Mesure de l'insulino-résistance au cours du développement de l'obésité avec un traceur radioactif du transport du glucose : le [125I]-6-déoxy-6-iodo-D-glucose

Elsa Cleyssac

▶ **To cite this version:**

Elsa Cleyssac. Mesure de l'insulino-résistance au cours du développement de l'obésité avec un traceur radioactif du transport du glucose : le [125I]-6-déoxy-6-iodo-D-glucose. Biochimie, Biologie Moléculaire. 2011. hal-01478661

HAL Id: hal-01478661
https://ephe.hal.science/hal-01478661

Submitted on 28 Feb 2017

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE

ÉCOLE PRATIQUE DES HAUTES ÉTUDES
Sciences de la Vie et de la Terre

MÉMOIRE

présenté par

Elsa Cleyssac

Pour l'obtention du diplôme de l'École Pratique des Hautes Études

Mesure de l'insulino-résistance au cours du développement de l'obésité avec un traceur radioactif du transport du glucose : le [^{125}I]-6-déoxy-6-iodo-D-glucose

Soutenu le 1er juillet 2011 devant le jury suivant :

Bernard Lacour – Président du jury
Stéphane Tanguy – Rapporteur
François Boucher – Examinateur
Catherine Ghezzi – Tutrice scientifique
Xavier Ronot – Tuteur pédagogique

Mémoire préparé sous la direction de :

Laboratoire d'accueil INSERM U1039 :
"Radiopharmaceutique bioclinique"
Faculté de médecine de Grenoble
38700 LA TRONCHE

Directeur :
Dr Catherine Ghezzi
catherine.ghezzi@ujf-grenoble.fr

EPHE (Sciences de la Vie et de la Terre) :
Laboratoire CaCyS
AGIM - FRE 3405
Pavillon Taillefer
38706 LA TRONCHE

Directeur :
Dr Xavier Ronot
xavier.ronot@ujf-grenoble.fr

ÉCOLE PRATIQUE DES HAUTES ÉTUDES
SCIENCES DE LA VIE ET DE LA TERRE

Mesure de l'insulino-résistance au cours du développement de l'obésité avec un traceur radioactif du transport du glucose : le [^{125}I]-6-déoxy-6-iodo-D-glucose.

Cleyssac Elsa
2011

L'obésité est en perpétuelle augmentation dans le monde. L'Organisation Mondiale de la Santé projette qu'en 2015, environ 2,3 milliards d'adultes seront en surpoids, et environ 700 millions seront obèses. L'obésité est un facteur de risque des maladies cardiovasculaires et favorise le développement du diabète de type 2. L'une des caractéristiques de ce désordre métabolique est la résistance à l'insuline, incapacité des tissus insulino sensibles à répondre à des concentrations physiologiques d'insuline.

La première partie du travail a consisté à développer un protocole expérimental induisant l'obésité chez des rats Sprague-Dawley grâce à un régime riche en lipides ("Lard") et à un régime riche en lipides et en glucides ("Cafétéria"). Après trois mois de régime, les animaux des groupes "Cafétéria" et "Lard" ont un poids et une masse de tissu adipeux blanc supérieurs à ceux du groupe "Contrôle". Dans ces groupes "régimes" la concentration en leptine est augmentée de façon significative et une tendance à l'augmentation de l'insulinémie est observée.

Dans la seconde partie du travail, la résistance à l'insuline des animaux a été mesurée au cours du développement de l'obésité grace à une nouvelle technique d'imagerie nucléaire utilisant un traceur radioactif du transport du glucose, le [^{125}I]-6-déoxy-6-iodo-D-glucose (6DIG). Cette molécule développée au sein de l'Unité INSERM 1039, est un analogue du glucose, radiomarqué en position 6 par un atome d'iode et qui permet d'étudier le transport du glucose *in vivo*. Dans notre étude, aucune insulino-résistance n'a été mise en évidence au cours du développement de l'obésité.

La troisième partie du travail a consisté en l'optimisation de la méthode de traitement des résultats obtenus dans le muscle avec le 6DIG. Dans notre étude, la mesure de l'insulino-résistance musculaire a été réalisée par une technique graphique d'analyse des courbes d'évolution de la radioactivité. Cette technique s'est avérée trop peu sensible pour la mise en évidence de variations fines d'insulino-résistance. Or, une modélisation mathématique simple du transport du glucose dans le muscle permet d'augmenter la sensibilité de la mesure mais elle nécessite un protocole expérimental de 90 minutes. Nous avons développé une nouvelle approche pour le traitement des données qui permet, avec un protocole expérimental de 20 minutes, l'utilisation de la modélisation mathématique, donc une mesure de variations fines d'insulino-résistance.

Mots clés :
Obésité, insulino-résistance, adipokines, régime, imagerie nucléaire, radiopharmaceutique, 6-DIG.

Table des matières

Liste des abréviations 1

Introduction 4

Revue Bibliographique 6

I. Obésité 6

1. Prévalence de l'obésité 6

2. Physiopathologie 7

II. Le tissu adipeux 8

1. Généralités 8

2. Adipogenèse 9

3. Tissu endocrine 10

III. Insuline 14

1. Structure de l'insuline 14

2. Biosynthèse 14

3. Sécrétion 15

4. Récepteur à l'insuline 16

5. Signalisation 16

IV. Diabète de type 2 17

1. Prévalence 17

2. Physiopathologie du diabète de type 2 18

3. Insulino-résistance 19

4. Méthodes d'évaluation de l'insulino-sensibilité *in vivo* 20

V. Modèles expérimentaux pour l'étude de l'obésité 21

1. Généralités 21

2. Les différents types de régime induisant l'obésité 22

3. Résistance à l'obésité 24

VI. La mesure du transport du glucose *in vivo* avec le 6DIG 24

Liste des abréviations

α-MSH = α-Melanocyte-Stimulating Hormone

3OMG = [^{11}C]-3-O-méthyl-D-glucose

6DIG = [^{125}I]6-déoxy-6-iodo-D-glucose

ACC = Acétyl-CoA Carboxylase

AgRP = Agouti-Related Protein

AMPK = AMP-activated protein kinase

ARNm = Acide RiboNucléique messager

ATP = Adénosine TriPhosphate

BHE = Barrière Hémato-Encéphalique

CAP = c-Cbl Associated Protein

C1q = Complément 1q

DAG = Diacylglycérol

FDG = [^{18}F]-2-fluoro-2-déoxy-D-glucose

GH = Growth Hormone

GIR = Glucose Infusion Rate

GLP-1 = glucagon like peptide-1

GLUT4 = Glucose Transporter 4

HOMA = HOmeostasis Model Assessment

IL-6 = Interleukine 6

IMC = Indice de Masse Corporelle

IR = Insulino-Résistance

IRS = Insulin Receptor Substrate

ITT = Insulin Tolerance Test

Jak2 = Jak kinase 2

LR = Leptin Receptor

MAPK = Mitogen-Activated Protein Kinase

MC4R et MC3R = MelanoCortin-4/3 Receptor

MINMOD = Minimal Model

NPY = NeuroPeptide Y

OCDE = Organisation de Coopération et de Développement Économiques

OGTT = Oral Glucose Tolerance Test

OMS = Organisation Mondiale de la Santé

PI3K = Phosphatidyl-Inositol 3 Kinase

PKB = Protéine Kinase B

POMC = Pro-OpioMelanoCortin

PPARγ = Peroxysome Proliferator-Activated Receptor gamma

QUICKI = Quantitative Insulin Sensitivity Check Index

RI = Récepteur à l'Insuline

SH2 = Src Homology 2

SNAREs = soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor Attachment protein REceptor

SNC = Système Nerveux Central

SOCS3 = Suppressor Of Cytokine Signaling 3

SPECT = Single Photon Emission Computed Tomography

SRMN = Spectroscopie de Résonance Magnétique Nucléaire

STAT3 = Signal Transducer and Activator of Transcription

TA = Tissu Adipeux

TEMP = Tomographie par Emission Mono-Photonique

TEP = Tomographie par Émission de Positons

TNF-α = Tumor Necrosis Factor alpha

Introduction

L'Organisation Mondiale pour la Santé (OMS) définit "*le surpoids et l'obésité comme une accumulation anormale ou excessive de graisse corporelle qui peut nuire à la santé*". En 2008, cette organisation estimait qu'environ 1,5 milliards d'adultes (âgés de plus de 20 ans) étaient en surpoids et au moins 200 millions d'hommes et près de 300 millions de femmes étaient obèses dans le monde. Elle estime qu'en 2015 environ 2,3 milliards d'adultes seront en surpoids, et environ 700 millions seront obèses à travers le monde (www.who.int/fr). En ce qui concerne les données françaises, en 2009, l'obésité concernait 14,5% de la population française, soit environ 9,3 millions de personnes (Etude ObÉpi-Roche, 2009). La prévalence du surpoids était quant à elle de 31,9%, soit environ 20,5 millions de personnes. Le développement de l'obésité est le résultat de notre mode de vie sédentaire et de notre mauvaise alimentation. L'obésité augmente le risque de maladies chroniques, telles que le diabète de type 2, les maladies cardiovasculaires, les accidents vasculaires cérébraux et certains cancers : sa prise en charge présente donc un intérêt majeur. Le diabète de type 2 est associé à un surpoids dans 90 % des cas (Haslam, 2005) et à une obésité dans 46 % des cas chez l'adulte (Isganaitis and Lustig, 2005). Cette pathologie est caractérisée d'une part par une résistance à l'insuline, incapacité des tissus insulino-sensibles à répondre à des concentrations physiologiques d'insuline, et d'autre part par un déficit de sécrétion d'insuline par le pancréas. Il est maintenant clairement admis que la résistance à l'insuline précède de 7 à 8 ans les premiers signes cliniques du diabète.

Dans la littérature, les liens de causalité entre l'obésité et l'insulino-résistance sont très controversés. En effet, la théorie la plus récente émet l'hypothèse que l'insulino-résistance pourrait résulter d'un taux pathologique de facteurs circulants produits par différents types cellulaires, comme les cytokines produites par le tissu adipeux au cours de l'obésité (Lacaustra, 2007; Guilherme, 2008), alors qu'une autre théorie indique qu'elle serait au contraire à l'origine du développement de l'obésité (Mlinar, 2007).

La médecine nucléaire repose sur une technique d'imagerie utilisant des molécules marquées par un isotope radioactif qui, après injection chez le patient, permettent d'obtenir des informations d'ordre fonctionnel ou métabolique de manière non invasive, par simple détection externe de la radioactivité à l'aide de caméras spécifiques. Le [^{125}I]-6-Déoxy-6-Iodo-D-Glucose (6-DIG), molécule développée au sein de l'Unité INSERM 1039, est un analogue du glucose, radiomarqué en position 6 par un atome d'iode et qui permet d'étudier le transport

du glucose *in vivo*. Le 6-DIG est capable de mettre en évidence un défaut de ce transport en réponse à l'insuline chez des animaux insulino-résistants (Perret, 2003, 2007; Briat 2007 et Vollaire, 2010). Une méthode de mesure de l'insulino-résistance simple, rapide et non-invasive a été développée au laboratoire (Patent 08/04/124) et les études cliniques de phase I et II sont actuellement en cours.

L'objectif de notre travail a été de mesurer l'insulino-résistance au cours du développement de l'obésité en utilisant cette nouvelle technique de mesure. Dans la première partie de l'étude, nous avons développé un modèle animal permettant la mise en place progressive de l'obésité par l'utilisation de différents régimes alimentaires (riches en lipides et/ou en glucides). La seconde partie du travail a été consacrée à la mesure de la résistance à l'insuline au cours du développement de l'obésité sur les différents modèles expérimentaux mis au point dans la première partie de l'étude. La dernière partie a consisté en l'optimisation de la méthode de traitement des données obtenues avec le 6DIG, en vue d'une simplification du protocole expérimental, l'objectif final étant de pouvoir mesurer des variations fines de résistance à l'insuline dans le cadre d'études longitudinales chez l'animal.

Revue Bibliographique

I. Obésité

L'obésité et le surpoids se définissent comme une accumulation anormale ou excessive de tissu adipeux ayant des conséquences néfastes sur la santé. En 1995, l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) valide l'utilisation de l'Indice de Masse Corporelle (IMC = poids en kg / taille en m^2) pour la mesure de l'obésité. Celle-ci est diagnostiquée pour un IMC supérieur ou égal à 30 kg/m^2.

L'excès de tissu adipeux se définit tout d'abord par une augmentation de la taille des adipocytes (hypertrophie) et ensuite par une augmentation de leur nombre (hyperplasie). La répartition du tissu adipeux est également un facteur de risque associé à l'obésité, d'où l'importance de la mesure du tour de taille pour identifier une obésité androïde (répartition abdominale du tissu adipeux) (Rapport de l'OMS, 2003). Elle est diagnostiquée pour un tour de taille supérieur à 102 cm chez l'homme et supérieur à 88 cm chez la femme.

1. Prévalence de l'obésité

a. Dans le monde

En 2008, environ 1,5 milliard de personnes, âgées de 20 ans et plus, étaient en surpoids dans le monde, dont environ 200 millions d'hommes et 300 millions de femmes étaient obèses. Les hommes sont légèrement plus touchés par l'obésité que les femmes. Le pays le plus touché est les Etats-Unis.

Dans près de la moitié des pays de l'OCDE (Organisation de Coopération et de Développement Économiques), 50% ou plus de la population est en surpoids. Environ une personne sur 10 est obèse en France, et près de 40% de la population est en surpoids (y compris obèse). Les projections de l'OCDE montrent que les taux de surpoids augmenteront encore d'environ 10% dans les dix prochaines années.

L'OMS classe l'obésité au rang d'épidémie depuis 1998. Elle estime qu'il y aura environ 2,3 milliards d'adultes en surpoids et 700 millions d'obèses en 2015. Actuellement, il y a environ 155 millions d'enfants en surpoids ou obèses dans le monde (rapport OMS, 2006).

b. En France

Les données de l'enquête ObÉpi 2009 confirment une augmentation de la prévalence de l'obésité dans la population adulte française (Etude ObÉpi-Roche, 2009). Toutes les régions françaises sont touchées par cette augmentation de l'obésité. La région parisienne est la région où l'augmentation de l'obésité a été la plus importante. En 2009, l'obésité concernait 14,5% de la population, soit environ 9,3 millions de personnes. La prévalence du surpoids était quant à elle de 31,9%, soit environ 20,5 millions de personnes.

2. Physiopathologie

L'homéostasie énergétique est essentielle à la vie. Elle correspond à l'équilibre des entrées (apports) et des sorties (dépenses). Les apports se font lors du repas avec l'ingestion des aliments, qui contiennent des glucides, des lipides et des protéines. Ces aliments ingérés sont ensuite digérés, on obtient ainsi différents nutriments (principalement les oses, les acides gras et les acides aminés), qui rejoindront la circulation sanguine via les cellules intestinales et qui seront utilisés pour les besoins énergétiques des cellules (dépenses). Suite à l'ingestion des aliments, la glycémie va donc augmenter (hyperglycémie), entraînant ainsi la sécrétion d'insuline par les cellules β du pancréas. L'insuline sécrétée va se fixer sur son récepteur au niveau de cellules insulino-sensibles (tissu adipeux, muscle squelettique et coeur), où elle va permettre la transmission d'un signal et la transduction d'un pool de transporteurs du glucose, les GLUT4 (Glucose Transporter 4), vers la membrane plasmique. L'augmentation du nombre de transporteurs du glucose en réponse à l'insuline va permettre une augmentation de l'entrée de glucose dans la cellule. Il y sera phosphorylé par l'hexokinase et donnera le glucose-6-phosphate, qui pourra ensuite être stocké sous forme de glycogène ou être utilisé par la voie glycolytique et fournir de l'énergie sous forme d'ATP pour les besoins de la cellule. Ainsi, la glycémie est maintenue stable. L'insuline favorise le glucose comme substrat énergétique, les lipides seront donc principalement stockés dans le tissu adipeux sous forme de triglycérides.

L'obésité résulte d'un déséquilibre dans la balance énergétique, qui survient lorsque les calories ingérées sont supérieures à celles dépensées par l'organisme. La phase dynamique de l'obésité (ou phase de gain de poids) est une phase pendant laquelle les apports énergétiques sont supérieurs aux dépenses énergétiques. Le déséquilibre de la balance énergétique peut être dû à une diminution pathologique des dépenses ou à un apport calorique exagéré, dû à l'hyperphagie et à un mode de vie sédentaire ou à une altération d'origine

génétique du contrôle de la prise alimentaire (Binnert and Tappy, 2001). L'obésité génétique est plutôt rare, on retrouve principalement des cas d'obésité comportementale. L'épidémie d'obésité est une conséquence de l'évolution de notre mode de vie : surnutrition (augmentation anormale de la prise alimentaire), malnutrition (mauvaise alimentation) et sédentarité. Une surnutrition va entraîner un excès de calories, donc une augmentation du stockage des acides gras sous forme de triglycérides. On retrouve ensuite la phase de maintien de l'obésité, qui est une phase où le poids reste constant, bien qu'excessif. Les apports énergétiques sont élevés, mais en équilibre avec les dépenses énergétiques. Ces dernières sont plus élevées principalement en raison de l'augmentation de la masse maigre (Binnert and Tappy, 2001). La masse maigre correspond à la masse totale de la peau, des os, des muscles, des organes et des liquides du corps humains.

Les lipides ont une densité énergétique (9 kcal/g) plus élevée que celle des glucides et des protéines (4 kcal/g). Un repas riche en lipides aura une densité énergétique supérieure à un repas riche en glucides, les apports seront plus élevés et le stockage de lipides sera donc augmenté. L'augmentation du stockage des lipides va entraîner l'expansion du tissu adipeux (hyperplasie et hypertrophie), mais aussi l'augmentation de l'infiltration des macrophages dans ce dernier, la production renforcée de cytokines pro inflammatoires et la dysrégulation des adipokines. Le développement de l'obésité va entraîner la mise en place de l'inflammation et de différentes perturbations métaboliques, telles qu'une hypertriglycéridémie, une augmentation des acides gras libres (perturbations du métabolisme des acides gras) ou une hyperglycémie, une hyperinsulinémie et une diminution de la sensibilité à l'insuline (perturbation du métabolisme glucidique).

D'après Hippocrate (~460-370 av. J.-C.), la corpulence n'est pas seulement une maladie, mais aussi le présage d'autres maladies. En effet, 90% des individus qui développent un diabète de type 2 ont un IMC supérieur à 23 kg/m². Mais l'obésité est aussi l'une des principales causes de maladies cardiovasculaires et de certains cancers.

II. Le tissu adipeux

1. Généralités

Le tissu adipeux (TA) joue un rôle important dans le contrôle de l'homéostasie du glucose (contrôle de l'appétit et de la sensibilité à l'insuline) et des lipides, mais aussi dans l'inflammation et l'athérogenèse. Le tissu adipeux est principalement composé d'adipocytes,

de cellules immunitaires (macrophages, lymphocytes), de préadipocytes et de cellules endothéliales (Schenk *et al.*, 2008). Il existe deux types de tissu adipeux, le TA blanc et le TA brun.

Le tissu adipeux blanc est le principal site de stockage des lipides et de régulation de l'homéostasie énergétique (via sa fonction endocrine). Ce tissu est constitué de cellules différenciées, les adipocytes blancs, composés d'une large gouttelette lipidique, qui occupe la quasi-totalité du volume de ces cellules. Le stockage des lipides est effectué sous la forme de triglycérides, qui constituent la gouttelette lipidique. Ces triglycérides peuvent être rapidement hydrolysés en cas de besoin énergétique. Le tissu adipeux est irrigué par les vaisseaux sanguins et innervé par les nerfs, permettant ainsi la circulation de ses hormones endocrines et une bonne régulation métabolique.

Le tissu adipeux brun est spécialisé dans la thermogenèse (adaptation au froid). Il est peu développé chez l'homme adulte, mais joue un rôle essentiel chez le nouveau-né et chez les rongeurs. Les adipocytes bruns sont caractérisés par de petites gouttelettes de triglycérides, qui sont accessibles pour une dégradation rapide des acides gras. L'énergie produite par cette dégradation est libérée sous forme de chaleur.

2. Adipogenèse

La croissance du tissu adipeux blanc se réalise en deux étapes. Tout d'abord l'hyperplasie, qui correspond à une augmentation du nombre de cellules (Spalding *et al.*, 2008). Et ensuite l'hypertrophie, qui correspond à une augmentation de la taille des cellules, due à la quantité de lipides stockés dans la vacuole lipidique. L'adipogenèse est le développement des pré-adipocytes en adipocytes. Un récepteur nucléaire, PPARγ (Peroxysome Proliferator-Activated Receptor gamma), joue un rôle clé dans la différenciation adipocytaire. Les acides gras naturels favorisent l'adipogenèse (Ailhaud, 2007). L'expansion du tissu adipeux mène à une hypertrophie adipocytaire et à la sécrétion de chemokines, qui vont recruter des macrophages de type M1 (pro-inflammatoires). Ces macrophages vont augmenter la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires telles que le TNF-α (Tumor Necrosis Factor alpha) et l'IL-6 (Interleukine 6). Ces cytokines vont altérer l'expression de certains gènes et diminuer la sensibilité à l'insuline des adipocytes. Toutes ces modifications vont affecter la sécrétion d'adipokines et augmenter la lipolyse (Galic *et al.*, 2010).

3. Tissu endocrine

La découverte de la production de leptine par les adipocytes a permis de mettre en évidence la fonction endocrine du tissu adipeux. Le tissu adipeux peut ainsi sécréter différents peptides, tels que des hormones ou des cytokines (appelées adipokines), aussi bien que des molécules non peptidiques biologiquement actives, telles que des lipides activés. Ces molécules ont pour la plupart des propriétés régulatrices du métabolisme énergétique, de la prise alimentaire, de la sensibilité à l'insuline, de la réponse au stress, de la reproduction, de la croissance osseuse ou encore de l'inflammation.

L'altération du tissu adipeux, observée dans l'obésité, change la dynamique entre la sécrétion et l'utilisation des acides gras. Lors d'un repas riche en calories, on observe une augmentation du stockage des lipides sous forme de triglycérides et ainsi une augmentation de la taille du tissu adipeux. En augmentant l'adiposité, la capacité de l'adipocyte à agir comme une cellule endocrine sera affectée et la sécrétion de plusieurs protéines biologiquement actives sera alors modifiée.

a. La leptine (Myers *et al.*, 2008)

La leptine est une molécule de 16 kDa, majoritairement sécrétée par le tissu adipeux. Elle agit via ses récepteurs (ObR ou LR (Leptin Receptor)) sur le cerveau pour réguler la balance énergétique (apports et dépenses), en inhibant la voie orexigénique et en stimulant la voie anorexigénique de l'hypothalamus. Un taux élevé de leptine dans le sang indique au Système Nerveux Central (SNC) que l'apport de nutriment est suffisant. En réponse, il y aura suppression de la prise de nourriture et augmentation des dépenses énergétiques.

- Récepteurs de la leptine

Les récepteurs de la leptine appartiennent à la famille des récepteurs de l'IL-6, une cytokine de classe I. Ces récepteurs ont un domaine de liaison au ligand extracellulaire, un domaine transmembranaire simple et un domaine de signalisation cytoplasmique.

Il existe plusieurs isoformes issues d'un seul gène, *Lepr*. Ces isoformes sont obtenues à partir de 17 exons communs et de l'épissage alternatif de l'exon 3' et ils se divisent en trois classes : récepteur sécrété, court et long. La forme longue du récepteur de la leptine (LRb) possède un domaine intracellulaire d'environ 300 résidus et il est crucial pour l'action de la

leptine. Ce récepteur est présent en grande quantité dans le cerveau, notamment au niveau de l'hypothalamus (30 à 40% des récepteurs totaux) et en faible quantité dans les tissus périphériques (5 à 8%). En revanche, la forme courte du récepteur (LRs) est présente en faible quantité dans l'hypothalamus (Galic *et al.*, 2010). L'hypothalamus est un site de forte expression de l'ARNm de récepteurs de la leptine. La leptine peut ainsi agir sur des neurones qui permettront la régulation du taux de certaines hormones circulantes, telles que les hormones thyroïdiennes, les stéroïdes sexuelles et l'hormone de croissance.

- Signalisation de la leptine

Le récepteur de la leptine va s'associer de manière non covalente à une tyrosine kinase de la famille des Jak kinases (Jak2). La leptine peut ainsi se lier à son récepteur, entraîner sa dimérisation, activer Jak2 par transphosphorylation et ainsi entraîner la phosphorylation d'autres résidus tyrosine sur la partie intracellulaire du récepteur de la leptine.

Trois résidus tyrosine sont conservés dans le domaine intracellulaire du récepteur à la leptine : 985, 1077 et 1138. Ces trois sites sont phosphorylés et ils contribuent au signal de la leptine. La phosphorylation de la tyrosine 1138 va permettre de réguler la satiété et les dépenses énergétiques via STAT3 (Signal Transducer and Activator of Transcription), mais aussi d'inhiber le signal de la leptine via SOCS3 (Suppressor Of Cytokine Signaling 3). Le rôle de la phosphorylation de la tyrosine 985 est peu connu, on sait seulement qu'elle peut elle aussi inactiver le signal via SOCS3. Le rôle de la phosphorylation de la tyrosine 1077 sur la satiété et les dépenses énergétiques n'est pas connu, en revanche, on sait qu'elle régule la reproduction, la croissance et l'hématopoïèse (Myers *et al.*, 2008).

La résistance à la leptine apparaît dans la forme commune d'obésité, elle correspond à un taux élevé de leptine (proportionnel à la taille du tissu adipeux) qui ne supprime plus la prise alimentaire, et n'entraîne plus la perte de poids. Elle peut être induite par la phosphorylation du récepteur à la leptine sur la tyrosine 985 ou sur SOCS3 par la leptine (Myers *et al.*, 2008).

- Action de la leptine sur le SNC

La leptine va agir principalement sur deux populations de neurones du noyau arqué de l'hypothalamus :

- elle va inhiber des neurones qui synthétisent le NPY (NeuroPeptide Y) et l'AgRP (Agouti-Related Protein) : ces neuropeptides sont responsables de la stimulation de la prise alimentaire.
- elle va stimuler des neurones qui synthétisent le POMC (Pro-OpioMelanoCortin). Ces neurones, synthétisant le POMC, vont produire l'α-MSH (α-Melanocyte-Stimulating Hormone), qui va activer le MC4R et le MC3R (MelanoCortin-4/3 Receptor), et ainsi diminuer la prise alimentaire.

b. L'adiponectine

L'adiponectine a été découverte et nommée par 4 équipes de recherche différentes. Les premiers à la découvrir en 1995 sont les docteurs Scherer et Lodish (Scherer *et al.*, 1995). Cette protéine est appelée l'"adipokine bénéfique". L'adiponectine est présente à de très fortes concentrations dans la circulation sanguine, elle compte pour environ 0,01% des protéines plasmatiques totales. Sa concentration est 100 fois supérieure à celle des autres adipokines (Dyck, 2009).

- Structure

L'adiponectine humaine est une protéine de 244 acides aminés et d'environ 28 kDa (Whitehead *et al.*, 2006). Cette protéine a une homologie structurale avec le facteur du complément 1q (C1q) et le collagène VIII et X. Elle est composée d'un peptide signal du côté N-ter, d'une région variable courte et non hélicoïdale qui ne montre pas d'homologie avec d'autres protéines, d'un "domaine collagène" constitué de répétitions G-X-Y ou G-X-X impliquées dans la formation d'une triple hélice, et d'une tête globulaire en C-ter.

L'adiponectine existe sous différentes formes essentiellement composées d'homotrimères, qui peuvent être reliés par des ponts disulfures et ainsi former des multimères complexes. Les isoformes à haut poids moléculaire seraient responsables des effets insulino-sensibles de l'adiponectine au niveau périphérique, alors que les hexamères et les trimères seraient responsables de ses effets au niveau central (Rasouli and Kern, 2008). On retrouve majoritairement l'adiponectine sous sa forme entière dans le compartiment sanguin, mais elle peut aussi se trouver simplement sous forme globulaire. Le fragment globulaire est généré par clivage protéolytique par la "leukocyte elastase", qui est sécrétée par les monocytes activés et/ou les neutrophiles.

- Expression et sécrétion

L'expression de l'adiponectine se fait principalement au niveau du tissu adipeux (blanc ou brun). Sa concentration dépend du sexe, de l'âge et elle varie aussi chez la femme enceinte. Le taux d'adiponectine plasmatique est diminué chez le patient obèse et/ou diabétique (Kadowaki *et al.*, 2003), mais aussi dans d'autres maladies associées à l'insulino-résistance (état pathologique dans lequel les cellules cibles ne répondent plus à des taux physiologiques d'insuline), telles que les maladies cardiovasculaires, l'hypertension et le syndrome métabolique.

- Les récepteurs de l'adiponectine

On retrouve deux isoformes des récepteurs de l'adiponectine :

- AdipoR1, qui est principalement exprimé dans le muscle squelettique. C'est une protéine de 375 acides aminés et d'environ 42,4 kDa avec une forte affinité pour l'adiponectine globulaire et une faible affinité pour l'adiponectine entière.
- AdipoR2, qui est principalement exprimé dans les hépatocytes. C'est une protéine de 311 acides aminés et d'environ 35,4 kDa avec la même affinité pour les deux formes de l'adiponectine.

Ces 2 protéines ont 7 domaines transmembranaires (Whitehead *et al.*, 2006).

Les taux d'expression de l'ARNm d'AdipoR1 et 2 augmentent après le jeûne et retrouvent rapidement leur valeur de base pendant la réalimentation. L'insuline régule négativement l'expression de ces deux récepteurs, leur concentration est donc diminuée chez les personnes obèses dont le taux d'insuline circulante est anormalement élevé.

Les T-cadhérines ont aussi été identifiées comme récepteurs de l'adiponectine, mais elles n'ont qu'un faible rôle dans sa signalisation.

- Mécanismes d'action

Le muscle squelettique et le foie sont les principales cibles de l'adiponectine. La liaison de l'adiponectine sur son récepteur va permettre le recrutement de la protéine APPL1, qui pourra ensuite phosphoryler plusieurs protéines telles que l'AMPK (AMP-activated protein kinase). La phosphorylation de l'AMPK peut influer sur plusieurs voies de signalisation telles que :

- la cascade de signalisation de l'insuline en activant les protéines IRS (Insulin Receptor Substrate), permettant l'augmentation de la captation du glucose ;
- la phosphorylation et l'inactivation de l'enzyme ACC (Acétyl-CoA Carboxylase), favorisant ainsi l'oxydation des acides gras.

En plus de ces effets périphériques, l'adiponectine agit sur le SNC en stimulant la prise alimentaire et en diminuant les dépenses énergétiques pendant le jeûne, ainsi qu'en diminuant la prise alimentaire et en stimulant les dépenses énergétiques pendant la réalimentation (Rabe *et al.*, 2008). L'adiponectine ne passe pas la barrière hémato-encéphalique (BHE), son action se ferait dans les zones du cerveau dépourvues de BHE (noyau arqué et area postrema), et qui transmettraient ensuite le signal au reste du cerveau (Henry and Clarke, 2008).

III. Insuline

Chez les mammifères, l'insuline est une hormone anabolique qui favorise la mise en réserve du glucose, des acides gras et des acides aminés en agissant sur différents tissus cibles, principalement le foie, le tissu adipeux et le muscle squelettique, mais aussi le muscle cardiaque. L'insuline est la seule hormone hypoglycémiante de l'organisme. Son rôle principal est de contrôler l'homéostasie énergétique.

1. Structure de l'insuline

L'insuline est un polypeptide d'environ 6 kDa, c'est un hétérodimère constitué de deux chaînes polypeptidiques (une chaîne A de 21 acides aminés et une chaîne B de 30 acides aminés) reliées entre elles par deux ponts disulfures. La forme monomérique est la forme active de l'hormone, elle présente une structure globulaire dont le centre est constitué d'un noyau hydrophobe (Magnan and Ktorza, 2005).

2. Biosynthèse

Il n'existe qu'un seul exemplaire du gène codant pour l'insuline dans toutes les espèces de mammifères. L'expression de ce gène se fait uniquement dans la cellule β du pancréas endocrine. Le gène de l'insuline humaine est situé sur le bras court du chromosome 11. Il contrôle la synthèse d'un précurseur de haut poids moléculaire, la pré-pro-insuline. Le

glucose est l'agent stimulant le plus puissant de la biosynthèse de l'insuline. Mais l'expression du gène de l'insuline peut aussi être régulée par différentes hormones, telles que l'hormone de croissance (GH), la prolactine ou le glucagon like peptide-1 (GLP-1).

Grâce à son peptide signal situé en N-terminal, la pré-pro-insuline peut entrer dans le réticulum endoplasmique où des enzymes protéolytiques vont cliver la séquence signal de 24 acides aminés et donner la pro-insuline. La pro-insuline est un peptide de 9 kDa formé par les chaînes A et B de l'insuline connectées entre elles par le peptide C, qui facilite le repliement de la molécule. La pro-insuline est ensuite transportée dans des microvésicules intermédiaires vers le cis-golgi. C'est dans cet organite que la pro-insuline sera convertie en insuline. La maturation est catalysée par deux endopeptidases (les prohormones convertases 2 et 3) et la carboxypeptidase H. Dans les vésicules de sécrétion, l'insuline va co-précipiter avec des ions zinc pour former des microcristaux.

3. Sécrétion

Plus de 95 % de l'hormone est sécrétée sous forme d'insuline (sécrétion "réglée") et 5 % sous forme de pro-insuline (sécrétion "constitutive"). La majorité des vésicules de sécrétion sont localisées dans le cytoplasme, où elles sont associées à des microfilaments et des microtubules du cytosquelette. Seulement environ 1 % des vésicules sont accolées à la membrane où elles peuvent directement fusionner grâce à un mécanisme dépendant du calcium. Ces vésicules constituent un "pool immédiatement mobilisable" et il est maintenant admis qu'elles sont responsables de la première phase de sécrétion d'insuline (Duman and Forte, 2003). Les SNAREs (soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor Attachment protein REceptor) sont des molécules clés du mécanisme de fusion membranaire. La fusion fait intervenir différentes SNAREs présentes à la fois sur les vésicules (v-SNARE = synaptobrévine et synaptotagmines 1 et 2) et sur la membrane plasmique (t-SNARE = syntaxine). La seconde phase de sécrétion d'insuline correspond à leur conditionnement dans les vésicules de sécrétion et à leur accolement sur la membrane plasmique.

Une élévation brusque de la glycémie provoque une réponse insulinique rapide aussi bien *in vivo* qu'*in vitro* (Portha, 2000). Le premier pic de sécrétion ("pic précoce") est suivi par une augmentation progressive de la libération d'insuline d'un niveau plus faible, qui tend lentement vers une valeur d'équilibre ("pic tardif"), jusqu'à l'arrêt de la stimulation. Le rôle du pic précoce de sécrétion serait de sensibiliser les tissus cibles aux effets de l'hormone,

d’empêcher une hyperinsulinémie trop prononcée et une hypoglycémie réactionnelle. La disparition de la première phase de sécrétion est une caractéristique majeure de l’altération de la fonction pancréatique chez le diabétique de type 2 et elle en est le signe le plus précoce (Cerasi *et al.*, 1972). La seconde phase permet une activation prolongée des tissus sensibles à l’insuline.

4. Récepteur à l’insuline

Le récepteur à l’insuline (RI) est présent dans tous les tissus, mais sa concentration varie de l’un à l’autre, d’environ 40 dans les érythrocytes, à plus de 200 000 dans les adipocytes et les hépatocytes (White and Kahn, 1994). Ce récepteur appartient à la famille des récepteurs aux facteurs de croissance qui possèdent une activité tyrosine kinase dans leur domaine intracellulaire. Il possède 4 sous-unités : 2 chaînes α extracellulaires, reliées par des ponts disulfures à 2 chaînes β transmembranaires.

En l’absence d’insuline, les sous-unités α exercent une contrainte inhibitrice sur les sous-unités β et maintiennent ainsi le récepteur en configuration inactive. En présence d’insuline, la liaison avec l’hormone va permettre le rapprochement des 2 sous-unités β. L’activation du récepteur va entraîner la liaison de l’ATP sur son site consensus et le dépliement de la boucle régulatrice qui occluait le site catalytique à activité tyrosine kinase. Il y aura donc transphosphorylation des sous-unités β sur des résidus tyrosine, c'est-à-dire activation du domaine tyrosine kinase. Cette activation va permettre la phosphorylation d’autres tyrosines présentes sur les chaînes β et l’autophosphorylation du récepteur ou d’autres protéines substrats (White and Kahn, 1994).

5. Signalisation

Les deux grandes voies de signalisation de l’insuline sont la voie de la PI3K (Phosphatidyl-Inositol 3 Kinase) et celle de la MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinase).

La première voie implique la fixation des protéines IRS (Insulin Receptor Substrate) au niveau de la face cytosolique de la membrane plasmique. Ces protéines vont interagir avec le domaine tyrosine-kinase du récepteur et ainsi phosphoryler des résidus tyrosine spécifiques sur les IRS. Ces résidus phosphorylés pourront ensuite recruter la PI3K par l’intermédiaire de domaines SH2 (Src Homology 2). La phosphorylation de la PI3K va l’activer, elle va alors pouvoir phosphoryler les phosphoinositides membranaires en position 3, créant ainsi des sites

de reconnaissance pour d'autres kinases cellulaires telles que la PKB (Protéine Kinase B)/Akt. La PKB activée va pouvoir phosphoryler d'autres relais intracellulaires impliqués en priorité dans les effets métaboliques de l'insuline.

La deuxième voie de signalisation de l'insuline implique les protéines IRS ou le recrutement de protéines adaptatrices impliquant la protéine Ras pour arriver à l'activation des MAPKs.

Une troisième voie de signalisation de l'insuline existe, elle est directement impliquée dans la captation du glucose. Cette voie fait intervenir la protéine CAP (c-Cbl Associated Protein), qui va se lier au récepteur à l'insuline. La cascade de signalisation va permettre la translocation des transporteurs du glucose (GLUT4) vers la membrane plasmique (Bryant *et al.*, 2002).

IV. Diabète de type 2

Le diabète se définit par une hyperglycémie à jeun (glycémie ≥ 1,26 g/L ou 7mM). La glycémie à jeun normale pour un adulte est comprise entre 0,7 et 1,26 g/L. L'hyperglycémie peut être due soit à un défaut de production d'insuline, caractéristique du diabète de type 1, soit à un défaut d'action de l'insuline sur ses tissus cibles associé à un défaut de production de l'hormone, caractéristiques du diabète de type 2. Le diabète peut mener à de sérieuses complications et à une mort prématurée. Le diabète de type 2 correspond à environ 90 à 95% des cas de diabètes (National Diabetes Fact Sheet, 2007).

Le diabète de type 2 est la conséquence d'une insulino-résistance (défaut d'action de l'insuline sur ses organes cibles) chronique et d'un endommagement progressif des cellules β pancréatiques (défaut d'insulino-sécrétion). C'est une maladie multifactorielle complexe où facteurs polygéniques et facteurs environnementaux sont étroitement associés. L'insulino-résistance des tissus est compensée par une hypersécrétion d'insuline, pour conserver une glycémie normale. Cette hypersécrétion d'insuline est due à une augmentation de la quantité des cellules β et à une amélioration de la fonction de ces cellules (Prentki and Nolan, 2006).

1. Prévalence

La prévalence du diabète de type 2 a triplé au cours des trente dernières années. Actuellement, le diabète de type 2 concerne environ 20 millions de personnes aux Etats-Unis, 171 millions de personnes dans le monde et ce chiffre devrait atteindre 366 millions en 2030 (Wild *et al.*, 2004 ; OMS, 2008).

Le diabète de type 2 est diagnostiqué par une hyperglycémie chronique à jeun (supérieure ou égale à 7 mM). Il a été montré que la résistance à l'insuline, l'hyperinsulinémie, la dyslipidémie et l'obésité précèdent l'arrivée du diabète chez 75 à 80% des patients (Lebovitz, 1999). La plupart des patients atteints d'un diabète de type 2 présentent un syndrome métabolique avant l'apparition des premiers signes cliniques du diabète (Reaven, 2005). Le syndrome métabolique est un concept, regroupant un ensemble de désordres métaboliques. Il n'y a pas à l'heure actuelle de consensus sur la définition de ce syndrome. Plusieurs définitions sont actuellement utilisées, qui ne regroupent pas les mêmes facteurs. La première définition du syndrome métabolique proposée par l'OMS en 1998 est basée sur la présence d'une insulino-résistance (identifiée par une hyperglycémie à jeun, une intolérance au glucose ou la présence d'un diabète de type 2), associée à au moins deux autres facteurs de risque, parmi la dyslipidémie, l'hypertension, la microalbuminurie ou l'obésité centrale (Alberti and Zimmet, 1998).

2. Physiopathologie du diabète de type 2

On peut définir 5 étapes dans la progression du diabète (Weir and Bonner-Weir, 2004). La première étape est celle de la compensation. Pour pallier à l'insulino-résistance et conserver une glycémie stable, il va y avoir une augmentation de l'insulino-sécrétion en augmentant la masse des cellules β (augmentation du nombre et hypertrophie). La deuxième étape est celle de l'adaptation. Les cellules β ne sont plus capables de compenser l'insulino-résistance, on observe donc une hyperglycémie. Durant cette phase le glucose ne parvient plus à stimuler la phase précoce de sécrétion d'insuline, celle-ci n'apparaît que 3 à 10 min après l'hyperglycémie (Curry *et al.*, 1968). La troisième étape est celle de la décompensation. Durant cette étape, l'insulino-résistance est trop importante et la glucotoxicité trop élevée pour que les cellules β sécrètent suffisamment d'insuline, l'hyperglycémie se renforce donc, augmentant à son tour la glucotoxicité. L'étape 4 est ensuite une étape de décompensation stable, où la sécrétion d'insuline bien que faible évite la progression de l'acidocétose. L'acidocétose est la conséquence d'une carence en insuline, elle correspond à une élévation excessive de l'acidité du sang, due à une accumulation de corps cétoniques (substrats énergétiques produits par les cellules hépatiques en période de jeun prolongé ou de diabète). On observe une perte de masse et de volume des cellules β pancréatiques d'environ 50% chez les diabétiques de type 2 par rapport aux sujets contrôles (Butler *et al.*, 2003). Chez une

personne saine, il existe un équilibre entre la disparition des cellules β par apoptose et leur néogenèse (Bonner-Weir, 2000). La néogenèse est identique chez les personnes obèses, diabétiques ou saines. La diminution de volume observée dans les cas pathologiques d'obésité et de diabète de type 2 résulte donc d'une augmentation de l'apoptose (Butler *et al.*, 2003). L'étape 5 est celle de la décompensation sévère. La perte des cellules β est trop importante pour éviter l'acidocétose et la personne devient dépendante d'un apport externe d'insuline pour survivre.

3. Insulino-résistance

L'insulino-résistance (IR) est un état pathologique dans lequel les cellules cibles ne répondent plus à des taux physiologiques d'insuline. L'insuline n'est donc plus capable de maintenir l'homéostasie glucidique et lipidique. L'insulino-résistance est associée à de nombreuses maladies : l'obésité, le syndrome métabolique, le diabète de type 2, la lipodystrophie, le syndrome polykystique ovarien et l'infection chronique. L'insulino-résistance peut être causée par des facteurs génétiques et environnementaux, tels que l'alimentation, l'activité physique, l'âge, le tabac et les médications (Zhu *et al.*, 2004).

En présence d'insuline, la lipolyse est inhibée, et le glucose remplace les acides gras comme substrat énergétique dans le muscle squelettique et le cœur. En revanche, chez des personnes insulino-résistantes, obèses ou diabétiques, la lipolyse est augmentée suite à un défaut d'action de l'insuline sur le tissu adipeux (DeFronzo, 2004). Le tissu adipeux va donc sécréter une grande quantité d'acides gras, qui seront transportés aux tissus, tels que le muscle squelettique et le foie. Dans ces organes, un défaut d'oxydation des acides gras va conduire à un stockage ectopique des triglycérides, ce qui aura des effets délétères sur le métabolisme cellulaire (Muoio and Newgard, 2008). À titre d'exemple, une accumulation intracellulaire de triglycérides peut inhiber la voie de signalisation de l'insuline :

- des intermédiaires du métabolisme lipidique peuvent inactiver le récepteur à l'insuline ou les protéines IRS1 ;
- un taux anormalement élevé d'acyl-CoA peut induire un stress oxydatif (Magnan, 2006).

Ces effets délétères sont regroupés sous le terme de "lipotoxicité".

L'insulino-résistance se manifeste par un problème dans la transmission du signal de l'insuline, au niveau de la transduction du pool de GLUT4 (Napoli *et al.*, 1995) ou dans la transmission du signal après la liaison de l'insuline avec son récepteur. En effet, l'expression

de la protéine du récepteur à l'insuline n'est pas affectée chez les patients atteints d'un diabète de type 2 (Arner *et al.*, 1987), ni la liaison de l'insuline à son récepteur (Ciaraldi *et al.*, 2002). Par ailleurs, l'élévation des concentrations en acides gras libres, libérés par le tissu adipeux en cas d'insulino-résistance, conduit à l'accumulation de diacylglycérol (DAG) et d'acyl-CoA dans les muscles. Ceci conduit à l'activation de la protéine kinase C, qui stimule la phosphorylation de l'IRS-1 sur des résidus sérine et/ou thréonine, ce qui diminue la liaison de l'IRS-1 avec les tyrosines phosphorylées des sous-unités β des récepteurs et inhibe ainsi le signal insulinique (Girard, 2003).

4. Méthodes d'évaluation de l'insulino-sensibilité *in vivo*

Il existe différentes méthodes d'évaluation de l'insulino-sensibilité *in vivo*. Ces méthodes sont classées en 2 catégories : les méthodes directes et les méthodes indirectes.

a. Méthodes directes

La méthode de référence, le clamp euglycémique hyperinsulinémique, est une méthode directe. Cette technique de mesure a été mise au point par Ralph DeFronzo et collaborateurs en 1979. Elle consiste à perfuser au sujet de l'insuline exogène à débit constant pour augmenter le transport du glucose dans les tissus sensibles à l'insuline et à une concentration suffisante pour inhiber la production hépatique de glucose. En parallèle, la glycémie est maintenue constante grâce à une perfusion variable et ajustée de glucose exogène. Après 2 à 3 heures de perfusion, un état d'équilibre est atteint, pendant lequel l'intégralité du glucose perfusé est assimilée par les tissus insulino-sensibles. On peut ainsi obtenir le "Glucose Infusion Rate" (GIR). Il correspond à la quantité de glucose infusée nécessaire pour maintenir la glycémie constante malgré l'hyperinsulinémie, il reflète donc le taux de disparition du glucose sous insuline et il est donc directement proportionnel à l'insulino-sensibilité des tissus. Un GIR élevé correspond à une insulino-sensibilité, alors qu'un GIR faible correspond à une insulino-résistance.

b. Méthodes indirectes

- Le test de tolérance intraveineuse à l'insuline ("Insulin Tolerance Test" ou ITT)

Il permet de calculer un indice à partir de la diminution de la glycémie au cours des 15 ou 30 premières minutes après une injection intraveineuse de 0,1 UI/kg d'insuline.

- L'analyse par "Minimal Model" (MINMOD)

Elle repose sur une hyperglycémie provoquée par voie veineuse, associée à une modélisation mathématique des cinétiques de la glycémie et de l'insulinémie suivies par 28 prélèvements sanguins sur 180 minutes (Bergman *et al.,* 1979).

- Le test de tolérance au glucose par voie orale ("Oral Glucose Tolerance Test" ou OGTT)

Il consiste à suivre les concentrations plasmatiques en glucose et en insuline pendant 120 min, après une charge orale en glucose ou un repas. La tolérance au glucose est reflétée par l'efficacité de l'organisme à faire diminuer la glycémie après une charge en glucose.

c. Des index, plus simples à obtenir, sont également proposés

Ils sont basés sur les concentrations à jeun d'insuline et de glucose ("HOmeostasis Model Assessment" ou HOMA et "Quantitative Insulin Sensitivity Check Index" ou QUICKI). L'index HOMA est donné par la formule : $IR_{HOMA} = (I_0 \times G_0)/22,5$ et l'index QUICKI est donné par la formule : $IR_{QUICKI} = 1/ (\text{Log } I_0 + \text{Log } G_0)$. I_0 et G_0 correspondent respectivement à l'insulinémie et à la glycémie à jeun. Cependant, en l'absence de standardisation du dosage de l'insuline, ces index sont peu reproductibles.

V. Modèles expérimentaux pour l'étude de l'obésité

1. Généralités

Afin de mieux comprendre les mécanismes liant l'insulino-résistance et l'obésité, il est intéressant d'utiliser des modèles animaux développant l'obésité.

Il existe différentes souches d'animaux génétiquement obèses :

- Les souris *ob/ob*, qui sont des souris homozygotes déficientes pour le gène de la leptine,
- les souris *db/db*, qui présentent une mutation des récepteurs à la leptine (obèses et également diabétiques),
- les rats Zucker obèses (*fa/fa*), qui sont homozygotes récessifs pour le gène des récepteurs à la leptine.

Les modèles homozygotes de l'obésité ne sont pas assez proches de la pathologie humaine. En effet, on n'observe pas de résistance à la leptine chez ces animaux. Cette résistance, observée chez l'homme, semble être due à une altération du transport de la leptine à travers la BHE, ou à une altération de la signalisation de la leptine, et non à un défaut de production de la leptine, comme chez la souris *ob/ob*. De plus, les mutations présentes dans ces modèles ne sont pas mises en cause dans l'augmentation de l'obésité humaine, qui est plutôt due à notre mode de vie (augmentation de la prise de nourriture et diminution des activités physiques) (Haslam and James, 2005). Ces modèles ne permettent pas non plus d'étudier le développement progressif de l'obésité.

Pour palier aux inconvénients de ces modèles animaux, il existe des régimes enrichis ou appauvris en certains substrats, qui sont administrés directement à l'animal sain (rats de souche Wistar, Sprague-Dawley, …) ou à la femelle gestante. L'étude de l'obésité et/ou des perturbations métaboliques associées peut se faire via l'analyse de dosages sanguins mettant en évidence la modification de la sécrétion d'adipokines par le tissu adipeux et de leurs effets sur ce dernier, ainsi que sur le muscle squelettique, le foie et le pancréas de ces animaux soumis à un régime particulier. Ces différents paramètres vont varier selon le modèle que l'on utilise (souche, âge, sexe, régime). Ces modèles permettent ainsi d'étudier toutes les étapes de la maladie.

2. Les différents types de régime induisant l'obésité

Les régimes à base de lard (graisse animale) sont souvent utilisés pour induire l'obésité. En effet, on retrouve grâce à ces régimes les perturbations métaboliques décrites dans l'obésité humaine, comme par exemple, un poids plus élevé, une augmentation des triglycérides hépatiques, une hyperinsulinémie, une diminution du taux d'adiponectine sanguin et une diminution de la sensibilité à l'insuline (Buettner *et al.*, 2006). La majorité des régimes riches en lipides induisant l'obésité sont des régimes riches en acides gras saturés (lard et coco). En revanche, les acides gras polyinsaturés ont un effet "anti-obésogène", ils

améliorent l'action de l'insuline et diminuent l'adiposité. Ils sont directement utilisés pour leur énergie alors que les acides gras saturés sont stockés dans le tissu adipeux et sont ensuite peu mobilisés (Storlien *et al.*, 2000). Les régimes riches en lipides varient selon l'origine des graisses (lard, coco, huile d'olive ou huile de poisson ou de carthame) et le pourcentage de calories apporté par les graisses (35 à 70%). Ces variations permettent d'observer différents effets sur la sensibilité à l'insuline et sur le développement de l'obésité. Par exemple, en utilisant un régime dans lequel 40% des calories sont apportés par les graisses, on pourra observer une augmentation du poids, une hyperinsulinémie, une hypertriglycéridémie et une augmentation des acides gras libres (Reed *et al.*, 2000). Une autre étude utilisant un régime lard, dans lequel 61% des calories sont apportées par les graisses, montre une augmentation du poids, du tissu adipeux viscéral, une hyperglycémie, une hypertriglycéridémie et une insulino-résistance (Park *et al.*, 2001). Les études réalisées avec des régimes à base de lard et d'huile d'olive sont celles montrant les obésités et les insulino-résistances les plus prononcées. L'huile de poisson a, quant à elle, un effet positif sur le métabolisme glucidique et lipidique. L'utilisation de la graisse de coco est moins délétère pour l'obésité et l'insulino-résistance, mais pas pour la stéatose hépatique (pathologie caractérisée par la présence de graisse, principalement des triglycérides, dans les hépatocytes et d'une inflammation) ou l'hypertriglycéridémie (Buettner *et al.*, 2006).

Chez le rongeur nourri avec un régime riche en lipides, on observe une hyperphagie relative qui diminue après 4 à 5 semaines, jusqu'à revenir à une valeur normale. L'hyperphagie est souvent observée dans le développement de l'obésité, mais elle n'est pas systématique (West and York, 1998).

Les régimes riches en glucides tels que le fructose et le saccharose (sucres simples) ont un effet délétère sur l'action de l'insuline (Storlien *et al.*, 2000), mais n'entraînent pas l'obésité. À titre d'exemple, il a été montré qu'un régime enrichi en saccharose n'entraînait pas de variation de poids des animaux, mais une élévation de la masse et de la taille des adipocytes (Soria *et al.*, 2002). Par ailleurs, un tel régime induit plusieurs perturbations du métabolisme, telles qu'une hypertriglycéridémie, une augmentation des acides gras libres, une hyperglycémie et une insulino-résistance.

Pour induire l'obésité, on peut aussi utiliser un régime "cafétéria", terme utilisé en 1976 par Sclafani et Springer. Les auteurs ont montré que les rats nourris avec ce régime, composé de différents aliments commercialisés pour l'homme et donné de manière variée et illimitée, prenaient significativement plus de poids que des rats contrôles. Cette obésité,

obtenue par hyperphagie, mime l'obésité humaine, principalement due à la grande disponibilité d'aliments palatables (aliments dont le goût est agréable) ainsi qu'à un mode de vie sédentaire. Dans cette étude, il a également été montré une grande variabilité dans la prise de poids au sein du groupe cafétéria par rapport au groupe contrôle. D'autres études ont montré que les rats auxquels on proposait différents aliments palatables augmentaient leur prise alimentaire, contrairement aux rats auxquels on ne donnait qu'un seul aliment (LeMagnen, 1974). Enfin, d'autres études ont montré que de nombreuses anomalies métaboliques apparaissaient dans l'obésité, comme par exemple l'augmentation du tissu adipeux ou l'hyperinsulinémie (Kretschmer *et al.*, 2005).

En plus de la composition du régime, il faut tenir compte de la souche, du sexe et de l'âge de l'animal chez lequel on veut induire l'obésité. En effet, la prise de poids peut être légèrement différente en fonction de ces paramètres (Schemmel *et al.*, 1969).

3. Résistance à l'obésité

La balance énergétique permet de s'assurer que les quantités de glucides, lipides et protéines ingérées sont égales à celles oxydées (Bessesen *et al.*, 2008). Cependant, certains individus arrivent à réguler leur poids malgré des prises alimentaires riches. Dans les modèles animaux développant l'obésité, le problème est de savoir quel rat sera résistant à la prise de poids et lequel ne le sera pas. Pour éviter ce problème, on peut créer des rats enclins à l'obésité induite par un régime riche en graisses. Pour cela, les rats qui prennent le plus de poids sont croisés ensemble (idem pour ceux qui prennent le moins de poids). Après plusieurs générations, on obtient deux groupes de rats, l'un résistant et l'autre sensible à la prise de poids avec un régime riche en lipides. Ce modèle permet d'étudier les réponses adaptatives précoces qui apparaissent après l'introduction de ce type de régime. Les rats présentant le phénotype résistant sont capables d'adapter leur comportement en présence d'un régime riche en lipides (meilleure distribution des lipides alimentaires aux tissus métaboliquement actifs tels que le foie et le muscle) et ainsi de maintenir leur poids constant (Bessesen *et al.*, 2008).

VI. La mesure du transport du glucose *in vivo* avec le 6DIG

Le clamp euglycémique hyperinsulinémique est la méthode de référence pour mesurer la sensibilité globale d'un individu à l'insuline, or la résistance à l'insuline est une anomalie métabolique dont la sévérité pourrait varier d'un organe à un autre. En association au clamp,

des méthodes ont donc été développées pour mesurer le transport et le métabolisme du glucose dans différents organes. L'utilisation du FDG ([^{18}F]-2-fluoro-2-déoxy-D-glucose) en imagerie TEP (Tomographie par Émission de Positons) chez l'homme permet l'étude du transport et de la phosphorylation du glucose. Le FDG est un analogue du glucose qui, transporté à l'intérieur de la cellule par diffusion facilitée comme le glucose via les GLUTs, est ensuite phosphorylé en position 6 par l'hexokinase pour donner du FDG-6-phosphate. Celui-ci, n'étant ni métabolisé ni déphosphorylé, est piégé dans la cellule et s'y accumule, permettant ainsi la visualisation du tissu par imagerie TEP. Ce traceur est principalement utilisé pour la détection de tumeurs cancéreuses (Som *et al.*, 1980). Le 3OMG ([^{11}C]-3-O-méthyl-D-glucose) est également utilisé en imagerie TEP. Il a été utilisé *in vivo* marqué au carbone 11 (demi-vie de 20 minutes) pour l'étude du métabolisme cérébral (Feinendegen *et al.*, 1986). Il a également été utilisé pour l'étude du transport du glucose dans le muscle squelettique chez l'homme (Bertoldo *et al.*, 2005).

Une autre méthode permettant de mesurer le métabolisme du glucose *in vivo* est la SRMN (Spectroscopie de Résonance Magnétique Nucléaire), qui est une technique basée sur l'aimantation intrinsèque (moments magnétiques ou "spin") de certains noyaux atomiques, tels que le ^{1}H, le ^{13}C ou le ^{31}P. Elle permet de mesurer la concentration de certains métabolites dans un volume d'intérêt, de manière non invasive. Une étude menée chez des sujets sains ou diabétiques a montré par cette technique le défaut de synthèse de glycogène dans le muscle de sujets diabétiques (Rothman *et al.*, 1991).

L'insulino-résistance se manifestant principalement par une perturbation du transport du glucose dans les cellules insulino-sensibles (Napoli *et al.*, 1995), l'utilisation d'un traceur pur du transport du glucose *in vivo* présente un intérêt clinique majeur. L'unité "Radiopharmaceutiques Biocliniques" (INSERM U-1039) a élaboré un analogue du glucose marqué avec un émetteur γ pur tel que l'iode 123. L'iode 123 possède une demi-vie de 13,3 heures, ce qui permet son utilisation chez l'homme. Il est détecté par imagerie TEMP (Tomographie par Emission Mono-Photonique) ou SPECT (Single Photon Emission Computed Tomography), technique d'imagerie la plus répandue dans les services de médecine nucléaire.

Différents analogues ont été synthétisés et marqués en position 1, 2, 3, 4, 5 et 6 de la molécule de glucose (Koumanov *et al.*, 1996 ; Perret *et al.*, 2004). Parmi les quinze analogues étudiés, seules trois molécules iodées en positions 6 interagissaient avec le transporteur et montraient des résultats intéressants. Ces trois molécules ont fait l'objet d'un dépôt de brevet

avec Cis Bio International (Koumanov, 1995). L'une de ces molécules présente un comportement similaire à celui du 3OMG : le 6-déoxy-6-iodo-D-glucose ou 6DIG (Koumanov, 1995 ; Henry *et al.*, 1997a).

Le 6DIG a été validé comme traceur pur du transport du glucose. En effet, le 6DIG entre dans les cellules par les transporteurs du glucose, il n'est pas substrat de l'hexokinase, il n'est pas métabolisé dans la cellule, et il ressort de la cellule par l'intermédiaire des mêmes transporteurs. De plus, le transport du 6DIG est stimulé en présence d'insuline. Par ailleurs, des altérations de transport du 6DIG en présence d'insuline ont été mises en évidence sur des adipocytes provenant de rats diabétiques et de souris obèses insulino-résistantes (Henry *et al.*, 1997b).

Des études de biodistribution avec le 6DIG ont été effectuées en conditions basales et en présence d'insuline chez la souris contrôle d'une part et chez la souris diabétique *db/db* d'autre part (Perret *et al.*, 2003). Elles montrent une augmentation significative du transport du traceur dans les tissus insulino-sensibles en présence d'insuline chez les souris contrôles mais pas chez les souris diabétiques. Pour confirmer ces résultats, une étude en conditions contrôlées sous clamp euglycémique hyperinsulinémique chez le rat éveillé a été entreprise. Les résultats de cette étude montrent une augmentation du transport du 6DIG en présence d'insuline chez les rats contrôles, dans les organes insulino-sensibles, mais pas chez les rats soumis à un régime induisant une insulino-résistance (Perret *et al.*, 2007).

La cinétique de transport du 6DIG, dans la plupart des organes prélevés lors de l'étude de biodistribution, est caractérisée par une diminution rapide suivant une double exponentielle décroissante (Perret *et al.*, 2007). Le muscle squelettique et le cerveau sont les seuls organes dans lesquels la cinétique est différente avec une accumulation du traceur. Pour vérifier que le 6DIG n'était pas modifié dans le muscle, des études ont été menées sur des muscles soleus isolés de rat. Ces expériences montrent que la cinétique du 6DIG dans le muscle est identique à celle du 3OMG et que le 6DIG n'est pas modifié dans ce tissu (Lavergne, 2003). La mesure du transport du glucose *in vivo*, en condition basale et en présence d'insuline, permet de mettre en évidence des variations du transport du glucose (variations physiologiques ou pathologiques). Cette mesure peut donc permettre de détecter des anomalies de transport, caractéristiques de l'insulino-résistance.

Afin d'envisager l'utilisation du 6DIG dans les services de médecine nucléaire, un protocole de mesure de l'insulino-résistance avec le 6DIG a été développé, par simple détection externe de la radioactivité (Briat *et al.*, 2007) et a fait l'objet d'un dépôt de brevet

(Fagret, 2008). Pour quantifier l'insulino-résistance, une modélisation mathématique à trois compartiments du transport du 6DIG a été développée (Slimani *et al.*, 2002 ; Briat *et al.*, 2007). Les constantes cinétiques du traceur sont évaluées entre chaque compartiment. Le rapport de la constante k(2,1) (constante d'entrée du traceur dans le compartiment cardiaque), mesurée en présence d'insuline, sur cette même constante mesurée en condition basale, permet de déterminer un index R d'insulino-résistance cardiaque (Briat *et al.*, 2007). Ce protocole a été adapté à l'imagerie du 6DIG à l'aide d'une gamma-caméra dédiée au petit animal (Gamma-Imager, Biospace). Il consiste à suivre la radioactivité dans le cœur et dans le sang (prélèvements sanguins) pendant 20 minutes, en condition basale et en présence d'insuline. L'étude, effectuée sur les différents groupes de rats, montre que les index R calculés chez les rats contrôles sont significativement plus élevés que ceux calculés chez les rats diabétiques et l'index d'insulino-résistance cardiaque est bien corrélé au GIR ($r = 0,68$; $p = 0,02$) (Briat, 2007). Un protocole similaire, mais d'une durée de 90 min a été mis au point pour mesurer l'insulino-résistance musculaire. L'index d'insulino-résistance musculaire est corrélé au GIR ($r = 0,71$; $p = 0,02$) (Vollaire, 2010).

Toutefois, ces deux protocoles ne peuvent être utilisés pour des études physiopathologiques qui nécessitent un suivi longitudinal chez l'animal, car ils nécessitent de nombreuses prises de sang et un protocole trop long pour la mesure de l'insulino-résistance musculaire. Pour cela, deux descripteurs empiriques ont été développés, qui reposent sur une simple analyse graphique des courbes cardiaques et musculaires, obtenues avec deux acquisitions de la radioactivité de 20 minutes chacune (Vollaire, 2010). Ces deux descripteurs empiriques cardiaque et musculaire sont validés, ils sont sensibles et reproductibles et corrèlent aux index R fournis par la modélisation mathématique.

Les études cliniques de Phase I chez des volontaires sains et de Phase II chez des patients diabétiques avec le 6DIG sont actuellement en cours dans le service de médecine nucélaire du CHU de Grenoble.

Références bibliographiques

Ailhaud G. Développement du tissu adipeux: importance des lipides alimentaires. *47ème Journée Annuelle de Nutrition et de Diététique*, 26 janvier 2007.

Alberti G, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet. Med.* 1998; 15: 539–553.

Arner P, Pollare T, Lithell H, Livingston JN. Defective insulin receptor tyrosine kinase in human skeletal muscle in obesity and type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 1987; 30(6): 437-440.

Bergman RN, Ider YZ, Bowden CR, Cobelli C. Quantitative estimation of insulin sensitivity. *Am. J. Physiol.* 1979; 236(6): E667-677.

Bertoldo A, Price J, Mathis C, Mason S, Holt D, Kelley C, Cobelli C, Kelley DE. Quantitative assessment of glucose transport in human skeletal muscle: dynamic positron emission tomography imaging of [O-methyl-11C]3-O-methyl-D-glucose. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2005; 90(3): 1752-1759.

Bessesen DH, Bull S, Cornier MA. Trafficking of dietary fat and resistance to obesity. *Physiol. Behav*. 2008; 94(5): 681–688.

Bignan G. Synthèse d'analogues iodés du glucose. *Thèse de l'Université Joseph Fourier* 1993, Grenoble.

Bignan G, Koumanov F, Henry C, Ghezzi C, Morin C, Mathieu JP. Iodinated analogues of monosaccharides usable as radiopharmaceuticals. French patent No 95 95214. 1995.

Binnert C, Tappy L. Physiopathologie de l'obésité. *Nutr. Clin. Métabol.* 2001; 15(3): 194-197.

Bonner-Weir S. Islet growth and development in the adult. *J. Mol. Endocrinol.* 2000; 24: 297-302.

Briat A, Slimani L, Perret P, Villemain D, Halimi S, Demongeot J, Fagret D, Ghezzi C. In vivo assessment of cardiac insulin resistance by nuclear probes using an iodinated tracer of glucose transport. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* 2007; 34(11): 1756-1764.

Bryant NJ, Govers R, James DE. Regulated transport of the glucose transporter GLUT4. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 2002; 3: 267-277.

Buettner R, Parhofer KG, Woenckhaus M, Wrede CE, Kunz-Schughart LA, Schölmerich J, Bollheimer LC. Defining High-Fat-Diet rat models: metabolic and molecular effects of different fat types. *J. Mol. Endocrinol.* 2006; 36: 485–501.

Butler AE, Janson J, Bonner-Weir S, Ritzel R, Rizza RA, Butler PC. ß-cell deficit and increased ß-cell apoptosis in humans with type 2 diabetes. *Diabetes* 2003; 52: 102–110.

Capeau J. Voies de signalisation de l'insuline: mécanismes affectés dans l'insulino-résistance. *Medecine/Sciences* 2003; 19: 834-839.

Cerasi E, Luft R, Efendic S. Decreased sensitivity of the pancreatic beta cells to glucose in prediabetic and diabetic subjects. A glucose dose-response study. *Diabetes* 1972; 21: 224-234.

Ciaraldi TP, Carter L, Rehman N, Mohideen P, Mudaliar S, Henry RR. Insulin and insulin-like growth factor-1 action on human skeletal muscle: preferential effects of insulin-like growth factor-1 in type 2 diabetic subjects. *Metabolism* 2002; 51(9): 1171-1179.

Curry DL, Bennett LL, Grodsky GM: Dynamics of insulin secretion by the perfused rat pancreas. *Endocrinology* 1968; 83: 572–584.

Deepa SS, Dong LQ. APPL1: role in adiponectin signaling and beyond. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2009; 296(1): E22–E36.

DeFronzo RA, Tobin JD, Andres R. Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. Gastrointest. Physiol.* 1979; 237(3): E214–E223.

DeFronzo RA. Dysfunctional fat cells, lipotoxicity and type 2 diabetes. *Int. J. Clin. Pract. Suppl.* 2004; 143: 9–21.

Duman H, Forte JG. What is the role of SNARE proteins in membrane fusion? *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* 2003; 285: C237–C249.

Dyck DJ. Adipokines as regulators of muscle metabolism and insulin sensitivity. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* 2009; 34: 396–402.

Fagret D, Demongeot J, Perret P, Ghezzi C. Patent 08/04/124. *Brevet déposé au nom de l'UJF*, France. PCT 2009.

Feinendegen LE, Herzog H, Wieler H, Patton DD, Schmid A. Glucose transport and utilization in the human brain: model using carbon-11 methylglucose and positron emission tomography. *J. Nucl. Med.* 1986; 27(12): 1867-1877.

Flamment M. Métabolisme énergétique mitochondrial dans le développement de la stéatose héaptique. *Thèse de l'université d'Angers*, 2009.

Folch J, Lees M, Sloane Stanley GH. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 1957; 226: 497-509.

Friedman JM, Halaas JL. Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature* 1998; 395: 763-770.

Galic S, Oakhill JS, Steinberg GR. Adipose tissue as an endocrine organ. *Mol. Cell. Endocrinol.* 2010; 316: 129-139.

Girard J. Rôle des acides gras libres dans la sécrétion et l'action de l'insuline : mécanismes de la lipotoxicité. *Medecine/Sciences* 2003; 19: 827-833.

Guilherme A, Virbasius JV, Puri V, Czech MP. Adipocyte dysfunctions linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature Rev.* 2008; 9: 367-377.

Haslam DW, James WPT. Obesity. *Lancet* 2005; 366: 1197-1209.

Henry BA, Clarke IJ. Adipose tissue hormones and the regulation of food intake. *J. Neuroendocrinol.* 2008; 20: 842–849.

Henry C (a), Koumanov F, Ghezzi C, Morin C, Mathieu JP, Vidal M, de Leiris J, Comet M, Fagret D. [123I]-6-deoxy-6-iodo-D-glucose (6DIG): a potential tracer of glucose transport. *Nucl. Med. Biol.* 1997; 24(6): 527-534.

Henry C (b), Tanti JF, Grémeaux T, Morin C, Van Obberghen E, et al. Characterization of 6-deoxy-6-iodo-D-glucose: a potential new tool to assess glucose transport. *Nucl. Med. Biol.* 1997; 24(1): 99-104.

Isganaitis E, Lustig RH. Fast food, central nervous system insulin resistance, and obesity. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2005; 25: 2451-2462.

Kadowaki T, Hara K, Yamauchi T, Teraushi Y, Tobe K, Nagai R. Molecular mechanism of insulin resistance and obesity. *Exp. Biol. Med.* 2003; 228: 1111–1117.

Kadowaki T, Yamauchi T. Adiponectin and adiponectin receptors. *Endocr. Rev.* 2005; 26: 439–451.

Kim YJ, Park T. Genes are differentially expressed in the epididymal fat of rats rendered obese by a high-fat diet. *Nutrition research.* 2008; 28: 414-422.

Koumanov F. Dérivés iodés de monosaccharides utilisables comme produits radiopharmaceutiques. *Brevet déposé au nom de Cis Bio International*. France, 1995; 95214.

Koumanov F, Henry C, Ghezzi C, Bignan G, Morin C, Mathieu JP, Hamant S, Vidal M, de Leiris J, Comet M. Biological studies of analogues of glucose iodinated in positions 1, 2, or 3. *Nucl. Med. Biol.* 1996; 23(1): 53-60.

Kretschmer BD, Schelling P, Beier N, Liebscher C, Treutel S, Krüger N, Scholz HP, Haus A. Modulatory role of food, feeding regime and physical exercise on body weight and insulin resistance. *Life Sciences* 2005; 76: 1553–1573.

Lacaustra M, Corella D, Ordovas JM. Metabolic Syndrome pathophysiology : the role of adipose tissue. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular diseases* 2007; 17: 125-139.

3. Mlinar B *et al*. Molecular mechanisms of insulin resistance and associated diseases. *Clinica Chimica Acta* 2007; 375:20-35.

Lago F, Dieguez C, Gomez-Reino J, Gualillo O. Adipokines as emerging mediators of immune response and inflammation. *Nature Clinical Practice Rheumatology*. 2007; 3: 716-724.

Lavergne F. Etude de la captation d'un analogue iodé du glucose, le 6-déoxy-6-iodo-D-glucose dans le muscle squelettique. Etude chez le rat, in vivo et ex vivo. *Rapport de Master 2*, 2003.

Lebovitz HE. Type 2 diabetes: an overview. *Clin. Chem.* 1999; 45: 1339–1345.

LeMagnen J. Advances in studies in the physiological control and regulation of food intake. In: *Progress in Physiological Psychology*, edited by E. Stellar and J. M. Sprague. New-York: Academic Press, 1974; 204-261.

Magnan C, Ktorza A. Production and secretion of insulin by pancreatic β-cell. *EMC-Endocrinol.* 2005; 241–264.

Magnan C. Lipotoxicité et insulino-résistance. *Nutr. Clin. Métabol.* 2006; 20: 108-113.

Mathieu JP, Riche F, Coornaert S, Bardy A, Busquet G, Godart J, Comet M, Vidal M. Marquage d'acides gras en position ω par les isotopes de l'iode. *J Biophys. Med. Nucl.* 1982; 6: 233-237.

Mlinar B, Marc J, Janež A, Pfeifer M. Molecular mechanisms of insulin resistance and associated diseases. *Clinica Chimica Acta* 2007; 375: 20-35.

Muoio DM, Newgard CB. Molecular and metabolic mechanisms of insulin resistance and β‑cell failure in type 2 diabetes. *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* 2008; 9: 193-205.

Myers MG, Cowley MA, Münzberg H. Mechanisms of leptin action and leptin resistance. *Annu. Rev. Physiol.* 2008; 70: 537-556.

Napoli R, Hirshman MF, Horton ES. Mechanisms and Time Course of Impaired Skeletal Muscle Glucose Transport Activity in Streptozocin Diabetic Rats. *J. Clin. Invest.*1995; 96: 427-437.

OMS, série de rapports techniques. Obésité : prévention et prise en charge de l'épidémie mondiale. Genève, *Organisation Mondiale de la Santé*, 2003.

O'Regan D, Kenyon CJ, Seckl JR, Holmes MC. Environmental disturbance confounds prenatal glucocorticoid programming experiments in Wistar rats. *Lab. Anim.* 2010; 44(3): 199-205.

Pacini G, Mari A. Methods for clinical assessment of insulin sensitivity and β-cell function. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metabol.* 2003; 17: 305-322.

Park SY, Kim YW, Kim JY, Jang EC, Doh KO, Lee SK. Effect of high fat diet on insulin resistance: dietary fat versus visceral fat mass. *J. Korean Med. Sci.* 2001; 16: 386-390.

Perret P, Ghezzi C, Mathieu JP, Morin C, Fagret D. Assessment of insulin sensitivity in vivo in control and diabetic mice with a radioactive tracer of glucose transport: [125I]-6-deoxy-6-iodo-D-glucose. *Diabetes Metab. Res. Rev.* 2003; 19(4): 306-312.

Perret P, Ghezzi C, Ogier L, Abbadi M, Morin C, Mathieu JP, Fagret D. Biological studies of radiolabeled glucose analogues iodinated in position 3,4 or 6. *Nucl. Med. Biol.* 2004; 31(2): 241-250.

Perret P, Slimani L, Briat A, Villemain D, Halimi S, Demongeot J, Fagret D, Ghezzi C. Assessment of insulin resistance in fructose-fed rats with 125I-6-deoxy-6-iodo-D-glucose, a new tracer of glucose transport. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* 2007; 34(5): 734-744.

Pierce WD, Diane A, Heth CD, Russell JC, Proctor SD. Evolution and obesity: resistance of obese-prone rats to a challenge of food restriction and wheel running. *Int. J. Obes.* 2010; 34: 589–592.

Portha B. Signalisation intracellulaire et exocytose de l'insuline. *MTE* 2000; 2: 37–46.

Prentki M, Nolan CJ. Islet β cell failure in type 2 diabetes. *J. Clin. Invest.* 2006; 116: 1802–1812.

Rabe K, Lehrke M, Parhofer KG, Broedl UC. Adipokines and insulin resistance. *Mol. Med.* 2008; 14(11-12): 741-751.

Rasouli N, Kern PA. Adipocytokines and the metabolic complications of obesity. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2008; 93: S64–S73.

Reaven GM. Insulin resistance, the insulin resistance syndrome, and cardiovascular disease. *Panminerva Med.* 2005; 47: 201–210.

Reed MJ, Meszaros K, Entes LJ, Claypool MD, Pinkett JG, Gadbois TM, Reaven GM. A New Rat Model of Type 2 Diabetes: The Fat-Fed, Streptozotocin-Treated Rat. *Metabolism* 2000; 49(11): 1390-1394.

Roche. ObÉpi : enquête épidémiologique nationale sur le surpoids et l'obésité. 2009.

Rothman DL, Shulman RG, Shulman GI. N.m.r. studies of muscle glycogen synthesis in normal and non-insulin-dependent diabetic subjects. *Biochem. Soch. Trans.* 1991; 19(4): 992-994.

Schemmel R, Mickelsen O, Gill JL. Dietary obesity in rats: Body weight and body fat accretion in seven strains of rats. *J. Nutr.* 1969; 100: 1041-1048.

Schenk S, Saberi M, Olefsky JM. Insulin sensitivity: modulation by nutrients and inflammation. *J. Clin. Invest.* 2008; 118: 2992–3002.

Scherer PE, Williams S, Fogliano M, Baldini G, Lodish HF. A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. *J. Biol. Chem.* 1995; 270(45): 26746–26749.

Sclafani A, Springer D. Dietary obesity in adult rats: similarities to hypothalamic and human obesity syndromes. *Physiol. Behav.* 1976; 17(3): 461-471.

Seeley RJ, Woods SC. The brain and regulation of body weight. *Heart. Metab.* 2002; 17: 4-7.

Slimani L, Perret P, Briat A, Villemain D, Ghezzi C, Fagret D, Demongeot J. Multi-compartmental modelling and experimental design for glucose transport studies in insulin-resistant rats. *C. R. Biol.* 2002; 325(4): 529-546.

Som P, Atkins HL, Bandoypadhyay D, Fowler JS, MacGregor RR, Matsui K, Oster ZH, *et al*. A fluorinated glucose analog, 2-fluoro-2-deoxy-D-glucose(F-18): nontoxic tracer for rapid tumor detection. *J. Nucl. Med.* 1980; 21: 670-675.

Soria A, Chicco A, D'Alessandro ME, Rossi A, Lombardo YB. Dietary fish oil reverse epididymal tissue adiposity, cell hypertrophy and insulin resistance in dyslipemic sucrose fed rat model. *J. Nutr. Biochem.* 2002; 13: 209-218.

Spalding KL, Arner E, Westermark PO, Bernard S, Buchholz BA, et al. Dynamics of fat cell turnover in humans. *Nature* 2008; 453(7196): 783-787.

Storlien LH, Higgins JA, Thomas TC, Brown MA, Wang HQ, Huang XF, Else PL. Diet composition and insulin action in animal models. *Br. J. Nutr.* 2000; 83(Suppl. 1): S85–S90.

Vollaire J. Nouvelle approche diagnostic du syndrome métabolique par la médecine nucléaire. *Thèse de l'université Joseph Fourier* 2010, Grenoble.

West DB, York B. Dietary fat, genetic predisposition, and obesity: lessons from animal models. *Am. J. Clin. Nutr.* 1998; 67(Suppl. 3): 505S–512S.

Weir GC, Bonner-Weir S. Five stage of evolving β-cell dysfunction during progression to diabetes. *Diabetes* 2004; 53(Suppl. 3):S16–S210.

White MF, Kahn CR. The insulin signaling system. *The journal of biological chemistry* 1994; 269(1): 1-4.

Whitehead JP, Richards AA, Hickman IJ, Macdonald GA, Prins JB. Adiponectin – a key adipokine in the metabolic syndrome. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 2006; 8: 264–280.

Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care* 2004; 27: 1047-1053.

Xu H, Wilcox D, Nguyen P, Voorbach M, Suhar T, Morgan SJ, An WF, Ge L, Green J, Wu Z, Gimeno RE, Reilly R, Jacobson PB, Collins CA, Landschulz K, Surowy T. Hepatic knockdown of mitochondrial GPAT1 in ob/ob mice improves metabolic profile. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2006; 349(1): 439-448.

Yamauchi T, Kamon J, Waki H, Terauchi Y, Kubota N, Hara K, Mori Y, Ide T, Murakami K, Tsuboyama-Kasaoka N, Ezaki O, Akanuma Y, Gavrilova O, Vinson C, Reitman ML, Kagechika H, Shudo K, Yoda M, Nakano Y, Tobe K, Nagai R, Kimura S, Tomita M, Froguel P, Kadowaki T. The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipoatrophy and obesity. *Nature Medicine* 2001; 7(8): 887-888.

Zhu S, St-Onge MP, Heshka S, Heymsfield SB. Lifestyle behaviors associated with lower risk of having the metabolic syndrome. *Metabolism* 2004; 53(11): 1503-1511.