

Régulation nutritionnelle du métabolisme glucidique chez les poissons : exemple de la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*), faible utilisatrice des glucides alimentaires

Remplacer les farines et huiles de poisson par des produits végétaux dans l'alimentation des poissons nécessite d'améliorer l'utilisation des glucides alimentaires. En effet, chez la truite arc-en-ciel notamment, la consommation d'un aliment riche en glucides digestibles provoque une hyperglycémie prolongée et peut conduire à diminuer les performances de croissance. Si l'ensemble des enzymes impliquées dans la régulation du métabolisme glucidique semble exister chez le poisson, les mécanismes de régulation pourraient différer de ceux observés chez les mammifères.

L'alimentation des poissons d'élevage se caractérise par des taux élevés de protéines d'origine animale (farine de poisson) dans l'aliment (National Research Council 1993). La grande exigence du poisson en protéines

alimentaires dérive du faible besoin énergétique (donc faible besoin en nutriments énergétiques non azotés) et de l'importance du catabolisme direct par la voie oxydative des acides aminés absorbés. Au cours des dernières décennies, deux stratégies ont été envisagées pour diminuer l'apport en farine de poisson, source potentielle de pollution environnementale (déchets azotés et phosphorés) : (i) l'augmentation de l'apport d'énergie digestible d'origine non protéique ou (ii) le remplacement de la farine de poisson par d'autres sources protéiques (Kaushik et Mambrini 1994, Tacon 1994). En ce qui concerne la première voie, jusqu'à présent, l'énergie d'origine non protéique est apportée principalement par les lipides, sous forme d'huile de poisson. Les effets négatifs de ces apports de matières grasses d'origine marine sont l'augmentation des dépôts lipidiques, qui peut nuire à la qualité et au rendement du poisson, et une pression sur les stocks halieutiques, déjà très

Résumé

En alimentation des poissons, le potentiel d'utilisation des glucides comme source d'énergie digestible est quelque peu controversé. Par exemple, la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*), l'espèce la plus élevée en France, est considérée mauvaise utilisatrice des glucides, avec une hyperglycémie post-prandiale prolongée et une baisse de croissance suite à un apport élevé en glucides (supérieur à 25-30 %). Afin d'améliorer l'utilisation des glucides alimentaires, une meilleure compréhension des mécanismes de contrôle nutritionnel du métabolisme du glucose s'est donc avéré nécessaire. Ainsi, en présence de glucides alimentaires, des études ont montré que la truite arc-en-ciel semble avoir des difficultés pour diminuer sa production endogène de glucose dans le foie et pour utiliser le glucose comme source énergétique au niveau musculaire. De plus, la truite présente des particularités dans le contrôle hormonal de l'homéostasie glucidique (somatostatines, glucagon-like peptide) qui jouent probablement aussi un rôle important.

sollicités (Kaushik 1997). L'apport d'énergie non protéique sous forme de glucides permettrait donc à la fois de diminuer le coût de l'aliment et de diversifier les ressources alimentaires utilisées.

Quelle que soit l'espèce de poisson, la digestibilité des glucides est, pour une liaison osidique donnée, liée à la complexité de la molécule, l'efficacité de la digestion augmentant lorsque la masse moléculaire diminue. Ainsi, des sucres simples comme le glucose ont une digestibilité plus élevée que la dextrine ou l'amidon cru (Kaushik 1999). D'autre part, les amidons natifs étant peu digestibles pour certains téléostéens comme les salmonidés, un traitement hydrothermique préalable des matières premières végétales (cuisson-extrusion, floconnage, toastage) est nécessaire afin d'améliorer leur digestibilité (Bergot 1979a, Wilson 1994). Le problème de digestibilité des amidons étant résolu, ce qui fait encore l'objet de nombreuses interrogations est l'utilisation métabolique des glucides simples (Moon et Foster 1995, Moon 2001a).

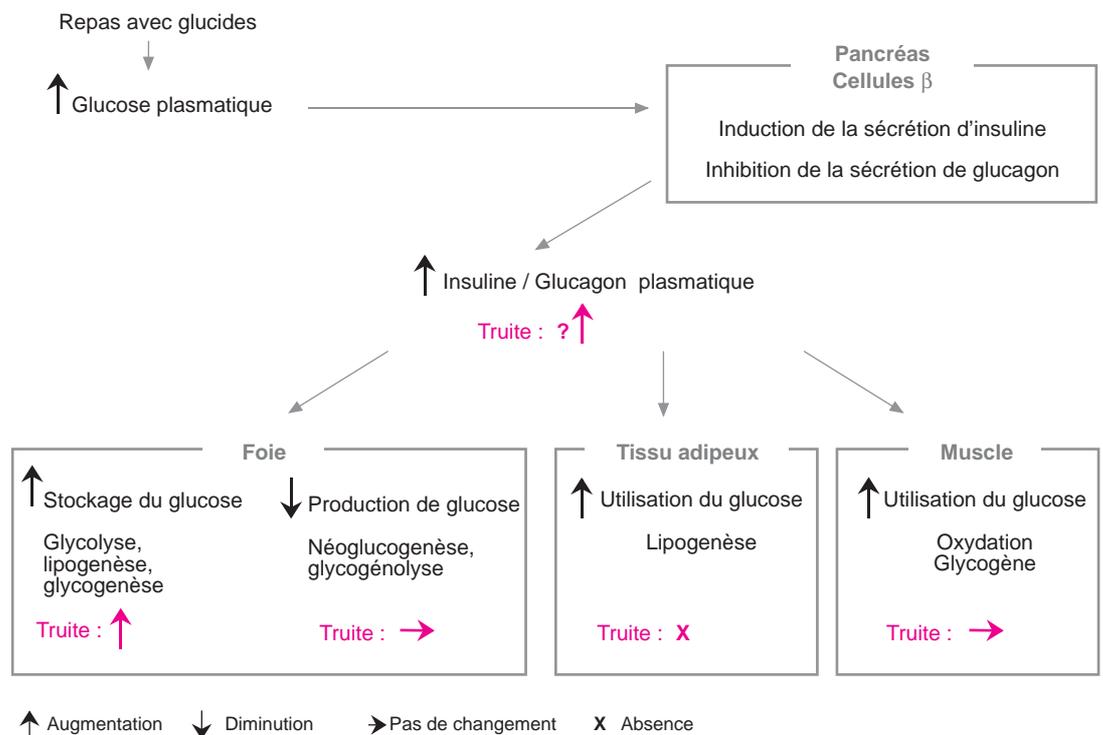
Dans ce contexte, l'objectif général dans le domaine de la nutrition glucidique des poissons est la compréhension des mécanismes métaboliques impliqués dans la faible utilisation des glucides chez certaines espèces comme la truite arc-en-ciel *Oncorhynchus mykiss*. Il est toutefois important de noter qu'il existe des différences d'utilisation du glucose entre les espèces de poissons comme la truite arc-en-ciel, mauvais utilisateur, la carpe commune (*Cyprinus carpio*), utilisateur effi-

cace, ou la daurade royale (*Sparus aurata*), utilisateur intermédiaire (Wilson 1994, Panserat *et al* 2000b, Legate *et al* 2001). Les analyses comparatives sont par conséquent utiles et permettent de valider ou invalider beaucoup d'hypothèses (voir Wilson 1994).

1 / Rappel : principaux tissus impliqués dans l'homéostasie glucidique

Chez les mammifères, après un repas riche en glucides alimentaires, les tissus majeurs impliqués dans le stockage de l'énergie provenant du glucose d'origine alimentaire sont le foie, le tissu adipeux et le muscle (figure 1). Ces tissus, insulino-dépendants, vont permettre le stockage du glucose sous forme de glycogène (foie, muscle) ou de lipides (lipogénèse dans le foie et le tissu adipeux). D'autres tissus comme le cerveau, le cœur ou l'intestin jouent un rôle important dans l'utilisation du glucose comme source d'énergie, mais probablement un rôle moins fondamental dans le contrôle de la glycémie post-prandiale, bien que des études récentes aient montré que l'intestin soit un organe néoglucogénique important chez les mammifères. La régulation nutritionnelle du métabolisme glucidique dans les tissus cibles (foie, muscle et tissu adipeux) des mammifères est liée : i) à l'apport quantitatif en macro-nutriments ou leurs métabolites et à leur bio-disponibilité (régulations nutritionnelles au sens strict) ; ii) aux profils de sécrétion des hormones, principalement l'insuline et le glucagon.

Figure 1. Représentation schématique du stockage postprandial des glucides alimentaires dans les principaux tissus chez les mammifères. Les résultats obtenus chez la truite arc-en-ciel sont indiqués en rouge. Chez les mammifères, après chaque repas, environ 30 % du glucose absorbé est stocké dans le foie, 30 % dans le muscle, 15 % dans le cerveau et 10 % dans le tissu adipeux.



2 / Métabolisme glucidique et glycémie post-prandiale chez la truite arc-en-ciel après absorption de glucides alimentaires

Les matières premières riches en glucides (céréales entières ou amidons issus de ces céréales) ont été incorporées depuis toujours dans les aliments composés pour poissons d'élevage. Jusqu'à 25-30 % du total de la composition de l'aliment, les glucides digestibles (appelés glucides alimentaires dans la suite de l'article) permettent d'épargner efficacement les protéines alimentaires, d'améliorer l'utilisation protéique et de diminuer les rejets issus du métabolisme protéique chez les salmonidés (Kaushik et Oliva-Teles 1985, Kaushik 1997). Toutefois, au-delà de 25-30 % de glucides digestibles dans l'aliment, les performances de croissance diminuent significativement (Kaushik 1999).

Le glucose est une source énergétique mineure chez la truite arc-en-ciel vivant dans son milieu naturel contrairement à beaucoup d'animaux terrestres (Moon et Foster 1995). Même si de nombreux tissus (cœur, cerveau et rein) sont des tissus hautement glycolytiques, en l'absence de glucides alimentaires, ce sont les protéines et les lipides qui sont rapidement et efficacement métabolisés afin de fournir l'énergie nécessaire à la couverture des besoins (Cowey et Walton 1989). Le taux de renouvellement du glucose chez les poissons est en général de 20 à 100 fois inférieur aux valeurs obtenues chez les mammifères de poids équivalent, ce qui peut être dû à leur température corporelle et à leur métabolisme de base plus faible (les poissons sont poikilothermes) (Weber et Zwingelstein 1995, Haman et al 1997). D'autre part, les poissons ont des réserves glucidiques sous forme de glycogène, mais ce dernier est un substrat énergétique très peu utilisé dans les tissus de poisson sauf pour le muscle blanc lors d'exercices intenses (Kaushik 1999). Finalement, la consommation d'un aliment riche en glucides digestibles conduit à l'apparition d'une hyperglycémie post-prandiale prolongée chez la truite-arc-en-ciel pendant plus de 24 h (Bergot 1979b et 1979c). La même absence de contrôle de la glycémie a été observée après administration orale ou intraveineuse de glucose (Palmer et Ryman 1972, Legate et al 2001). De fait, si l'ensemble des enzymes du métabolisme glucidique semble exister chez le poisson (Cowey et Walton 1989), ce sont les mécanismes de régulation de ce métabolisme qui pourraient différer de ceux observés chez les mammifères.

3 / Régulation par les glucides alimentaires du métabolisme du glucose chez la truite arc-en-ciel

3.1 / Etudes sur l'animal entier

L'injection intraveineuse du ^{14}C -glucose chez des truites adaptées à un régime riche en glucides a montré qu'environ 10 % de la dose

injectée est retrouvée dans les lipides corporels (Brauge et al 1995, Corraze et al 1999). Chez un autre salmonidé, le saumon Atlantique (*Salmo salar*), il a été démontré récemment que seul 1 % du glucose injecté est transformé en lipides hépatiques (Hemre et Storebakken 2000). Chez ces mêmes animaux, les auteurs ont observé une amélioration de la capacité d'adaptation des poissons nourris avec des glucides alimentaires avec un plus fort taux de renouvellement du glucose ingéré. Finalement, la distribution tissulaire montre que la plus grande quantité de radioactivité se retrouve dans le foie puis dans le cœur et les branchies, tandis que le taux d'incorporation est faible dans le rein et le muscle. Cela confirme l'importance du foie dans le métabolisme du glucose chez les salmonidés.

3.2 / Régulation dans le foie

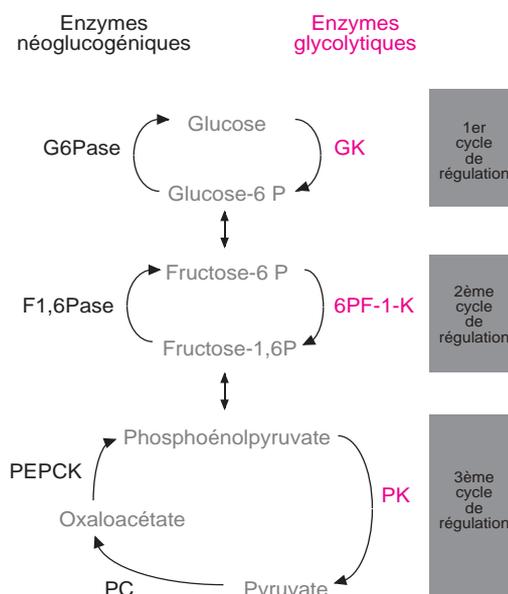
Chez les mammifères, deux voies métaboliques sont en équilibre dans le foie : celle de la production du glucose endogène (néoglucogénèse et glycogénolyse) et celle du stockage du glucose en excès sous forme de glycogène ou après conversion en lipides (cf figure 1). L'étude de la régulation des différentes enzymes impliquées dans ces voies métaboliques (Pilkis et Granner 1992) revêt donc une grande importance (figure 2).

a / Transport du glucose dans le foie

La première étape permettant l'entrée ou la sortie du glucose des hépatocytes correspond à la présence de transporteurs spécifiques du glucose de la famille Glut (*Glucose transporter*). Dans le foie, le transporteur de type

Figure 2. Principales voies de régulation du métabolisme glucidique hépatique chez les mammifères et la truite arc-en-ciel.

GK : glucokinase (EC 2.7.1.1), 6PF-1-K : phosphofructokinase (EC 2.7.1.11), PK : pyruvate kinase (EC 2.7.1.40), G6Pase : glucose-6-phosphatase (EC 3.1.3.9), F1,6Pase : fructose-1-6-bisphosphatase (EC 3.1.3.11), PEPCK : phosphoénolpyruvate carboxykinase (EC 4.1.1.32), PC : pyruvate carboxylase (EC 6.4.1.1).



Glut1 a une forte affinité pour le glucose et permet son entrée dans les cellules afin d'utiliser le glucose comme source énergétique. Au contraire, le transporteur de glucose de type Glut2 a une faible affinité pour le glucose et permet de maintenir dans toutes les conditions des concentrations équivalentes de glucose entre le milieu intracellulaire et extracellulaire ; il est ainsi indispensable pour permettre l'entrée du glucose en excès dans les cellules après un repas riche en glucides alimentaires. Très récemment, deux équipes dont la nôtre, ont montré l'existence d'ARNm codant pour des transporteurs du glucose, Glut1 et Glut2, chez la truite (Teerijoki *et al* 2000, Krasnov *et al* 2001, Panserat *et al* 2001b). La fonctionnalité de ces deux transporteurs a aussi été démontrée (Krasnov *et al* 2001, Teerijoki *et al* 2001). Mais aucune régulation nutritionnelle du taux d'ARNm Glut2 (toujours élevé) n'a été observée dans le foie de la truite arc-en-ciel (Panserat *et al* 2001b).

b / Stockage du glucose en excès dans le foie

Bien que les enzymes-clés de la glycolyse et de la glycogénèse soient toutes présentes dans le foie de la truite-arc-en-ciel (Cowey et Walton 1989, Moon et Foster 1995), l'étude de la régulation de l'expression de ces enzymes et, surtout, de leur expression génique par les glucides alimentaires n'est abordée que depuis peu.

Contrôle nutritionnel de la glycolyse et de la glycogénèse sur hépatocytes en cultures

Sur cultures primaires d'hépatocytes de truite, le glucose (marqué au ^{14}C) peut être oxydé (formation du $^{14}\text{CO}_2$), stocké sous forme de glycogène ou transformé en lipides comme chez les mammifères (Moon *et al* 1985, Pereira *et al* 1995a et 1995b). Toutefois, une mobilisation continue du glycogène pendant l'incubation des cellules complique les études sur l'utilisation du glucose. Il est, de plus, intéressant de noter que la synthèse de glycogène *in vitro* par l'enzyme glycogène synthétase semble se faire principalement à partir de glucose issu de la néoglucogénèse (voie indirecte de synthèse) plutôt qu'à partir du glucose exogène (voie directe de synthèse) (Pereira *et al* 1995a). Malheureusement, la régulation des enzymes de la glycolyse par les macro-nutriments dans les hépatocytes de truite arc-en-ciel n'a pas été étudiée jusqu'à présent.

Contrôle de l'expression des enzymes-clés de la glycolyse et de la glycogénèse in vivo

Une hypothèse majeure avait été avancée par de nombreux auteurs afin d'expliquer la mauvaise utilisation des glucides alimentaires chez les salmonidés ; elle correspondait à l'absence d'expression d'une glucokinase inductible dans le foie (Cowey *et al* 1977, Knox *et al* 1980, Furuichi et Yone 1982b, Fideu *et al* 1983, Tranulis *et al* 1991). Toutefois, par des approches combinées de biochimie et de biologie moléculaire, il a été démontré ces dernières années l'existence d'une glucokinase dans le foie du saumon atlantique, de la truite arc-en-ciel, de la carpe commune et de la daurade royale (Tranulis *et*

al 1996, Caseras *et al* 2000, Panserat *et al* 2000a et 2000b). L'induction de l'expression du gène et de l'activité de la glucokinase par les glucides alimentaires a été montrée chez ces espèces (Caseras *et al* 2000, Panserat *et al* 2000b). De la même façon, un repas riche en glucides alimentaires induit l'activité des enzymes phosphofructokinase et pyruvate kinase (Cowey *et al* 1977, Fideu *et al* 1983). Toutefois, contrairement aux mammifères, il ne semble pas que l'induction de la pyruvate kinase soit liée à une expression plus élevée du gène, celui-ci étant toujours fortement exprimé (Panserat *et al* 2001b). Enfin, l'enzyme bifonctionnelle ou 6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2.6-bisphosphatase (EC 2.7.1.105/EC 3.1.346) qui catalyse la production du fructose-2.6-bisphosphate, un régulateur allostérique de la glycolyse et de la néoglucogénèse, est induite au niveau moléculaire chez la truite suite à un repas riche en glucides alimentaires (Panserat *et al* 2001b), comme cela avait été aussi observé chez la daurade royale (Metton *et al* 2000). La glycogénèse est aussi induite par l'absorption de glucides alimentaires chez la truite (Hilton et Atkinson 1982, Panserat *et al* 2000b), catalysée par l'enzyme glycogène synthétase (Moon et Foster 1995, Pereira *et al* 1995a). Toutefois, la synthèse de glycogène est difficile à évaluer chez la truite (donc difficile à étudier), la voie indirecte de synthèse (à partir de substrats non glucidiques) étant très importante et, semble-t-il, plus importante qu'à partir du glucose lui-même (Moon et Foster 1995, Pereira *et al* 1995a).

La capacité de glycolyse hépatique semble donc induite par un repas riche en glucides alimentaires. De plus, la lipogénèse (activités des enzymes de la lipogénèse : glucose-6-phosphate déshydrogénase, acétyl-CoA carboxylase et acide gras synthétase) est induite *in vivo* dans le foie de la truite arc-en-ciel par des taux élevés de glucides alimentaires (Hilton et Atkinson 1982, Corraze *et al* 1999, Dias 1999) et *ex vivo* sur culture d'hépatocytes en présence de fortes doses de glucose (Alvarez *et al* 2000). L'ensemble de ces données suggère que le glucose en excès est utilisé efficacement dans le foie de la truite-arc-en-ciel.

c / Production endogène de glucose dans le foie

La production hépatique de glucose endogène correspond à l'addition de deux voies métaboliques, la glycogénolyse et la néoglucogénèse. Sachant que chez la truite arc-en-ciel nourrie sans glucides (régime 'naturel'), la néoglucogénèse postprandiale à partir des acides aminés et du lactate est active (Cowey *et al* 1977, Suarez et Mommsen 1987), il paraît intéressant d'étudier les mécanismes de régulation de cette voie métabolique lors de l'absorption d'un régime riche en glucides alimentaires.

Contrôle nutritionnel de la production hépatique de glucose sur hépatocytes en cultures

La capacité de production hépatique de glucose a été étudiée sur cultures primaires d'hépatocytes isolés à partir de foies prélevés sur des poissons ayant des antécédents nutrition-

nels distincts (French *et al* 1981, Moon *et al* 1985). Le principal substrat néoglucogénique semble être le lactate, de préférence aux acides aminés (alanine, sérine) (Moon *et al* 1985). Toutefois, une augmentation de la néoglucogénèse à partir de l'alanine a été observée sur des hépatocytes isolés de truites à jeun (French *et al* 1981). Un jeûne à long terme conduit également à une augmentation de l'utilisation de l'alanine (Pereira *et al* 1995b). Ces mêmes auteurs ont montré que le glucose n'avait pas d'effet inhibiteur sur la néoglucogénèse mesurée sur des hépatocytes de truite (l'effet de l'insuline étant lui-même très limité). Les difficultés liées à la mise en place d'une méthode de mesure de la glycogène phosphorylase rendent difficiles les études de la régulation de la glycogénolyse (Moon *et al* 1999).

Contrôle de l'expression des enzymes-clés de la néoglucogénèse in vivo

La phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK) est essentiellement mitochondriale chez la truite (Suarez et Mommsen 1987). Bien que l'addition de glucides alimentaires semble induire une diminution de l'activité de l'enzyme (Cowey *et al* 1977), nous avons démontré récemment que le gène de la PEPCK hépatique s'exprime fortement, que la truite soit nourrie ou non avec des glucides alimentaires (Panserat *et al* 2001a). De même, l'expression du gène et l'activité des enzymes fructose-1.6-bisphosphatase et glucose-6-phosphatase semblent ne pas être contrôlées par les glucides alimentaires (Hilton et Atkinson 1982, Tranulis *et al* 1996, Panserat *et al* 2000c et 2001b).

En conclusion, les capacités de production hépatique de glucose, indispensables et fortement utilisées chez la truite nourrie sans glucides, c'est-à-dire nourrie avec son aliment 'naturel' (Suarez et Mommsen 1987), semblent ne pas être diminuées par un apport de glucides alimentaires. Ce phénomène se retrouve chez les mammifères : l'absence de suppression de la production hépatique de glucose est une des caractéristiques observée chez les patients atteints de diabète non insulino-dépendant de type II (Mevorach *et al* 1998). Des analyses plus approfondies doivent donc être poursuivies afin de comprendre pourquoi les glucides sont incapables de réguler les capacités de production de glucose endogène chez la truite.

3.3 / Utilisation du glucose dans le muscle et le tissu adipeux

En dehors du foie, les deux principaux tissus utilisateurs du glucose et impliqués dans le contrôle de la glycémie sont les tissus musculaires et adipeux (cf figure 1).

a / Muscles

Les muscles squelettiques doivent jouer un rôle majeur dans le stockage du glucose à cause de leur masse (55-60 % de la masse totale du poisson). Il existe deux types musculaires chez

la truite, le muscle rouge (5-10 % de la masse musculaire) et le muscle blanc. Les muscles rouge et blanc sont respectivement le siège d'un métabolisme de type aérobie (oxydation des acides gras) ou d'un métabolisme de type anaérobie (oxydation du glycogène). Un transporteur de type Glut4 dans le muscle blanc de la truite fario (*Salmo trutta*) a récemment été caractérisé au niveau moléculaire (Planas *et al* 2000). Chez les mammifères, ce transporteur est induit par l'insuline (translocation du récepteur sur la membrane cellulaire) et permet ainsi un stockage et une utilisation efficace du glucose après un repas. Les recherches sur la régulation nutritionnelle de Glut4 sont en cours chez la truite (J. Gutierrez, communication personnelle). Par la suite, une fois entré dans les cellules musculaires, le glucose doit être phosphorylé. L'activité de phosphorylation du glucose catalysée par les hexokinases à faible Km dans le muscle blanc des poissons est faible (Knox *et al* 1980, Moon et Foster 1995). Si cela est vérifié, cela pourrait expliquer la difficulté de la truite à utiliser le glucose exogène comme source énergétique. Des truites transgéniques exprimant le transporteur Glut1 et l'hexokinase II de mammifères ont été créées. Bien qu'il ne s'agisse que de truites mosaïques, une capacité plus élevée de métabolisme du glucose semble exister chez ces poissons, suggérant ainsi qu'il existe bien un déficit d'utilisation du glucose dans le muscle de truite (Krasnov *et al* 1999). Finalement, le glucose phosphorylé peut être soit oxydé soit transformé en glycogène. Cependant, la quantité totale de glycogène dans le muscle blanc ne représente qu'entre 0,2 et 1,3 % du poids frais et ne jouerait donc pas, a priori, de rôle majeur dans la régulation du métabolisme énergétique.

b / Tissu adipeux

La lipogenèse ne semble pas exister dans les tissus adipeux chez la truite, elle se produit essentiellement dans le foie (Corraze *et al* 1999). Dans ces conditions, le tissu adipeux ne joue probablement pas un rôle important dans le stockage du glucose alimentaire en excès. Mais la régulation nutritionnelle de la lipolyse et du stockage des lipides dans ces tissus conditionne le taux plasmatique d'acides gras libres ; ceci pourrait jouer un rôle fondamental dans la régulation du métabolisme glucidique et particulièrement dans celui de la production hépatique de glucose endogène comme chez les mammifères (Bergman et Ader 2000). Récemment, la présence des récepteurs à l'insuline et aux IGF-I (*insulin growth factor type I*) dans le tissu adipeux a été démontrée (Planas *et al* 2001), suggérant ainsi que ce tissu puisse être une cible d'action pour l'insuline et les IGF.

4 / Régulation hormonale du métabolisme du glucose chez la truite arc-en-ciel

Les principales hormones de régulation du métabolisme glucidique lié à la nutrition (insuline, glucagon, somatostatine) semblent avoir les mêmes actions chez la truite que chez les mammifères. D'autres hormones comme le cortisol (Mommsen *et al* 1999), les catécholamines

(Fabbri *et al* 1998) et les hormones thyroïdiennes sont également impliquées dans la régulation du métabolisme glucidique, mais, a priori, ces hormones sont moins dépendantes de l'état nutritionnel de l'animal.

Insuline

L'hyperglycémie postprandiale fut, dans un premier temps, attribuée à un défaut de sécrétion de l'insuline (Furuichi et Yone 1982a). Or, il est maintenant bien établi que toutes les espèces de poissons sont capables de sécréter l'insuline après absorption de glucose (Plisetskaya 1995). Des récepteurs fonctionnels de l'insuline ont été mis en évidence dans les tissus musculaires et hépatiques de nombreux poissons dont la truite arc-en-ciel et la truite fario (*Salmo trutta*) (Plisetskaya *et al* 1993, Parrizas *et al* 1994). Globalement, les effets biologiques de l'insuline (c'est-à-dire promotion de l'utilisation du glucose et des acides aminés alimentaires) chez le poisson ressemblent à ceux observés chez les mammifères (Plisetskaya 1995). Il existe toutefois des particularités. Tout d'abord le nombre de récepteurs à l'insuline est significativement plus faible dans le foie et le muscle de la truite que chez les mammifères (Parrizas *et al* 1995) et ceci quel que soit l'âge de l'animal (Mendez *et al* 2001). De plus, le muscle blanc de la truite fario possède moins de récepteurs à l'insuline que celui de la carpe commune, capable d'utiliser les glucides alimentaires de façon efficace (Parrizas *et al* 1994). Ceci pourrait ainsi expliquer la faible utilisation métabolique du glucose dans ce tissu (insulino-résistance) chez la truite. Ensuite, si l'effet de l'insuline semble similaire à ce qui a été observé chez les mammifères (Plisetskaya 1995), Pereira *et al* (1995b) ont montré que l'insuline avait un effet inhibiteur très limité sur la néoglycogénèse dans les hépatocytes de truite.

Glucagon

La séquence du glucagon produite et sécrétée principalement par les cellules alpha du pancréas est très conservée parmi tous les vertébrés (Plisetskaya 1995). Comme chez les mammifères, le glucagon chez le poisson a un effet hyperglycémiant (induction de la production hépatique de glucose grâce entre autres à la glycogénolyse et à la néoglycogénolyse) et lipolytique (Moon 2001b). Des récepteurs fonctionnels au glucagon ont été caractérisés chez les poissons dans certains tissus comme le foie, mais leur caractérisation moléculaire est encore inconnue (Navarro *et al* 1999). Après fixation sur son récepteur, le glucagon semble augmenter les concentrations des seconds messagers AMPc et IP3 (inositol 1,3,5-trisphosphate) comme chez les mammifères (Navarro *et al* 1999). Bien que les interactions entre le glucagon et l'insuline aient été peu étudiées chez le poisson, leurs effets antagonistes ne semblent pas si nets chez les poissons (Plisetskaya 1995). Il sera donc important que les études ultérieures sur l'utilisation des glucides alimentaires tiennent compte des profils hormonaux (insuline et glucagon) et de l'interaction éventuelle d'autres nutriments sécrétagogues.

GLP (Glucagon-Like Peptides)

Les poissons montrent, par rapport aux mammifères, des différences biochimiques et physiologiques importantes pour les GLP (Mommsen 2000). Les GLP de poissons agissent principalement dans le foie et s'opposent aux effets de l'insuline en induisant la néoglycogénèse, la glycogénolyse et la lipolyse hépatiques (Mommsen 2000) : il s'agit donc d'une hormone type 'super glucagon', alors que chez les mammifères, les GLP ont des effets inverses à ceux du glucagon. L'importance des GLP dans la régulation nutritionnelle du métabolisme glucidique n'a pas été encore évaluée.

Somatostatines

Les somatostatines sont des familles multifonctionnelles d'hormones peptidiques (Lin *et al* 2000). Ces hormones sont produites principalement dans le tissu endocrine du pancréas. Il a été récemment démontré que le glucose induit significativement la production et la sécrétion des somatostatines chez la truite arc-en-ciel (Ehrman *et al* 2000, Melroe *et al* 2000). La régulation de la biosynthèse des somatostatines par le glucose a probablement des implications importantes sur la physiologie nutritionnelle de ces vertébrés car les somatostatines inhibent la sécrétion aussi bien de l'insuline que du glucagon (Eilerston et Sheridan 1993).

Conclusion

Les travaux entrepris ces dernières années sur la régulation nutritionnelle et hormonale du métabolisme glucidique dans certains tissus majeurs devraient permettre de mieux appréhender les mécanismes physiologiques à l'origine de la mauvaise utilisation métabolique des glucides alimentaires observée généralement chez le salmonidé. Une vision plus claire du métabolisme glucidique réfutant certaines hypothèses initiales (absence de glucokinase, de transporteurs Glut4 et de sécrétion d'insuline) en en ajoutant d'autres (néoglycogénèse hépatique persistante, rapport insuline/glucagon inefficace, utilisation faible du glucose dans le muscle ; tableau 1) nous permet d'espérer dans un futur proche la résolution du problème de l'utilisation des glucides alimentaires. Dans le cadre d'un remplacement progressif des ingrédients à base de poisson (farines et huiles) par des produits d'origine végétale, cette connaissance est particulièrement importante.

Remerciements

Le travail de notre laboratoire a été financé par la région Aquitaine (n°CCRRDT : 960308003) et la Commission Européenne (*Fisheries Agricultural and Agro-Industrial Research*, contact FAIR n°CT95-0174). Nous remercions l'ensemble du personnel technique (E. Plagnes-Juan, J. Brèque, C. Vachot, P. Aguirre) des étudiants (I. Seiliez, O. Lapoyade-Deschamps, O. Cheylat, J. Camblong, PO Frappart, A. Perrin) et post-doctorant (C. Blin) ayant travaillé directement sur ce sujet avec nous.

Tableau 1. Résumé des hypothèses majeures pouvant expliquer la mauvaise utilisation des glucides alimentaires par la truite arc-en-ciel.

Hypothèses principales (après alimentation avec glucides)	Voies métaboliques impliquées
<i>Problèmes de sécrétion d'insuline</i> Le glucose n'est pas un sécrétagogue efficace pour la sécrétion d'insuline dans les cellules beta-pancréatiques	Faible transport du glucose (Glut2) Faible glycolyse (absence de glucokinase)
<i>Problèmes de résistance à l'insuline</i> Nombre insuffisant de récepteurs insuline sur les tissus cibles (foie, muscle, tissu adipeux) Transduction cellulaire du signal insuline inefficace Interaction négative avec l'action d'autres hormones (qui ne sont pas de la famille insuline)	Synthèse déficiente des récepteurs insuline (problème de transcription/traduction du gène) Voie de transduction du signal insuline déficiente (absence de protéines IRS ...) Glucagon (action opposée à l'insuline) GLP (potentialise l'action du glucagon) Somatostatine (inhibe la sécrétion d'insuline)
<i>Métabolisme dans le foie</i> Transport inefficace du glucose Absence de stockage du glucose en excès Persistance de la production de glucose endogène	Absence de Glut2 Voies glycolyse-glycogénèse-lipogénèse inefficaces (faibles activités des enzymes) Voies néoglycogénèse-glycogénolyse surexprimées (fortes activités des enzymes)
<i>Métabolisme dans le muscle</i> Transport insuffisant du glucose Faible phosphorylation du glucose	Absence de Glut4 Absence ou faible activité hexokinase I / II
<i>Métabolisme dans le tissu adipeux</i> Pas de stockage du glucose en excès	Absence de Glut4 Voie lipogénèse inefficace (faible activité hexokinase II ...)

Références

- Alvarez M.J., Diez A., Lopez-Bote C., Gallego M., Bautista J.M., 2000. Short-term modulation of lipogenesis by macronutrients in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocytes. *Br. J. Nutr.*, 84, 619-628.
- Bergot F., 1979a. Problèmes particuliers posés par l'utilisation des glucides chez la truite-arc-en-ciel. *Ann. Nutr. Alim.*, 33: 247-257.
- Bergot F., 1979b. Effects of dietary carbohydrates and of their mode of distribution on glycaemia in rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.). *Comp. Biochem. Physiol.*, 64A, 543-547.
- Bergot F., 1979c. Problèmes particuliers posés par l'utilisation des glucides chez la truite arc-en-ciel. *Ann. Nutr. Alim.*, 33, 247-257.
- Bergman R.N., Ader M., 2000. Free fatty acids and pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *TEM* 11, 351-355.
- Brauge C., Corraze G., Médale F., 1995. Effects of dietary levels of carbohydrate and lipid on glucose oxidation and lipogenesis from glucose in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), reared in freshwater or in seawater. *Comp. Biochem. Physiol.*, 111A, 117-124.
- Caseras A., Meton I., Fernandez F., Baanante I.V., 2000. Glucokinase gene expression is nutritionally regulated in liver of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Biochim. Biophys. Acta*, 1493, 135-141.
- Corraze G., Larroquet L., Médale F., 1999. Alimentation et dépôts lipidiques chez la truite arc-en-ciel, effet de la température d'élevage. *INRA Prod. Anim.*, 12, 249-256.
- Cowey C., Walton M., 1989. Intermediary metabolism In: Cowey C. & Walton M. (eds), *Intermediary Metabolism*, 259-329. Academic Press.
- Cowey C., Knox D., Walton M., Adron J., 1977. The regulation of gluconeogenesis by diet and insulin in rainbow trout. *Br. J. Nutr.*, 38, 463-470.
- Dias J., 1999. Lipid deposition in rainbow trout (*O. mykiss*) and european seabass (*D. labrax*): nutritional regulation of hepatic lipogenesis. Thèse Instituto de Ciencias Biomedicas de Abel Salazar, Universidade do Porto, Portugal. 197 p.
- Ehrman M.A., Melroe T.M., Kittilson J.D., Sheridan M.A., 2000. The expression of preprosomatostatin II mRNAs in the Brockmann bodies of rainbow trout, *O. mykiss*, is regulated by glucose. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 118, 150-160.
- Eilerston C.D., Sheridan M.A., 1993. Differential effects of somatostatin-14 and somatostatin-25 on carbohydrate and lipid metabolism in rainbow trout. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 92, 62-70.
- Fabbri E., Capuzzo A., Moon T.W., 1998. The role of circulating catecholamines in the regulation of fish metabolism. *Comp. Biochem. Physiol. Part B*, 120, 177-192.
- Fideu M.D., Soler G., Ruiz-Amil T., 1983. Nutritional regulation of glycolysis in rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.). *Fish Physiol. Biochem.*, 74B, 795-799.
- French C., Mommsen T.P., Hochachka P.W., 1981. Amino acid utilisation in isolated hepatocytes of rainbow trout. *Eur. J. Biochem.* 113, 311-317.

- Furuichi M., Yone Y., 1982a. Effects of insulin on blood sugar levels in fishes. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 48, 1289-1291.
- Furuichi M., Yone Y., 1982b. Changes in activities of hepatic enzymes related to carbohydrate metabolism of fishes in glucose and insulin-glucose tolerance tests. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 48, 463-466.
- Haman F., Powel M., Weber J.M., 1997. Reliability of continuous tracer infusion for measuring glucose turnover rate in rainbow trout. *J. exp. Biol.*, 200, 2557-2563.
- Hemre G.I., Storebakken T., 2000. Tissue and organ distribution of ^{14}C -activity in dextrin-adapted Atlantic salmon after oral administration of radiolabelled ^{14}C -glucose. *Aquaculture Nutr.*, 6, 229-234.
- Hilton J.W., Atkinson J.L., 1982. Response of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) to increased levels of available carbohydrate in practical trout diets. *Br. J. Nutr.*, 47, 597-607.
- Kaushik S., 1997. Nutrition, alimentation et composition corporelle chez le poisson. *Cah. Nutr. Diet.*, 32, 100-106.
- Kaushik S., 1999. Nutrition glucidique: intérêt et limites des apports de glucides. In : Guillaume J., Kaushik S., Bergot, P., Métailler R. (eds), *Nutrition et alimentation des poissons et crustacés*, 171-186. INRA Editions, Paris.
- Kaushik S., Mambrini M., 1994. Nutrition azotée des poissons: remplacement partiel ou total de la farine de poissons. *Piscic. Fr.*, 118, 12-20.
- Kaushik S., Oliva-Teles A., 1985. Effect of digestible energy on nitrogen and energy balance in rainbow trout. *Aquaculture*, 50, 89-101.
- Knox D., Walton M.J., Cowey C.B., 1980. Distribution of enzymes of glycolysis and gluconeogenesis in fish tissues. *Mar. Biol.*, 56, 7-10.
- Krasnov A., Pitkanen T.I., Reinisalo M., Molsa H., 1999. Expression of human glucose transporter 1 et rat hexokinase type II complementary DNAs in rainbow trout embryos: effects on glucose metabolism. *Mar. Biotechnol.*, 1, 25-32.
- Krasnov A., Teerijoki H., Molsa H., 2001. Rainbow trout hepatic glucose transporter. *Biochim. Biophys. Acta*, 91563, 1-5.
- Legate N.J., Bonen A., Moon T.W., 2001. Glucose tolerance and peripheral glucose utilisation in the rainbow trout, the american eel and the black bullhead catfish. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 122, 48-59.
- Lin X., Otto C.J., Cardenas R., Peter R.E., 2000. Somatostatin family of peptides and its receptors in fish. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 78, 1053-1066.
- Melroe T.M., Ehrman M.A., Kittilson J.D., Sheridan M.A., 2000. Glucose regulates pancreatic preprosomatostatin I expression. *FEBS Lett.*, 465, 115-118.
- Mendez E., Smith A., Figueirido-Garutti M.L., Planas J.V., Navarro I., Gutierrez J., 2001. Receptors for insulin-growth factor-I predominates over insulin receptors in skeletal muscle throughout the life cycle of brook trout, *Salmo trutta*. *Gen Comp. Endocrinol.*, 122, 148-157.
- Meton I., Caseras A., Fernandez F., Baanante I.V., 2000. 6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-bisphosphatase gene expression is regulated by diet composition and ration size in liver of gilthead seabream, *Sparus aurata*. *Biochim. Biophys. Acta*, 1491, 220-228.
- Mevorach M., Giacca A., Aharon Y., Hawkins M., Shamoon H., Rossetti L., 1998. Regulation of endogenous glucose production by glucose per se is impaired in type 2 diabetes mellitus. *J. Clin. Invest.*, 102, 744-753.
- Mommsen T.P., 2000. Glucagon-like peptide-1 in fishes: the liver and beyond. *Amer. Zool.*, 40, 259-268.
- Mommsen T.P., Vijayan N.M., Moon T.W., 1999. Cortisol in fish: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. *Rev. Fish Biol. Fisheries*, 9, 211-268.
- Moon T.W., 2001a. Glucose intolerance in fish: fact or fiction? *Comp. Biochem. Physiol. Part B*, 129, 243-249.
- Moon T.W., 2001b. Glucagon: from hepatic binding to metabolism in fish. *Comp. Biochem. Physiol. Part B*, 121, 27-34.
- Moon T.W., Foster G.D., 1995. Tissue carbohydrate metabolism, gluconeogenesis and hormonal and environmental influences. In: Hochachka K. & Mommsen T.P. (eds), *Biochemistry and Molecular Biology of Fishes*, vol 4, 65-100. Elsevier.
- Moon T.W., Walsh P.J., Mommsen T.P., 1985. Fish hepatocytes: a model metabolic system. *Can. J. Fish Aquat. Sci.*, 42, 1772-1782.
- Moon T.W., Busby E.R., Cooper G.A., Mommsen T.P., 1999. Fish hepatocyte glycogen phosphorylase - a sensitive indicator for hormonal modulation. *Fish Physiol. Biochem.*, 21, 15-24.
- National Research Council (NRC), 1993. *Nutrient Requirements of Fish*. National Academy Press, Washington DC, 114 p.
- Navarro I., Leibush B., Moon T.W., Plisetskaya E.M., Banos N., Mendez E., Planas J.V., Gutierrez J., 1999. Insulin, insulin-like growth factor-I (IGF-I) and glucagon: the evolution of their receptors. *Comp Biochem. Physiol. Part B*, 122, 137-153.
- Palmer T.N., Ryman B.E., 1972. Studies on glucose intolerance in fish. *J. Fish Biol.*, 4, 311-319.
- Panserat S., Blin C., Médale F., Brèque J., Plagnes-Juan E., Krishnamoorthy R., Kaushik S., 2000a. Molecular cloning, tissue distribution and sequence analysis of complete glucokinase cDNA from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), common carp (*Cyprinus carpio*) and gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Biochim Biophys Acta*, 1474, 61-69.
- Panserat S., Médale F., Blin C., Brèque J., Vachot C., Plagnes-Juan E., Krishnamoorthy R., Kaushik S., 2000b. Hepatic glucokinase is induced by dietary carbohydrates in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), common carp (*Cyprinus carpio*) and gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Am. J. Physiol.*, 278, R1164-1170.
- Panserat S., Médale F., Brèque J., Plagnes-Juan E., Kaushik S., 2000c. Lack of significant long-term effect of dietary carbohydrates on glucose-6-phosphatase expression in liver of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J. Nutr. Biochem.*, 11, 22-29.
- Panserat S., Plagnes-Juan E., Brèque J., Kaushik S., 2001a. Hepatic phosphoenolpyruvate carboxykinase gene expression is not repressed by dietary carbohydrates in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J. exp. Biol.*, 204, 359-365.
- Panserat S., Plagnes-Juan E., Kaushik S., 2001b. Nutritional regulation and tissue specificity of gene expression for key proteins involved in hepatic glucose metabolism in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J. exp. Biol.*, 204, 2351-2360.
- Parrizas M., Planas J., Plisetskaya E.M., Gutierrez J., 1994. Insulin binding and receptor tyrosine kinase activity in skeletal muscle of carnivorous and omnivorous fish. *Am. J. Physiol.*, 266, 1944-1950.
- Parrizas M., Plisetskaya E.M., Planas J., Gutierrez J., 1995. Abundant insulin-like growth factor-1 receptor binding in fish skeletal muscle. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 98, 16-25.
- Pereira C., Vijayan M.M., Storey K.B., Jones R.A., Moon T.W., 1995a. Role of glucose and insulin in regulating glycogen synthase and phosphorylase activities in rainbow trout hepatocytes. *J. Comp. Physiol.*, 165, 62-70.
- Pereira C., Vijayan M.M., Moon T.W., 1995b. In vitro hepatocyte metabolism of alanine and glucose and the response to insulin in fed and fasted rainbow trout. *J. Exp. Zool.*, 271, 425-431.

- Pilkis S.J., Granner D.K., 1992. Molecular physiology of the regulation of hepatic gluconeogenesis and glycolysis. *Annu. Rev. Physiol.*, 54, 885-909.
- Planas J.V., Capilla E., Gutierrez J., 2000. Molecular identification of a glucose transporter from fish muscle. *FEBS Lett.*, 481, 266-270.
- Planas J.V., Mendez E., Banos N., Capilla E., Navarro I., Gutierrez J., 2001. Insulin and IGF-I receptors in trout adipose tissue are physiologically regulated by circulating hormone levels. *J. Exp. Biol.*, 203, 1153-1159.
- Plisetskaya E.M., 1995. Peptides of insulin and glucagon superfamilies in fish. *Am. J. Zool.*, 1-2, 181-188.
- Plisetskaya E.M., Fabbri E., Moon T.W., Gutierrez J., Ottolenghi C., 1993. Insulin binding to isolated hepatocytes of Atlantic salmon and rainbow trout. *Fish Physiol. Biochem.*, 11, 401-409.
- Suarez R.K., Mommsen T.P., 1987. Gluconeogenesis in teleost fishes. *Can. J. Zool.*, 65, 1869-1882.
- Tacon A.G.J., 1994. Feed ingredients for carnivorous fish species: Alternatives to fishmeal and other fishery resources. *FAO Fish. Circ.*, 81, 35 p.
- Teerijoki H., Krasnov A., Pitkanen T.I., Molsa H., 2000. Cloning and characterisation of glucose transporter in teleost fish, rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Biochim. Biophys. Acta*, 91477,1-5.
- Teerijoki H., Krasnov A., Gorodilov Y., Krishna S., Molsa H., 2001. Rainbow trout glucose transporter (OnmyGlut1): functional assessment in xenopus laevis oocytes and expression in fish embryos. *J. exp. Biol.*, 204, 2667-2673.
- Tranulis M.A., Christophersen B., Blom B., Borrebaek B., 1991. Glucose deshydrogenase, glucose-6-phosphate deshydrogenase and hexokinase in liver of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Effects of starvation and temperature variations. *Comp. Biochem. Physiol.*, 99B, 687-691.
- Tranulis M.A., Dregni O., Christophersen B., Krogdahl A., Borrebaek B., 1996. A glucokinase-like enzyme in the liver of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Comp Biochem. Physiol.*, 114B, 35-39.
- Weber J.M., Zwingelstein G., 1995. Circulatory substrate fluxes and their regulation. In: PW Hochachka and TP Mommsen (eds), *Metabolic Biochemistry*, vol 4, 15-32. Elsevier Science, Amsterdam.
- Wilson R., 1994. Utilization of dietary carbohydrate by fish. *Aquaculture*, 124, 67-80.

Abstract

Nutritional regulation of hepatic glucose metabolism in fish: example of a poor user of dietary carbohydrates, the rainbow trout.

Dietary carbohydrates are potential sources of digestible energy. However, fish such as rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) use dietary carbohydrates rather poorly: there is prolonged postprandial hyperglycemia after feeding carbohydrates as well as decrease in growth when dietary carbohydrate levels are above 25-30%. Of late, there is a regain of interest to understand the nutritional control of glucose homeostasis and utilisation in fish. Recent results show that in rainbow trout, while hepatic glucose phosphorylation is rather closely controlled by dietary carbohydra-

te supply, that of hepatic glucose production is not. Besides, efficiency of glucose utilisation as an energy source by muscle appears limited in fish. Further, the hormonal control of glucose homeostasis shows some specificities (somatostatines, glucagon-like peptide) which made fish distinct from mammals.

PANSERAT S., KAUSHIK S., 2002. Régulation nutritionnelle du métabolisme glucidique chez les poissons : exemple de la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*), faible utilisatrice des glucides alimentaires. *INRA Prod. Anim.*, 15, 109-117.

