved rats. *Diabetes*, 1996, 45: 1556-1562.

11. IWAMOTO Y, KUZUYA T, MATSUDA A et al. Effect of new oral antidiabetic agent CS-045 on glucose tolerance and insulin secretion in patients with NIDDM. *Diabetes Care*, 1991, *14*: 1083-1086.
12. SUTER SL, NOLAN JJ, WALLACE P et al. Metabolic effects of new oral hypoglycemic agent CS-045 in NIDDM subjects. *Diabetes Care*, 1992, *15*: 193-203.
13. INZUCCHI SE, MAGGS DG, SPOLLETT GR et al. Efficacy and metabolic effects of metformin and troglitazone in type II diabetes mellitus. *N Engl J Med*, 1998, *338*: 867-872.
14. MAGGS DG, BUCHANAN T, BURANT et al. Metabolic effects of troglitazone monotherapy in type 2 diabetes mellitus. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Intern Med*, 1998, *128*: 176-185.
15. PETERSEN KF, KRSSAK M, INZUCCHI S et al. Mechanism of troglitazone action in type 2 diabetes. *Diabetes*, 2000, *49*: 827-831.
16. SZALKOWSKI D, WHITE-CARRINGTON S, BERGER J, ZHANG B. Antidiabetic thiazolidinediones block the inhibitory effect of TNF- $\alpha$  on differentiation, insulin-stimulated glucose uptake, and gene expression in 3T3-L1 cells. *Endocrinol*, 1995, *136*: 1474-1481.
17. TAFURI SR. Troglitazone enhances differentiation, basal glucose uptake, and GLUT1 protein levels in 3T3-L1 adipocytes. *Endocrinol*, 1996, *137*: 4706-4712.
18. WEINSTEIN SP, HOLAND A, O'BOYLE E, HABER RS. Effects of thiazolidinediones on glucocorticoid-induced insulin resistance and GLUT4 glucose transporter expression in rat skeletal muscle. *Metabolism*, 1993, *42*: 1365-1369.
19. KOHN AD, SUMMERS SA, BIRNBAUM MJ, ROTH RA. Expression of a constitutively active Akt Ser/ Thr kinase in 3T3-L1 adipocytes stimulates glucose uptake and GLUT4 translocation. *J Biol Chem*, 1996, *271*: 31372-31378.
20. TANTI JF, GRILLO S, GREMEAUX T et al. Potential role of protein kinase B in GLUT4 translocation in adipocytes. *Endocrinol*, 1997, *138*: 2005-2010.
21. WANG Q, SOMWAR R, BILAN PJ et al. Protein kinase B/Akt participates in GLUT4 translocation by insulin in L6 myoblasts. *Mol Cell Biol*, 1999, *19*: 4008-4018.
22. HILL MM, CLARK SF, TUCKER DF et al. A role for protein kinase B  $\beta$ /Akt2 in insulin-stimulated GLUT4 translocation in adipocytes. *Mol Cell Biol*, 1999, *19*: 7771-7781.
23. BANDYOPADHYAY G, STANDAERT ML, ZHAO LM et al. Activation of protein kinase C ( $\alpha$ ,  $\beta$ , and  $\zeta$ ) by insulin in 3T3/L1 cells. Transfection studies suggest a role for PKC- $\zeta$  in glucose transport. *J Biol Chem*, 1997, *272*: 2551-2558.
24. BANDYOPADHYAY G, STANDAERT ML, GALLOWAY L et al. Evidence for involvement of protein kinase C- $\zeta$  and noninvolvement of diacylglycerol-sensitive PKCs in insulin-stimulated glucose transport in L6 myotubes. *Endocrinol*, 1997, *138*: 4721-4731.
25. BANDYOPADHYAY G, STANDAERT ML, KIKKAWA U et al. Faresse RV, Effects of transiently expressed atypical ( $\xi$ ,  $\lambda$ ), conventional ( $\alpha$ ,  $\beta$ ) and novel ( $\delta$ ) protein kinase C isoforms on insulin-stimulated translocation of epitope-tagged GLUT4 glucose transporters in rat adipocytes: specific interchangeable effects of protein kinases C- $\xi$  and C- $\lambda$ . *Biochem J*, 1999, *337*: 461-470.
26. STANDAERT ML, GALLOWAY L, KARNAM P et al. Protein kinase C- $\zeta$  as a downstream effector of phosphatidylinositol 3-kinase during insulin stimulation in rat adipocytes. Potential role in glucose transport. *J Biol Chem*, 1997, *272*: 30075-30082.
27. KANOY Y, BANDYOPADHYAY G, SAJAN MP et al. Thiazolidinedione treatment enhances insulin effects on protein kinase C- $\zeta$ / $\lambda$  activation and glucose transport in adipocytes of nondiabetic and Goto-Kakizaki (GK) type II diabetic rats. *J Biol Chem*, 2000, *275*: 16690-16696.
28. KLETZIEN RF, CLARKE SD, ULRICH RG. Enhancement of adipocyte differentiation by an insulin-sensitizing agent. *Mol Pharmacol*, 1992, *41*: 393-398.
29. IBRAHIMI A, TBOUL L, GAILLARD D et al. Evidence for a common mechanism of action for fatty acids and thiazolidinedione antidiabetic agents on gene expression in preadipose cells. *Mol Pharmacol*, 1994, *46*: 1070-1076.
30. SPIEGELMAN BM. PPAR $\gamma$ : adipogenic regulator and thiazolidinedione receptor. *Diabetes*, 1998, *47*: 507-514.
31. WILLSON TM, BROWN PJ, STERNBACH DD, HENKE BR. The PPARs: From orphan receptors to drug discovery. *J Med Chem*, 2000, *43*: 527-550.
32. MUKHERJEE R, DAVIES P, CROMBIE D et al. Sensitization of diabetic and obese mice to insulin by RXR agonists. *Nature*, 1997, *386*: 407-410.
33. SHULMAN GI. Cellular mechanisms of insulin resistance. *J Clin Invest*, 2000, *106*: 171-176.
34. HALLAKOU S, DOARE L, FOUFELLE F et al. Pioglitazone induces in vivo adipocyte differentiation in the obese Zucker fa/fa rat. *Diabetes*, 1997, *46*: 1393-1399.
35. OKUNO A, TAMEMOTO H, TOBE K et al. Troglitazone increases the number of small adipocytes without the change of white adipose tissue mass in obese Zucker rats. *J Clin Invest*, 1998, *101*: 1354-1361.
36. HALLAKOU S, FOUFELLE F, DOARE L et al. Pioglitazone-induced increase of insulin sensitivity in the muscles of the obese Zucker fa/fa rat cannot be explained by local adipocyte differentiation. *Diabetologia*, 1998, *41*: 963-968.
37. BRAISSANT O, FOUFELLE F, SCOTTO C et al. Differential expression of PPARs: Tissue distribution of PPAR- $\alpha$ , - $\beta$ , and - $\gamma$  in the adult rat. *Endocrinol*, 1996, *137*: 354-366.
38. MUKHERJEE R, JOW L, CROSTON GE, PATERNITI JRJ. Identification, characterization, and tissue distribution of human PPAR isoforms PPAR $\gamma$ 2 versus PPAR $\gamma$ 1 and activation with RXR agonists and antagonists. *J Biol Chem*, 1997, *272*: 8071-8076.
39. VIDAL-PUIG AJ, CONSIDINE RV, JIMENEZ-LINAN M et al. PPAR gene expression in human tissues. Effects of obesity, weight loss, and regulation by insulin and glucocorticoids. *J Clin Invest*, 1997, *99*: 2416-2422.
40. SCHOONJANS K, STAELS B, AUWERX J. Role of the PPAR in mediating the effects of fibrates and fatty acids on gene expression. *J Lipid Res*, 1996, *37*: 907-925.
41. MARTIN G, SCHOONJANS K, LEFEBVRE AM et al. Coordinate regulation of the expression of the fatty acid transport protein and acyl-CoA synthetase genes by PPAR $\alpha$  and PPAR $\gamma$  activators. *J Biol Chem*, 1997, *272*: 28210-28217.
42. OAKES ND, KENNEDY CJ, SADER S et al. A new antidiabetic agent, BRL 49653, reduces lipid availability and improves insulin action and glucoregulation in the rat. *Diabetes*, 1994, *43*: 1203-1210.
43. OAKES N, CAMILLERI S, FURLER S et al. The insulin sensitizer, BRL 49653, reduces systemic fatty acid supply and utilization and tissue lipid availability in the rat. *Metabolism*, 1997, *46*: 935-942.
44. REGINATO MJ, LAZAR MA. Mechanisms by which thiazolidinediones enhance insulin action. *Trends Endocrinol Metab*, 1999, *10*: 9-13.

45. MOLLER DE. Potential role of TNF- $\alpha$  in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes. *Trends Endocrinol Metab*, 2000, *11*: 212-217.
46. PERALDI P, XU M, SPIEGELMAN BM. Thiazolidinediones block TNF- $\alpha$ -induced inhibition of insulin signaling. *J Clin Invest*, 1997, *100*: 1863-1869.
47. SOUZA SC, YAMAMOTO MT, FRANCIOSA MD et al. BRL 49653 blocks the lipolytic actions of TNF- $\alpha$ : A potential new insulin-sensitizing mechanism for thiazolidinediones. *Diabetes*, 1998, *47*: 691-695.
48. MILES PDG, ROMEO OM, HIHO K et al. TNF- $\alpha$ -induced insulin resistance in vivo and its prevention by troglitazone. *Diabetes*, 1997, *46*: 1678-1683.
49. BURANT CF, SREENAN S, HIRANO KI et al. Troglitazone action is independent of adipose tissue. *J Clin Invest*, 1997, *100*: 2900-2908.
50. CHAO L, MARCUS-SAMUELS B, MASON MM et al. Adipose tissue is required for the antidiabetic, but not for the hypolipidemic, effect of thiazolidinediones. *J Clin Invest*, 2000, *106*: 1221-1222.
51. GAVRILOVA O, MARCUS-SAMUELS B, GRAHAM D et al. Surgical implantation of adipose tissue reverses diabetes in lipoatrophic mice. *J Clin Invest*, 2000, *105*: 271-278.
52. BARAK Y, NELSON M, ONG E et al. PPAR $\gamma$  is required for placental, cardiac, and adipose tissue development. *Mol Cell*, 1999, *4*: 585-595.
53. MILES PDG, BARAK Y, HE W et al. Improved insulin-sensitivity in mice heterozygous for PPAR $\gamma$  deficiency. *J Clin Invest*, 2000, *105*: 287-292.
54. KUBOTA N, TERAUCHI Y, MIKI H et al. PPAR $\gamma$  mediates high-fat diet-induced adipocyte hypertrophy and insulin resistance. *Mol Cell*, 1999, *4*: 597-609.
55. DEEB S, FAJAS L, NEMOTO M et al. A Pro12Ala substitution in PPAR $\gamma$ 2 associated with decreased receptor activity, lower body mass index and improved insulin sensitivity. *Nat Genet*, 1998, *20*: 284-287.
56. OLEFSKY JM. Treatment of insulin resistance with PPAR $\gamma$  agonists. *J Clin Invest*, 2000, *106*: 467-472.
57. LAPSYS NM, KRIKETOS AD, LIM-FRASER M et al. Expression of genes involved in lipid metabolism correlate with PPAR $\gamma$  expression in human skeletal muscle. *J Clin Endocrinol Metab*, 2000, *85*: 4293-4297.
58. OKUNO A, IKEDA K, SHIOTA M et al. Acute effect of troglitazone on glucose metabolism in the absence or presence of insulin in perfused rat hindlimb. *Metabolism*, 1997, *46*: 716-721.
59. FURNSINN C, NESCHEN S, NOE C et al. Acute non-insulin-like stimulation of rat muscle glucose metabolism by troglitazone in vitro. *Br J Pharmacol*, 1997, *122*: 1367-1374.
60. FURNSINN C, BRUNMAIR B, NESCHEN S et al. Troglitazone directly inhibits CO<sub>2</sub> production from glucose and palmitate in isolated rat skeletal muscle. *J Pharmacol Exp Therapeut*, 2000, *293*: 487-493.
61. PARK KS, CIARALDI TP, ABRAMS-CARTER L et al. Troglitazone regulation of glucose metabolism in human skeletal muscle cultures from obese type II diabetic subjects. *J Clin Endocrinol Metab*, 1998, *83*: 1636-1643.
62. FURNSINN C, BRUNMAIR B, MEYER M et al. Chronic and acute effects of thiazolidinediones BM 13.1258 and BM 15.2054 on rat skeletal muscle glucose metabolism. *Br J Pharmacol*, 1999, *128*: 1141-1148.
63. PARK KS, CIARALDI TP, LINDGREN K et al. Troglitazone effects on gene expression in human skeletal muscle of type II diabetes involve up-regulation of PPAR $\gamma$ . *J Clin Endocrinol Metab*, 1998, *83*: 2830-2835.
64. GIRARD J. Acides gras, insulinosécrétion et lipotoxicité. *Méd Théror Endocrinol*, 2000, *2 (Suppl 2)*: 29-36.
65. TOKUYAMA Y, STURIS J, DE PAOLI AM et al. Evolution of  $\beta$ -cell dysfunction in the male Zucker diabetic fatty rat. *Diabetes*, 1995, *44*: 1447-1457.
66. PICK A, CLARK J, KUBSTRUP C et al. Role of apoptosis in failure of  $\beta$ -cell mass compensation for insulin resistance and  $\beta$ -cell defects in the male Zucker diabetic fatty rat. *Diabetes*, 1998, *47*: 358-364.
67. MAN ZW, ZHU M, NOMA Y et al. Impaired  $\beta$ -cell function and deposition of fat droplets in the pancreas as a consequence of hypertriglyceridemia in OLETF rat, a model of spontaneous NIDDM. *Diabetes*, 1997, *46*: 1718-1724.
68. LEE Y, HIROSE H, OHNEDA M et al.  $\beta$ -cell lipotoxicity in the pathogenesis of non-insulin-dependent diabetes mellitus of obese rats: Impairment in adipocyte- $\beta$ -cell relationships. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, *91*: 10878-10882.
69. OHNEDA M, INMAN LR, UNGER RH. Caloric restriction in obese pre-diabetic rats prevents  $\beta$ -cell depletion, loss of  $\beta$ -cell GLUT2 and glucose incompetence. *Diabetologia*, 1995, *38*: 173-179.
70. LEE Y, HIROSE H, ZHOU YT et al. Increased lipogenic capacity of the islets of obese rats: a role in the pathogenesis of NIDDM. *Diabetes*, 1997, *46*: 408-413.
71. SHIMABUKURO M, ZHOU YT, LEVI M, UNGER RH. Fatty acid-induced cell apoptosis: A link between obesity and diabetes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, *95*: 2498-2502.
72. UNGER RH. How obesity causes diabetes in Zucker diabetic fatty rats. *Trends Endocrinol Metab*, 1997, *8*: 276-282.
73. SHIMABUKURO M, ZHOU YT, LEE Y, UNGER RH. Troglitazone lowers islet fat and restores beta cell function of Zucker diabetic fatty rats. *J Biol Chem*, 1998, *273*: 3547-3550.
74. HIGA M, ZHOU YT, RAVAZZOLA M et al. Troglitazone prevents mitochondrial alterations,  $\beta$ -cell destruction, and diabetes in obese prediabetic rats. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, *96*: 11513-11518.