



HAL
open science

Développement d'une nouvelle technique de mesure de la résistance à l'insuline avec un traceur du transport du glucose, le [125I]-6-Déoxy-6-Iodo-D-glucose: Etude réalisée chez le rat

Julien Vollaire

► To cite this version:

Julien Vollaire. Développement d'une nouvelle technique de mesure de la résistance à l'insuline avec un traceur du transport du glucose, le [125I]-6-Déoxy-6-Iodo-D-glucose: Etude réalisée chez le rat. Sciences du Vivant [q-bio]. Université Joseph-Fourier - Grenoble I, 2010. Français. NNT: . tel-00517348

HAL Id: tel-00517348

<https://theses.hal.science/tel-00517348>

Submitted on 14 Sep 2010

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.

UNIVERSITE DE GRENOBLE

THESE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE GRENOBLE

Ecole Doctorale : Ingénierie pour la Santé, la Cognition et l'Environnement

Discipline : Biotechnologie, Instrumentation, Signal et Imagerie pour la Médecine,
la Biologie et l'Environnement

Présentée et soutenue publiquement par

JULIEN VOLLAIRE

le 30 juin 2010

Développement d'une nouvelle technique de mesure de la résistance à l'insuline
avec un traceur du transport du glucose, le [125I]-6-Déoxy-6-Iodo-D-glucose :

Etude réalisée chez le rat

Directeur de thèse : Dr. Catherine GHEZZI

Composition du jury :

Mr. le Professeur Patrick Bourguet : Rapporteur

Mr. le Docteur Jean-Claude Madelmont : Rapporteur

Mr. le Docteur Roberto Pasqualini : Examineur

Mlle le Docteur Pascale Perret : Examineur

Mr. le Professeur Gerald Vanzetto : Président

Mme le Docteur Catherine Ghezzi : Examineur

Thèse préparée au sein de l'UMR_S 877 - Radiopharmaceutiques Biocliniques

INSERM - Université de Grenoble

Introduction	8
Revue Bibliographique	11
Chapitre I	11
1^{ère} partie : Le transport du glucose	11
I. Les co-transporteurs SGLTs.....	11
I.1. Structure.....	11
I.2. Fonction.....	12
I.3. Distribution et rôles physiologiques.....	12
II. Les transporteurs du glucose ou GLUTs.....	13
II.1. Caractéristiques générales.....	13
II.2. Structure et sous-familles des GLUTs.....	13
II.3. Mécanisme de transport.....	16
II.4. Distribution et rôles physiologiques.....	19
II.4.1. GLUT1.....	19
II.4.2. GLUT2.....	20
II.4.3. GLUT3.....	21
II.4.4. GLUT4.....	21
II.4.5. GLUT5.....	21
II.4.6. GLUT6.....	22
II.4.7. GLUT7.....	22
II.4.8. GLUT8.....	22
II.4.9. GLUT9.....	23
II.4.10. GLUT10.....	24
II.4.11. GLUT11.....	24
II.4.12. GLUT12.....	24
II.4.13. HMIT (H ⁺ /Myo-Inositol Transporteur).....	25
II.4.14. GLUT14.....	25
2^{ème} partie : L'insuline	27
I. Synthèse et sécrétion.....	27
I.1. Biosynthèse.....	27
I.2. Contrôle de la sécrétion.....	28
I.3. Sécrétion.....	30
II. Récepteur et signalisation.....	31
II.1. Récepteur à l'insuline.....	31
II.2. Signalisation intracellulaire.....	32
III. Action de l'insuline sur le métabolisme.....	34
III.1. Action de l'insuline sur le transport et le métabolisme du glucose.....	34
III.1.1. Action de l'insuline sur le transport du glucose.....	34
III.1.2. Action de l'insuline sur le métabolisme du glucose.....	35
III.2. Action de l'insuline sur le métabolisme lipidique.....	36
III.3. Action de l'insuline sur le métabolisme des acides aminés.....	36
III.4. Action de l'insuline sur l'équilibre potassique.....	36

Sommaire

III.5. Le glucagon	37
IV. Actions cardiovasculaires de l'insuline.....	37
IV.1. Action vasodilatatrice.....	37
IV.2. Action vasoconstrictrice.....	38
IV.3. Action sur l'expression de molécules d'adhésion.....	38
IV.4. Action sur la contractilité cardiaque.....	38
IV.5. Action sur le recrutement capillaire et le débit sanguin.....	39
_Toc260754020	
3^{ème} partie : Les tissus insulino-sensibles.....	40
I. Le muscle squelettique.....	40
II. Le muscle cardiaque	41
III. Le tissu adipeux blanc	41
III.1. Adipogenèse et rôle des PPAR γ	41
III.1.1. Les PPARs γ	42
III.1.2. Activation de l'adipogenèse.....	42
III.2. Métabolisme lipidique dans le tissu adipeux blanc.....	43
III.2.1. Synthèse d'acides gras <i>de novo</i>	43
III.2.2. Synthèse de triglycérides à partir d'acides gras : la lipogenèse.....	44
III.2.3. La lipolyse.....	44
III.3. Fonction endocrine du tissu adipeux.....	45
III.3.1. La leptine.....	45
III.3.2. L'adiponectine.....	46
III.3.3. La visfatine.....	47
III.3.4. L'apeline.....	47
III.3.5. L'omentine.....	48
III.3.6. La chemerine.....	48
IV. Le foie.....	48
Chapitre II : Le syndrome métabolique.....	50
I. Définition.....	51
I.1. Définition de l'OMS.....	52
I.2. Définition de l'EGIR.....	52
I.3. Définition du NCEP:ATPIII.....	53
I.4. Définition de l'AACE.....	53
I.5. Définition de l>IDF.....	54
I.6. Définition de l'AHA/NHLBI.....	54
I.7. Définition du SM chez l'enfant.....	55
II. Prévalence du syndrome métabolique.....	56
II.1. Dans le monde.....	56
II.2. Aux Etats-Unis.....	57
II.3. En Europe.....	57
II.4. En France.....	58

Sommaire

II.5. Chez l'enfant	59
II.6. Autres facteurs intervenant dans la prévalence du syndrome métabolique.....	59
III. Obésité et résistance à l'insuline, les deux composantes majeures du syndrome métabolique	60
III.1. Prévalence de l'obésité	60
III.2. Prévalence de l'IR	63
III.3. Physiopathologie de l'IR.....	64
III.3.1. Acides gras et résistance à l'insuline : la "lipotoxicité".....	64
III.3.1.1. Défauts de signalisation du récepteur à l'insuline.....	65
III.3.1.2. Le cycle "glucose-acides gras" de Randle.....	66
III.3.1.3. Foie et lipotoxicité.....	69
III.3.1.4. Dysfonctions mitochondriales dans l'IR.....	70
III.4. Physiopathologie de l'obésité	71
III.4.1. La lipolyse dans l'obésité	71
III.4.2. Dysfonction du tissu adipeux dans l'obésité	71
III.4.3. Importance des adipokines dans la physiopathologie de l'IR	73
III.4.3.1. Le TNF- α	73
III.4.3.2. La résistine.....	74
III.4.3.3. La protéine de liaison de la vitamine A (RBP4).....	74
III.4.3.4. Angiotensinogène.....	75
III.4.3.5. La protéine amyloïde A sérique ou "serum amyloid A" (SAA).....	75
III.4.3.6. L'inhibiteur de l'activateur du plasminogène.....	76
III.4.3.7. La protéine chimio-attractante 1 des monocytes (MCP-1).....	76
III.4.3.8. L'interleukine 6	76
III.4.3.9. La vaspine.....	77
IV. Maladies associées au syndrome métabolique.....	77
IV.1. Les maladies cardiovasculaires	77
IV.1.1. Relation entre résistance à l'insuline et dysfonction endothéliale.....	79
IV.1.1.1. IR sélective : voie de signalisation de la MAPK.....	79
IV.1.1.2. La lipotoxicité	79
IV.1.1.3. Le stress oxydant.....	80
IV.1.1.4. Altération de l'activité sympathique et du système rénine/angiotensine ..	80
IV.1.1.5. Signaux pro-inflammatoires et adipokines.....	80
IV.2. Le diabète de type 2	82
IV.2.1. Prévalence	82
IV.2.2. Prédispositions génétiques du diabète de type 2	84
IV.2.3. Anomalies de fonction des cellules β pancréatiques.....	84
IV.2.4. Réduction de la masse des cellules β pancréatiques	84
IV.2.5. La glucotoxicité.....	86
IV.3. Les autres pathologies associées au syndrome métabolique.....	86
IV.3.1. La stéatose hépatique non alcoolique.....	87
IV.3.2. Le syndrome des ovaires polykystiques (SOPK).....	87
IV.3.3. L'apnée obstructive du sommeil ou syndrome des apnées du	87
IV.3.4. Hypogonadisme.....	87
IV.3.5. La lipodystrophie.....	88
IV.3.6. Les maladies de la microcirculation.....	88
V. La thérapeutique dans le syndrome métabolique et le diabète de type 2	88
V.1. Thérapie ciblant la perte de poids.....	89

Sommaire

V.1.1. Régime alimentaire.....	89
V.1.2. Activité physique.....	90
V.1.3. La thérapie pharmacologique de la perte de poids	90
V.1.4 La chirurgie bariatrique	91
V.2. Thérapie limitant l'absorption des sucres alimentaires ou sanguins.....	91
V.3. Thérapie contre les anomalies lipidiques.....	91
V.4. Thérapie inhibant la production hépatique de glucose	92
V.5. Thérapie augmentant la sécrétion d'insuline.....	93
V.5.1. Les sulfonyles ou sulfamides hypoglycémisants (SU)	93
V.5.2. Les non-sulfonyles (NSU) ou glinides.....	94
V.6. Thérapie visant à augmenter la sensibilité à l'insuline	94
V.7. Autres thérapies et molécules.....	95
Chapitre III : Méthodes d'évaluation de l'insulino-sensibilité <i>in vivo</i>	98
I. Les méthodes directes de mesure.....	98
I.1. Le clamp euglycémique hyperinsulinémique.....	98
I.2. Le test de suppression insulémique.....	99
II. Les méthodes indirectes de mesure	100
II.1. Le test de tolérance intraveineuse à l'insuline ("Insulin Tolerance Test":ITT)	100
II.2. Analyse par "Minimal Model" (MINMOD).....	100
II.3. Test de tolérance au glucose par voie orale et index dérivés.....	101
II.4. Index basés sur les concentrations à jeun d'insuline et de glucose	102
II.4.1. "HOMeostasis Model Assessment" (HOMA).....	102
II.4.2. "Quantitative Insulin Sensitivity Check Index" (QUICKI).....	102
Chapitre IV : La mesure du transport du glucose <i>in vivo</i>	104
I. La SRMN (Roden, 1999).....	104
II. La technique de dilution des multiples traceurs.....	105
III. La TEP.....	106
IV. Le 6-déoxy-6-iodo-D-glucose (6DIG).....	107
Travail Expérimental.....	112
1 ^{ère} partie : Validation de la méthode de mesure de l'insulino-résistance cardiaque avec le 6DIG.....	114
I. Validation de l'index d'insulino-résistance cardiaque.....	114
1. Matériels.....	114
a. Matériels	114
b. Synthèse et marquage du 6DIG.....	114
c. Acquisition de la radioactivité.....	116

Sommaire

d. Dosage du glucose.....	117
2. Méthodes.....	117
a. Animaux.....	117
b. Protocole expérimental.....	118
c. Analyse des résultats et modélisation mathématique.....	120
d. Expression des résultats et tests statistiques.....	125
3. Résultats.....	125
a. Etude de reproductibilité de l'index cardiaque.....	125
b. Etude de sensibilité.....	126
c. Etude de la reproductibilité inter et intra-observateur.....	128
II. Détermination et validation d'un descripteur empirique d'insulino-résistance	
cardiaque.....	131
1. Détermination du descripteur empirique.....	131
2. Validation du DE cardiaque.....	132
III. Comparaison à la méthode de référence et aux index d'IR proposées dans la	
littérature (HOMA et QUICKI).....	133
1. Matériels et méthodes.....	133
a. Matériels.....	133
b. Méthodes.....	134
2. Résultats.....	135
IV. Discussion.....	137
2 ^{ème} partie : Développement et validation d'une méthode de mesure de l'IR	
musculaire avec le 6DIG.....	142
I. Développement du modèle pour l'étude du transport du 6DIG dans le muscle	
squelettique.....	143
1. Matériels et méthodes.....	143
a. Modèle mathématique.....	143
b. Méthodes et protocole expérimentale.....	146
2. Résultats.....	147
II. Comparaison à la méthode de référence et aux index d'IR proposées dans la	
littérature (HOMA et QUICKI).....	148
1. Matériels et méthodes.....	148
a. Matériels.....	148
b. Méthodes.....	149
2. Résultats.....	151
III. Discussion.....	152

3ème partie : Validation des DE d'IR cardiaque et musculaire.....	155
I. Comparaison des DE cardiaque et musculaire calculés pour un groupe de rats sains et pour un groupe de rats insulino-résistants.....	155
1) Matériels et méthodes.....	155
a. Matériels.....	155
b. Protocole expérimental.....	156
2) Résultats.....	156
II. Reproductibilité et sensibilité des DE cardiaque et musculaire.....	157
1. Matériels et méthodes.....	157
a. Matériels.....	157
b. Méthodes.....	157
2. Résultats.....	159
a. Etude de reproductibilité.....	159
b. Etude de sensibilité.....	159
III. Descripteur empirique musculaire chez le rat éveillé.....	161
1. Matériels et méthodes.....	161
a. Matériels.....	161
b. Méthodes.....	161
2. Résultats.....	163
a. Etude de reproductibilité.....	163
b. Etude de sensibilité.....	164
IV. Discussion.....	165
Discussion générale.....	168
Annexes.....	171
Références bibliographiques.....	174

Introduction

Introduction

Le glucose est un substrat énergétique essentiel pour l'organisme humain. Il est véhiculé par le sang jusqu'aux organes, où il est transporté à l'intérieur des cellules pour être métabolisé. Cette étape de transport est primordiale pour son métabolisme.

Comme tout processus physiologique, le métabolisme glucidique est régulé par des mécanismes complexes. L'insuline participe à l'homéostasie énergétique en général, mais elle est l'hormone clé dans le transport du glucose. En effet, l'insuline est la seule hormone à favoriser la captation de glucose post-prandiale. De ce fait, un défaut d'action de l'insuline sur ses tissus cibles se répercute sur le métabolisme entier, et entraîne des processus pathologiques en cascade. Ce défaut est appelé insulino-résistance (IR). Il est souvent associé à d'autres anomalies métaboliques, telles que le surpoids et l'obésité, qui concernent plus d'un milliard de personnes dans le monde. L'IR est au centre d'un regroupement de pathologies désignées sous le terme de "Syndrome Métabolique". De plus, la résistance à l'insuline provoque une augmentation de la sécrétion de l'insuline, afin de palier son défaut d'action, et contribue au développement du diabète de type 2. Il est maintenant bien établi que le syndrome métabolique et/ou le diabète de type 2 augmentent considérablement le risque de maladies cardiovasculaires, qui sont la première cause de mortalité dans le monde.

Un dépistage précoce de la résistance à l'insuline représente donc un enjeu clinique majeur, permettant une prise en charge plus rapide des sujets à risque.

Les techniques actuelles de mesure de la sensibilité à l'insuline sont très diverses. Les techniques de mesure robustes sont lourdes et contraignantes pour le patient, et les techniques plus simples sont souvent peu reproductibles et peu informatives. De plus, aucune technique ne permet la mesure de la sensibilité à l'insuline de façon régionale. Il n'y a donc pas de méthode de mesure qui soit suffisamment simple et précise pour être appliquée en routine clinique.

Les techniques d'imagerie nucléaire telles que la TEMP (Tomographie par Emission Mono-Photonique) ou la TEP (Tomographie par Emission de Positons), utilisant des traceurs radioactifs adaptés, fournissent des outils adéquats pour le développement de méthodes de mesure de l'IR. Les deux analogues du glucose les plus étudiés *in vivo* chez l'homme, sont le [¹⁸F]-2-fluoro-2-déoxy-D-glucose (FDG) et le [¹¹C]-3-O-méthyl-D-glucose (3OMG). Ces deux traceurs sont utilisés en TEP. Le 3OMG est le traceur de référence du transport du

glucose car il entre dans la cellule par les mêmes transporteurs que le glucose et n'est pas phosphorylé par l'hexokinase, et ressort de la cellule. Il trace ainsi uniquement l'étape de transport. Cependant la demi-vie du carbone 11 est très courte (20,4 minutes). Son utilisation implique d'être à proximité du cyclotron qui assure sa production.

Le FDG trace l'étape de transport du glucose, et est phosphorylé par l'hexokinase, traçant ainsi également le métabolisme. La demi-vie du ^{18}F est d'1,83 heures, ce qui lui permet d'être utilisé en routine clinique. Il est à l'heure actuelle le seul analogue du glucose utilisé dans les services de médecine nucléaire. Le FDG est utilisé principalement en oncologie.

C'est dans ce contexte que l'UMR_S 877 a développé un analogue iodé du glucose, le [^{123}I]-6-déoxy-6-iodo-D-glucose (6DIG). Ce traceur présente un comportement similaire à celui du 3OMG, en entrant dans les cellules sans être phosphorylé : c'est un traceur pur du transport du glucose (Koumanov, 1995 ; Henry, 1997a). Des études de biodistribution avec le 6DIG ont été effectuées en conditions basales et en présence d'insuline. 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 (Perret, 2003). Un protocole de mesure et un modèle mathématique ont été développés pour étudier de façon quantitative le transport du 6DIG dans le cœur, organe le plus discriminant (Slimani, 2002 ; Briat, 2007). Cette étape de quantification permet de déterminer un index R d'IR cardiaque.

L'objectif de mon travail s'inscrit dans la continuité de ces travaux. Il consiste :

- Dans un premier temps à valider l'index d'IR cardiaque, c'est-à-dire tester la reproductibilité et la sensibilité de la méthode de mesure.
- Dans un deuxième temps à développer une méthode de mesure de la sensibilité à l'insuline dans le muscle squelettique, organe insulino-sensible le plus important de l'organisme, avec le 6DIG.
- Et dans un troisième temps de regrouper ces deux méthodes en un seul protocole transposable chez l'homme, permettant de déterminer la sensibilité à l'insuline cardiaque et musculaire au cours de la même expérience.

Revue Bibliographique

Revue Bibliographique

Chapitre I

1^{ère} partie : Le transport du glucose

Les transporteurs membranaires du glucose appartiennent à deux familles distinctes. Les SGLTs (Sodium GLucose Transporters), co-transporteurs Na⁺/glucose, réalisent un transport unidirectionnel secondairement actif dans le rein et l'intestin. Les GLUTs (GLUcose Transporters) assurent la diffusion facilitée du glucose dans la plupart des cellules de l'organisme. Ces derniers permettent un transport bidirectionnel du glucose suivant le gradient de concentration. Le transport facilité est sélectif, saturable et peut être inhibé par un inhibiteur spécifique, la cytochalasine B (Gould, 1993). Il existe au moins trois isoformes de SGLTs et treize isoformes de GLUTs.

I. Les co-transporteurs SGLTs (pour revue : Wright, 2004)

I.1. Structure

Trois gènes distincts ont été identifiés : SLC5A1, SLC5A2 et SLC5A4. Ils codent respectivement pour trois isoformes des protéines de transport : SGLT1, SGLT2 et SGLT3. Les SGLT 1, 2 et 3 sont constitués respectivement de 662, 664 et 660 acides aminés, et possèdent 14 domaines transmembranaires organisés en hélices α (figure 1).

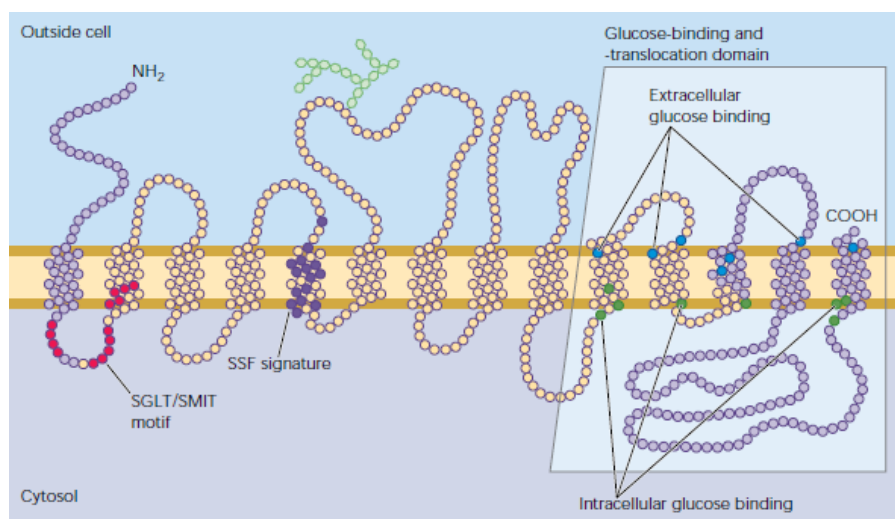


Figure 1. Structure secondaire du co-transporteur SGLT1 (Wright, 2004).

I.2. Fonction

Chez les mammifères, l'absorption et la réabsorption active du glucose ont lieu dans les cellules épithéliales de l'intestin grêle et des tubes contournés proximal et distal des néphrons rénaux. Dans les deux cas, le transport est assuré par les transporteurs de la famille des SGLTs. Ce transport est secondairement actif : le co-transport Na^+ /glucose est possible grâce au gradient électrochimique de sodium entretenu par les pompes Na^+/K^+ ATPases situées dans la membrane basolatérale des cellules épithéliales intestinales et rénales (figure 2).

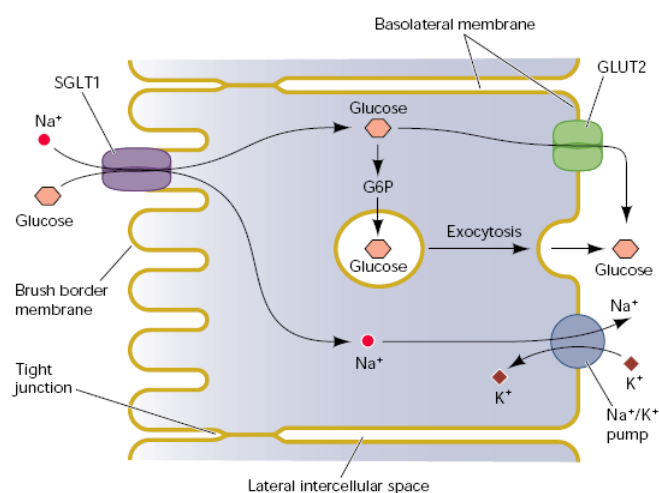


Figure 2. Absorption du glucose par l'intestin grêle (Wright, 2004).

I.3. Distribution et rôles physiologiques

SGLT1 est principalement exprimé dans la bordure en brosse des cellules épithéliales de l'intestin grêle, dans le myocarde et dans les cellules épithéliales du tubule contourné distal des néphrons (Zhou, 2003). SGLT2 montre un profil d'expression ubiquitaire, avec une expression plus forte dans les cellules épithéliales du tubule contourné proximal des néphrons (Wright, 2001). SGLT3 a été détecté essentiellement dans l'intestin, la rate, le foie, les reins et le muscle. Ces isoformes possèdent des affinités, estimées par leur K_m , différentes pour le glucose. Ce K_m correspond à la concentration de glucose pour laquelle la vitesse de transport est égale à la moitié de la vitesse maximale. Le K_m de SGLT1 est de 0,4 mM, celui de SGLT2 est de 2 mM et celui de SGLT3 est de 6 mM (Wright, 2001). SGLT1 est un symporteur de haute affinité mais de faible capacité, donc rapidement saturable, alors que SGLT2 est un symporteur de faible affinité mais de grande capacité. Sur un plan physiologique, SGLT2 est responsable de la réabsorption de 90 % du glucose de l'urine

primitive, SGLT1 assurant la réabsorption des dernières traces de glucose restant dans la partie distale des tubules rénaux.

Des études plus récentes ont montré que le SGLT3 ne serait pas un transporteur Na⁺/glucose mais plutôt un canal ionique glucose-dépendant (Diez-Sampedro, 2003). SGLT3 est notamment exprimé dans les neurones cholinergiques de l'intestin grêle et dans les jonctions neuromusculaires. Les variations de glycémie changent le potentiel membranaire (dépolérisation Na⁺ dépendante) des neurones cholinergiques du système nerveux entérique et des jonctions neuromusculaires (Diez-Sampedro, 2003). SGLT3 agit comme un "senseur" de glucose en "informant" les neurones des concentrations externes en glucose.

II. Les transporteurs du glucose ou GLUTs

II.1. Caractéristiques générales (pour revue: Joost, 2001)

Dans la plupart des cellules de l'organisme, le transport du glucose est assuré par les GLUTs. Ces transporteurs permettent un transport bidirectionnel suivant le gradient de concentration du glucose. Ce transport est sélectif, saturable et peut être inhibé par des inhibiteurs spécifiques, comme la cytochalasine B ou la phlorétine. Il suit une cinétique de type Michaëlis-Menten. Le comportement du transporteur est assimilé à celui d'une enzyme, le D-glucose étant considéré comme substrat d'un côté de la membrane et comme produit de l'autre. Il existe plusieurs isoformes de ces transporteurs, chacune possède des caractéristiques individuelles (Km, Vmax, localisation, sensibilité hormonale) adaptées aux propriétés particulières des différents types cellulaires dans lesquels elles sont exprimées.

II.2. Structure et sous-familles des GLUTs

Les GLUTs possèdent tous environ 500 acides aminés. L'homologie de séquence entre les GLUTs varie de 38 à 68%. Malgré ces variations, la structure secondaire déduite de la séquence en acides aminés est très conservée d'une isoforme à l'autre. Les GLUTs sont des protéines possédant 12 domaines transmembranaires hydrophobes organisés en hélices α . Leurs extrémités N-terminale et C-terminale sont localisées du côté cytoplasmique. Les régions terminales et les segments extracytoplasmiques sont des régions peu conservées qui contribuent aux propriétés spécifiques de chaque isoforme. Les séquences des segments M1-

M12 et les petites boucles de connexion, qui sont hautement conservées, sont responsables d'une fonction commune, le transport du glucose. La famille des transporteurs du glucose GLUTs est divisée en trois sous-classes en tenant compte essentiellement de la séquence en acides aminés et de l'affinité de ces protéines pour le glucose (figures 3 et 4). Certains acides aminés présents dans la boucle courte, située entre les hélices 7 et 8, sont impliqués directement dans les changements de conformation se produisant au cours du processus de transport (Doege, 1998) (figure 3).

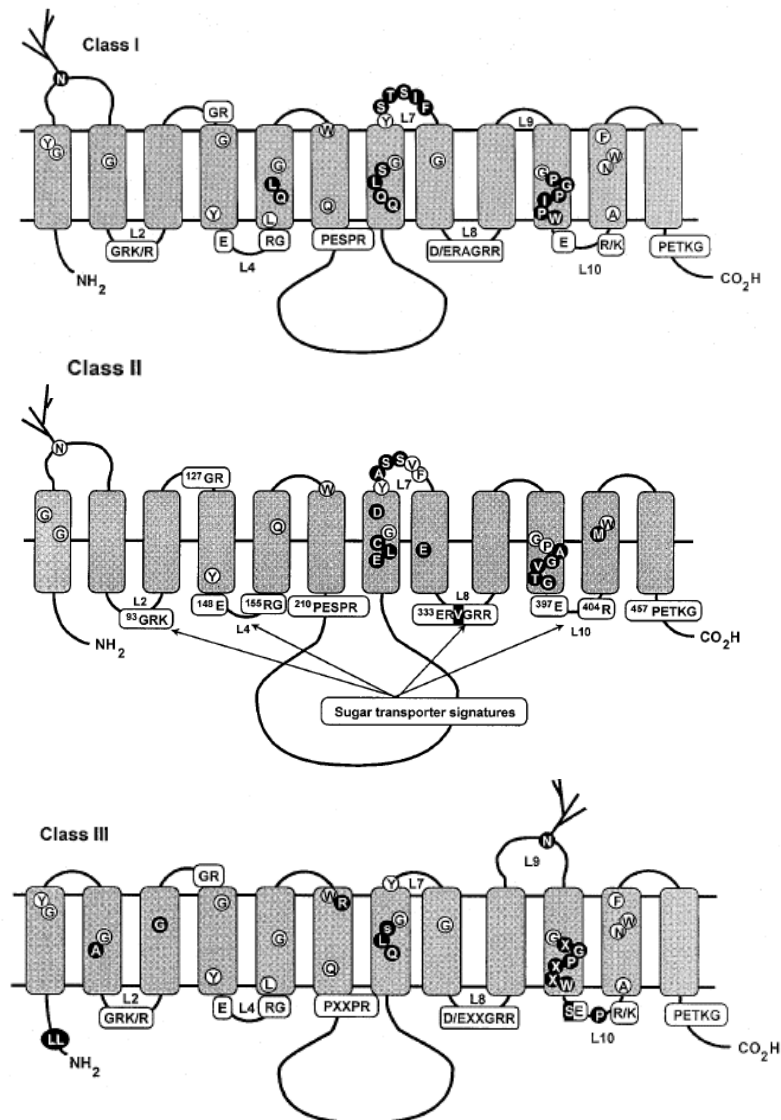


Figure 3. Topologie des GLUTs de classe I, II et III. Les acides aminés sur fond blanc sont hautement conservés dans les GLUTs en général. Ceux sur fond noir sont spécifiques de leur classe (Joost, 2001 ; Doege, 2001).

Ces transporteurs sont nommés selon l'ordre dans lequel ils ont été découverts. Dans le début des années 2000, l'avancée du séquençage de l'ADN a permis de découvrir encore 8 autres membres de la famille des GLUTs sur la base de leurs homologies de séquence avec les protéines GLUT1-4 (Joost, 2002).

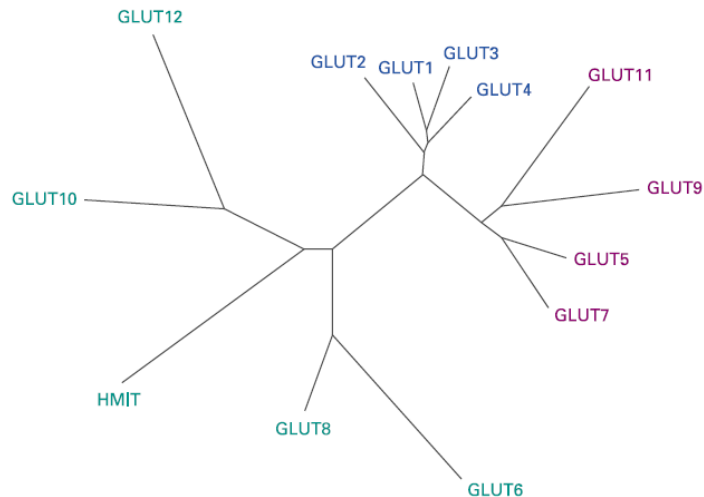


Figure 4. Représentation des différentes sous-familles de GLUTs (Woods 2003).

La classe I regroupe les GLUT1-4 qui se distinguent principalement par leur distribution tissulaire, leur affinité pour le glucose (K_m de 3 à 30 mM) et leur régulation hormonale (translocation des GLUT4 par l'insuline). Un site de glycosylation est présent entre les boucles 1 et 2. Une large boucle intracellulaire relie les hélices 6 et 7. La présence d'un résidu glutamine dans l'hélice 5 et d'un motif STSIF dans la boucle 7 apparaît comme caractéristique de cette classe I de transporteurs (Doerge, 1998).

La classe II comprend le transporteur spécifique au fructose GLUT5 et trois transporteurs associés GLUT7, GLUT9 et GLUT11. La séquence la plus caractéristique des transporteurs de la classe II est une absence de tryptophane dans la séquence suivant le motif conservé GPXXXP de l'hélice 10, correspondant au tryptophane 388 du GLUT1. Il a été montré que ce tryptophane est important dans la liaison avec des inhibiteurs du transport comme la cytochalasine B, mais pas pour le transport du glucose (Garcia, 1992).

La classe III comprend cinq isoformes : GLUT6, GLUT8, GLUT10, GLUT12 et HMIT (H⁺/Myo-Inositol Transporteur). Les transporteurs de la classe III sont caractérisés par des boucles extracellulaires plus petites entre les hélices 1 et 2, et entre les hélices 9 et 10, ce qui réduit le site de glycosylation sur cette dernière. Ces différences de structure sont schématisées sur la figure 3.

II.3. Mécanisme de transport

Le transporteur du glucose, principalement en raison de sa lipophilie, n'a pas pu être cristallisé. C'est pourquoi le fonctionnement moléculaire des transporteurs reste peu connu. Il est cependant basé sur le fonctionnement hypothétique proposé pour le GLUT1.

Les segments transmembranaires sont organisés en hélices α . Cinq d'entre eux, parmi les segments les plus hydrophiles : 2, 3, 5, 7, 8 et 11, présentent des groupes d'acides aminés hydrophiles d'un côté du cylindre (hélice α) et hydrophobes de l'autre (figure 5). Ces cinq segments forment un canal hydrophile, en tournant leurs faces lipophiles vers les lipides de la membrane et leurs faces hydrophiles vers l'intérieur. Le glucose utilise ce canal hydrophile pour entrer dans la cellule (Lienhard, 1992).

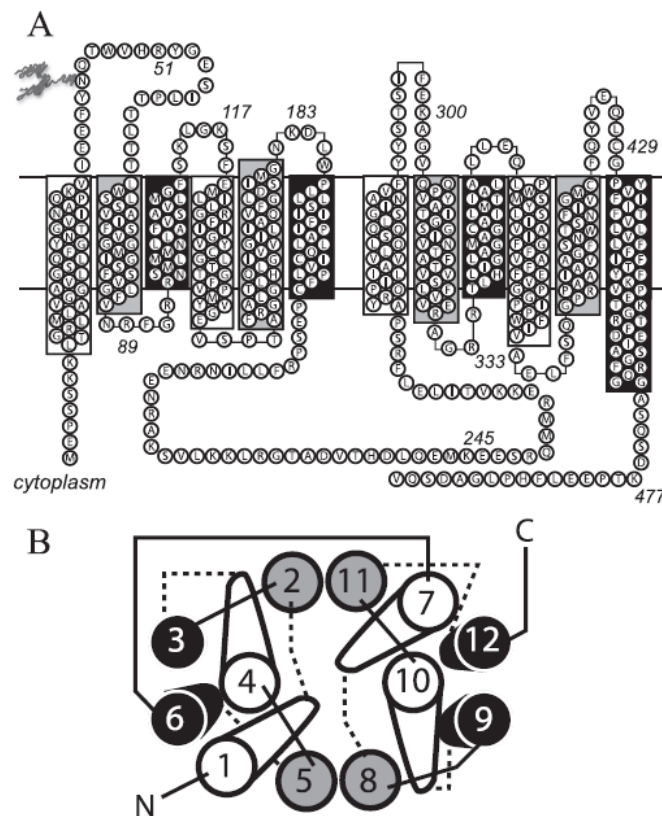


Figure 5. A. Topologie du GLUT1. Les domaines transmembranaires sont classés ici en trois groupes, des plus hydrophiles (en blancs puis en gris) aux moins hydrophiles (en noirs). B. Arrangements supposés des domaines transmembranaires. Le code couleur de la figure A est conservé (Blodgett, 2008).

Le modèle de transport, basé sur les observations obtenues avec le GLUT1, propose des conformations alternatives. La liaison du glucose au transporteur, par des liaisons hydrogènes faibles donc transitoires, entraîne un changement de sa conformation, de sorte que le site de liaison s'oriente vers l'intérieur de la cellule. Le transporteur libère ainsi le glucose dans le cytoplasme, avant de retrouver sa conformation initiale, avec le site de liaison vers l'extérieur

(Lienhard, 1992). Des études ont montré que le site pouvait être occupé par deux molécules en même temps (Carruthers, 1986). Ceci s'explique par la présence du GLUT1 sous plusieurs formes, principalement dimérique et tétramérique.

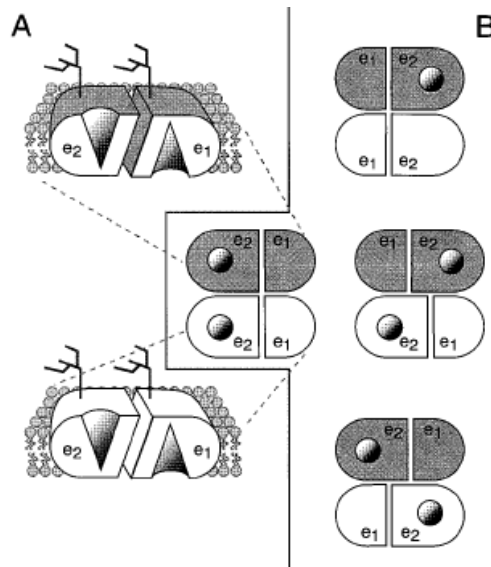


Figure 6. Modèle de structure oligomérique proposé pour le GLUT1. Les isomères de GLUT1 s'associent en dimère puis en tétramère, le site de liaison pouvant être alternativement exposé côté extracellulaire ou intracellulaire (Hamill, 1999).

Un modèle à deux sites a été proposé (Baker, 1973). Dans ce cas, les deux conformations existent de façon simultanée et deux molécules de glucose traversent en même temps, en sens opposé, la membrane plasmique. Selon ce modèle, il existe un seul site de liaison au glucose qui est alternativement à l'intérieur ou à l'extérieur de la cellule. Cependant, une étude montre qu'il existe en fait deux sites de liaison au sucre et que chaque sous-unité du tétramère est une voie de translocation du sucre (figure 6) (Hamill, 1999).

Quel que soit le modèle, un changement de conformation est toujours à l'origine du transport. L'entrée du glucose dans la cellule se ferait par une interaction entre les parties C1 et C3 de la molécule avec le transporteur par liaison hydrogène. Cette interaction provoquerait un changement de conformation du transporteur, entraînant l'exposition du site vers l'intérieur et la libération du glucose dans la cellule. Une fois le glucose libéré, le transporteur retrouverait sa configuration initiale. La sortie du glucose se ferait par interaction des régions C4 et C6 de la molécule avec le transporteur (figure 7) (Barnett, 1975).

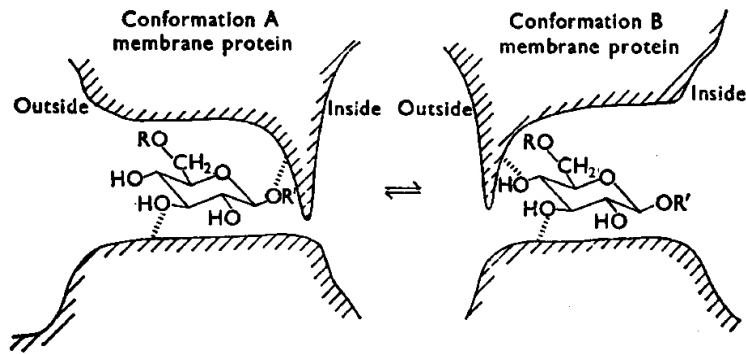


Figure 7. Modèle hypothétique du transport facilité du glucose (Barnett, 1975).

Cet effet est direct, il ne requiert pas l'hydrolyse d'ATP et peut être inhibé par une augmentation en H^+ , en AMP ou en ADP intracellulaire. Les résidus 301 à 364 (boucle entre les hélices 8 et 9) du GLUT1 sont impliqués dans cette régulation, puisqu'une mutation sur ce site provoque une inhibition de l'action de l'ATP (Levine, 2002). Le transport via GLUT1 est aussi régulé par la présence d'ATP cytoplasmique. La liaison de la molécule d'ATP provoque un changement de conformation au niveau de la partie C-terminale du transporteur qui va alors interagir avec la boucle 6-7, limitant ainsi le transport du glucose (figure 8) (Blodgett, 2007). La régulation de l'activité de transport par l'ATP n'a pas été montrée pour les autres GLUTs. Par contre, des résidus de la région C-terminale du GLUT4 freinent son activité de transport ; le remplacement de ces résidus par des résidus de la région C-terminale de GLUT1 augmente le transport du GLUT4 d'un facteur 4 (Dauterive, 1996). Les résidus des parties C-terminale des transporteurs sont importants pour la fonction de transport des GLUTs et les séquences C-terminale des transporteurs GLUT4 et GLUT1 possèdent des fonctions isoformes-spécifiques.

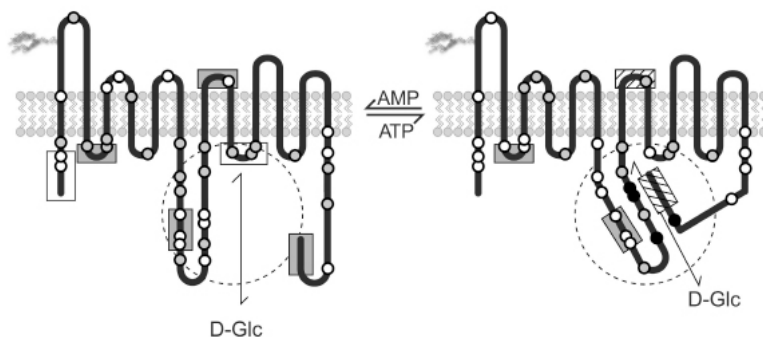


Figure 8. Modèle de régulation du GLUT1 par l'ATP. Les rectangles hachurés correspondent aux sites sensibles à l'ATP. En présence d'ATP la partie C-terminale du GLUT1 et la partie de la boucle 6-7 changent de conformation et se rapprochent, ce qui va réduire la voie de passage au glucose (Blodgett, 2007).

II.4. Distribution et rôles physiologiques (Joost, 2001)

L'expression des GLUTs est très variable selon les tissus. De manière générale, chaque tissu présente une isoforme majoritaire avec des caractéristiques parfaitement adaptées à sa fonction (Tableau 1).

Isoform	Previous name	Class	Main tissue localization	Insulin sensitive?	Functional characteristics (transport)	Present in skeletal muscle?*	Present in white adipose tissue?*
GLUT1	–	I	Erythrocytes, brain, ubiquitous	No	Glucose	Yes	Yes
GLUT2	–	I	Liver, pancreas, intestine, kidney	No	Glucose (low affinity); fructose	No	No
GLUT3	–	I	Brain	No	Glucose (high affinity)	No	Yes (m)
GLUT4	–	I	Heart, muscle, WAT, BAT, brain	Yes	Glucose (high affinity)	Yes	Yes
GLUT5		II	Intestine, testes, kidney	No	Fructose; glucose (very low affinity)	Yes	Yes
GLUT6	GLUT 9	III	Brain, spleen, leucocytes	No	Glucose	No	n.d.
GLUT7		II	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
GLUT8	GLUT X1	III	Testes, brain and other tissues	No (yes in blastocytes)	Glucose	Yes (m)	Yes (m)
GLUT9	GLUT X	II	Liver, kidney	n.d.	n.d.	No	n.d.
GLUT10		III	Liver, pancreas	No	Glucose	Yes (m)	n.d.
GLUT11†	GLUT 10	II	Heart, muscle	No	Glucose (low affinity); Fructose (long form)	Yes (m)	No
GLUT12	GLUT 8	III	Heart, prostate, muscle, small intestine, WAT	Yes	n.d.	Yes	Yes
HMIT		III	Brain	n.d.	H ⁺ -myo-inositol	No (m)	Yes (m)

WAT, white adipose tissue; BAT, brown adipose tissue; m, mRNA only; n.d., not determined; HMIT, H⁺-coupled myo-inositol transporter.
 * The presence of each transporter in skeletal muscle and WAT is shown since these are the major sites of insulin-stimulated glucose uptake.
 † GLUT11 occurs in two splice variants: a short form (low-affinity glucose transport) and a long form (which may be a fructose transporter).

Tableau 1. Distribution tissulaire des transporteurs du glucose (Wood 2003).

II.4.1. GLUT1

Le GLUT1 est exprimé de façon ubiquitaire. Toutefois, il est plus présent dans les érythrocytes, les fibroblastes et les cellules endothéliales et est plus faiblement exprimé dans le muscle, le foie et le tissu adipeux. De manière générale, GLUT1 assure le transport basal du glucose dans tous les tissus de l'organisme adulte et fœtal. GLUT1 est également exprimé dans le cerveau sous deux formes de poids moléculaires 45 et 55 kDa. Le GLUT1 45 kDa est exprimé principalement dans les neurones et les astrocytes, tandis que GLUT1 55 kDa est plutôt exprimé dans les cellules endothéliales des microvaisseaux qui constituent la barrière hémato-encéphalique, où ils présentent une distribution asymétrique. Ils se trouvent en effet principalement du côté ab-luminal (côté cerveau par rapport au côté sanguin, luminal), favorisant ainsi le passage du glucose à travers cette barrière (Maher, 1994a). L'expression

des GLUT1 est importante dans toutes les lignées cellulaires en culture et est induite par la plupart des agents mitogènes. Elle est de même augmentée dans les cellules cancéreuses.

Le Km de sortie du GLUT1 étant 5 à 10 fois supérieur à son Km d'entrée (10-20 mM), le transport s'effectue de façon asymétrique. Ce type de transport favorise le passage du glucose du sang vers les organes, en particulier vers le cerveau via les astrocytes.

Le rôle du GLUT1 consiste donc en l'apport en énergie nécessaire aux cellules pour assurer leur fonctionnement de base, incluant croissance et prolifération (Gould, 1997).

II.4.2. GLUT2

Le GLUT2 est une protéine de 524 acides aminés qui est principalement exprimée dans les hépatocytes et les cellules β -pancréatiques et, en plus faible quantité, dans les cellules des reins et de l'intestin grêle (Gould, 1991). GLUT2 se caractérise par sa faible affinité pour le glucose, avec un Km très élevé par rapport aux concentrations physiologiques en glucose, et un turn-over élevé (Gould, 1991). Le transport à travers le GLUT2 s'effectue de façon linéaire entre les concentrations extracellulaires et intracellulaires en substrat. Les hépatocytes utilisent les GLUT2 couplés avec la glucokinase, responsable de la synthèse de glucose-6-phosphate, pour maintenir une concentration intracellulaire basse en glucose libre et permettre une entrée continue de glucose. A l'inverse, lors de la néoglucogenèse et de la glycogénolyse, la glucokinase est moins active et la phosphoénolpyruvate l'est plus. De cette façon, la concentration en glucose libre intracellulaire augmente, devenant plus grande que la concentration plasmatique. Cette différence va entraîner un efflux de glucose des hépatocytes vers la circulation (Gould, 1997).

De la même façon, les cellules β -pancréatiques sont sensibles aux variations de concentrations en glucose circulant, ce qui leur permet de réguler les quantités d'insuline sécrétée. Les GLUT2 assurent un transport non saturé en conditions physiologiques, directement proportionnel à la concentration plasmatique en glucose. Comme dans le foie, l'activité de la glucokinase régule l'entrée du glucose dans la voie glycolytique. Le couple GLUT2/glucokinase agit ainsi comme un système "glucosenseur" pour la cellule β , lui permettant d'adapter sa sécrétion d'insuline en fonction de la glycémie (Sécrétion de l'insuline, p29). GLUT2 est exprimé dans les cellules épithéliales du rein et de l'intestin grêle. Dans ces cellules, l'expression est confinée à la membrane basolatérale des cellules, ce qui indique que les GLUT2 travaillent en tandem avec les Na⁺/glucose co-transporteurs

SGLT1 pour permettre le transport transépithéliale du glucose du lumen intestinal jusqu'au sang.

II.4.3. GLUT3

Le transporteur GLUT3 est une protéine de 496 acides aminés exprimée de façon majoritaire par les neurones (Maher, 1994b) et les cellules du placenta où il est impliqué dans le transport du glucose vers l'embryon, et de façon minoritaire par les cellules adipeuses et musculaires. Son expression dans le cerveau est augmentée en cas d'hypoglycémie, prévenant ainsi un manque d'énergie des neurones. Il est plus faiblement présent dans le foie, le cœur et les reins. Son Km est particulièrement bas, ce qui suggère que le transport via GLUT3 est proche du maximum dans les conditions physiologiques de concentration en glucose (Gould, 1991).

II.4.4. GLUT4

Le transporteur GLUT4 est principalement exprimé dans les tissus insulino-sensibles, c'est-à-dire les muscle cardiaque et squelettique et le tissu adipeux (James, 1988 ; Birnbaum, 1980). Le GLUT4 a un rôle central dans le métabolisme glucidique. Sa translocation à la surface de la cellule est régulée par l'action de l'insuline (Suzuki, 1980 ; Gould, 1997).

Par ailleurs, des pools de transporteurs GLUT4, distincts de ceux recrutés par l'insuline, sont mobilisés par l'exercice musculaire (Pereira, 2004). Cette translocation permet au muscle, par une augmentation du transport du glucose, d'assurer l'apport énergétique nécessaire à l'effort. Lors de la contraction musculaire, l'augmentation de la concentration intracellulaire de calcium active la calmoduline kinase II, la protéine kinase C et l'AMPK, qui est également activée par la diminution du ratio ATP/AMP intracellulaire présente lors de l'exercice ou en conditions hypoxiques. Ces trois protéines provoquent la translocation des GLUT4 à la surface membranaire.

II.4.5. GLUT5

L'isoforme GLUT5 est fortement exprimée dans l'intestin grêle. Elle est également exprimée de façon plus faible, dans les reins, le muscle squelettique, le cerveau (microglie), le tissu adipeux et les testicules. Sa distribution dans l'intestin grêle est limitée à la bordure en brosse

des cellules transépithéliales. Il a été montré que le fructose, pour lequel le GLUT5 montre une meilleure affinité ($K_m \sim 5\text{mM}$) que pour le glucose ($K_m \sim 8\text{mM}$), est en fait son substrat principal (Burant, 1992).

II.4.6. GLUT6

Le transporteur GLUT6 (ancienne appellation GLUT9) est surtout exprimé dans le cerveau, la rate et les leucocytes périphériques. Ce transporteur a une faible affinité pour le glucose ($K_m \sim 5\text{mM}$), ainsi que pour la cytochalasine B. Il est donc possible que GLUT6 ait une meilleure affinité pour un autre substrat encore inconnu. Le transporteur GLUT6 a été localisé à l'intérieur de la cellule mais aucun signal de translocation vers la membrane plasmique n'a été identifié à ce jour (Lisinski, 2001).

II.4.7. GLUT7

Le transporteur GLUT7 est une protéine de 524 acides aminés, exprimée principalement dans la partie distale de l'intestin grêle (l'iléon), le colon, la prostate et les testicules (Li, 2004). Il présente une forte affinité pour le glucose ($K_m \sim 0,3\text{mM}$), mais aussi pour le fructose ($K_m \sim 0,1\text{mM}$) (Li, 2004). La présence du GLUT7 dans l'iléon, indique son rôle dans la captation post-prandiale du glucose et du fructose même pour des concentrations faibles en substrat. Le GLUT7 est utilisé par les spermatozoïdes pour capter le fructose, qu'ils utilisent comme substrat (Angulo, 1998).

II.4.8. GLUT8

Le transporteur GLUT8, connu également sous le nom de GLUTX1, possède environ 30% d'acides aminés en commun avec le transporteur GLUT1. Il est fortement exprimé dans les testicules, et plus faiblement dans le cœur, le muscle squelettique, l'intestin grêle et le cerveau, au niveau du gyrus denté et des neurones pyramidaux de l'hippocampe. Le GLUT8 est mobilisé à la surface cellulaire par l'insuline et contribue à l'augmentation du transport du glucose dans les blastocytes. Cependant, GLUT8 n'est que faiblement exprimé chez l'adulte. Ce transporteur joue un rôle important principalement lors de l'embryogenèse. Son

expression est stimulée par l'insuline, ce qui permet, par l'augmentation du transport du glucose, l'apport en énergie nécessaire au développement de l'embryon.

Son expression dans les testicules est régulée de façon hormonale puisqu'elle est inhibée par un traitement aux œstrogènes, connus pour supprimer la sécrétion de gonadotropine. Il y a donc une régulation de l'expression de GLUT8 par les gonadotropines et/ou une dépendance à la spermatogenèse. Les transporteurs GLUT8 sont impliqués dans l'approvisionnement en glucose requis pour la synthèse d'ADN dans la germination des spermatozoïdes (Schürmann, 2002).

Les transporteurs GLUT8 sont également exprimés dans l'hippocampe, dans le compartiment intracellulaire des cellules de l'hippocampe et de l'hypothalamus, plus particulièrement dans les endosomes et les lysosomes (Widmer, 2005). Comme pour GLUT6, aucun stimulus de translocation vers la membrane n'a encore été trouvé. La mutation sur le motif dileucine en position N-terminale, nécessaire à l'internalisation des transporteurs, conduit à une expression constitutive des GLUT8 sur la membrane plasmique (Lisinski, 2001). L'hypothèse actuelle implique le GLUT8 dans le transport du glucose intracellulaire, vers les différents organites (Schmidt, 2009).

Une étude sur des cellules d'hippocampe en culture, a montré une redistribution des GLUT8 sur la membrane du réticulum endoplasmique lors de l'hyperglycémie induite par la streptozotocine (drogue qui détruit les cellules β pancréatiques), suggérant une sensibilité du transporteur aux variations de concentration en glucose (Piroli, 2004).

II.4.9. GLUT9

Le transporteur GLUT9 possède respectivement 44% et 38% d'homologie avec le GLUT5 et le GLUT1 (Phay, 2000). Il est essentiellement exprimé dans le rein et le foie. Le transporteur GLUT9 est faiblement exprimé dans l'intestin grêle, le placenta, les poumons, les leukocytes, la rate et le cerveau. La caractérisation du GLUT9 a montré qu'il est fonctionnel pour le transport du glucose. Une étude a montré la présence de GLUT9 dans les chondrocytes dont ils régulent l'activité métabolique et la survie dans les matrices cartilagineuses (Mobasher, 2002). Par ailleurs, il a été montré que le polymorphisme du gène du transporteur GLUT9 est corrélé avec l'augmentation d'apparition d'arthrite goutteuse (Stark, 2008).

II.4.10. GLUT10

Ce transporteur de 541 acides aminés présente une forte homologie avec le GLUT8. GLUT10 est principalement exprimé dans le foie et le pancréas, même si de faibles niveaux d'expression ont été retrouvés dans le cœur, le placenta, le muscle squelettique, le rein, le poumon et le cerveau. Le transporteur GLUT10 a montré une très bonne affinité pour le déoxyglucose (0,3 mM), cette affinité est diminuée en présence de D-glucose, de D-galactose, mais pas en présence de fructose (Dawson, 2001). Le gène SLC2A10 est co-localisé sur le chromosome 20 avec un locus susceptible de jouer un rôle dans le développement du diabète de type 2. Cette contribution au développement du diabète reste à démontrer, même si un polymorphisme dans le codon 206 est plus souvent observé chez des individus présentant des taux bas d'insuline plasmatique (Andersen, 2003).

II.4.11. GLUT11

Le transporteur GLUT11 possède 41,9% d'homologie avec le transporteur GLUT5 (Doerge, 2001). Chez l'homme, son ARNm a été retrouvé uniquement dans le cœur et le muscle squelettique. Le transport du glucose par ce transporteur est inhibé en présence de fructose. En effet, le GLUT11 reconnaît le fructose avec une affinité au moins aussi forte que pour le glucose. Cette affinité pour le fructose est expliquée par les homologies de séquence que présente le GLUT11 avec le GLUT5 et la faible affinité du transporteur pour la cytochalasine B (Doerge, 2001). La régulation de l'activité du GLUT11, son expression et sa localisation cellulaire restent encore inconnues. Par contre, l'expression spécifique de ce transporteur dans le cœur et le muscle squelettique indique qu'il pourrait jouer un rôle important dans la régulation de l'homéostasie glucidique (Joost, 2001).

II.4.12. GLUT12

Ce transporteur a été identifié dans des cellules de cancer du sein MCF-7 par homologie de séquence avec le transporteur GLUT4, également présent dans ces cellules. L'ADN du gène GLUT12/SLC2A12 code pour 617 acides aminés. La séquence possède plusieurs motifs di-leucine en N- et en C-terminale, en positions similaires de celles observées dans la séquence du GLUT4. Le transporteur GLUT12 possède 29% d'homologie avec GLUT4 et 40% avec

GLUT10. Des études d'immunofluorescence ont montré que, en l'absence d'insuline, le transporteur GLUT12 est localisé dans la région périnucléaire des cellules MCF-7. Par ailleurs, cette protéine est surtout exprimée dans le muscle squelettique, le tissu adipeux et l'intestin grêle, mais également dans le cœur et la prostate (Joost, 2001). Les homologies de séquence avec le GLUT4 indiquent que le GLUT12 appartient à un second système de transport contrôlé par l'insuline.

II.4.13. HMIT (H⁺/Myo-Inositol Transporteur)

HMIT a été identifié par homologie de séquence avec le transporteur GLUT8, avec lequel il possède 44% de similitude. Ce transporteur contient 12 domaines transmembranaires. Il a pourtant été montré qu'il ne possède aucune activité de transport d'hexose (Uldry, 2001). Il a été identifié comme transporteur du H⁺-myo-inositol, soluté organique impliqué dans diverses fonctions physiologiques de la cellule dont la signalisation cellulaire. Il est exprimé principalement dans le cerveau.

II.4.14. GLUT14

Le transporteur GLUT14 est codé par le gène SLC2A14 qui se situe à proximité du gène codant pour le GLUT3. Ce gène code pour deux ARNm différents du GLUT14. Le premier produit une protéine de 497 acides aminés, GLUT14-S, qui est identique à GLUT3 à 94,5%. Le deuxième ARNm produit une protéine de 520 acides aminés qui diffère de la forme GLUT14-S dans sa partie N-terminale. L'expression du GLUT14 se situe spécifiquement dans les testicules. Il n'a pas été trouvé à ce jour d'homologue chez la souris, et ni sa spécificité, ni sa fonction ne sont clairement définies (Wu, 2002).

En résumé : Le glucose est absorbé par les cellules intestinales. Il se retrouve ensuite dans le système vasculaire. La première étape de l'utilisation du glucose par la cellule est son transport du milieu extracellulaire vers le milieu intracellulaire, qui est assuré par des protéines transmembranaires appartenant soit à la famille des SGLTs, co-transporteurs Na⁺/glucose, soit à la famille des GLUTs, assurant le transport facilité du glucose à travers la membrane plasmique. La famille des GLUTs compte 13 isoformes à ce jour. GLUT1 assure le transport du glucose dans la majorité des tissus en condition basale. GLUT4 est recruté sur

la membrane plasmique en présence d'insuline. Des études supplémentaires seront nécessaires pour connaître la spécificité des GLUTs pour différents substrats, le rôle de chacune de ces isoformes *in vivo*, et leur implication éventuelle dans les pathologies humaines associées à des perturbations du métabolisme du glucose.

2^{ème} partie : L'insuline

Le contrôle de l'homéostasie énergétique requiert des associations hormonales et nerveuses dans lesquelles l'insuline occupe une place prépondérante. L'insuline est une hormone anabolique qui favorise la mise en réserve du glucose, des acides gras et des acides aminés. Elle a une action importante puisqu'elle est le seul facteur hypoglycémiant de l'organisme. L'importance de son rôle a contribué à sa conservation au cours de l'évolution, on la retrouve non seulement chez les mammifères, mais aussi chez les insectes, les reptiles, les amphibiens et les poissons.

L'histoire de l'insuline débute avec Paul Langerhans qui fut le premier à décrire les îlots contenant les cellules β en 1869. Les études qui suivirent tentèrent de la purifier, en vain. L'équipe composée de John MacLeod, de Frederick Banting et de Charles Best, aidée par le chimiste John Collip, purifie l'insuline en 1921 et l'injecte au premier patient en janvier 1922. Frederick Banting et John MacLeod ont été les lauréats du Prix Nobel de physiologie et de médecine en 1923.

La place centrale de l'insuline dans le contrôle du métabolisme du glucose explique la complexité des systèmes régulateurs de cette hormone.

I. Synthèse et sécrétion (pour revue : Magnan, 2005)

L'insuline est un polypeptide de 6 kDa. C'est un hétérodimère composé de deux chaînes polypeptidiques, la chaîne A et la chaîne B, reliées entre elles par des ponts disulfures. La forme monomérique est la forme active de l'hormone. Le monomère présente une structure globulaire dont le centre est constitué d'un noyau hydrophobe et peut se dimériser spontanément. Trois dimères peuvent s'associer et former des hexamères. Cette association requiert la présence de deux atomes de zinc, qui jouent un rôle de coordination entre les deux monomères. Les hexamères d'insuline forment des cristaux qui représentent la forme de stockage majeure de l'hormone dans les granules de sécrétion.

I.1. Biosynthèse

Il est classiquement admis que l'expression du gène de l'insuline est exclusive aux cellules β du pancréas. Cependant, certains neurones de l'hypothalamus expriment ce gène et ils seraient

également capables de synthétiser l'hormone (Gerozissis, 2003). L'expression du gène de l'insuline est régulée par des facteurs hormonaux, tels que l'hormone de croissance (GH). Ce gène contrôle la synthèse d'un précurseur de haut poids moléculaire, la pré-pro-insuline. Dès son entrée dans le réticulum endoplasmique, la pré-pro-insuline perd un peptide signal de 23 acides aminés. La molécule se replie sur elle-même et des ponts disulfures se forment, générant la pro-insuline. Le peptide C relie les chaînes A et B et facilite le repliement de la molécule. La pro-insuline est ensuite transportée dans les vésicules du cis-Golgi. C'est dans cet organe que s'amorce la conversion de la pro-insuline en insuline. La maturation est catalysée par deux endopeptidases (les prohormones convertases 2 et 3) et par la carboxypeptidase H (figure 9).

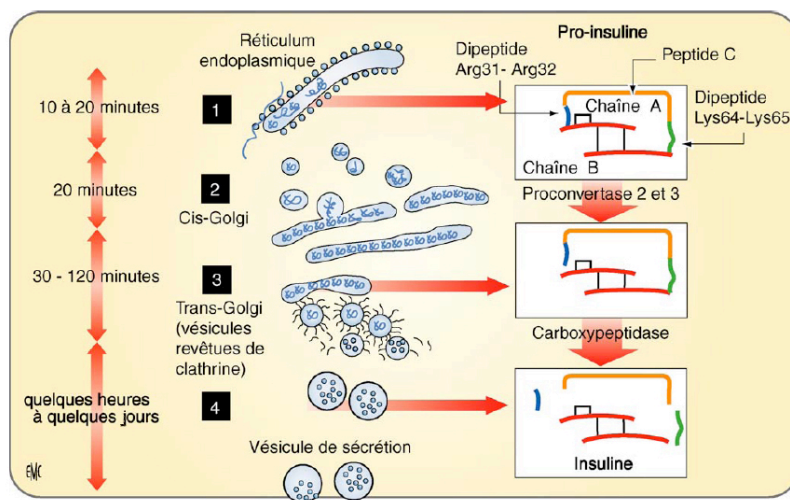


Figure 9. Synthèse de l'insuline et transport intracellulaire (Magnan, 2005).

L'insuline co-précipite avec des ions zinc (Zn_2 -insuline₆) pour former les micro-cristaux.

I.2. Contrôle de la sécrétion

L'amplitude de la réponse sécrétoire d'insuline est proportionnelle à la concentration en glucose sanguin. Des observations réalisées *in vitro* sur des cellules β pancréatiques indiquent que le seuil minimal de réponse pour la sécrétion d'insuline se situe pour des concentrations en glucose comprises entre 3 et 7 mM, jusqu'à atteindre un maximum compris entre 15 et 30 mM (Henquin, 2006). Le glucose entre dans la cellule β pancréatique par le transporteur du glucose, GLUT2, qui présente un K_m très élevé par rapport aux concentrations physiologiques en glucose. Le transport du glucose à travers GLUT2 s'effectue de façon

linéaire selon son gradient de concentration. Le glucose va être utilisé principalement via la voie de la glycolyse et la respiration oxydative. La production d'ATP conduit à l'inactivation des canaux potassiques ATP-dépendants, ce qui va produire une dépolarisation de la membrane plasmique et provoquer l'ouverture des canaux calciques voltage-dépendants. L'entrée de calcium dans le cytoplasme va stimuler l'exocytose des vésicules de sécrétion de l'insuline (figure 10).

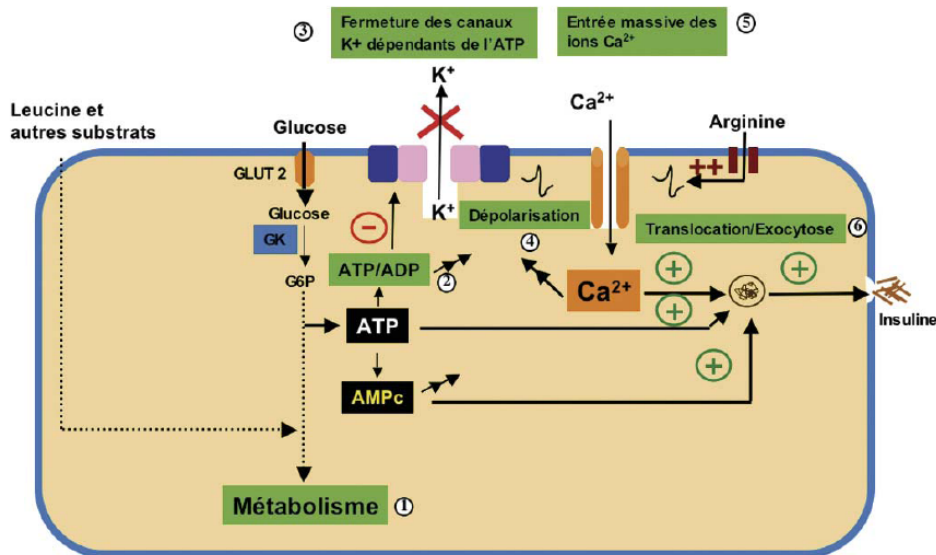


Figure 10. Stimulation de la sécrétion de l'insuline par le glucose (Magnan, 2005).

Par ailleurs, le métabolisme du glucose favorise la production d'AMPc à partir de l'ATP. L'AMPc intervient aussi dans le processus d'exocytose par l'intermédiaire de la protéine kinase A (PKA) qui active les microfilaments du cytosquelette.

La sécrétion insulinaire présente deux phases. Le premier pic de sécrétion ou "pic précoce" est observé rapidement, il est suivi par une augmentation progressive de la libération d'insuline ("pic tardif") qui apparaît après quelques minutes. Le rôle du "pic précoce" est de sensibiliser les tissus cibles, les muscles squelettiques, le cœur et le tissu adipeux, à l'effet de l'insuline et d'arrêter rapidement la production de glucose hépatique. La seconde phase permet une activation prolongée de ces tissus sensibles à l'insuline.

La sécrétion oscillante de l'insuline est dictée par deux types de phénomènes, des mécanismes électriques et des mécanismes métaboliques. Ces mécanismes impliquent l'action du calcium cytosolique sur les canaux ioniques de la membrane plasmique.

Il existe deux grands groupes d'agents stimulant la sécrétion d'insuline (figure 11).

Les stimuli primaires déclenchent à eux seuls la sécrétion d'insuline (la leucine, le mannose, le glycéraldéhyde et le glucose). Cependant, seul le glucose exerce un effet à des concentrations physiologiques.

Les stimuli secondaires, qui sont de type hormonal ou provenant du système nerveux parasympathique, n'exercent un effet stimulant direct sur la sécrétion d'insuline qu'en présence d'un stimulus primaire, dont ils amplifient l'effet.

Un troisième groupe d'agents, qui sont également de type hormonal ou provenant du système nerveux sympathique, atténue la sécrétion de l'insuline induite par le glucose.

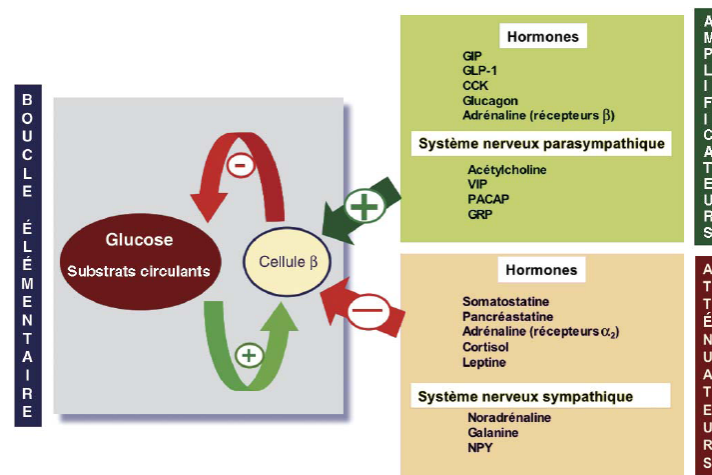


Figure 11. Principaux facteurs humoraux et nerveux du contrôle de la sécrétion d'insuline (Magnan, 2005).

I.3. Sécrétion

Dans des conditions physiologiques normales, environ 95% de l'hormone est sécrétée sous forme d'insuline (sécrétion "réglée") et 5% sous forme de pro-insuline (sécrétion "constitutive"). Les cellules β sont réparties dans ~ 1 million d'îlots de Langerhans au sein du pancréas. Chaque cellule β contient ~ 10000 vésicules de sécrétion. Chaque vésicule mesure ~ 350 nm de diamètre et contient $\sim 1,6 \cdot 10^{-18}$ mol d'insuline (Eliasson, 2008). L'insulinémie va être régulée principalement au niveau de la sécrétion et donc de l'exocytose. La majorité des vésicules de sécrétion sont localisées dans le cytoplasme, associées aux microtubules, où elles constituent un pool immédiatement mobilisable. Seulement 1% d'entre elles sont localisées au niveau de la membrane plasmique (Eliasson, 2008).

La fusion des vésicules avec la membrane plasmique fait intervenir des protéines SNARE (Soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor Attachment protein REceptor). Elles sont

localisées à la surface des vésicules (v-SNARE : synaptobrevine ou VAMP et synaptotagmines 1 et 2) et à la surface de la membrane plasmique (t-SNARE : syntaxine et SNAP-25) (Duman, 2003). Après fusion avec la membrane, le processus d'endocytose recycle les vésicules ainsi que leurs constituants membranaires. À la suite de ce recyclage, les vésicules subissent une maturation qui leur permet d'être rechargées en insuline. Elles sont alors de nouveau prêtes à effectuer un cycle de fusion (figure 12).

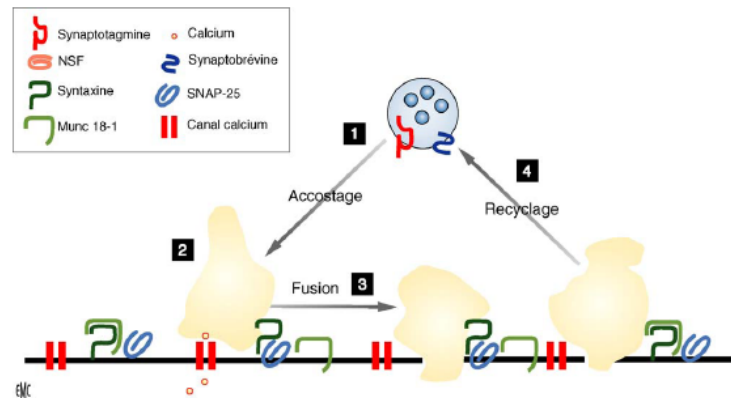


Figure 12. Principales étapes de l'exocytose de l'insuline (Magnan, 2005).

En moyenne, une dépolarisation membranaire de la cellule β induit l'exocytose d'environ 700 vésicules par seconde.

II. Récepteur et signalisation

II.1. Récepteur à l'insuline

Le récepteur à l'insuline appartient à la famille des récepteurs aux facteurs de croissance qui possèdent une activité tyrosine kinase dans leur domaine intracellulaire. Le récepteur à l'insuline est formé de deux chaînes α , extracellulaires, reliées par des ponts disulfures à deux chaînes β , transmembranaires (figure 13). Chaque sous-unité α possède un domaine complet de liaison à l'hormone. Malgré la structure similaire du récepteur IGF-1 (environ 50% d'homologie), la liaison de l'IGF-1 sur le récepteur à l'insuline se fait avec une affinité 100 à 1000 fois plus faible (Kido, 2001).

Les deux sous-unités β ont chacune un domaine transmembranaire donnant au récepteur une mobilité latérale. En l'absence d'insuline, les sous-unités α exercent une contrainte inhibitrice et maintiennent le récepteur en configuration inactive. La liaison de l'hormone rapproche les deux sous-unités β et entraîne l'activation du récepteur. Chaque sous-unité β porte un

domaine à activité tyrosine kinase intracellulaire possédant une boucle régulatrice qui occlut le site catalytique tyrosine kinase et le maintient à l'état inactif.

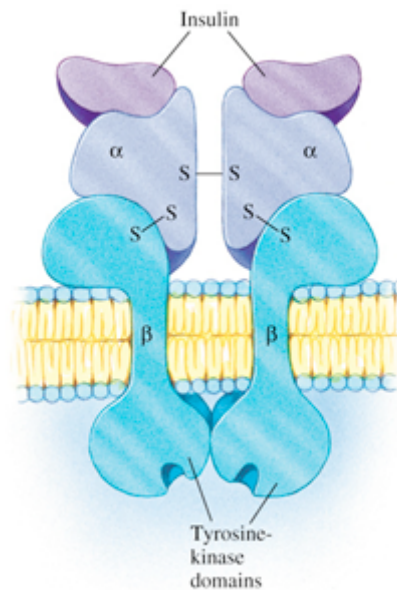


Figure 13. Le récepteur à l'insuline (source : <http://archimede.bibl.ulaval.ca>).

Lors de l'activation du récepteur, la liaison d'une molécule d'ATP sur son site consensus permet le dépliement de cette boucle et l'autophosphorylation des sous-unités β. Le domaine tyrosine kinase est alors complètement activé et peut phosphoryler d'autres tyrosines présentes sur les chaînes β, mais aussi sur des protéines substrats.

II.2. Signalisation intracellulaire

La transmission du signal insulinique dans la cellule implique au moins neuf substrats intracellulaires. Parmi eux, la famille des IRS (Insulin Receptor Substrate) comprend 4 membres dont IRS1 et IRS2 qui ont des rôles complémentaires dans la signalisation de l'insuline.

Les deux grandes voies de signalisation induites par l'insuline sont la voie de la Phosphatidylinositol 3 Kinase (PI3K) et celle de la Mitogen-Activated Protein Kinase (MAPK).

Les protéines IRS se fixent au niveau de la face cytosolique de la membrane plasmique. Elles interagissent avec le domaine tyrosine-kinase du récepteur qui phosphoryle des résidus tyrosine spécifiques sur les IRS. Ces résidus phosphorylés recrutent d'autres protéines relais par l'intermédiaire de domaines SH2 (src homology 2), domaines de reconnaissance des tyrosines phosphorylées.

La PI3K est l'une des principales protéines activées par les IRS. Elle phosphoryle en position 3 les phosphoinositides membranaires, créant ainsi des sites de reconnaissance pour d'autres kinases cellulaires telles que la protéine kinase B (PKB)/Akt ou la PDK1/2 (3-phosphoinositide-dependent protein kinase 1/2). La PKB activée phosphoryle et active d'autres relais intracellulaires impliqués en priorité dans les effets métaboliques de l'insuline (figure 14).

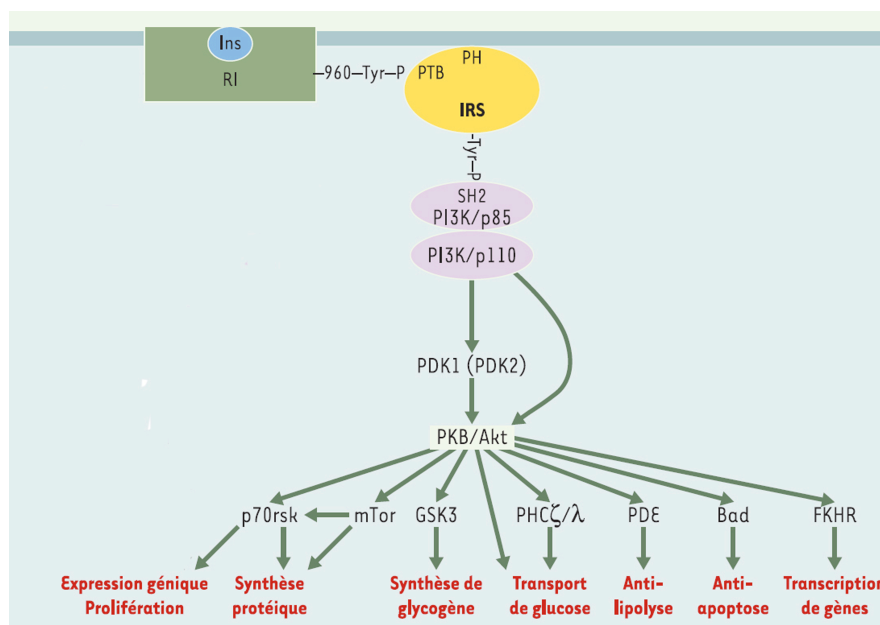


Figure 14. La voie de signalisation de la PI3 kinase du récepteur à l'insuline (Capeau, 2003).

La deuxième grande voie de signalisation de l'insuline est celle impliquant la MAPK. A partir du récepteur à l'insuline, deux voies aboutissent à l'activation de la MAPK. La première utilise les protéines IRS. La deuxième nécessite le recrutement de protéines adaptatrices impliquant la protéine Ras (figure 15).

Une troisième voie, impliquée directement dans l'action de l'insuline sur la captation du glucose, implique la protéine CAP (c-Cbl Associated Protein), qui va se lier au récepteur à l'insuline activé. La cascade de signalisation active la GTPase TC10, permettant la polymérisation de l'actine et la translocation des transporteurs du glucose, les GLUT4, vers la membrane plasmique (Bryant, 2002).

Afin que l'action de l'insuline soit régulée, l'ensemble du complexe ligand-récepteur est internalisé par un processus d'endocytose. Le complexe est dirigé dans des lysosomes où l'insuline est dégradée par des enzymes de dégradation et les récepteurs sont recyclés (Carpentier, 1987).

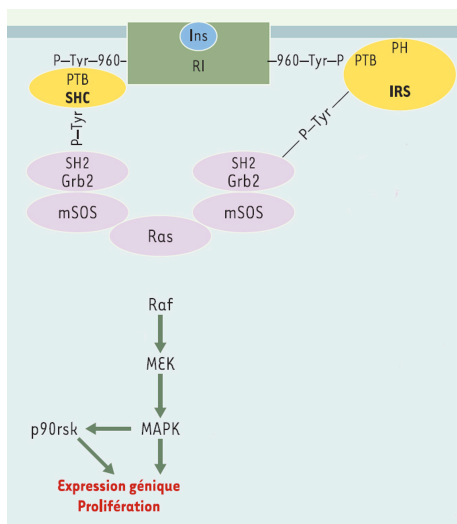


Figure 15. La voie de signalisation de la MAPK du récepteur à l'insuline (Capeau, 2003).

III. Action de l'insuline sur le métabolisme

L'insuline a des effets physiologiques étendus et complexes. On les classe souvent en actions rapides (augmentation du transport du glucose), intermédiaires (activation de la glycogène synthase) et tardives (augmentation des ARNm des enzymes lipogéniques). C'est l'hormone de mise en réserve des glucides, des protéines et des lipides.

III.1. Action de l'insuline sur le transport et le métabolisme du glucose

III.1.1. Action de l'insuline sur le transport du glucose

Le mécanisme par lequel l'insuline active le transport du glucose dans les tissus insulino-sensibles (le tissu adipeux, les muscles cardiaque et squelettique) consiste en un recrutement rapide et dose-dépendant des transporteurs du glucose, d'un pool intracellulaire vers la membrane plasmique (Marette, 1992). Les transporteurs présents dans les tissus sensibles à l'insuline sont principalement les GLUT1, responsables du transport basal et les GLUT4, mobilisés en présence d'insuline. A l'état basal, environ 90% des GLUT4 se trouvent dans le cytoplasme, alors que les GLUT1 sont répartis de façon homogène entre la membrane plasmique et le pool intracellulaire (Zorzano, 1989). Sous l'effet de l'insuline, dans les tissus sensibles, le nombre de GLUT1 au niveau de la membrane plasmique est multiplié par 3-5, alors que celui des GLUT4 est augmenté de 15 à 40 fois. Les vésicules qui retiennent les

GLUT4 se situent dans la région périnucléaire, impliquant des protéines d'ancrage de type TUG ("Tether containing a UBX domain for GLUT4") (Bogan, 2003).

La voie dépendante de la PI3 kinase permet de lever le signal de rétention qui maintenait les vésicules contenant les GLUT4 au niveau du réseau transgolgien. Ces vésicules migrent le long des microfilaments d'actine F, polymérisés en réponse à l'insuline via la voie de signalisation mettant en jeu la protéine CAP. Le ciblage vers la membrane nécessite l'intervention du système de reconnaissance vésicule/membrane de type v-SNARE/t-SNARE (figure 16).

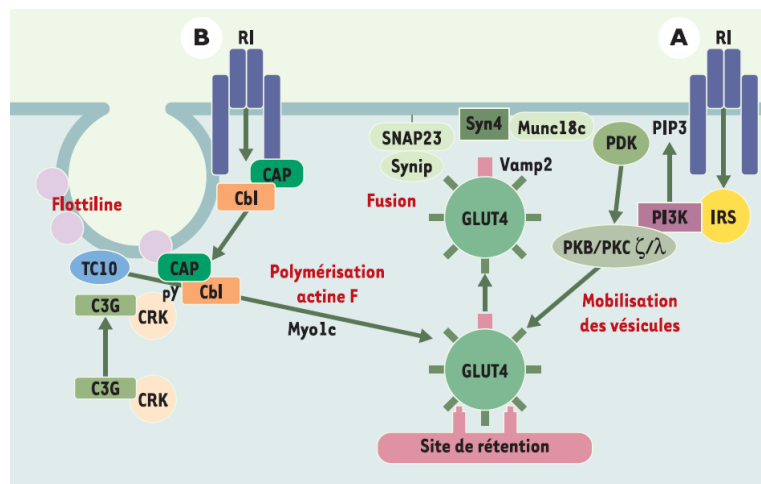


Figure 16. Recrutement des GLUT4 dans la membrane plasmique par l'insuline (Capeau, 2003).

Il existe un recyclage permanent du pool de GLUT4 présents dans la membrane. Ils sont internalisés par des vésicules à manteau de clathrine et sont redirigés vers leur compartiment de stockage.

III.1.2. Action de l'insuline sur le métabolisme du glucose

L'insuline augmente l'expression de l'hexokinase II dans les cellules du muscle squelettique, ce qui augmente le taux de phosphorylation du glucose et limite la quantité de glucose libre intracellulaire, étape limitante du transport.

L'insuline bloque la production de glucose hépatique en inhibant l'expression d'enzymes intervenant dans la néoglucogenèse et la glycogénolyse. Son action sur le foie est très rapide et totale après deux heures. Elle agit soit directement via son récepteur hépatique, soit de façon indirecte, en diminuant la quantité d'acides gras libres dans la veine porte.

L'insuline stimule également la lipogenèse à partir du glucose dans le tissu hépatique. Elle stimule par ailleurs la synthèse de glycogène dans le muscle squelettique et le foie par l'activation de la glycogène synthase.

III.2. Action de l'insuline sur le métabolisme lipidique

L'action principale de l'insuline est anti-lipolytique. Elle agit aussi sur le stockage, la mobilisation et l'utilisation des acides gras libres (AGL), en activant la lipogenèse et en stimulant l'expression des enzymes de synthèse des lipides. L'insuline inhibe la captation et l'oxydation des AGL plasmatiques dans les tissus tels que le cœur, le muscle squelettique et le foie, qui constituent les organes principaux de l'oxydation des AGL en absence d'insuline.

III.3. Action de l'insuline sur le métabolisme des acides aminés

L'insuline stimule la captation intracellulaire des acides aminés et la synthèse protéique, mais inhibe majoritairement la protéolyse, de façon forte et à de très faibles concentrations. L'effet stimulant de la synthèse protéique reste difficile à démontrer *in vivo* : il est indiscutable dans les muscles en croissance, mais reste controversé chez l'adulte (Biolo, 1995). Aux niveaux cellulaire et moléculaire, l'insuline augmente la synthèse protéique en stimulant la transcription et la traduction, via notamment la stimulation de la PI3K (Proud, 2006).

III.4. Action de l'insuline sur l'équilibre potassique

L'insuline active la Na/K-ATPase membranaire, de sorte qu'une plus grande quantité de K^+ est pompée dans les cellules (Parham, 2006). L'insuline en faisant entrer le potassium dans les cellules induit une diminution de la concentration extracellulaire de cet ion. Chez un sujet normal, la perfusion de glucose et d'insuline cause une diminution significative du K^+ plasmatique. Ce traitement est très efficace pour corriger temporairement l'hyperkaliémie de l'insuffisance rénale. Chez les patients diabétiques en acidose, l'administration d'insuline déclenche souvent une hypokaliémie (Parham, 2006).

III.5. Le glucagon

L'action métabolique de l'insuline s'oppose à celle du glucagon, hormone hyperglycémiant sécrétée par les cellules α du pancréas. Le glucagon est sécrété lorsque la glycémie est inférieure à 5 mM environ. Des récepteurs ont été identifiés au niveau hépatique, rénal, cervical, adipeux et musculaire (muscles lisse intestinaux) ainsi que sur les cellules β pancréatiques (Longuet, 2008).

Au niveau glucidique, il augmente la glycogénolyse hépatique, diminue la glycogénèse, inhibe la glycolyse et stimule la néoglucogénèse.

Au niveau lipidique, il augmente la cétogénèse hépatique grâce à l'activation de la triglycéride lipase. Cette dernière étant également activée dans les adipocytes. Le glycérol et les acides gras formés à partir des triglycérides dans le tissu adipeux sont relâchés dans le sang et peuvent aller dans le foie.

Au niveau protéique, le glucagon accroît la capture des acides aminés par les hépatocytes et favorise ainsi la néoglucogénèse à partir des acides aminés. Il stimule par ailleurs la production d'insuline, permettant ainsi l'entrée dans les cellules du glucose produit par la voie hépatique.

IV. Actions cardiovasculaires de l'insuline (pour revue : Muniyappa, 2007)

IV.1. Action vasodilatatrice

La voie de signalisation de la PI3K du récepteur insulinaire régule l'expression d'eNOS (endothelial Nitric Oxide Synthase) dans l'endothélium vasculaire. Lors d'un clamp euglycémique hyperinsulinémique chez l'homme, le débit sanguin dans la jambe est augmenté d'un facteur 2. Lors de la même expérience, une perfusion de NG-monométhyl L-arginine (L-NMMA), un inhibiteur de la synthèse de NO, provoque une chute du débit d'environ 50% (Steinberg, 1994). Ces résultats montrent que la vasodilatation dans le muscle squelettique est induite par la synthèse de NO par les cellules endothéliales. Toutefois, ces effets sont observés pour des doses d'insuline supraphysiologiques : 120 mUI/m²/min pendant 3 heures dans l'étude, ce qui conduit à une insulinémie d'environ 220 μ UI/ml, alors que l'insulinémie à jeun est normalement comprise entre 5 et 15 μ UI/ml.

Par ailleurs, l'insuline diminue la contractilité des cellules musculaires lisses (par la voie de la PI3K), en régulant la concentration de calcium cytosolique.

IV.2. Action vasoconstrictrice

L'endothéline est un vasoconstricteur, sécrété par les cellules endothéliales, qui s'oppose aux effets vasodilatateurs du NO. L'insuline stimule la sécrétion d'endothéline dans des cellules d'aorte bovine en culture (Potenza, 2005). Cette stimulation est induite par la voie de la MAPK. Les effets vasoconstricteurs de l'insuline requièrent l'activation de protéines qui, en plus de leur action vasoconstrictrice, jouent un rôle antagoniste de la voie vasodilatatrice de la PI3K. Cependant, la production d'endothéline induite par la voie de la MAPK n'a été mise en évidence qu'en bloquant la voie responsable d'une vasodilatation NO-dépendante, impliquant un équilibre entre vasodilatation et vasoconstriction (Potenza, 2005). Par ailleurs, l'insuline stimule l'activité du système nerveux sympathique, qui intervient dans la vasoconstriction des vaisseaux périphériques (Muniyappa, 2007).

IV.3. Action sur l'expression de molécules d'adhésion

L'endothélium exprime des molécules d'adhésion cellulaires, telles que la Vascular Cell Adhesion Molecule 1 (VCAM-1) et la E-selectine, qui sont importantes dans les interactions entre les cellules de l'inflammation circulantes et les cellules de l'endothélium vasculaire. Sur des cellules endothéliales en culture, l'insuline (100 nM) stimule l'expression de VCAM-1 et de la E-selectine par la voie de la MAPK, alors que la voie de la PI3K inhibe ce processus (Montagnani, 2002). Dans les conditions physiologiques, il y a un équilibre entre les deux voies, qui ne provoque pas l'augmentation de l'expression des molécules d'adhésion.

IV.4. Action sur la contractilité cardiaque

Des études sur cardiomyocytes humains en culture montrent que l'insuline (10 μ M) augmente l'entrée de calcium dans les cellules par l'activation des canaux calciques de type L et des canaux échangeurs $\text{Na}^{2+}/\text{Ca}^{2+}$, par la voie de la PI3K (Maier, 1999). Cette augmentation est responsable de l'augmentation de la contraction des cardiomyocytes.

IV.5. Action sur le recrutement capillaire et le débit sanguin

L'équipe de S. Rattigan a été la première à mettre en évidence le recrutement de capillaires par l'insuline chez le rat (Rattigan, 1997). Ce recrutement intervient avant l'augmentation du débit sanguin et il est maximum après environ 2h de perfusion de doses importantes d'insuline (40 mUI/min/kg). Un prétraitement avec un inhibiteur de la NO synthase diminue le recrutement de capillaires induit par l'insuline, indiquant que le NO est impliqué dans ce processus. Une étude plus récente a montré une augmentation du volume microvasculaire, par recrutement capillaire, de l'ordre de 45% dans le muscle squelettique, chez l'homme, sous l'action de l'insuline, sécrétée après un repas. Par contre, ce recrutement capillaire n'est pas associé à une augmentation du débit sanguin dans le muscle aux concentrations physiologiques (Vincent, 2006).

En résumé : L'insuline participe au contrôle du métabolisme énergétique et, en particulier, du métabolisme du glucose. C'est la seule hormone hypoglycémiante. La libération de l'insuline nécessite la mise en route du processus d'exocytose des vésicules sécrétoires. Le contrôle de la sécrétion de l'hormone fait appel à une boucle élémentaire de régulation qui lie la concentration des nutriments, en premier lieu le glucose, à la sécrétion d'insuline. Des agents modulateurs, hormonaux ou nerveux se greffent sur cette boucle pour atténuer ou amplifier cette sécrétion.

Il existe un équilibre entre l'action vasodilatatrice et vasoconstrictrice de l'insuline. Un dérèglement de cet équilibre entraînerait des dysfonctions de l'endothélium à l'origine de la pathologie de l'hypertension.

Chapitre I

3^{ème} partie : Les tissus insulino-sensibles

Les organes sensibles à l'insuline sont les muscles cardiaque et squelettique, le tissu adipeux blanc et le foie.

I. Le muscle squelettique

Le principal organe insulino-sensible est le muscle squelettique, qui est responsable de près de 80% de la captation du glucose en présence d'insuline (DeFronzo, 1979). Les muscles squelettiques représentent 40% du poids du corps, et sont constitués d'un ensemble de fibres musculaires qui forment l'unité fonctionnelle du muscle. Chacune de ces fibres est une cellule musculaire à l'intérieur de laquelle sont agencées de façon très régulière en faisceaux de myofibrilles, l'actine et la myosine, qui sont responsables de la contraction. Il existe deux types majeurs de fibres musculaires : les fibres oxydatives à contraction lente de type I et les fibres glycolytiques à contraction rapide de type II. Un troisième type de fibre musculaire est constitué de fibres intermédiaires.

Les fibres de type I sont petites et possèdent des myosines avec une ATPase à activité lente, d'où le nom de fibres à contraction lente. La présence d'une forte vascularisation ainsi que l'abondance en myoglobine qui stocke l'oxygène leur confèrent une couleur rouge. Elles possèdent de nombreuses mitochondries et les enzymes impliquées dans la voie de synthèse aérobie de l'ATP sont très actives. Elles oxydent préférentiellement les acides gras.

Les fibres musculaires de type II à contraction rapide, sont généralement grosses, peu vascularisées et pauvres en myoglobine et en mitochondries. Elles utilisent principalement les voies de dégradation anaérobies pour la synthèse de l'ATP, ce qui conduit à la production d'acide lactique. Ces fibres oxydent préférentiellement le glucose.

Lors d'une période de jeûne, les muscles squelettiques consomment préférentiellement les réserves de glycogène ainsi que les acides gras.

Les transporteurs du glucose GLUT1 assurent le transport basal du glucose dans le muscle squelettique, alors que les transporteurs GLUT4 sont recrutés dans la membrane plasmique en présence d'insuline, afin d'augmenter ce transport.

II. Le muscle cardiaque

Les concentrations intracellulaires en ATP dans le myocarde doivent être maintenues afin de ne pas interrompre le cycle de contraction. Le cœur humain produit et consomme entre 3,5 et 5 kg d'ATP par jour. La façon de produire cet ATP dépend des substrats disponibles. Dans les conditions physiologiques, la production d'ATP est assurée principalement par l'oxydation des acides gras (~70%), du glucose (~20%) et du lactate (~10%). Lorsque les concentrations en glucose et en insuline augmentent, le glucose devient la principale source d'énergie. Comme dans le muscle squelettique, les GLUT1 assurent le transport du glucose en condition basale, et les GLUT4 sont "transloqués" vers la membrane plasmique en présence d'insuline.

III. Le tissu adipeux blanc

Les fonctions du tissu adipeux blanc (TAB) peuvent être classées en trois actions principales. Premièrement, le TAB est capable de développer de nouvelles cellules, afin d'augmenter sa capacité de stockage des lipides. Deuxièmement, le TAB participe à la régulation du métabolisme lipidique et glucidique (stockage de triglycérides, synthèse d'acides gras à partir du glucose, catabolisme des triglycérides en glycérol et acides gras). Et troisièmement, le TAB sécrète des protéines, aux fonctions biologiques spécifiques, appelées adipokines.

III.1. Adipogenèse et rôle des PPAR γ

La croissance du TAB s'effectue par deux mécanismes. Le premier est l'hyperplasie, qui correspond à une augmentation du nombre de cellules (Spalding, 2008). Le second est l'hypertrophie, qui correspond à une augmentation de la taille des cellules, due à la quantité de lipides stockés dans la vacuole lipidique. La capacité de stockage diminue avec l'augmentation de la taille des cellules (Lemonnier, 1972). C'est pourquoi le TAB forme de nouvelles cellules adipeuses matures lorsque les apports en lipides sont importants. L'adipogenèse est la formation d'un adipocyte à partir d'un précurseur. Le récepteur nucléaire PPAR γ joue un rôle prépondérant dans l'adipogenèse. A l'âge adulte, la capacité des pré-adipocytes à former des adipocytes diminue, favorisant l'hypertrophie des adipocytes (Karagiannides, 2001).

III.1.1. Les PPARs γ

Les PPAR γ font partie de la superfamille des récepteurs nucléaires (pour revue : Tontonoz, 2008 et Vázquez-Vela, 2008). Leur nom "Peroxisome Proliferator-Activated Receptor" provient de leur première fonction identifiée : leur activation induit la prolifération des peroxisomes (organelles qui participent au métabolisme des acides gras). Une fois activés par leurs ligands, les PPARs forment des hétérodimères avec le récepteur nucléaire RXR (9-cis retinoic acid receptor) et modulent la transcription de leurs gènes cibles (figure 17).

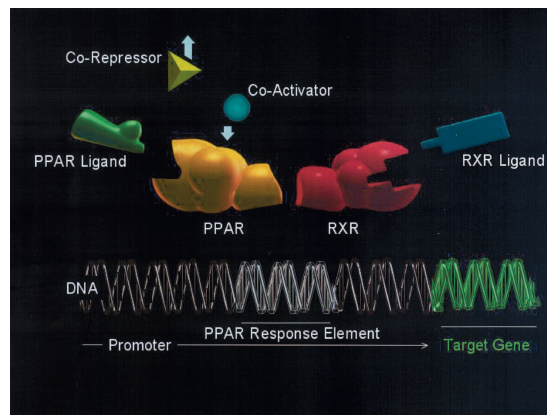


Figure 17. Mécanisme général de régulation de la transcription par les PPARs (Brown, 2007).

Les PPAR γ dirigent les quatre phases de la différenciation des adipocytes : l'arrêt de la croissance, la multiplication cellulaire et les deux phases de différenciation terminales.

Les ligands biologiques des PPAR γ restent encore peu connus. Les activateurs endogènes du PPAR γ sont des acides gras et des dérivés d'acides gras qui représentent cependant des ligands de faible affinité. Le rôle de ces activateurs dans la biologie des PPAR γ n'est pas encore identifié. Les ligands exogènes les plus connus sont les thiazolidinédiones (TZD), classe de médicament anti-diabétique (Lehrke, 2005).

III.1.2. Activation de l'adipogenèse

La cascade transcriptionnelle, déclenchée par les PPAR γ lors de l'adipogenèse induit l'expression de gènes spécifiques aux adipocytes comme celui de l'aP2 (adipocyte protein 2, protéine de transport intra-adipocytaire des acides gras), de la leptine ou de l'adiponectine (figure 18). Lorsque les adipocytes sont matures, ils acquièrent une forme sphérique et

possèdent le système enzymatique impliqué dans la lipolyse et la lipogénèse (Tontonoz, 2008).

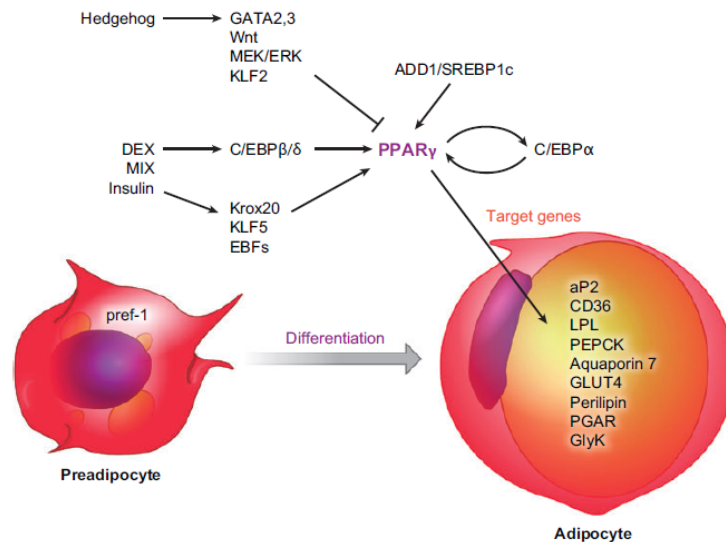


Figure 18. Les PPAR γ régulent la différenciation des adipocytes. L'activation du PPAR γ induit le dernier stade de différenciation par l'activation de la production de protéines caractéristiques des adipocytes matures, impliquées dans la captation et le stockage des triglycérides : l'aP2, la CD36 (Cluster of Differentiation 36), la LPL (Lipoprotéine Lipase), la PEPCK (phosphoénolpyruvate carboxykinase). Abréviations : GLUT4, transporteur du glucose 4 ; GlyK, glycérol kinase ; DEX, dexaméthasone ; KLF, Kruppel-like factor ; MIX, méthylisobutyl xanthine ; PGAR, PPAR- γ -induced angiopoietin-related (Tontonoz, 2008).

III.2. Métabolisme lipidique dans le tissu adipeux blanc

En terme quantitatif, le tissu adipeux blanc est le plus important lieu de stockage d'énergie de l'organisme. La masse grasse d'un individu non obèse est d'environ 10 à 15 kg, ce qui correspond à environ 95% des lipides de l'organisme stockés sous forme de triglycérides et mobilisables en cas de besoin en énergie.

III.2.1. Synthèse d'acides gras *de novo*

La synthèse *de novo* est la synthèse d'acides gras estérifiés à partir de substrats non lipidiques, principalement des sucres. Chez l'homme, elle est majoritairement hépatique et faible dans le TAB, alors que c'est l'inverse chez le rongeur. La synthèse des lipides est augmentée par l'insuline à l'état post-prandial ou après la consommation de sucres, car elle nécessite un apport important en ATP. Elle est inhibée lors d'une période de jeûne.

III.2.2. Synthèse de triglycérides à partir d'acides gras : la lipogénèse

La plupart des acides gras utilisés par les adipocytes pour la synthèse de triglycérides proviennent du foie, d'où ils sont transportés principalement dans des lipoprotéines. Les triglycérides des lipoprotéines sont hydrolysés par la lipoprotéine lipase et libérés en acides gras dans les adipocytes. Le glycérol nécessaire à la formation des triglycérides est surtout fourni par la glycolyse, sous forme de glycérol-3-phosphate.

III.2.3. La lipolyse

Le rôle principal de la lipolyse est de fournir en acides gras les tissus non adipeux, en cas de besoins énergétiques, par hydrolyse des triglycérides stockés dans la vacuole lipidique. La principale enzyme impliquée dans la lipolyse est la lipase hormono-sensible (LHS), qui doit son nom au fait que son expression et son activation sont régulées de façon hormonale par l'insuline et les catécholamines. Les récepteurs β -adrénergiques sont couplés à des protéines G qui activent l'adénylate cyclase, ce qui va augmenter la concentration intracellulaire en AMPc. L'AMPc va activer la protéine kinase A (PKA), qui va à son tour activer la LHS. A l'inverse, les récepteurs α -adrénergiques sont couplés à des protéines G qui vont inhiber l'adénylate cyclase, et donc inhiber la lipolyse (figure 19).

L'accès des lipases à la vacuole lipidique est régulé par la phosphorylation des protéines de périlipine qui l'entourent. La phosphorylation des périlipines permet le dégagement de ces dernières de la vacuole, l'exposition du coeur lipidique aux différentes lipases, ce qui facilite leur translocation du cytoplasme vers la vacuole lipidique (figure 19).

L'insuline est le principal agent anti-lipolytique. Cette action requiert la voie de signalisation de la PI3K du récepteur à l'insuline par activation des phosphatases qui vont déphosphoryler et inactiver la lipase hormono-sensible.

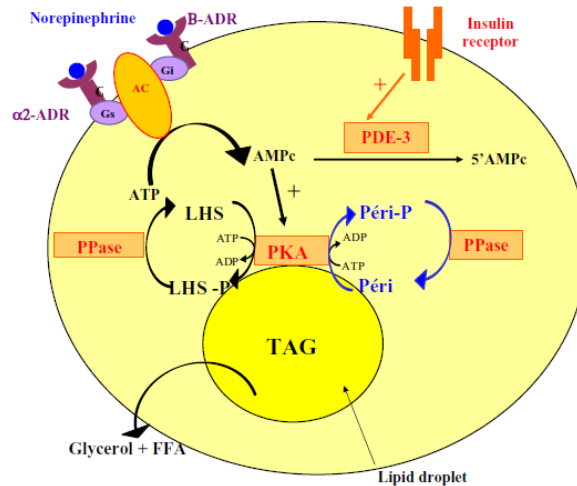


Figure 19. La cascade lipolytique dans l'adipocyte (Large, 2004).

En revanche, pendant une période de jeûne, le glucagon et les catécholamines stimulent la lipolyse et la mobilisation d'AGL des adipocytes vers la circulation en activant, via la PKA, plusieurs lipases.

III.3. Fonction endocrine du tissu adipeux

Le tissu adipeux blanc, longtemps considéré comme un tissu de réserve énergétique, est maintenant reconnu comme un organe endocrine capable de sécréter de nombreuses molécules, de nature peptidique ou non peptidique, dotées pour la plupart de 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.

III.3.1. La leptine

La leptine est presque exclusivement exprimée et sécrétée par les adipocytes différenciés. Le terme "leptine" vient du grec *leptos* signifiant mince. Elle régule le métabolisme énergétique et l'augmentation des dépenses énergétiques. Elle est considérée comme l'hormone de la satiété. Les neurones sensibles à la leptine se situent dans les noyaux arqués, dorso-médians, ventro-médians et mamillaires de l'hypothalamus (Bjørbaek, 2004).

L'expression de l'isoforme long du récepteur à la leptine (ObRb) est particulièrement importante dans l'hypothalamus. Cette isoforme ObRb est responsable de la régulation du

métabolisme énergétique. Une fois phosphorylé, ObRb recrute et active des facteurs de transcription qui augmentent l'expression de la pro-opiomélanocortine (POMC), et répriment l'expression de l'Agouti-Related Protein (AgRP) et du neuropeptide Y, neuropeptides qui stimulent l'appétit (Frühbeck, 2006). La POMC est modifiée de façon post-transcriptionnelle pour générer des peptides actifs, tels que les mélanocortines, qui se fixent sur leurs récepteurs MCR4-R et provoquent une inhibition de la prise alimentaire.

La concentration et l'expression de la leptine sont directement associées à la masse de tissu adipeux et à la taille des adipocytes (Considine, 1996). L'expression de la leptine est également fortement corrélée à la consommation de nourriture. En effet, après une période de jeûne de 12 à 48 heures, l'expression de la leptine est fortement diminuée chez la souris (Trayhurn, 1995). Chez l'homme, une perte de poids de 10% entraîne une diminution du taux de leptine circulante d'environ 53% et à l'inverse, une prise de poids de 10% provoque une augmentation de 300% du taux de leptine plasmatique (Considine, 1996). La leptine est donc considérée comme un "adipostat", reflétant la masse adipeuse d'un sujet.

III.3.2. L'adiponectine

L'adiponectine est une protéine fortement exprimée par le tissu adipeux. L'action première de l'adiponectine est une augmentation de la sensibilité à l'insuline, principalement dans le foie et le muscle squelettique où elle diminue la lipogenèse et augmente la β -oxydation des acides gras (Yamauchi, 2002 ; Kadowaki, 2006).

Deuxièmement, l'adiponectine module la production hépatique de glucose, en diminuant l'expression des ARNm de deux enzymes essentielles de la néoglucogenèse, la PEPCK et la glucose-6-phosphatase (Kadowaki, 2005).

Troisièmement, l'adiponectine exerce un effet protecteur vasculaire en agissant très précocement dans le processus d'athérogenèse. En effet, elle intervient dans la régulation de l'expression des molécules d'adhésion sur les cellules endothéliales vasculaires (Ouchi, 1999) et diminue la réponse inflammatoire induite par le TNF- α . De nombreuses propriétés anti-inflammatoires de l'adiponectine résultent de ces effets anti-TNF- α , ce qui explique en partie son rôle protecteur dans l'athérosclérose.

III.3.3. La visfatine

La visfatine est une protéine de 52 kDa, sécrétée par le tissu adipeux. Chez l'homme, il existe une forte corrélation entre la "visfatinémie" et la masse adipeuse viscérale. Cette corrélation est beaucoup plus faible avec la masse du tissu adipeux sous-cutané. L'administration intraveineuse de visfatine entraîne, chez une souris normale, une baisse aiguë de la glycémie, de façon indépendante de la sécrétion d'insuline (Fukuhara, 2005). *In vitro*, de façon similaire à l'insuline, la visfatine augmente la captation de glucose par les adipocytes ou les cellules musculaires squelettiques, et réduit la production de glucose par les hépatocytes. D'autre part, elle amplifie la différenciation adipocytaire. Par contre, les concentrations en visfatine ne varient pas en fonction de l'état nutritionnel. Ses concentrations plasmatiques sont dix fois moins importantes que celles de l'insuline à jeun et 30 fois moins importantes à l'état nourri (Fukuhara, 2005).

III.3.4. L'apeline

L'apeline existe sous trois formes principales de 13, 17 ou 36 acides aminés. Sa production est adipeuse et les concentrations d'apeline *in vivo* sont influencées par le statut nutritionnel. Une période de jeûne diminue les concentrations d'apeline circulante, qui sont restaurées après une prise alimentaire. L'influence de l'insuline sur l'expression et la sécrétion d'apeline a été mise en évidence chez des rats traités à la streptozotocine et présentant un diabète de type 1, et chez des rats obèses hyperinsulinémiques. Les concentrations d'apeline sont fortement diminuées chez les rats traités à la streptozotocine, et sont à l'inverse augmentées chez les rats hyperinsulinémiques. Chez l'homme, les concentrations d'apeline sont environ deux fois plus élevées chez les individus obèses que chez les individus sains (Boucher, 2005). L'injection intraveineuse d'apeline, chez la souris, induit une diminution de la glycémie, accompagnée d'une augmentation de l'utilisation du glucose par le muscle squelettique, qui résulte de l'activation de l'AMPK et de la protéine Akt (Dray, 2008).

D'autre part, l'apeline augmente la production de NO par les cellules endothéliales ce qui contribue à diminuer la pression artérielle (Tatemoto, 2001). Une étude réalisée sur des cœurs de rats isolés et perfusés montre qu'elle présente des effets inotropes positifs (Szokodi, 2002).

III.3.5. L'omentine

L'omentine est fortement exprimée dans le tissu adipeux viscéral, mais très peu dans le tissu adipeux sous-cutané (Yang, 2006). Des études *in vitro*, sur adipocytes humains, ont montré que l'omentine augmente la captation du glucose provoquée par l'insuline, de façon dose-dépendante, en améliorant la phosphorylation de la protéine Akt, ce qui augmente le signal insulinique intracellulaire (Yang, 2006).

Chez l'homme, le taux d'expression de l'omentine ainsi que ses concentrations plasmatiques sont liés aux taux plasmatiques d'adiponectine, et ils diminuent avec des Indices de Masse Corporelle (IMC) croissants. Ces résultats suggèrent une régulation similaire pour l'adiponectine et l'omentine (de Souza Batista, 2007).

III.3.6. La chemerine

La chemerine est impliquée dans le contrôle de la réponse immunitaire (Zabel, 2005) et possède également une action régulatrice dans le métabolisme énergétique. Elle est produite par les adipocytes et contribue à la régulation de leur différenciation (Goralski, 2007). Chez le rat, l'expression de la chemerine et de son récepteur est augmentée chez les individus obèses (Bozaoglu, 2007). Dans des adipocytes en culture, la chemerine stimule la lipolyse (Roh, 2007), et améliore la captation du glucose induite par l'insuline en potentialisant la phosphorylation des protéines IRS1 du signal insulinique (Takahashi, 2008).

IV. Le foie

Le foie est un organe essentiel qui remplit de nombreux rôles métaboliques. C'est notamment le seul organe capable de libérer du glucose dans le sang. L'action de l'insuline sur le foie est très rapide et totale après deux heures. Cette action se compose d'un effet direct, l'inhibition de la glycogénolyse, et de la néoglucogenèse et d'un effet indirect, l'action anti-lipolytique, qui conduit à une diminution de la captation des acides gras libres par le foie et donc à une augmentation de l'oxydation du glucose. A ces effets s'ajoute l'effet inhibiteur de l'insuline sur la sécrétion de glucagon.

En résumé : Les principaux organes insulino-sensibles sont le cœur, le muscle squelettique, le tissu adipeux et le foie. Le muscle squelettique participe pour 80% de la captation de glucose sous insuline.

Le TAB constitue la plus importante réserve de lipides de l'organisme. L'action de l'insuline est d'augmenter la captation du glucose et la mise en réserve des lipides. Le TAB est un organe endocrine à part entière.

Le foie joue un rôle essentiel dans la régulation de la glycémie. L'action de l'insuline sur cet organe est principalement d'inhiber la libération de glucose dans le sang.

Chapitre II : Le syndrome métabolique

Le concept de syndrome métabolique a été proposé par Gerald Reaven dans les années 1980. Il correspond à un regroupement d'anomalies métaboliques et cardiovasculaires chez un même individu (Reaven, 1988). Il est maintenant bien établi que ce syndrome entraîne un risque plus important d'apparition d'un diabète de type 2, et de morbidité et de mortalité cardiovasculaires, ce qui en fait un véritable problème de santé publique.

Les données épidémiologiques montrent, qu'en dépit des progrès thérapeutiques réalisés, les maladies cardiovasculaires restent la principale cause de mortalité dans les pays industrialisés (Aboderin, 2001), représentant environ 19 millions des décès en 2008. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), environ 24 millions de personnes décéderont d'une maladie cardiovasculaire en 2015.

L'insulino-résistance (IR) est définie par un défaut d'action de l'insuline sur ses principaux organes cibles (muscle cardiaque et squelettique, tissu adipeux et foie), compensé par une hypersécrétion d'insuline (hyperinsulinémie). L'IR est un état dit "pré-diabétique", car elle survient en amont des premiers signes cliniques qui conduisent le patient chez son médecin. Elle conduit à terme au diabète de type 2, qui associe au défaut de sensibilité à l'insuline, un défaut de sécrétion de l'insuline. Il est diagnostiqué pour une glycémie supérieure ou égale à 7 mM.

A la fin des années 1980, l'ensemble constitué des troubles du métabolisme du glucose, de la dyslipidémie et de l'hypertension reçoit le nom de "syndrome X", ou "syndrome d'insulino-résistance" (Reaven, 1988). G. Reaven définit l'IR comme le centre de ces troubles métaboliques et en constitue un facteur de risque cardiovasculaire à part entière. En 1995, il inclut l'obésité dans sa description du syndrome, note aussi l'importance du rôle des acides gras libres, mais garde toujours l'IR, qui touche environ 25% de la population américaine adulte, comme principal acteur du syndrome métabolique (Reaven, 1995).

Diagnostic	Glycémie à jeun	Après 2 heures de TTG *
Diabète	≥ 7 mM	> 11 mM
Intolérance au glucose	$\geq 6,1$ mM	$\geq 7,8$ mM
Normal	< 7 mM	< 11 mM
	$< 6,1$ mM	$< 7,8$ mM

*TTG: Test de Tolérance au Glucose (consiste à provoquer une hyperglycémie et à suivre la glycémie pendant deux heures)

L'obésité générale est estimée par l'Indice de Masse Corporelle (IMC, kg/m^2), qui tient compte de la taille et poids. L'obésité est diagnostiquée pour un IMC supérieur ou égal à 30 kg/m^2 .

Diagnostic	IMC
Obésité morbide	$\text{IMC} \geq 40$
Obésité	$\text{IMC} \geq 30$
Surpoids	$25 \leq \text{IMC} \leq 29,9$
Normal	$18,5 \leq \text{IMC} \leq 24,9$

L'obésité abdominale d'un individu est également mesurée par le tour de taille. Les valeurs admises pour le tour de taille dépendent du sexe et de l'origine ethnique. De façon générale, la valeur limite de diagnostic de l'obésité est de 94 cm pour les hommes et de 80 cm pour les femmes (International Diabetes Federation, 2005).

Enfin, l'obésité centrale est estimée par le rapport du tour de taille sur le tour de hanche. Le rapport est considéré élevé lorsque le résultat est supérieur à 1 chez les hommes, et à 0,85 chez les femmes.

I. Définition

Même si le terme de syndrome métabolique est très largement utilisé et que le concept d'ensemble de désordres métaboliques est accepté, il n'y a pas à l'heure actuelle de consensus sur la définition de ce syndrome. Plusieurs définitions sont actuellement utilisées, elles ne regroupent pas les mêmes facteurs.

Chapitre II - Le Syndrome Métabolique

I.1. Définition de l'OMS

La première définition officielle du syndrome métabolique est donnée par l'OMS en 1998 (Alberti, 1998). Cette définition est basée sur une IR, identifiée par une hyperglycémie à jeun, une intolérance au glucose ou la présence d'un diabète de type 2, qui doit être associée à au moins deux autres facteurs de risque.

Élément principal	Glycémie à jeun élevée, ou intolérance au glucose, ou diabète de type 2
plus au moins deux de ces anomalies :	
Dyslipidémie	Triglycérides plasmatiques > 1,7 mM ou HDL-cholestérol < 0,9 mM pour les hommes, et < 1,0 mM pour les femmes.
Pression artérielle	systolique > 140 mmHg ou diastolique > 90 mmHg
Micro-albuminurie	Excrétion urinaire > 20mg/min ou rapport albumine/créatine > 30mg/g
Obésité centrale	tour de taille/tour de hanche > 0,90 pour les hommes et > 0,85 pour les femmes ou IMC > 30 kg/m ²

I.2. Définition de l'EGIR

L'EGIR (European Group for the study of Insulin Resistance) a publié une définition qui est similaire à celle de l'OMS, mais ne comprend pas la micro-albuminurie (Balkau, 1999).

Élément principal	Hyperinsulinémie : taux plasmatique d'insuline au dessus du quartile supérieur pour les sujets non-diabétiques (36-110 pM)
plus au moins deux de ces anomalies :	
Dyslipidémie	triglycérides plasmatiques > 2,0 mM ou HDL-cholesterol < 1,0 mM
Pression artérielle	systolique > 140 mmHg ou diastolique > 90 mmHg
Glycémie à jeun	> 6,1 mM
Obésité centrale	tour de taille > 94 cm pour les hommes et > 80 cm pour les femmes

I.3. Définition du NCEP:ATPIII

En 2001, le "National Cholesterol Education Program: Adult Treatment Panel III" (NCEP: ATPIII) considère l'IR comme essentielle du syndrome métabolique mais ne la garde pas comme élément central (NCEP: ATPIII, report 2001). Le syndrome métabolique est défini par au moins trois facteurs suivants : une obésité abdominale, un taux faible de HDL, un taux élevé de triglycérides, une hypertension et une hyperglycémie à jeun. Les seuils admis de pression artérielle, de HDL-cholestérol et de triglycérides sont plus sévères que dans la définition de l'OMS, et les triglycérides et le HDL-cholestérol représentent deux paramètres distincts.

Au moins trois de ces anomalies :

Obésité abdominale	> 102 cm chez les hommes et > 88 cm chez les femmes
HDL-cholestérol	< 1 mM chez les hommes et < 1,3 mM chez les femmes
Triglycérides plasmatiques	> 1,7 mM
Pression artérielle	systolique > 130 mmHg ou diastolique > 85 mmHg
Glycémie à jeun	> 5,6 mM

I.4. Définition de l'AACE

L'AACE (American Association of Clinical Endocrinologists) replace l'IR comme élément principal de la définition et exclut les patients atteints de diabète de type 2 (Bloomgarden, 2003). Le syndrome métabolique est défini par une intolérance au glucose associée à au moins deux des facteurs suivants : un taux élevé de triglycérides, un faible taux de HDL-cholestérol ou une hypertension.

Élément principal	Intolérance au glucose
plus au moins deux de ces anomalies :	
Triglycérides plasmatiques	> 1,7 mM
HDL-cholestérol	< 1 mM chez les hommes et < 1,3 mM chez les femmes
Pression artérielle	systolique > 130 mmHg ou diastolique > 85 mmHg

I.5. Définition de l'IDF

L'"International Diabetes Federation" (IDF) propose une nouvelle série de critères diagnostiques basés sur l'obésité abdominale, dont les seuils admis sont "ethnie-dépendants" (Europe, Asie du sud, Chine, Japon, Amérique du sud, Amérique centrale, Afrique subsaharienne ou pays méditerranéens) (Alberti, 2005).

Élément principal	Obésité abdominale, définie sur les critères ethniques avec des tours de tailles spécifiques
plus au moins deux de ces anomalies :	
Triglycérides plasmatiques	> 1,7 mM
Glycémie à jeun	> 5,6 mM
HDL-cholestérol	< 1 mM chez les hommes et < 1,3 mM chez les femmes
Pression artérielle	systolique > 130 mmHg ou diastolique > 85 mmHg

I.6. Définition de l'AHA/NHLBI

L'une des définitions les plus récentes est donnée par l'American Heart Association/National Heart, Lung and Blood Institute (AHA/NHLBI) en 2005 (Grundy, 2005).

Au moins trois de ces anomalies :	
Tour de taille	> 102 cm chez les hommes et > 88 cm chez les femmes
Triglycérides plasmatiques	> 1,7 mM ou personne sous traitement médicamenteux diminuant les triglycérides
HDL-cholestérol	< 1,03 mM chez les hommes et < 1,30 mM chez les femmes, ou personne sous traitement médicamenteux contre des taux bas de HDL-cholestérol
Glycémie à jeun	> 5,6 mM ou personne sous traitement médicamenteux hypoglycémiant
Pression artérielle	systolique > 130 mmHg ou diastolique > 85 mmHg ou personne sous traitement médicamenteux contre l'hypertension

La diversité de toutes ces définitions explique les difficultés à comparer les différentes études concernant le syndrome métabolique.

I.7. Définition du SM chez l'enfant

Le développement d'anomalies métaboliques chez l'enfant est associé à des risques importants de développement d'un diabète de type 2 ou de maladies cardiovasculaires à l'âge adulte (Zimmet, 2007). L'obésité infantile est la principale cause d'IR (Caprio, 2002), elle augmente le risque de développer un syndrome métabolique à l'âge adulte (Sun, 2008), et le risque de maladies cardiovasculaires et de diabète de type 2 (Baker, 2007). Les études de dépistage chez l'enfant utilisent des critères le plus souvent basés sur la distribution de différents paramètres (hyperinsulinémie, hyperglycémie à jeun, dyslipidémie et obésité) au dessus du quartile le plus élevé (Ford, 2008a ; Cruz, 2004). Les définitions disponibles chez l'enfant et l'adolescent sont de ce fait extrêmement diverses, à la fois par les paramètres pris en compte et par les seuils retenus.

L'étude du "National Health And Nutrition Examination Survey" (NHANES) permet de fixer le diagnostic du syndrome métabolique, pour des enfants de douze ans, en présence de trois des critères suivants :

Tour de taille	> 84,5 cm pour les garçons et > 81,9 cm pour les filles
Triglycérides plasmatiques	> 1,54 mM pour les garçons et > 1,94 mM pour les filles
HDL-cholestérol	< 0,91 mM pour les garçons et < 0,94 mM pour les filles
Pression artérielle	diastolique > 77 mmHg pour les garçons > 76 mmHg pour les filles
Glycémie à jeun	> 5,6 mM

L'IDF propose en 2005 une série de critères diagnostiques, basés sur les critères adultes.

- De 6 à 10 ans : seule l'obésité abdominale est prise en compte. Le syndrome métabolique, en tant que tel, ne peut être diagnostiqué, mais l'enfant sera surveillé en cas de maladies cardiovasculaires dans la famille.

- De 10 à 16 ans : l'obésité est le critère principal. Il est associé aux valeurs de triglycérides plasmatiques, de HDL-cholestérol, de pression artérielle et de glycémie à jeun.

- Au-delà de 16 ans : les critères adultes sont appliqués.

Pour les enfants en dessous de 6 ans, il n'y a pas à l'heure actuelle assez de données pour établir des recommandations (Zimmet, 2007).

Malgré ces critères, il n'existe pas à l'heure actuelle de consensus sur une définition du syndrome métabolique chez l'enfant et l'adolescent.

II. Prévalence du syndrome métabolique

La prévalence du syndrome métabolique est en constante augmentation dans le monde (Grundy, 2008). Les prévalences estimées sont dépendantes des définitions utilisées et de la population concernée. La définition de l'EGIR, qui ne prend pas en compte les personnes atteintes d'un diabète de type 2, est moins inclusive. D'autre part, la définition fournie par l'IDF, qui utilise l'obésité centrale comme pré-requis, prend en compte plus de personnes que la définition du NCEP: ATP III.

II.1. Dans le monde

	Ref.	n	Age (yr)	ATP III 2001	WHO	IDF	EGIR
Australia	26	11,247 (8438 no DM)	≥25	24.4% m, 19.9% w	25.4% m, 18.2% w	34.4% m, 27.2% w	15.6% m, 11.3% w
Brazil	56	1,242	40-74	25.9% m, 40.9% w			
Cameroon	99	1,573	24-74 ^b	0% m, 0% w	4.9% m, 2% w	0% m, 0% w	
Canada (non-Aboriginal)	39	2,058 ^a	18+	30.6% m, 29.2% w			
Canada (Inuits)	39	238 ^a	18+	6.7% m, 18.8% w			
China	32	6,610	~52	18.5% m, 15.7% w	18.1% m, 22.4% w	16.2% m, 19.0% w	11.8% m, 12.2% w
China	40	15,540 ^a	35-74	9.8% m, 17.8% w			
Denmark	29	2,493 ^a	41-72	18.6% m, 14.3% w		23.8% m, 17.5% w	
Finland	34	2,182	24-39	13.0% m/w		14.9% m/w	9.8% m/w
Finland	35	2,049 ^a	45-64		38.8% m, 22% w		
France	41	3,770 ^a	30-64	11.0% m, 8.0% w			
Greece	59	2,282	>18	25.2% m, 14.6% w			
Greenland	36	917 ^a	≥35	13% m, 22% w	20% m, 22% w		
Hungary	27	13,383 ^a	30-60	6.7% m, 9.8% w		14.9% m, 8.6% w	
Southern India (Urban)	28	2,350 ^a	20+ ^b	17.1% m, 19.4% w	27.3% m, 19.7% w	23.1% m, 28.2% w	
Northern India (Urban)	57	300	20+	18.4% m, 30.9% w			
Iran	33	10,368	20+	24.0% m, 40.5% w	17.0% m, 20.0% w	21.0% m, 41.0% w	
Ireland	42	890 ^a	50-69	21.8% m, 21.5% w	24.6% m, 17.8% w		
Italy	56	1,198	40-74	26.8% m, 23.7% w			
Northern Jordan	43	1,121 ^a	25-85	28.7% m, 0.9% w			
Mexico	44	2,158 ^a	20-69	28.5% m, 25.2% w	13.4% m, 13.8% w		
Oman	45	1,419 ^a	20-99	19.5% m, 23.0% w			
Palestine	46	992 ^a	30-65		17.0% m/w		
Peru	47	1,878 ^a	20-80	18.1% m/w			
Philippines	48	4,541 ^a	>20	14.3% m, 14.1% w			
Russia	49	146 ^a	25-89	66.9% m/w			
Slovakia	50	657 ^a	≥30		20.0% m/w		
South Korea	51	40,698 ^a	20-82	5.2% m, 9.0% w			
Spain	30	2,540	35-64	22.0% m, 28.8% w		27.3% m, 31.7% w	
Sweden	37	5,047	46-68	20.6% m/w		21.9% m/w	18.8% m/w
Sweden	24	1,007	45-69	14.8% m, 15.3% w			
Sweden	38	508	70	26.3% m, 19.2% w			
Tunisia	31	863 ^a	40+	14.6% m, 30.8% w	25.7% m, 30.8% w	30.0% m, 55.8% w	
Turkey	52	4,259 ^a	20-90	28.0% m, 39.6% w			
Turkey	58	2,296	28+	32.2% m, 45.0% w			
Taiwan	55	5,936	20-80	18.3% m, 13.6% w		16.1% m, 13.3% w	

DM, Diabetes mellitus; m, men; w, women.

^a T2D included.

^b Not age-adjusted.

Tableau 2. Prévalence du syndrome métabolique dans le monde, en fonction des définitions (Cornier, 2008).

L'augmentation de la prévalence du syndrome métabolique dans le monde (tableau 2) est liée à l'augmentation de celle de l'obésité. Les différences observées entre définitions sont attribuées à la classification des seuils d'obésité abdominale "ethnie-dépendants" proposée par l'IDF d'une part, et d'autre part au fait que certaines études incluent des sujets diabétiques dans leur échantillonnage de population.

Aux Etats-Unis, en Europe et en Inde, au moins un adulte sur quatre est atteint d'un syndrome métabolique.

II.2. Aux Etats-Unis

Aux Etats-Unis, la prévalence du syndrome métabolique a augmenté entre les deux premières études NHANES (1988-1994 et 1999-2000) (tableau 3). Le nombre d'américains atteints d'un syndrome métabolique était d'environ 50 millions en 1994 et d'environ 64 millions en 2000 (Ford, 2004). Cette augmentation s'explique par une augmentation importante de l'obésité, de 22,5% de la population à 30,5% entre 1990 et 2000. Entre 1999 et 2002, les critères de l'IDF montrent que 40% de la population était atteinte de syndrome métabolique (Ford, 2005).

Age	NCEP: ATP III	IDF	NCEP: ATP III	IDF
	Homme	Homme	Femme	Femme
20-29 ans	14,9%	21,8%	12,1%	14,6%
30-39 ans	23,4%	27,0%	23,3%	23,4%
40-49 ans	37,0%	45,5%	31,9%	33,3%
50-59 ans	47,4%	53,4%	42,9%	49,0%
60-69 ans	51,6%	58,0%	60,9%	62,6%
≥ 70 ans	46,6%	53,0%	57,8%	63,2%

Tableau 3. Prévalence du syndrome métabolique aux Etats-Unis en fonction de l'âge et du sexe (Ford, 2005).

II.3. En Europe

En Europe, une dizaine d'études réalisées entre 1981 et 1997 chez des sujets non diabétiques ont estimé la prévalence du syndrome métabolique, défini selon les critères de l'EGIR et de l'OMS (tableau 4).

Chapitre II - Le Syndrome Métabolique

	OMS		EGIR	
	Hommes	Femmes	Hommes	Femmes
- 40 ans	13%	4%	10%	3%
40 – 55 ans	20%	11%	9%	7%
> 55 ans	33%	21%	22%	17%

Tableau 4. Prévalence moyenne du syndrome métabolique en Europe (d'après Balkau, 2002b).

Au sein de l'Europe, il existe une grande disparité de la prévalence du syndrome métabolique (tableau 5). L'Angleterre, l'Irlande et la Suède présentent les valeurs les plus élevées (Grundy, 2008).

Country and Reference	Population	Age Range (No.)	Criteria	Prevalence of MetS (% of population)		
				Men	Women	Total
France (43)	Men women	35–64 (3359)	NCEP	23.0	16.9	
France (44)	Men	50–59 (10 592)	NCEP	29.7		
			IDF	38.9		
			WHO	35.5		
Germany (45)	Men women	(4816 men 2315 women)	NCEP IDF	23.5 31.6	17.6 22.6	
Netherlands (46)	Adult men women	50–75 (1364)	NCEP WHO	19.0 26.0	32.0 26.0	
Italy (47)	Men Women	45–64 (1877)	NCEP	24.1	23.1	22.2
Italy (48)	Men women	40–79 (888)	NCEP WHO			17.8 34.1
Italy (49)	Men Women	19+ (2100)	NCEP	15	18	
Italy (50)	Men Women	65–84 (5632)	NCEP	29.9*	55.2*	
Spain (51)	Men women	35–64 (2540)	NCEP IDF	22.3 27.7	30.7 33.6	
Portugal (52)	Men women	18–90 1436	NCEP	19.1	27.0	23.9
Greece (53)	Men Women	Adults (9669)	NCEP IDF			24.5 43.4
Croatia (54)	Men women	18–88 (996)	NCEP			34.0
UK (55)	Women	60–79 (3589)	NCEP IDF WHO		29.8 47.5 20.9	
UK (56)	Men women	40–69 (2346)	NCEP WHO			
Canary Islands (57)	Men women	30+ (1193)	NCEP WHO	20.3 26.5	21.1 17.6	
Netherlands (58)	Men women (CHD)	18–80 (1117)	NCEP			46
Spain (59)	Men women (HIV)†	41.9±9.2 (710)	NCEP			17.0
Greece (60)	Men women (FCHL)‡	Adults (706)	NCEP	63.0	37.0	41.8
Finland (61)	Depression and Anxiety	Adults 5698	NCEP	47	25	37

*In a subgroup with diabetes, 64.9% of men and 87.1% of women had NCEP MetS.

†HIV indicates Human immunodeficiency virus; ‡FCHL, familial combined hyperlipidemia.

Tableau 5. Prévalence du syndrome métabolique en Europe (Grundy, 2008).

II.4. En France

L'étude DESIR (Data from an Epidemiological Study on the Insulin Resistance Syndrome), en 2003, menée chez des sujets français âgés de 30 à 65 ans, a montré une prévalence du syndrome métabolique, défini selon les critères NCEP, de 17% chez les hommes et de 10% chez les femmes, soit respectivement 2,5 et 3 fois moins qu'aux Etats-Unis (Balkau, 2003).

Entre 2002 et 2004, une étude menée par l'Institut inter Régional de la Santé (IRSA) sur la prévalence du syndrome métabolique (19126 hommes et 19874 femmes de 20 à 74 ans) a évalué une prévalence à (Balkau, 2007) :

- 10% chez les hommes et 9% chez les femmes selon les critères du NCEP: ATP III
- 21% chez les hommes et 17% chez les femmes selon les critères de l'IDF
- 18% chez les hommes et 14% chez les femmes selon les critères de l'AHA/NHBLI.

II.5. Chez l'enfant

L'impact de l'obésité sur la prévalence du syndrome métabolique a été testé chez 439 enfants et adolescents obèses (Weiss, 2004). Cette étude a montré que la prévalence du syndrome métabolique augmente avec la sévérité de l'obésité, jusqu'à atteindre un maximum de 50% chez les adolescents présentant une obésité sévère ($IMC > 35 \text{ kg/m}^2$). Plus récemment, les données fournies par l'étude NHANES 1999-2002 menée sur 1826 adolescents américains, indique que la prévalence du syndrome était comprise entre 2 et 9,4% chez tous les enfants et entre 12,4 et 44,2% chez les enfants obèses (Cook, 2008).

II.6. Autres facteurs intervenant dans la prévalence du syndrome métabolique.

Le tabac. Y. Park, en se reportant à la cohorte de patients de l'étude NHANES 1988-1994, estime que le risque de syndrome métabolique est plus grand chez les fumeurs (1,5 fois chez les hommes et 1,8 fois chez les femmes) que chez les non fumeurs (Park, 2003).

L'alimentation. Une alimentation riche en sucres augmente la prévalence du syndrome métabolique. Chez l'homme, le risque de syndrome métabolique est augmenté de 70% quand plus de 60% des calories totales sont apportées par les glucides (Park, 2003).

Statut socio-économique. La prévalence du syndrome métabolique est lié au statut socio-économique. Chez les hommes et femmes afro-américains, le risque de syndrome métabolique est diminué de 37% pour les personnes qui ont suivi un enseignement secondaire (Lucove, 2006). Une étude finlandaise montre que 41% des hommes et 27% des femmes qui n'ont pas suivi d'enseignement secondaire présentent un syndrome métabolique (Silventoinen, 2005). Le risque de syndrome métabolique est augmenté de 50% chez les femmes dont le

revenu annuel du foyer est inférieur à 15000 dollars, en comparaison avec des femmes dont le revenu par foyer est supérieur à 25000 dollars (Park, 2003).

III. Obésité et résistance à l'insuline, les deux composantes majeures du syndrome métabolique

III.1. Prévalence de l'obésité

Dans le monde :

En 1995, l'OMS valide l'utilisation de l'IMC pour la mesure de l'obésité. Il y a plus d'un milliard de personnes en surpoids dans le monde dont environ 312 millions sont obèses (figures 20 et 21). L'OMS estime qu'il y aura environ 2,3 milliards d'adultes en surpoids et 700 millions d'obèses en 2015, et classe l'obésité au rang d'épidémie depuis 1998. Il y a environ 155 millions d'enfants en surpoids ou obèses dans le monde (rapport OMS, 2006). Les estimations montrent que la seule région dans le monde qui ne soit pas touchée par l'obésité est l'Afrique sub-saharienne (Haslam, 2005). L'"International Obesity Task Force" (IOTF) et l'OMS ont révisé la définition de l'obésité pour prendre en compte les différences ethniques. Ainsi, le nouveau critère de surpoids en Asie est un $IMC \geq 23 \text{ kg/m}^2$ (ou un tour de taille de 90 cm pour les hommes et 80 cm pour les femmes), faisant ainsi progresser le nombre de personnes en surpoids dans le monde jusqu'à 1,7 milliard de personnes (James, 2004).



Figure 20. L'obésité dans le monde en 2005 (Source : <http://www.ladocumentationfrancaise.fr/cartotheque/obesite-monde-2005.shtml>).

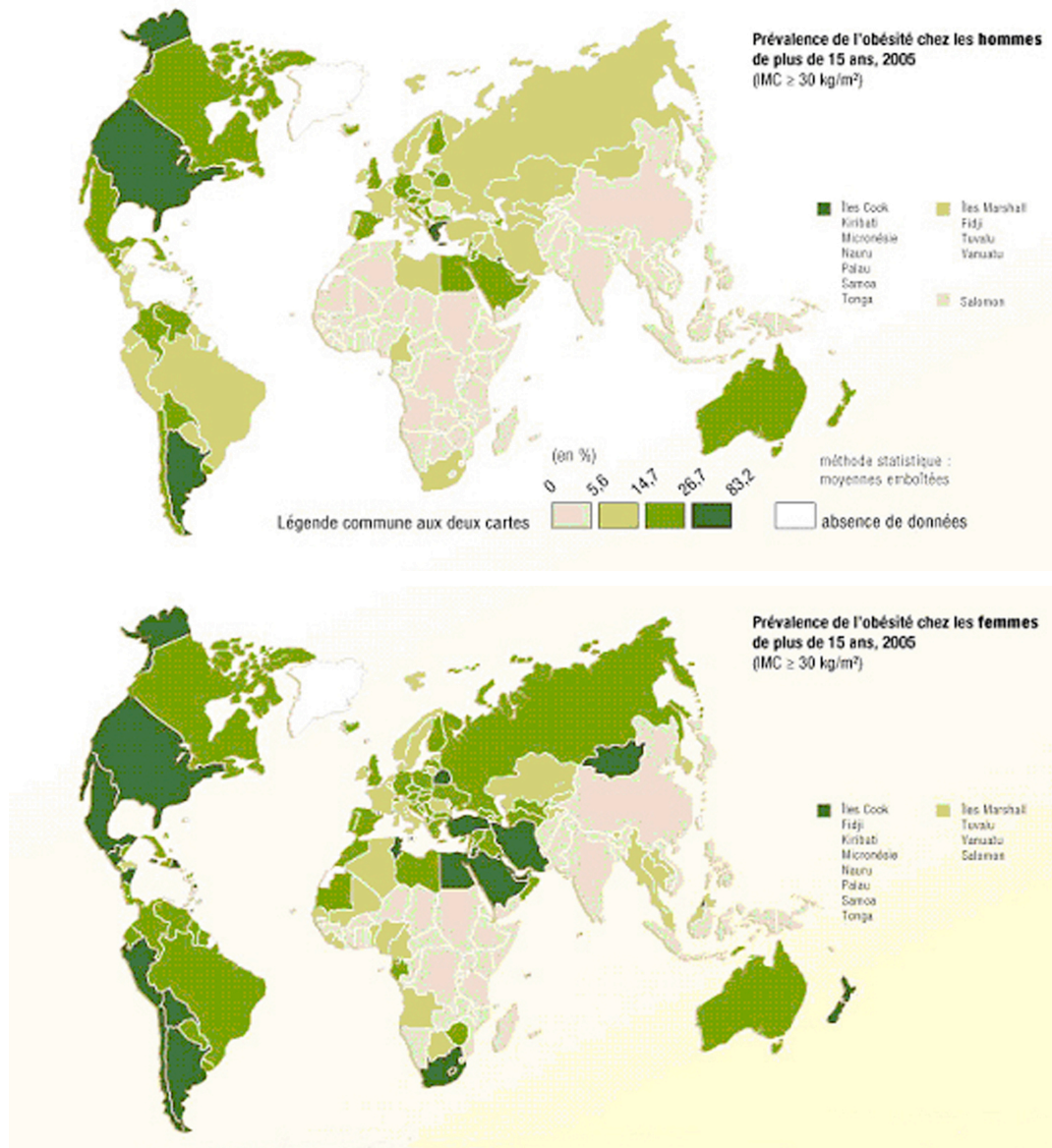


Figure 21. L'obésité dans le monde en 2005 selon le sexe (Source : <http://www.ladocumentationfrancaise.fr/cartotheque/obesite-monde-2005.shtml>).

Aux Etats-Unis :

Entre 2004 et 2007, l'obésité a progressé de 31,7 à 33,3% chez les hommes, et de 34 à 35,3% chez les femmes (figure 22); sa prévalence chez des enfants de 2 à 19 ans était estimée à 16,3% en 2006 (Ogden, 2007).

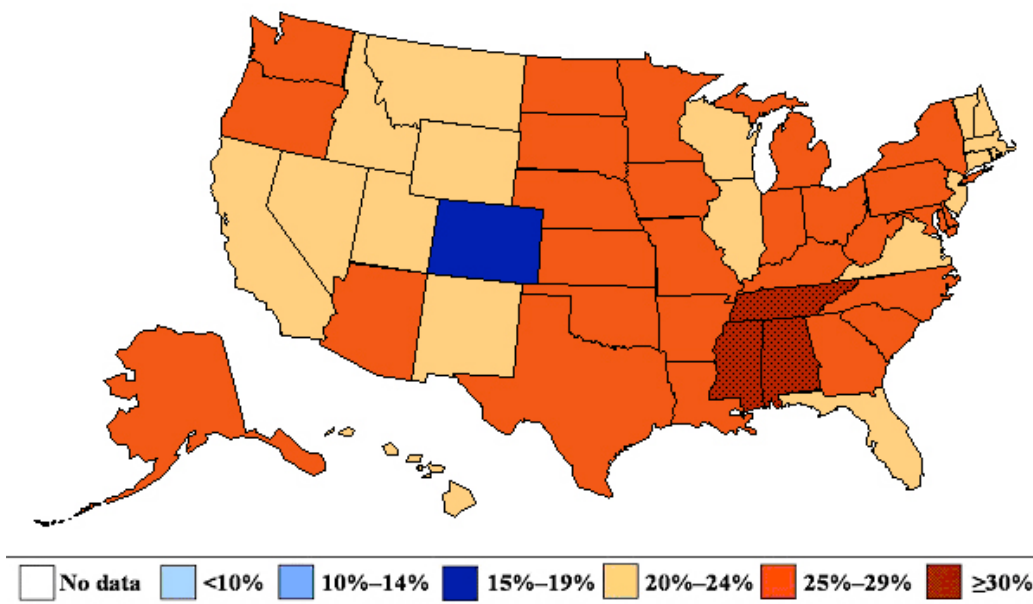


Figure 22. Prévalence de l'obésité aux Etats-Unis en 2007 (source : Center for Disease Control, 2007).

En Europe :

Selon l'IOTF, en 2008, environ 400 millions de personnes étaient en surpoids en Europe et environ 130 millions étaient obèses, soit jusqu'à 45% de la population dans certaines régions. Environ 14 millions d'enfants étaient obèses. La prévalence chez les hommes varie entre 4,0 et 28,3% et chez les femmes, elle varie entre 6,2 et 36,5% (figure 23) (Berghofer, 2008 ; site internet IOTF 2008).

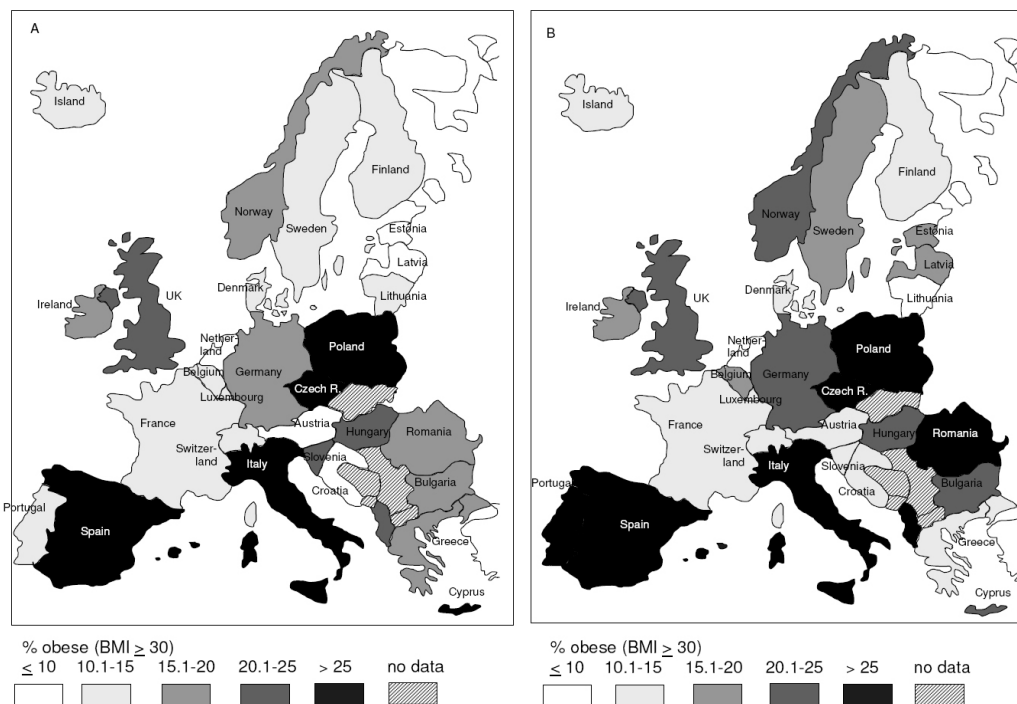


Figure 23. Prévalence de l'obésité en Europe, pour les hommes à gauche et pour les femmes à droite (Berghofer, 2008).

En France :

Les données de l'enquête ObÉpi 2009 confirment une augmentation de la fréquence de l'obésité dans la population adulte française (Etude ObÉpi-Roche, 2009). En 2009, l'obésité concernait 14,5% de la population, soit environ 9,3 millions de personnes (figure 24). La prévalence du surpoids était de 31,9%, soit environ 20,5 millions de personnes.

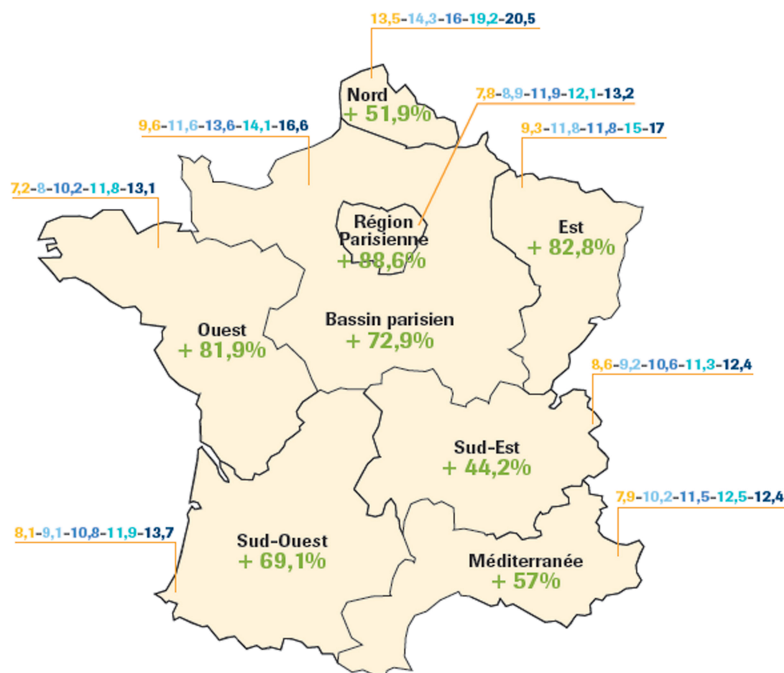


Figure 24. Prévalence de l'obésité en France par région. Les prévalences des études précédentes sont représentées du jaune au bleu (dans l'ordre 1997, 2000, 2003, 2006 et 2009). Les chiffres verts représentent l'augmentation depuis 1997 (source : ObÉpi 2009).

En résumé:

	Monde	USA	Europe	France
Surpoids (%)	~ 25 (OMS 2006)	32,7 (Ogden, 2007)	35,9 (Bergohfer, 2008)	31,9 (Obépi, 2009)
Obésité (%)	~ 5 (OMS 2006)	34 (Ogden, 2007)	17,2 (Bergohfer, 2008)	14,5 (Obépi, 2009)
Nb. surpoids	1,7 milliard	100 millions	400 millions	20,5 millions
Nb. obèses	400 millions	72 millions	130 millions	9,3 millions

III.2. Prévalence de l'IR

Le "Department of Health and Human Service" estime que 25% de la population américaine présentait une IR, soit environ 60 millions de personnes en 2007. Par ailleurs, il estimait à environ 197 millions le nombre de personnes intolérantes au glucose dans le monde et ce chiffre devrait atteindre 420 millions en 2025 (Hossain, 2007).

Cependant, il n'y a pas à l'heure actuelle de consensus sur la méthode de mesure de l'IR. Les méthodes de mesure sont soit peu sensibles, soit contraignantes pour le patient (Radikova, 2003). Il est donc difficile d'obtenir des données épidémiologiques sur des grands échantillons de populations.

III.3. Physiopathologie de l'IR

L'IR est un état pathologique dans lequel les cellules cibles de l'insuline ne répondent plus à des concentrations physiologiques en insuline. Dans ces conditions, le maintien de l'homéostasie glucidique et lipidique requiert des concentrations plus importantes en insuline (Wang CC, 2004) et l'hyperinsulinémie compensatoire qui en résulte est une caractéristique de l'IR. Toutefois, l'IR se caractérise aussi par un défaut d'action de l'insuline sur l'inhibition de la lipolyse dans le tissu adipeux, sur l'inhibition de la gluconéogenèse dans le foie, et sur la captation de glucose dans les muscles squelettiques et cardiaque et dans le tissu adipeux. L'IR est associée à de nombreuses pathologies telles que l'obésité, le syndrome métabolique ou le diabète de type 2. L'étiologie de l'IR inclut des facteurs génétiques et des facteurs environnementaux : alimentation, activité physique, âge, tabac, médication (Zhu, 2004). Le facteur le plus important est l'obésité qui combine à la fois les facteurs environnementaux et génétiques (Cummings, 2003). Chez les sujets obèses, le tissu adipeux n'est plus sensible aux effets anti-lipolytiques de l'insuline, et libère de grandes quantités d'acides gras libres qui participent au développement de l'IR, on parle de "lipotoxicité".

III.3.1. Acides gras et résistance à l'insuline : la "lipotoxicité".

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. Par contre, chez les personnes insulino-résistantes, obèses ou diabétiques, il y a un apport constant d'acides gras aux tissus, en particulier aux muscles squelettiques et au foie. Ce processus, ajouté à des défauts d'oxydation des acides gras, conduit à un stockage ectopique des triglycérides dans ces organes, ce qui a des effets délétères sur le métabolisme cellulaire. Ces effets délétères sont regroupés sous le terme de "lipotoxicité" (Muoio, 2008).

Chez les patients obèses et/ou diabétiques, la lipolyse est augmentée suite à un défaut d'action de l'insuline sur le tissu adipeux (DeFronzo, 2004). De par sa forte activité lipolytique, le

TAB viscéral a été désigné comme principal responsable de la libération d'acides gras et de l'IR qui en découle.

III.3.1.1. Défauts de signalisation du récepteur à l'insuline

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, 1987), ni la liaison de l'insuline à son récepteur (Ciaraldi, 2002). La phosphorylation de la sous-unité β du récepteur à l'insuline est similaire dans des fibres musculaires de patients diabétiques et des fibres de patients sains (Krook, 2000). Néanmoins, dans le cas d'obésité sévère, on constate une diminution à la fois de l'expression des protéines du récepteur et de sa phosphorylation (Goodyear, 1995).

Il n'y a pas de défaut dans l'expression de IRS-1 (substrat du récepteur à l'insuline) chez des sujets diabétiques, obèses ou non obèses (Björnholm, 1997), mais des défauts de phosphorylation des protéines IRS-1 (Bouzakri, 2003 ; Cusi, 2000). Les personnes diabétiques présentent une augmentation de la phosphorylation des protéines IRS-1 sur des résidus sérine et/ou thréonine (Lee YH, 2003), ce qui diminue la liaison de IRS-1 avec les tyrosines phosphorylées des sous-unités β des récepteurs. De nombreux facteurs induisent cette phosphorylation, tels les AGL, le diacylglycérol (DAG), les acyl-CoA et le glucose, mais également les cytokines inflammatoires comme le TNF- α ou l'IL-1 β (interleukine 1 β). Parmi les enzymes capables de phosphoryler les protéines IRS sur des résidus sérine et/ou thréonine, la Jun kinase (JNK) empêche l'interaction du domaine PTB de IRS1/2 avec la tyrosine 960 phosphorylée du récepteur. Cette kinase est activée par le TNF- α , les AGL sécrétés par le TAB et impliqués dans la résistance à l'insuline, et par l'insuline elle-même, ce qui explique en partie l'IR associée aux états d'hyperinsulinisme (Lee YH, 2003). L'élévation des concentrations en AGL, libérés par le TAB, en cas de résistance à l'insuline du TAB, conduit à l'accumulation de 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, inhibant ainsi le signal insulinique (Girard, 2003) (figure 25).

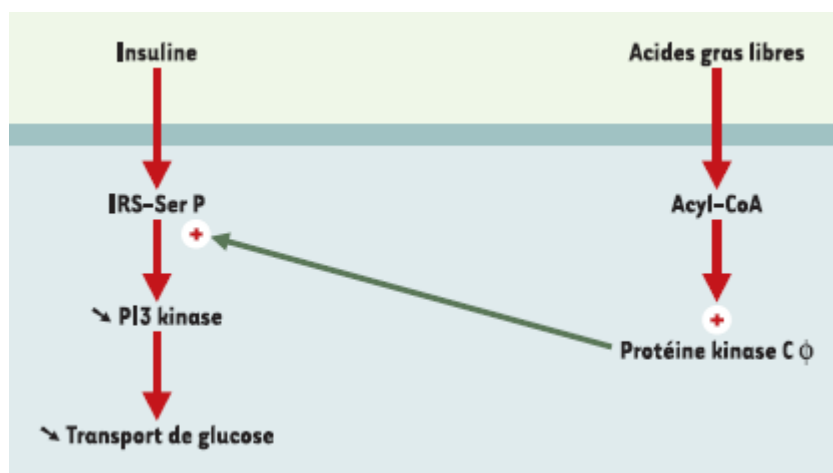


Figure 25. L'excès d'AGL dans le muscle entraîne une inhibition des mécanismes de transmission du signal insulinique. L'accumulation de métabolites dérivés de ces acides gras libres (acyl-CoA et diacylglycérol) conduit à une activation de la protéine kinase C qui, en phosphorylant un résidu sérine du substrat majeur du récepteur de l'insuline (IRS), entraîne une diminution du recrutement de la phosphatidylinositol 3-kinase (PI3 kinase) et donc une réduction du transport de glucose (Girard, 2003).

La protéine PDK-1, impliquée dans la voie de signalisation de la PI3K du récepteur insulinique, présente une activité et une expression similaires chez les sujets sains, obèses ou diabétiques (Kim YB, 2003). Cependant, l'expression des protéines en aval de PDK-1, dont la PKC ζ et la PKC λ , est altérée chez des personnes obèses et/ou diabétiques (Kim YB, 2003).

La protéine AS160 (Akt Substrat 160 kDa) est activée par Akt. Elle est directement impliquée dans la translocation des GLUT4 en réponse à l'insuline (Kane, 2002). La phosphorylation de AS160 et son expression en conditions basales sont comparables entre des sujets sains et des sujets diabétiques (Karlsson, 2005). Cependant, en présence d'insuline, bien que son expression ne soit pas affectée, sa phosphorylation est largement diminuée chez les personnes diabétiques par rapport aux personnes saines (Karlsson, 2005). Cette diminution de l'activité de AS160 est probablement responsable du défaut de translocation des GLUT4 vers la membrane plasmique en réponse à l'insuline, chez les patients insulino-résistants.

III.3.1.2. Le cycle "glucose-acides gras" de Randle

Il y a une quarantaine d'années, Philip Randle et ses collaborateurs ont démontré, à partir d'expériences réalisées *ex vivo* sur le modèle de cœur de rat isolé et perfusé, l'existence d'un cycle "glucose-acides gras" (Randle, 1963). Ce cycle décrit comment une augmentation de l'oxydation des acides gras entraîne une diminution de l'oxydation du glucose par altération du potentiel d'oxydo-réduction de la cellule et inhibition d'enzymes clés de la cascade

glycolytique. Dans les expériences de P. Randle, une augmentation de la concentration des AGL dans le milieu de perfusion conduisait à une réduction de la captation et de l'utilisation du glucose par le myocarde. Il avait ensuite généralisé ces observations au muscle squelettique. Quelques années plus tard, il a été démontré que les acides gras provenant de l'hydrolyse des triglycérides intracellulaires étaient aussi importants pour le cycle "glucose-acides gras" que les acides gras provenant de la circulation sanguine (Zierler, 1976). Par ailleurs, l'oxydation des AGL dans le foie fournit des co-facteurs (ATP, NADH, acétyl-CoA) nécessaires à certaines étapes clés de la néoglucogenèse, conduisant à une production accrue de glucose par le foie (Girard, 1995). Le cycle "glucose-acides gras" de Randle postule que l'oxydation excessive d'acides gras dans le muscle conduit à une augmentation des rapports ATP/ADP et acétyl-CoA/CoA, ce qui inhibe la pyruvate déshydrogénase, l'entrée de l'acétyl-CoA dérivé du pyruvate dans la mitochondrie et l'oxydation du glucose (Randle, 1963). L'oxydation accrue des acides gras produit également une augmentation du citrate mitochondrial, en raison de l'afflux d'acétyl-CoA et de l'augmentation d'ATP et du NADH. Le citrate en excès passe alors dans le cytosol où il entraîne une inhibition allostérique de la phosphofructokinase, conduisant à une augmentation de fructose-6-phosphate et de glucose-6-phosphate. L'accumulation de glucose-6-phosphate provoque une inhibition allostérique de l'hexokinase, conduisant à une augmentation de la concentration intracellulaire en glucose et à l'inhibition de son transport vers l'intérieur de la cellule (figure 26).

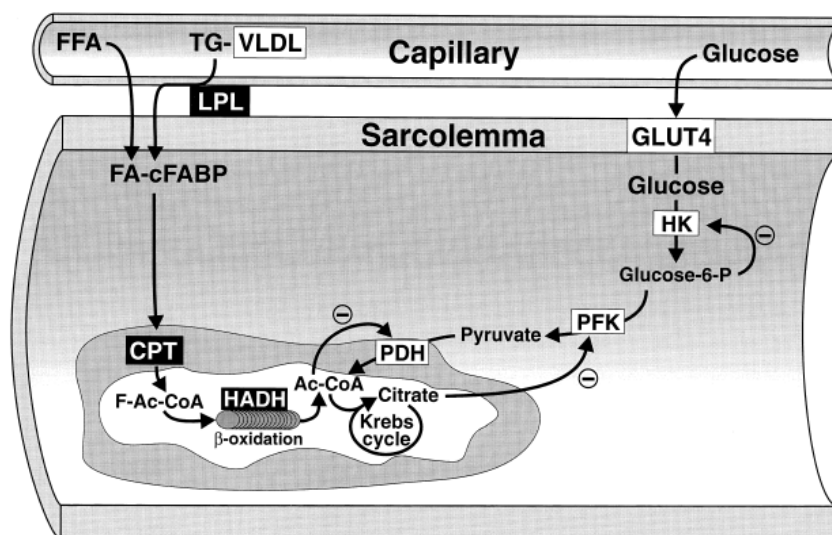


Figure 26. Cycle "glucose-acide gras" dans le muscle squelettique, d'après Randle, 1963. (Kelley, 2000).

Cependant, lors d'une étude réalisée par l'équipe de G. Shulman par SRMN (Spectroscopie de Résonance Magnétique Nucléaire) chez des sujets sains perfusés avec des acides gras pendant 5 heures, lors d'un clamp euglycémique hyperinsulinémique (clamp EH), il a été mis en

évidence une diminution de 50% de la captation de glucose et de la synthèse de glycogène induite par l'insuline dans le muscle squelettique (Shulman, 2004). Dans ces conditions, le modèle de Randle prévoit une augmentation du glucose-6-phosphate intracellulaire, alors qu'au cours de cette étude, les auteurs observent une diminution de glucose-6-phosphate intracellulaire pour le groupe perfusé avec les acides gras. Ces résultats suggèrent que l'élévation de la concentration en acides gras plasmatiques induit une résistance à l'insuline en inhibant le transport du glucose ou l'activité de l'hexokinase, et que la réduction de la synthèse de glycogène et la diminution de l'oxydation du glucose sont des événements secondaires. Le glucose intracellulaire est un intermédiaire entre le transport du glucose et l'hexokinase II. Ses concentrations reflètent l'activité relative de ces deux étapes. Par conséquent, un défaut de transport du glucose résulte en une diminution de glucose intracellulaire ; et un défaut de l'activité de l'hexokinase II résulte en une augmentation de sa concentration intracellulaire. Dans l'étude de G. Shulman, la perfusion d'acides gras lors du clamp EH provoque une diminution des concentrations en glucose intracellulaire, ce qui indiquerait que le défaut de transport du glucose est la première étape affectée par l'excès d'acides gras (Shulman, 2004).

D'autres études par SRMN montrent une corrélation entre les concentrations de triglycérides dans le muscle squelettique et l'IR chez l'homme (Perseghin, 1999). Les sujets obèses qui présentent des taux élevés d'acides gras circulants ne présentent pas d'IR si leur taux de triglycérides intramusculaires n'est pas augmenté (Kelley, 1999).

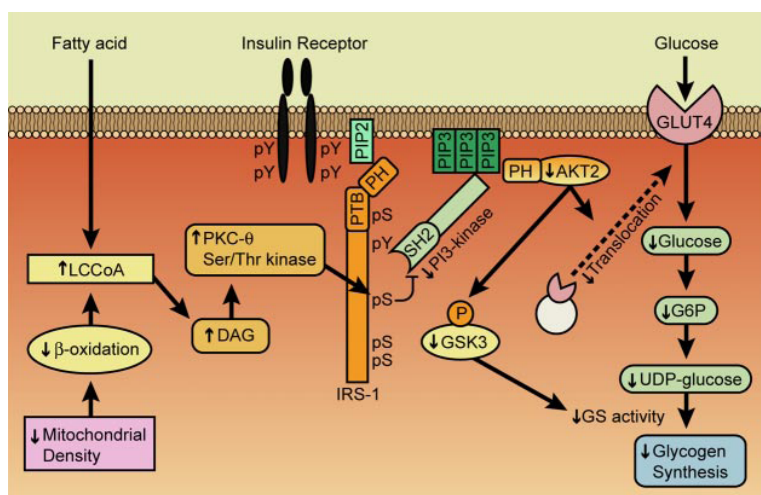


Figure 27. Mécanisme de la résistance à l'insuline musculaire induite par les acides gras (Savage, 2007).

L'accumulation d'acides gras intracellulaires conduit à l'accumulation de longues chaînes d'acyl-CoA, de DAG (Yu, 2002) et de céramides (Adams, 2004). Le DAG active la PKC-θ,

qui phosphoryle la protéine IRS1 sur des résidus sérine et thréonine (figure 27). La PI3K n'est par conséquent pas activée, la protéine Akt ne l'est pas non plus, ce qui conduit à la diminution de la captation du glucose et de la synthèse de glycogène induites par l'insuline (Dresner, 1999) (figure 27).

III.3.1.3. Foie et lipotoxicité

La production endogène de glucose (PEG) est la seule source de glucose en condition de jeûne. Le foie est responsable de 80% de cette PEG et les reins de 20% (Stumvoll, 1997). La production excessive de glucose, chez les sujets diabétiques, est responsable de l'hyperglycémie à jeun (Stumvoll, 2005). Cette PEG excessive, même en présence d'hyperinsulinémie, indique que l'IR hépatique tient un rôle clé dans l'hyperglycémie diabétique (Stumvoll, 2005). Le diabète de type 2 est aussi caractérisé par une augmentation du turnover et du flux des AGL, ce qui les implique aussi dans l'IR hépatique. Les AGL, l'insuline et le glucagon sont les principaux régulateurs de la production de glucose hépatique (Cherrington, 1999).

L'augmentation de la concentration en acides gras plasmatiques inhibe en partie la diminution de la PEG induite par l'insuline (Boden, 1994). Chez le sujet sain, comme chez le sujet diabétique, la néoglucogenèse est corrélée à la concentration en acides gras plasmatiques (Chen, 1999 ; Boden, 2001). L'effet délétère des acides gras sur la production hépatique de glucose pourrait s'expliquer par des défauts de signalisation intracellulaire du récepteur à l'insuline (figure 28).

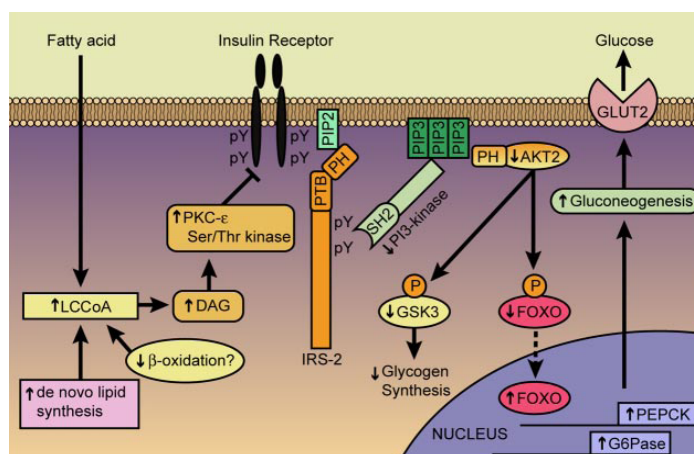


Figure 28. Mécanisme de la résistance à l'insuline hépatique induite par les acides gras (Savage, 2007).

Les concentrations élevées d'AGL conduisent à l'augmentation des concentrations intracellulaires de DAG. Le DAG active la kinase PKC-ε, qui se lie et inactive le récepteur à

l'insuline par phosphorylation sur des résidus sérine et thréonine, entraînant la diminution de la synthèse de glycogène et la diminution de la suppression de la néoglucogenèse par l'insuline (figure 29) (Shulman, 1990 ; Samuel, 2004).

Par ailleurs, l'oxydation des AGL dans le foie fournit des co-facteurs (ATP, NADH, acétyl-CoA) nécessaires à des étapes clés de la néoglucogenèse, conduisant à une production accrue de glucose par le foie (Girard, 1995) (figure 29).

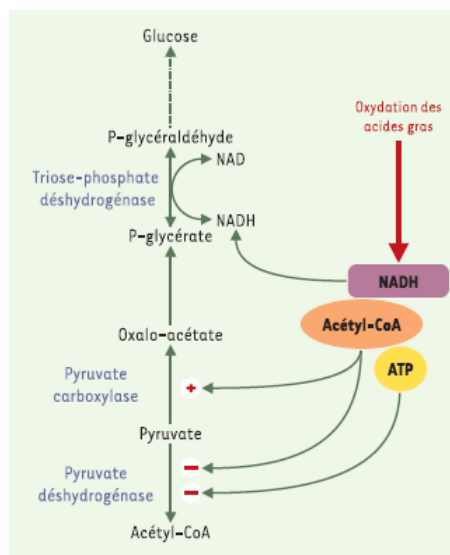


Figure 29. Rôle des acides gras dans la régulation de la néoglucogenèse hépatique (Girard, 2003).

III.3.1.4. Dysfonctions mitochondriales dans l'IR.

Les mitochondries ont un rôle important dans l'oxydation des acides gras, la propagation du signal insulinique et d'autres processus qui nécessitent de l'énergie aux environs de la surface membranaire. La SRMN du carbone 13 est utilisée pour tracer la transformation du 2-¹³C-acétate en glutamate dans le muscle squelettique. Le taux d'incorporation du ¹³C reflète l'activité du cycle de Krebs, ce qui fournit un index de la fonction mitochondriale dans le muscle squelettique (Petersen, 2003). Le taux de synthèse d'ATP est aussi mesuré en suivant le transfert du phosphore 31 dans les molécules d'ATP. La transformation du 2-¹³C-acétate et l'incorporation du ¹³C, qui reflète la fonction mitochondriale, sont diminuées chez des individus insulino-résistants et diabétiques (Petersen, 2004). Dans l'étude de K. Petersen et collaborateurs, les auteurs montrent une diminution du ratio des fibres oxydatives de type 1 sur les fibres glycolytiques de type 2, chez des sujets diabétiques (Petersen, 2004). Les patients obèses, diabétiques ou non, présentent une réduction importante de l'activité de la chaîne de transfert des électrons dans la fraction de mitochondries sub-sarcolemmiques (Ritov, 2005).

III.4. Physiopathologie de l'obésité

Le dérèglement du fonctionnement du tissu adipeux conduit à des perturbations métaboliques importantes et à la formation d'un état inflammatoire de "bas grade", impliqué dans la diminution de la sensibilité à l'insuline.

III.4.1. La lipolyse dans l'obésité

L'obésité est associée à une augmentation de la lipolyse basale et à une diminution de la lipolyse induite par les catécholamines (Large, 2004). Dans les adipocytes, une IR entraîne une diminution de l'activité anti-lipolytique de l'insuline (Howard, 1984).

Par ailleurs, la surexpression du gène de la leptine dans les adipocytes et l'augmentation des taux circulants de leptine contribuent à l'amplification de la lipolyse chez les sujets obèses (Lonnqvist, 1995). L'augmentation du taux de leptine circulante agit aussi en contrecarrant les effets de l'insuline. En effet, la leptine inhibe l'action anti-lipolytique induite par les récepteurs β -adrénergiques et l'activation de la PKA (Muller, 1997). L'augmentation des acides gras circulants qui en résulte, contribue au développement d'une IR périphérique (Savage, 2007). Cette augmentation entraîne la formation de dépôts lipidiques dans des tissus qui ne sont pas des tissus de réserve.

III.4.2. Dysfonction du tissu adipeux dans l'obésité

De nombreuses études concernant le développement de l'obésité, ont montré que l'altération du fonctionnement du tissu adipeux change la dynamique entre la captation des acides gras et leur oxydation. La taille des adipocytes augmente en même temps que les dépôts dans leur vacuole lipidique (figure 30b). Aux stades précoces de l'obésité, les adipocytes continuent de stocker des triglycérides, ce qui permet de maintenir leurs concentrations plasmatiques normales. Par contre, lorsque l'hypertrophie des adipocytes persiste, leur fonction endocrine est perturbée et ils sécrètent, entre autres, la protéine chimiotactique monocyttaire 1 (monocyte chemoattractant protein1, MCP1) (figure 30c), dont le rôle est de recruter des macrophages qui, en sécrétant du TNF- α (figure 30d), développent un état inflammatoire dit de "bas grade" (Curat, 2004). Chez des individus sains, la quantité de macrophages présents dans le tissu adipeux est comprise entre 5 et 10% alors qu'elle atteint plus de 50% chez les individus obèses (Weisberg, 2003).

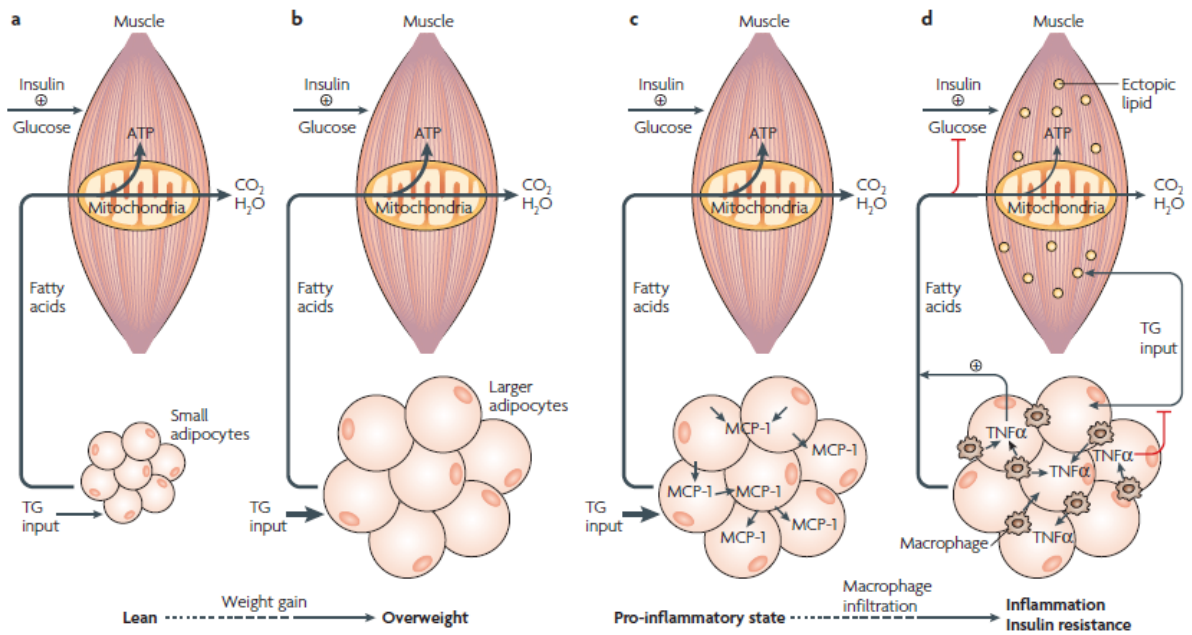


Figure 30. Développement de l'inflammation chronique dans le tissu adipeux. a) Chez les individus normaux, les adipocytes sont petits et stockent de façon efficace les acides gras. b) L'apport excessif en calories conduit à la surcharge des adipocytes en triglycérides. c) L'hypertrophie des adipocytes conduit à la sécrétion de MCP1, qui recrute des macrophages. d) Les macrophages sécrètent du TNF- α , ce qui déclenche un état inflammatoire (Guilherme, 2008).

Ainsi, le développement de l'obésité est associé à une inflammation chronique du tissu adipeux et à l'activation des voies de signalisation pro-inflammatoires, ce qui se traduit par la production de marqueurs plasmatiques de l'inflammation (Bastard, 2002). Cette production excessive de cytokines pro-inflammatoires par le tissu adipeux des personnes obèses participe à la physiopathologie de l'IR. Plusieurs hypothèses ont été proposées pour expliquer le développement de cet état inflammatoire parallèlement au grossissement des adipocytes.

La première concerne la présence d'un stress oxydatif et la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) par les adipocytes (Houstis, 2006).

La deuxième hypothèse propose un lien entre un dysfonctionnement du réticulum endoplasmique et l'obésité, avec une maturation des protéines incomplète. Dans ces conditions, des protéines de conformation anormale s'accumuleraient et induiraient une réponse de stress, ou "Unfolded Protein Response" (UPR). Les conséquences de l'activation d'une UPR peuvent être liées au développement de l'IR par de multiples mécanismes, dont l'activation de la protéine kinase JNK, la production de molécules inflammatoires et de ROS (Gregor, 2007).

La troisième hypothèse est basée sur le développement d'une hypoxie locale induite par le grossissement des adipocytes et leur éloignement des vaisseaux sanguins (Trayhurn, 2004). L'hypoxie induirait une réponse inflammatoire dans le but d'augmenter le flux sanguin et de stimuler l'angiogenèse. La réponse hypoxique est transmise aux autres tissus par le facteur HIF-1 (hypoxia-inducible transcription factor 1), qui permet au tissu adipeux de produire des facteurs angiogéniques, provoquant une néo-vascularisation dans ce tissu (Lolmède, 2003). Des études sur tissu adipeux de souris ont montré que, en réponse à l'hypoxie, l'expression de nombreux gènes est augmentée, dont des gènes codant pour des protéines inflammatoires telles que l'IL-1, l'IL-6, la métalloprotéinase MMP2 ou le TNF- α (Ye, 2007).

Les trois hypothèses proposées ne sont pas exclusives, puisque le stress du réticulum endoplasmique et la production de ROS peuvent être induits par l'hypoxie (Koumenis, 2002).

III.4.3. Importance des adipokines dans la physiopathologie de l'IR

En cas d'obésité, il y a une diminution de la sécrétion des adipokines "bénéfiques" et une augmentation de la sécrétion d'adipokines et de cytokines "néfastes". L'action de ces dernières sur la fonction adipocytaire est importante, elles conduisent de façon générale à l'augmentation de la lipolyse, la diminution de la synthèse de triglycérides et la diminution de la sensibilité à l'insuline.

III.4.3.1. Le TNF- α

Les macrophages infiltrés dans le tissu adipeux produisent du TNF- α , responsable d'une phosphorylation anormale sur des résidus sérine de la protéine IRS-1 du signal insulinique, empêchant ainsi son interaction avec le récepteur de l'insuline (Bouzakri, 2007). Plusieurs études ont montré que le TNF- α affectait aussi l'adipogenèse par une diminution transcriptionnelle et traductionnelle de l'expression des PPAR- γ (Zhang B, 1996).

Le TNF- α sécrété par les macrophages du tissu adipeux participe aussi à l'activation de la lipolyse, d'une part en inhibant le signal de l'insuline, et d'autre part en augmentant la concentration intracellulaire en AMPc, qui active la LHS (figure 31). Le TNF- α favorise la phosphorylation des périlipines, ce qui les détache de la vacuole lipidique et facilite l'accès à la LHS.

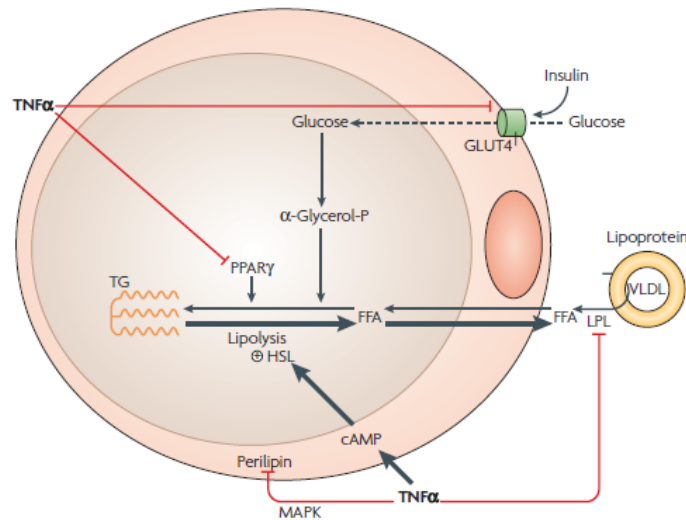


Figure 31. Le TNF- α diminue la synthèse de triglycérides et augmente la lipolyse (Guilherme, 2008).

III.4.3.2. La résistine

L'expression de cette protéine est augmentée dans le tissu adipeux des animaux obèses et est diminuée après l'administration de TZD (classe de molécules insulino-sensibilisatrices, agonistes des PPAR γ). La résistine est une protéine de 10kDa (Steppan, 2001). Elle est sécrétée principalement par les adipocytes chez le rongeur, alors que chez l'homme la sécrétion semble partagée entre les adipocytes et les macrophages (Kusminski, 2005). Elle est peu exprimée lors du jeûne, alors que son expression est plus forte à l'état nourri, en présence d'insuline (Rajala, 2004). Dans des adipocytes en culture, la résistine diminue le transport intracellulaire du glucose en réponse à l'insuline, alors qu'un anticorps anti-résistine produit l'effet inverse. D'autre part, la résistine inhibe la différenciation adipocytaire (Kim, 2001). Il n'existe cependant pas, actuellement, de consensus concernant la relation entre les concentrations de résistine circulante et l'existence d'une IR ou d'une obésité, car cette relation n'a pas pu être établie chez l'homme (Heilbronn, 2004).

III.4.3.3. La protéine de liaison de la vitamine A (RBP4)

La protéine RBP4 (Retinol Binding Protein 4) est principalement produite par le foie et le tissu adipeux (Bajzová, 2008). Des études menées à la fois chez l'homme et chez l'animal ont montré qu'une augmentation de l'expression de la RBP4 était liée à une diminution de la sensibilité à l'insuline et à une altération de l'homéostasie glucidique (Bajzová, 2008). Une injection de RBP4 recombinante à une souris normale provoque une IR, tandis que

l'invalidation du gène augmente la sensibilité à l'insuline (Yang, 2005). Il existe une corrélation positive entre les taux plasmatiques de RBP4 et la sévérité de l'IR chez les individus obèses, intolérants au glucose, diabétiques de type 2 et chez des individus non obèses ayant un fort contexte familial de diabète (Graham, 2006). L'exercice physique s'accompagne d'une baisse des taux plasmatiques de RBP4, parallèle à une amélioration de la sensibilité à l'insuline (Haider, 2007).

III.4.3.4. Angiotensinogène

L'angiotensinogène joue un rôle majeur dans la régulation de la pression artérielle de par ses propriétés vasoconstrictrices et sécrétagogue de l'aldostérone. L'expression des ARNm de l'angiotensinogène est augmentée dans le tissu adipeux viscéral en cas d'obésité (Van Harmelen, 2000). Cette différence d'expression topographique est à l'origine de la relation qui existe entre l'hypertension artérielle et l'obésité viscérale dans le syndrome métabolique. Les modèles murins initialement invalidés pour le gène de l'angiotensinogène, puis surexprimant sélectivement cette protéine dans leur tissu adipeux développent une obésité sous régime hyperlipidique et surtout une hypertension artérielle, compatible avec l'implication de la sécrétion de cette protéine à partir du tissu adipeux dans le développement de l'obésité (Massiera, 2001).

III.4.3.5. La protéine amyloïde A sérique ou "serum amyloid A" (SAA)

La SAA est une protéine présente dans la phase aiguë de l'inflammation, qui a été associée avec l'inflammation systémique, l'athérosclérose, et a été proposée comme marqueur prédictif d'accident coronaire ou d'événement cardiovasculaire (Johnson, 2004). Le tissu adipeux exprime la SAA et cette expression est largement induite au cours du diabète (Lin, 2001). Les taux plasmatiques de SAA corrélerent de façon significative avec l'IR dans l'obésité et le diabète de type 2 (Leinonen, 2003). La SAA participe aux altérations du métabolisme des lipoprotéines, notamment en favorisant la liaison des HDL aux macrophages, ce qui réduit leurs effets cardioprotecteurs.

III.4.3.6. L'inhibiteur de l'activateur du plasminogène

La fibrinolyse est un processus physiologique de régulation anti-thrombotique qui permet la destruction du caillot de fibrine dès qu'il a cessé d'être utile à l'hémostase. La diminution des capacités fibrinolytiques, conséquence d'une augmentation des concentrations circulantes de son inhibiteur physiologique, l'inhibiteur-1 de l'activateur du plasminogène (PAI-1), est considérée comme un facteur de risque cardiovasculaire (Juan-Vague, 1991). Trois sources de PAI-1 sont actuellement décrites chez l'homme : les hépatocytes, les cellules endothéliales et les adipocytes (Fain, 2004). Des études cliniques ont montré une augmentation des concentrations circulantes de PAI-1 chez les patients présentant une obésité androïde (Bastard, 2000). D'autre part, les souris déficientes en PAI-1 sont protégées contre le développement de l'obésité et de l'IR (Ma, 2004).

Des études menées chez l'homme ont rapporté l'association entre PAI-1, affections cardiovasculaires, et désordres métaboliques (Alessi, 2006).

III.4.3.7. La protéine chimio-attractante 1 des monocytes (MCP-1)

La protéine MCP1 est produite et sécrétée par les macrophages et par de nombreux tissus dont le tissu adipeux (Kralisch, 2007). L'expression de MCP1 est augmentée dans le tissu adipeux de souris obèses, ce qui contribue au recrutement de macrophages et à l'installation de l'inflammation de "bas grade" (Kanda, 2006). A l'inverse, l'inactivation du gène de MCP1 chez la souris améliore la sensibilité à l'insuline et diminue le recrutement de macrophages dans le tissu adipeux (Kanda, 2006).

III.4.3.8. L'interleukine 6

L'interleukine-6 (IL-6) est une cytokine produite par de nombreuses cellules (fibroblastes, cellules endothéliales, monocytes) et de nombreux tissus dont le tissu adipeux. Environ 25% de l'IL-6 circulante sont produite par le tissu adipeux en l'absence de processus inflammatoire aigu (Kralisch, 2007). L'IL-6 est une cytokine multifonctionnelle qui agit sur de nombreux tissus, dont le foie, où elle contrôle la production de CRP. Il existe une relation positive entre les quantités d'IL-6 dans le tissu adipeux, les concentrations circulantes d'IL-6 et celles de CRP (Maachi, 2004).

Des études suggèrent que l'IL-6 participerait au développement de l'IR (Bastard, 2002). L'activation du récepteur de l'IL-6 permet de recruter des facteurs de transcription de la famille des STATs (Signal Transducers and Activators of Transcription) et la transcription de gènes cibles. De nombreux travaux ont permis de montrer l'existence d'interactions négatives entre les voies de signalisation des cytokines et celle de l'insuline. Les mécanismes en cause font intervenir l'activation de tyrosine phosphatases (Kroder, 1996), l'interaction des SOCS (Suppressor Of Cytokine Signaling) avec le récepteur de l'insuline (Rieusset, 2004), et la phosphorylation des protéines IRS-1 sur des résidus sérine ou thréonine (Weigert, 2006).

III.4.3.9. La vaspine

La vaspine ("visceral adipose tissue-derived serine protease inhibitor") a été identifiée dans le tissu viscéral des rats Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF), un modèle d'étude pour le diabète de type 2 (Hida, 2005). Lorsque les rats OLETF deviennent obèses et insulino-résistants, l'expression de la vaspine est fortement augmentée dans le TAB (Hida, 2005). L'augmentation d'expression de vaspine chez des sujets obèses a aussi été observée chez l'homme (Klötting, 2006). D'autre part, l'administration d'une vaspine recombinante dans un modèle de souris obèses améliore la tolérance au glucose et la sensibilité à l'insuline de ces souris (Hida, 2005), avec normalisation des taux tissulaires et plasmatiques de vaspine en présence d'insuline ou d'un agent insulino-sensibilisateur (Klötting, 2006).

Le rôle physiologique de cette adipokine n'est pas encore clair, mais l'augmentation de son expression lors du développement de l'obésité apparaît comme un mécanisme de défense contre l'IR.

IV. Maladies associées au syndrome métabolique

IV.1. Les maladies cardiovasculaires

Les maladies cardiovasculaires constituent un ensemble de troubles affectant le cœur et les vaisseaux sanguins, qui comprend entre autre : les maladies coronariennes, les maladies cérébro-vasculaires, les thromboses veineuses et les embolies pulmonaires. Les infarctus et les accidents vasculaires cérébraux sont généralement des événements aigus et sont principalement dus au blocage d'une artère empêchant le sang de parvenir au cœur ou au

cerveau. Leur cause la plus courante est la constitution d'un dépôt gras sur les parois internes des vaisseaux sanguins alimentant ces organes.

Il a été montré que les patients atteints d'un syndrome métabolique présentent un risque d'accident cardiovasculaire 1,78 fois supérieur à celui des personnes saines (Gami, 2007). Le risque de maladies coronaires est 3 à 4 fois plus élevé et le risque de décès dû à une maladie cardiovasculaire est 2,6 fois plus élevé chez ces personnes (Lakka, 2002 ; Malik, 2004). Le risque de maladie cardiovasculaire augmente d'un facteur 2 chez les sujets obèses qui étaient diabétiques avant d'être diagnostiqués avec un syndrome métabolique (Meigs, 2006).

Le calcul de l'augmentation des risques cardiovasculaires, chez un patient atteint d'un syndrome métabolique, dépend de la définition utilisée. L'étude Hoorn a estimé les risques cardiovasculaires d'une cohorte de patients atteints du syndrome métabolique selon différentes définitions du syndrome. La définition du NCEP: ATP III est associée avec une augmentation du risque cardiovasculaire de 2 fois, alors que pour les définitions de l'OMS, de l'EGIR et de l'AACE, les risques calculés sont inférieurs (1,45, 1,49 et 1,30 respectivement) (Dekker, 2005). Par ailleurs, la méta-analyse de A. Gami et collaborateurs montre que les individus qui sont atteints d'un syndrome métabolique selon la définition de l'OMS présentent un risque cardiovasculaire augmenté de 2,06 fois (Gami, 2007).

Les études épidémiologiques montrent que des facteurs de risques multiples augmentent plus le risque de maladies cardiovasculaires que plusieurs facteurs individuels (Kannel, 1993). Les anomalies métaboliques (état pro-thrombotique, état pro-inflammatoire) qui apparaissent lors du syndrome métabolique et qui ne sont pas prises en compte, ni dans les facteurs de risque ni dans les algorithmes de calcul de risque, potentialisent les risques de maladies cardiovasculaires des facteurs utilisés pour le diagnostic (hypertension, taux bas de HDL-cholestérol) (Grundy, 2006). De la même façon, un taux bas de HDL-cholestérol est un bon prédicteur du risque cardiovasculaire, car il témoigne de la présence des autres facteurs de risques (Assmann, 2004). D'autre part, le syndrome métabolique progresse souvent en diabète de type 2, pour lequel les risques cardiovasculaires à long terme sont souvent sous-estimés.

Le risque cardiovasculaire associé au syndrome métabolique est donc plus important que la somme des risques de ses composants.

IV.1.1. Relation entre résistance à l'insuline et dysfonction endothéliale

IV.1.1.1. IR sélective : voie de signalisation de la MAPK

L'une des caractéristiques de l'IR est que la voie de signalisation de l'insuline impliquant la PI3K est inhibée, alors que la voie de la MAPK n'est pas affectée (Cusi, 2000). Ceci a une importance physiologique puisque l'IR s'accompagne généralement d'une augmentation de la sécrétion d'insuline pour maintenir la glycémie constante. L'hyperinsulinémie active de façon intense la voie de signalisation de la MAPK, impliquée dans l'action vasoconstrictrice de l'insuline, ce qui va provoquer une augmentation de la vasoconstriction des vaisseaux (Potenza, 2005).

Des études *in vitro* montrent que l'hyperinsulinémie compensatoire et l'activation seule de la voie MAPK entraîne une dysfonction endothéliale (Montagnani, 2002). Un traitement simultané de cellules endothéliales avec de la wortmannin (inhibiteur de la voie PI3K) et de fortes doses d'insuline inhibe complètement la production de NO. L'activation de la voie de la MAPK rend les cellules plus sensibles aux facteurs mitotiques tels que le VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor), augmente l'expression de molécules d'adhésion de type VCAM et E-selectine et contribue au développement de l'hypertension.

Les mécanismes d'IR décrits dans les chapitres précédents, impliquant l'action des molécules de l'inflammation et des acides gras sur la sensibilité à l'insuline des cellules des muscles cardiaque et squelettique et du tissu adipeux, sont également présents dans les cellules endothéliales et les cellules musculaires lisses.

IV.1.1.2. La lipotoxicité

L'exposition de cellules aortiques humaines en culture à des concentrations élevées d'AGL initie de multiples processus cellulaires, comprenant un défaut de signalisation du récepteur à l'insuline (Wang XL, 2006) ou la formation de ROS (Inoguchi, 2000). Lorsque ces cellules sont mises en présence d'AGL, l'activité de la NO synthase endothéliale est fortement diminuée (Wang XL, 2006). Les effets des acides gras sont spécifiques à l'action de l'insuline, puisqu'ils n'altèrent pas la stimulation des voies PI3K/Akt/NO synthase par le VEGF. Des études effectuées sur des cardiomyocytes incubés avec des acides gras, montrent une diminution de l'activité de la voie de la PI3K, diminuant la captation du glucose sous insuline et la fonction contractile (Ouwens, 2005). En plus des effets sur la voie de la PI3K,

les AGL stimulent l'ouverture des canaux potassiques provoquant une hyperpolarisation de la membrane par sortie d'ions K^+ , ce qui réduit l'entrée d'ions Ca^{2+} par les canaux calciques voltage dépendants, diminuant ainsi la contraction (Liu, 2001).

IV.1.1.3. Le stress oxydant

Les AGL augmentent la formation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) dans les vaisseaux. Il y a deux principales sources de ROS qui sont la nicotinamide adénine dinucléotide phosphatase (NADPH) oxydase (Inoguchi, 2000) et la chaîne de transfert des électrons des mitochondries (Du, 2006). L'insuline diminue cette production par la voie de signalisation de la PI3K. La production de ROS provoquée par les acides gras stimule l'activité de la PKC. Tous ces mécanismes participent à l'abaissement de la production de NO stimulée par l'insuline dans l'endothélium vasculaire, et donc à une augmentation de la vasonconstriction (Du, 2006).

L'augmentation de la production d'ions superoxydes par la mitochondrie réduit l'activité de la prostaglandine I_2 (PGI_2 , vasodilatateur et inhibiteur de l'agrégation plaquettaire) et la production de NO (Du, 2006). Des études montrent que l'administration de ROS "scavengers", mimétiques de la superoxyde dismutase, à des rongeurs insulino-résistants normalise l'activité de la PGI_2 et la synthèse de NO (Du, 2006).

IV.1.1.4. Altération de l'activité sympathique et du système rénine/angiotensine (SRA).

Des concentrations élevées en AGL augmentent l'activité du système sympathique, les concentrations plasmatiques en catécholamines (Paolisso, 2000) et l'activité du SRA (Watanabe, 2005). Ces changements participent à l'augmentation de la pression artérielle observée lors de l'IR.

IV.1.1.5. Signaux pro-inflammatoires et adipokines

L'IR et la dysfonction endothéliale sont des états pathologiques associés à de fortes concentrations plasmatiques de marqueurs de l'inflammation (Fernandez-Real, 2003). Les ROS produits en réponse aux acides gras activent le facteur NF- κ B (Nuclear Factor- κ B), qui

stimule la production de molécules inflammatoires telles que le TNF- α et l'IL-6 (Ajuwon, 2005). Le TNF- α et l'IL-6 inhibent le signal de l'insuline (de Alvaro, 2004) et cette inhibition réduit la synthèse de NO par les cellules endothéliales. La concentration des protéines SOCS (Suppressor Of Cytokines Signal) est augmentée dans des cellules traitées avec du TNF- α , de l'interleukine-1 β ou de l'interleukine-6, et les SOCS interfèrent également avec le signal insulinique en facilitant la dégradation dans les protéosomes des protéines IRS-1 (Emanuelli, 2001).

Par ailleurs, le TNF- α stimule l'expression d'autres protéines inflammatoires telles que la CRP (Xu JW, 2007). La CRP est un important marqueur de l'inflammation vasculaire dont les concentrations plasmatiques sont corrélées avec des risques croissants de maladies cardiovasculaires. En plus de marquer l'inflammation, la CRP inhibe la production de NO insuline-dépendante, stimule la synthèse d'endothéline, l'expression d'autres cytokines pro-inflammatoires et augmente l'expression des molécules d'adhésion (Jialal, 2004) (figure 32).

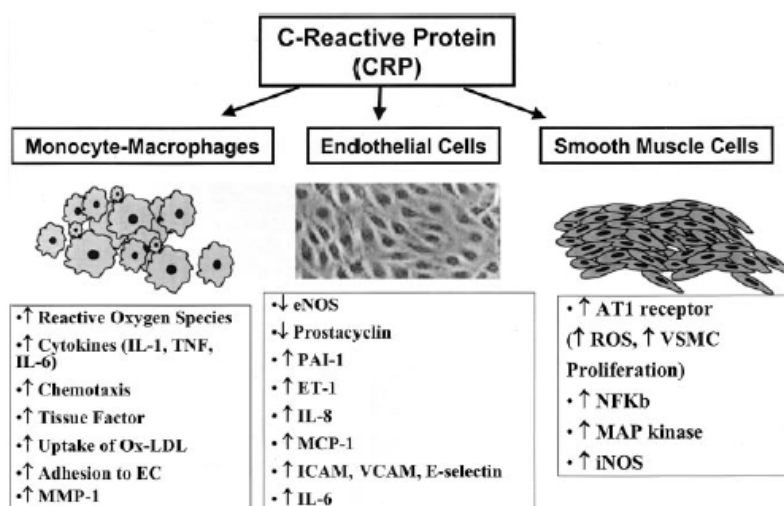


Figure 32. Les effets athérotrombotiques de la CRP sur les cellules vasculaires (Jialal, 2004).

La leptine favorise la vasodilatation en induisant la synthèse de NO via la voie de signalisation de la PI3K, suggérant une partie de signalisation commune avec l'insuline (Vecchione, 2003). La leptine à concentrations élevées induit l'expression de TNF- α et la production de ROS (Loffreda, 1998 ; Yamagishi, 2001), et diminue l'action de l'insuline (Hennige, 2006). Elle participe également au développement des lésions athérosclérotiques en générant des ROS et en stimulant l'expression de MCP1 (Bouloumie, 1999) (figure 33).

L'adiponectine a des effets vasculaires similaires à ceux de l'insuline en stimulant la production de NO par les cellules endothéliales et en réduisant la production de ROS (Chen,

2003 ; Motoshima, 2004). Chez les sujets insulino-résistants, la diminution des taux circulants d'adiponectine conduit à la perte de ces effets bénéfiques.

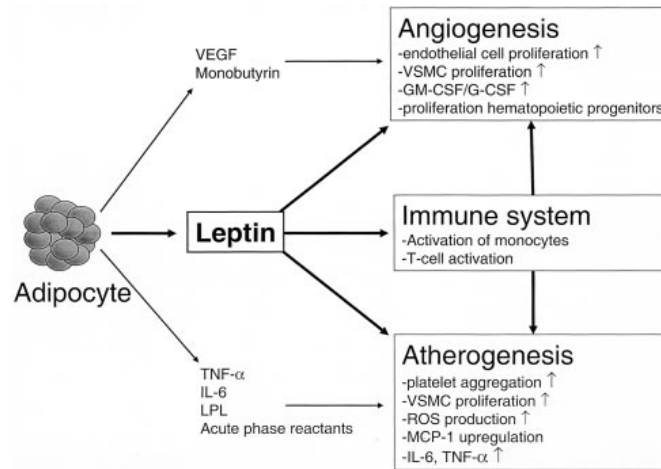


Figure 33. Action de la leptine sur les cellules endothéliales, les cellules musculaires lisses et les cellules sanguines dans le développement des lésions athérosclérotiques et l'angiogénèse (Werner, 2004).

Quant à la résistine, bien qu'il n'y ait pas de consensus sur son augmentation dans l'IR, elle participerait à l'inhibition du signal insulinique dans les cellules endothéliales et favoriserait l'expression d'endothéline (Verma, 2003). Il a été montré qu'elle augmenterait aussi la sécrétion de TNF- α et d'IL-6, et contribuerait au stress oxydatif (Kougias, 2005).

IV.2. Le diabète de type 2

L'IR, dont le défaut d'action de l'insuline sur ses organes cibles est compensé par une hypersécrétion d'insuline conduit à terme au diabète de type 2, qui associe ce défaut de sensibilité à un défaut de sécrétion de l'insuline.

IV.2.1. Prévalence

La prévalence du diabète de type 2 a triplé au cours des trente dernières années. Actuellement, le diabète de type 2 touche environ 20 millions de personnes aux Etats-Unis, 171 millions de personnes dans le monde et ce chiffre devrait atteindre 366 millions en 2030 (figure 34) (Wild, 2004 ; OMS, 2008).

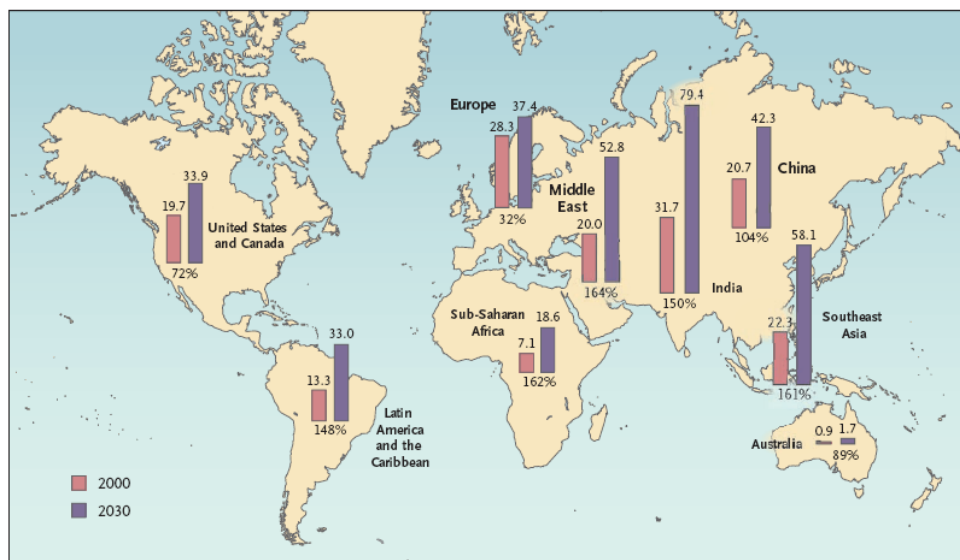


Figure 34. Prévalence du diabète de type 2 dans le monde en 2000 et projection pour 2030 (les pourcentages représentent les pourcentages d'augmentation par rapport aux chiffres de 2000), d'après Wild, 2004.

Le diabète de type 2 est diagnostiqué par une hyperglycémie chronique à jeun (supérieure ou égale à 7 mM). La résistance à l'insuline et un défaut de sécrétion de l'insuline sont les caractéristiques physiopathologiques clés du diabète de type 2. 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). 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 présence d'un syndrome métabolique chez un individu augmente le risque (Eckel, 2005) et est prédictive de l'arrivée d'un diabète de type 2 (Sattar, 2008). La prévalence du diabète de type 2 est augmentée de 5 fois chez les individus présentant un syndrome métabolique (Ford, 2008b), et de 7 fois chez les individus qui présentent un syndrome métabolique et une IR (Meigs, 2007). Chez un adolescent atteint de syndrome métabolique, le risque de développer un diabète de type 2 à l'âge adulte est 3 fois plus grand que chez un adolescent sain, et 92% des adolescents diabétiques de type 2 sont atteints d'un syndrome métabolique (Duncan, 2006). Le choix des critères de définition est important, puisque le risque de développer un diabète de type 2 calculé à partir d'une intolérance au glucose ou à partir d'une hyperglycémie à jeun est plus élevé que celui calculé à partir des autres composants du syndrome métabolique (dyslipidémie, obésité..) (Eckel, 2007).

IV.2.2. Prédispositions génétiques du diabète de type 2

Le diabète de type 2 est une maladie multifactorielle complexe où facteurs génétiques polygéniques et facteurs environnementaux sont étroitement associés. Le MODY (Maturity Onset Diabetes of the Young) est une forme de diabète familial, à transmission autosomique dominante et à début précoce, associé à des anomalies primaires de l'insulino-sécrétion. Des mutations dans six gènes, codant pour la glucokinase et cinq facteurs de transcription exprimés dans le pancréas, sont responsables de la plupart des cas de MODY (Velho, 2003).

L'hypothèse du génotype "Thrifty" propose que les individus vivants dans un environnement avec des ressources en nourriture instables, maximisent leur capacité à stocker de l'énergie (Neel, 1962). La sélection génétique favoriserait alors les génotypes les plus favorables au stockage de l'énergie. C'est ce genre de phénotype qui est retrouvé chez les personnes insulino-résistantes et/ou diabétiques.

IV.2.3. Anomalies de fonction des cellules β pancréatiques

Lors du diagnostic du diabète de type 2, la phase précoce de la sécrétion insulinique est déjà absente et la seconde phase est réduite et retardée (Pfeiffer, 1981). Or, ce premier pic de sécrétion est important pour la transition de l'état de jeûne à l'état nourri, car il est responsable de l'inhibition de la production hépatique de glucose, de l'inhibition de la lipolyse et de la préparation des tissus à l'action de l'insuline (Getty, 1999). Une forte réduction de la première phase de réponse insulinique est aussi observée chez des sujets intolérants au glucose (Ratzmann, 1981). De plus, chez les sujets diabétiques, l'aspect oscillant de la sécrétion est absent ou fortement réduit. Ces perturbations sont expliquées par une dérégulation des concentrations en calcium intracellulaire des cellules pancréatiques, celui-ci régulant l'exocytose des vésicules d'insuline (O'Rahilly, 1988).

IV.2.4. Réduction de la masse des cellules β pancréatiques

Une perte de masse et de volume d'environ 50% des cellules β pancréatiques a été observée chez les patients obèses présentant une glycémie élevée à jeun ou un diabète de type 2, en comparaison à des personnes obèses non diabétiques (Butler, 2003). La masse de cellules

β perdues est variable, entre 0 et 65%, et dépend de la sévérité du diabète de type 2 (Butler, 2003 ; Clark, 1988).

Il existe, chez une personne saine, un équilibre entre disparition des cellules β par apoptose et néogenèse de ces cellules (Bonner-Weir, 2000). La néogenèse ne diffère pas entre les personnes obèses, les personnes diabétiques et les personnes 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, 2003).

En 1987, deux équipes ont identifié l'amyline ou islet amyloid polypeptide (IAPP), une protéine qui forme des agrégats insolubles dans les îlots pancréatiques (figure 35) (Cooper, 1987 ; Westermark, 1987).

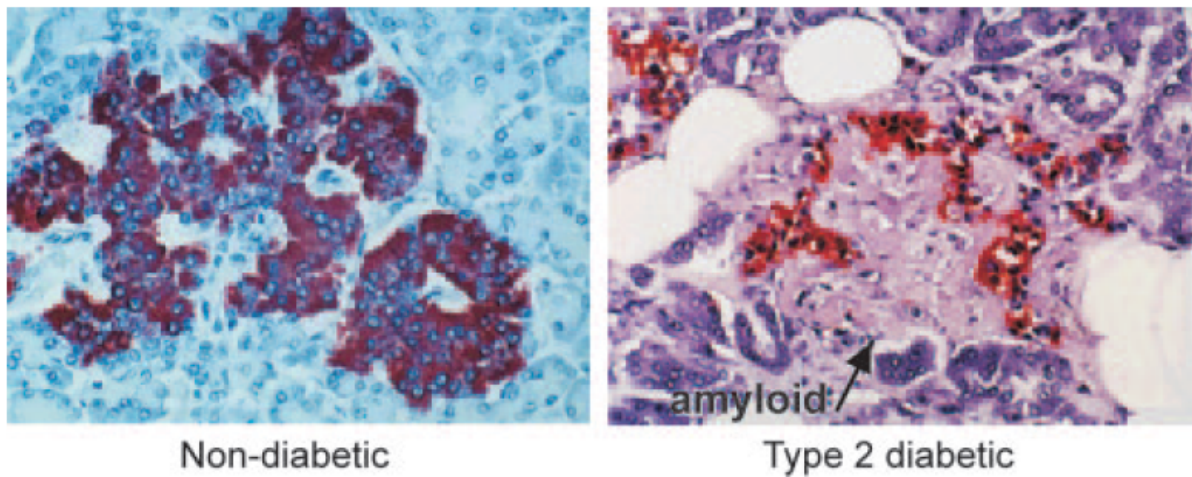


Figure 35. Îlots pancréatiques humains de sujet diabétique (à droite) et non-diabétique (à gauche). Le sujet non diabétique présente plus de cellules β que le sujet diabétique. Par contre chez ce dernier, les îlots présentent des dépôts d'IAPP, indiqués par la flèche (Haataja, 2008).

L'IAPP et l'insuline sont co-exprimés et co-sécrétés par les cellules β pancréatiques (Kahn SE, 1990). Le rôle physiologique de l'IAPP est mal connu. Une étude *ex-vivo* sur muscle squelettique de rat, montre que cette protéine inhibe la captation du glucose insuline-dépendante (Leighton, 1988). Une hypothèse avait alors été émise selon laquelle les concentrations en IAPP circulantes seraient en corrélation avec la taille des dépôts d'IAPP dans les îlots β pancréatiques. Cependant, les concentrations d'IAPP circulantes (de l'ordre du picomolaire) sont bien inférieures à celle requises pour inhiber l'action de l'insuline (de l'ordre du nanomolaire), et ces concentrations ne sont pas augmentées chez des sujets diabétiques par rapport à des sujets non diabétiques (Butler, 1990). L'IAPP possède une action paracrine sur les cellules β , en diminuant la sécrétion de l'insuline (Ohsawa, 1989). Chez l'homme, les mutations sur le gène de l'IAPP augmentent la capacité de cette protéine à

former des agrégats et participent aux formes familiales de diabète de type 2 (Seino, 2001). Des études *in vitro* montrent que l'IAPP induit un "stress du réticulum endoplasmique (RE)", qui est l'une des voies conduisant à l'apoptose (Huang, 2007). Différentes conditions perturbent le fonctionnement du RE, telles que l'inhibition de la glycosylation de protéine, la diminution des concentrations en calcium du lumen du RE, ou encore des défauts de transport des protéines du RE vers l'appareil de Golgi. Ces dysfonctions du RE causent une protéotoxicité du RE appelée "stress du RE". Ce stress augmente l'expression de gènes participant à l'apoptose dont l'activation de la voie de la c-Jun-N-terminal kinase et l'activation de caspases (Araki, 2003). L'IAPP augmente aussi l'expression des récepteurs de mort cellulaire à la surface de la membrane plasmique (Zhang S, 2008). La liaison d'un ligand Fas sur ce type de récepteur induit l'apoptose de la cellule.

IV.2.5. La glucotoxicité.

L'hyperglycémie affecte à la fois l'action métabolique et l'action vasculaire de l'insuline (Reusch, 2003). Elle provoque des glycosylations non-enzymatiques sur certaines protéines dont l'hémoglobine (hémoglobine glycosylée, HbA1c). Ces processus participent au développement des complications rénales et microcirculatoires observées chez les patients diabétiques. L'hyperglycémie augmente la production de ROS. Dans des cellules endothéliales exposées à de fortes concentrations en glucose (5,5 mM), la production de NO est fortement diminuée (Schnyder, 2002). Des études menées chez l'animal montrent que l'hyperglycémie affecte la fonction endothéliale à la fois au niveau macro et microvasculaire (Lash, 1999). Chez l'homme, la perfusion d'une solution concentrée en glucose dans le bras diminue l'effet de vasodilatation induit par l'insuline, et cet effet est inhibé par une co-injection d'anti-oxydants (Williams, 1998).

IV.3. Les autres pathologies associées au syndrome métabolique

Les nombreuses pathologies associées au syndrome métabolique sont pour la plupart directement liées à l'obésité et/ou à l'IR qui caractérisent ce syndrome.

IV.3.1. La stéatose hépatique non alcoolique

La stéatose hépatique non alcoolique, caractérisée par la présence de lipides dans les hépatocytes, inclut une gamme de pathologies allant de la stéatose modérée à la stéatose hépatique sévère. La prévalence de la stéatose hépatique non alcoolique varie entre 3 et 36% dans la population générale, en fonction des critères utilisés. Environ 95% des individus obèses et plus de 70% des personnes diabétiques de type 2 sont touchés par ces pathologies (Bloomgarden, 2005). D'autre part, la présence de stéatose hépatique non liée à l'alcool est un bon prédicteur du syndrome métabolique et la quantité de dépôts lipidiques dans le foie est corrélée positivement avec les composants du syndrome métabolique (Hamagushi, 2005).

IV.3.2. Le syndrome des ovaires polykystiques (SOPK)

Le syndrome des ovaires polykystiques (SOPK) est une affection fréquente touchant 5 à 20% des femmes en âge de procréer. Dans 20 à 50% des cas, le SOPK est également associé à des troubles métaboliques comme l'IR et l'obésité (Bernard, 2003). Le SOPK est associé à une augmentation des risques de diabète de type 2 et de maladies cardiovasculaires (Cho, 2007). La prévalence de ce syndrome est d'environ 28% chez les femmes en surpoids et/ou obèses. Les femmes atteintes de SOPK, surtout les femmes obèses, présentent une forte prévalence pour le syndrome métabolique (Alvarez-Blasco, 2006).

IV.3.3. L'apnée obstructive du sommeil ou syndrome des apnées du sommeil

L'apnée obstructive du sommeil (AOS) est une conséquence de l'obésité, sa fréquence augmente avec des IMC croissants, et sa présence est liée à l'IR (Tasali, 2002). Sur 146 patients souffrant d'une AOS, 60% présentaient un syndrome métabolique (Parish, 2007).

IV.3.4. Hypogonadisme

L'hypogonadisme désigne un défaut de l'appareil reproducteur. Les hommes présentant un syndrome métabolique ont un risque augmenté d'hypogonadisme (Corona, 2007). D'autre

part, l'hypogonadisme est à lui seul un facteur de risque de développement du syndrome métabolique et du diabète de type 2 (Kalyani, 2007).

IV.3.5. La lipodystrophie

La lipodystrophie est caractérisée par une diminution de la quantité de cellules adipeuses et une modification de la répartition corporelle des graisses, associées à des troubles métaboliques (Heymann, 2008). Les patients qui présentent une forme généralisée de lipodystrophie sont touchés par une sévère résistance à l'insuline et partagent de nombreuses caractéristiques du syndrome métabolique (Heymann, 2008). Ceci augmente leur risque de diabète de type 2, de dyslipidémie, de maladies hépatiques et de maladies cardiovasculaires. La prévalence du syndrome métabolique chez ces personnes reste cependant plus faible que dans la population générale, dû au fait que les personnes lipodystrophiques ont un tour de taille inférieur à la moyenne (Samaras, 2007).

IV.3.6. Les maladies de la microcirculation

Il est difficile de savoir si les personnes atteintes de syndrome métabolique ont un risque de développer une maladie de la microcirculation indépendant de celui lié au diabète de type 2. Environ 8 à 10% des personnes intolérantes au glucose souffrent de rétinopathie (Diabetes Prevention Program Research Group, 2007). Par ailleurs, le syndrome métabolique est associé à des risques importants d'insuffisance rénale (Bonadonna, 2006), de micro-albuminurie (Klausen, 2007) et de neuropathie (Gordon Smith, 2006).

V. La thérapeutique dans le syndrome métabolique et le diabète de type 2

Même si les mécanismes pathologiques du syndrome métabolique ne sont pas encore tous compris, plusieurs modalités thérapeutiques ont été proposées. L'objectif principal est de cibler les principaux composants du syndrome. Les efforts thérapeutiques sont concentrés sur le traitement de l'excès de poids, sur l'IR et en cas de diabète de type 2 sur le contrôle de la glycémie. Le traitement anti-diabétique doit permettre de maintenir le taux d'hémoglobine glycosylée (HbA1c) en dessous de 7% (Ohkubo, 1995 ; Stratton, 2000).

Il existe de nombreuses thérapies non médicamenteuses basées sur des modifications hygiéno-diététiques (perte de poids, exercice physique), mais il est souvent indispensable d'avoir quand même recours à plusieurs catégories de molécules.

V.1. Thérapie ciblant la perte de poids

Il est bien établi que la perte de poids a un effet bénéfique sur tous les composants du syndrome métabolique (Pasanisi, 2001). Une réduction de poids de 5 à 10% dans un groupe d'individus obèses diminue la prévalence du syndrome métabolique d'environ 20% (Ilanne-Parikka, 2008), diminue le taux de triglycérides, augmente le taux de HDL-cholestérol de façon significative (Van Gaal, 1997), réduit l'hypertension (Stamler, 1987), diminue significativement la glycémie, l'insulinémie et le taux d'hémoglobine glycosylée (Kelley, 1993). On estime que, chez les personnes à risque de développer un diabète de type 2, pour chaque kilogramme perdu, le risque de diabète est diminué de 16% (Hamman, 2006).

V.1.1. Régime alimentaire

Une alimentation riche en sucres est associée avec une augmentation du taux de LDL-cholestérol, une diminution du taux de HDL-cholestérol et une augmentation des triglycérides sanguins (Ma, 2006). Le métabolisme glucidique et la sensibilité à l'insuline sont nettement améliorés chez des personnes diabétiques suivant un régime pauvre en sucres (Harber, 2005). L'effet de la diminution du taux de protéines dans l'alimentation sur l'incidence du syndrome métabolique est controversé. Toutefois, l'étude "Atherosclerosis Risk in Communities" (ARIC) montre qu'une consommation de viande rouge importante augmente la prévalence du syndrome métabolique (Lutsey, 2008).

Le type de lipides ingérés est plus déterminant que leur quantité. Plusieurs études ont montré une amélioration de la sensibilité à l'insuline avec des régimes alimentaires riches en acides gras insaturés, alors que les régimes riches en acides gras saturés ont un effet délétère sur la sensibilité à l'insuline (Xiao, 2006 ; Lichtenstein, 2000). De plus, le taux de HDL-cholestérol et l'ensemble des risques cardiovasculaires sont améliorés lorsque des acides gras insaturés remplacent les acides gras saturés dans un régime alimentaire (de Lorgeril, 1999). Ainsi, l'alimentation des patients qui présentent un syndrome métabolique peut être complétée en acides gras poly-insaturés riches en oméga-3. Il a été montré que deux à quatre grammes de

ces acides gras par jour améliorent les taux de triglycérides à jeun et post-prandiaux de 20 à 40% (Weber, 2000). De plus, les acides gras "oméga-3" diminuent significativement l'état inflammatoire, l'agrégation plaquettaire et la pression artérielle chez les patients atteints d'un syndrome métabolique (Kris-Etherton, 2002).

La consommation excessive de sodium est associée à l'augmentation de l'hypertension et de la pression artérielle (Jonhson, 2001). Inversement, un régime restreint en sodium conduit à la diminution de ces deux facteurs de risque (Sacks, 2001), à la diminution des incidents cardiovasculaires et à la diminution de l'incidence de l'insuffisance cardiaque (He, 1999, 2002).

V.1.2. Activité physique

La perte de poids peut être envisagée par une restriction de la quantité de nourriture ingérée, une amélioration de la qualité du régime alimentaire et aussi par la pratique d'une activité physique. Bien qu'il soit difficile de séparer les effets de la pratique sportive sur l'amélioration du syndrome métabolique de ceux de la perte de poids, la pratique régulière d'une activité physique aérobie est associée à une diminution des risques de maladies cardiovasculaires, des risques d'intolérance au glucose et de diabète de type 2 (Yates, 2007). Même en l'absence de perte de poids, l'activité physique aérobie diminue de façon significative la quantité de tissu adipeux viscéral de façon dose-dépendante (Ohkawara, 2007), augmente l'action de l'insuline sur la captation du glucose (Holloszy, 2005) et diminue la pression artérielle de 3,8 mmHg en systole et 2,6 mmHg en diastole (Whelton, 2002).

V.1.3. La thérapie pharmacologique de la perte de poids

Deux médicaments ont été approuvés par l'AFSSAPS. Le premier, la sibutramine, autorisé en juin 2001, est un inhibiteur de la recapture de la noradrénaline, de la sérotonine et de la dopamine, qui augmente la sensation de satiété et diminue le désir de nourriture. Le second, l'orlistat, autorisé en mai 2009, est un inhibiteur des lipases intestinales (enzymes impliquées dans la digestion des graisses), qui diminue l'absorption des triglycérides alimentaires. Un traitement d'un an avec de l'orlistat permet une perte de poids d'environ 4 à 6,5% et une diminution du taux d'HbA1c de 0,3 à 0,9%. Ces deux médicaments favorisent la perte de poids, améliorant ainsi l'état général des personnes atteintes d'un syndrome métabolique (Bray, 2007).

V.1.4 La chirurgie bariatrique

La chirurgie bariatrique est préconisée dans le cadre du traitement de l'obésité morbide (IMC ≥ 40 kg/m²). La principale approche consiste à poser un anneau gastrique, qui a une action purement mécanique sur la taille de l'estomac et qui change le comportement alimentaire du patient. Une méta-analyse effectuée sur 22094 patients atteints d'obésité morbide, montre une disparition du diabète de type 2 dans 76% des cas, une amélioration du diabète de type 2 dans 86% des cas, une diminution de l'hyperlipidémie dans 70% des cas et de l'hypertension dans 61,7% des cas (Buchwald, 2004).

V.2. Thérapie limitant l'absorption des sucres alimentaires ou sanguins

Les inhibiteurs de l' α -glucosidase inhibent de façon compétitive les enzymes de la bordure en brosse de l'intestin grêle, qui sont responsables de la digestion des oligosaccharides et disaccharides en monosaccharides directement absorbables (Lebovitz, 1997). L' α -glucosidase est l'enzyme la plus présente dans la moitié proximale de l'intestin grêle et son inhibition retarde l'absorption intestinale des carbohydrates et la déplace dans les parties plus distales de l'intestin grêle.

Un traitement à l'ascorbose diminue la concentration en HbA1c de 0,5 à 1%. (Inzucchi, 2002) et "améliore" la glycémie post-prandiale (Lebovitz, 1997). Mais cette classe d'anti-diabétique oral (ADO) présente une efficacité faible comparée aux autres classes de molécules, c'est pourquoi elle est rarement utilisée seule et n'est jamais utilisée pour le traitement d'hyperglycémie sévère conduisant à des taux d'HbA1c supérieurs à 9% (CDACPGE, 2003). Les transporteurs du glucose SGLT2 sont également la cible d'inhibiteurs spécifiques tels que la phlorizine ou la dapagliflozine, qui permettent une diminution de la réabsorption du glucose dans les tubules rénaux et par conséquent une diminution de la glycémie.

V.3. Thérapie contre les anomalies lipidiques

Les statines ont pour action de freiner la production de cholestérol, en inhibant une enzyme clé de sa synthèse, l'HMG CoA réductase (3-hydroxy-3-méthyl glutaryl-coenzyme A). Un traitement avec une statine, en fonction de la dose, diminue le taux de LDL-cholestérol de 15

à 60 mg/dl, augmente le taux de HDL-cholestérol de 5 à 10% et réduit les triglycérides plasmatiques de 7 à 30% (Davignon, 2004).

Les séquestrants des acides biliaires sont des résines fixant et éliminant les acides biliaires en excès, empêchant ainsi leur absorption intestinale. Ils diminuent d'environ 15 à 30% le taux de LDL-cholestérol.

Les inhibiteurs de l'absorption du cholestérol se localisent au niveau de la bordure de l'intestin grêle et inhibent l'absorption du cholestérol (Sampalis, 2007).

Les fibrates réduisent le taux de triglycérides plasmatiques. Ils diminuent la quantité de triglycérides de 25 à 50% (Leaf, 1989). Ils agissent en activant le PPAR α , ce qui entraîne une augmentation de la lipolyse et une diminution des particules riches en triglycérides (LDL et VLDL).

La niacine ou vitamine B3 contribue à favoriser la circulation sanguine en limitant l'agrégation plaquettaire, et elle possède également une action anti-lipolytique (Pan, 2002). La niacine augmente le taux de HDL-cholestérol de 15 à 35%, diminue le taux de triglycérides de 20 à 50% et celui de LDL-cholestérol de 5 à 25% (Third report of NCEP : ATP III, 2002).

V.4. Thérapie inhibant la production hépatique de glucose

La metformine, principale biguanide, agit sur le foie en diminuant la production hépatique de glucose, et plus particulièrement la néoglucogenèse (He, 2009). Elle agit également sur le muscle squelettique en favorisant la captation du glucose (Kirpichnikov, 2002). En 2001, G. Zhou et ses collaborateurs ont montré que la metformine activait l'AMPK (Adenosine Mono-Phosphate-activated Kinase) hépatique et musculaire. Cette étape bloque la synthèse d'acides gras et favorise leur oxydation. De plus, l'activation de l'AMPK diminue l'expression de SREBP-1, facteur de transcription impliqué dans l'IR, les dyslipidémies et le diabète de type 2 (figure 36). La baisse d'expression de SREBP-1 entraîne une baisse d'expression des gènes des enzymes lipogéniques, ce qui diminue la synthèse de triglycérides et la stéatose hépatique (Zhou G, 2001).

Dans le muscle squelettique, l'activation de l'AMPK conduit à l'expression de l'hexokinase II, qui contribue aux défauts de transport de glucose en condition d'IR (Holmes, 1999).

La metformine diminue en moyenne la glycémie de 3,9 mM et l'HbA1c de 1,5% chez 90% des patients, y compris les sujets âgés (Garber, 1997). De plus, depuis l'étude de l'UKDPS, la metformine est devenue le médicament de référence chez les patients diabétiques de type 2 présentant un surpoids (UKPDS, 1998). En effet, elle a des effets bénéfiques sur le contrôle

de la glycémie, mais elle est également associée à une perte de poids et à une amélioration du profil lipidique (Abbasi, 1997). La metformine diminue le risque de mortalité de 36%, le risque d'infarctus du myocarde de 39% et le risque de pathologies macrovasculaires de 30% (Abbasi, 1997 ; Landin, 1991 ; UKPDS, 1998).

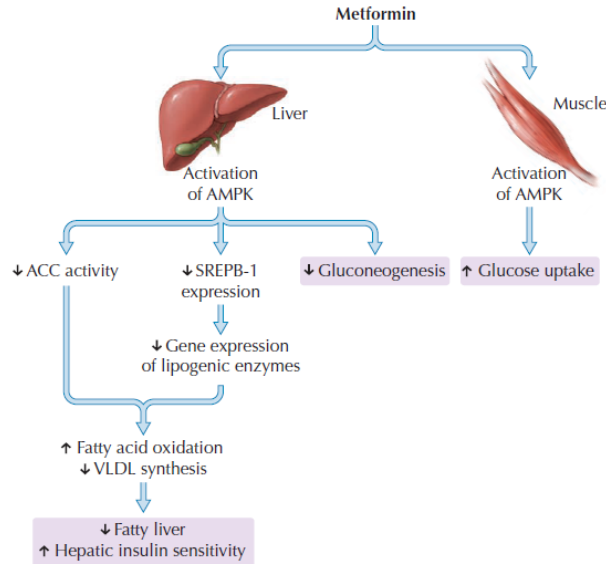


Figure 36. La metformine active l'AMPK dans le foie et le muscle squelettique pour augmenter le métabolisme du glucose et des acides gras. AMPK = adenosine monophosphate-activated protein kinase; ACC = acetyl-CoA carboxylase; SREBP-1 = sterol-regulatory-element-binding-protein-1; VLDL = very low density lipoprotein (Cheng, 2005).

V.5. Thérapie augmentant la sécrétion d'insuline

V.5.1. Les sulfonylurés ou sulfamides hypoglycémiants (SU)

Les SU (glimépiride, gliclazide, glyburide, chlorpropamide et tolbutamide pour les plus utilisés) agissent en se liant sur leur récepteur à la surface des cellules β pancréatiques (Zimmerman, 1997). Le récepteur des SU est étroitement lié aux canaux potassiques ATP-dépendants (protéine Kir6.2) et la liaison d'un SU sur son récepteur, en provoquant la fermeture du canal potassique, arrête la sortie des ions K^+ . Ceci induit une dépolarisation de la membrane cellulaire et une ouverture des canaux calciques voltage-dépendants. L'entrée de calcium stimule les microtubules qui permettent aux vésicules contenant l'insuline d'aller fusionner avec la membrane (figure 37) (Zimmerman, 1997).

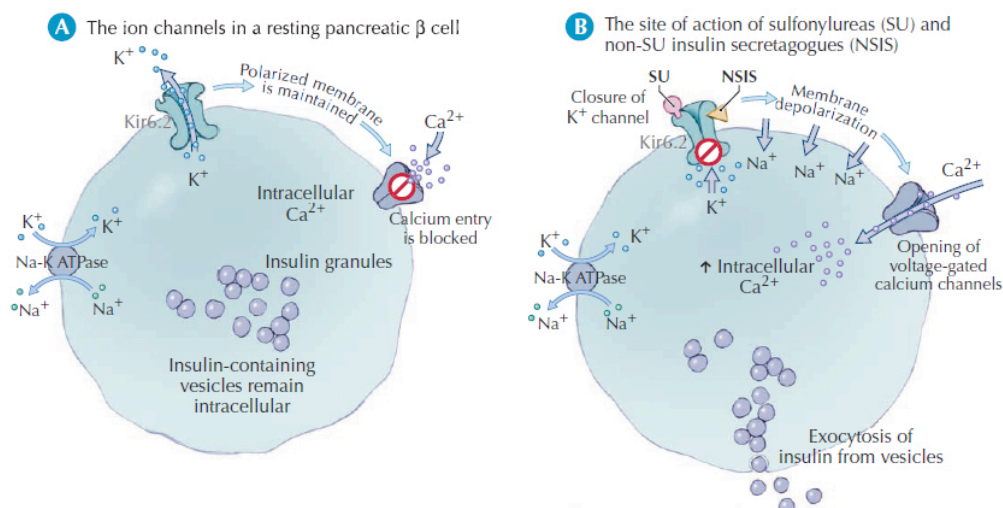


Figure 37. Les sécrétagogues de l'insuline miment le glucose pour fermer les canaux potassiques et stimuler la sécrétion d'insuline (Cheng, 2005).

Le traitement avec des SU provoque une diminution du taux de HbA1c d'environ 1 à 1,5% (Klepzig, 1999). Etant donné que ces molécules activent directement la sécrétion d'insuline indépendamment de la glycémie, le principal effet secondaire est l'hypoglycémie.

V.5.2. Les non-sulfonylurés (NSU) ou glinides

Les NSU (nateglinide et repaglinide) ont une action similaire aux SU : ils ferment les canaux potassiques, ce qui conduit à l'augmentation de la sécrétion d'insuline calcium-dépendante. Ils se lient cependant au récepteur des sulfonylurés sur un site différent des SU (figure 37). Leur action et leur clairance sont plus rapides, et la stimulation de la sécrétion d'insuline est plus brève. L'efficacité des NSU est comparable à celle des SU avec une diminution du taux de HbA1c d'environ 0,5 à 1% (Hanefeld, 2000).

V.6. Thérapie visant à augmenter la sensibilité à l'insuline

Les principaux insulino-sensibilisateurs utilisés sont des molécules de la classe des thiazolidinediones ou TZD (rosiglitazone et pioglitazone). Les TZD sont des ligands des PPAR γ , exprimés surtout dans le TAB. L'activation des PPAR γ conduit à l'expression de nombreux gènes impliqués dans la régulation du métabolisme lipidique et glucidique, et de l'adipogenèse (Takasawa, 2008). La formation de nouveaux adipocytes, plus petits et plus

fonctionnels, permet une meilleure captation des acides gras circulants et surtout une redistribution des acides gras stockés dans les tissus insulino-sensibles. Par cette action, ces tissus, principalement le muscle squelettique, deviennent plus sensibles à l'action de l'insuline (figure 38) (Cheng, 2005).

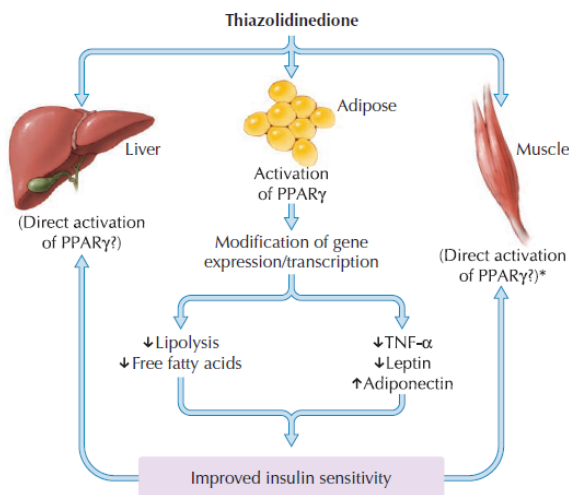


Figure 38. Mécanismes d'action des TZD (Cheng, 2005).

L'efficacité des TZD sur la diminution du taux de HbA1c est comparable à celle de la metformine et des SU. En plus du contrôle glycémique, les TZD réduisent l'excrétion urinaire d'albumine, augmentent les concentrations de HDL-cholestérol, diminuent celles de triglycérides, diminuent la pression artérielle, réduisent les taux de PAI-1 et participent à la diminution de l'épaisseur intima-média dans le processus d'athérosclérose (Inzucchi, 2002).

L'effet secondaire le plus courant est la prise de poids due à la formation de nouvelles cellules adipeuses. Des études récentes indiquent qu'un traitement à la rosiglitazone serait associé à une augmentation du risque d'infarctus du myocarde (Nissen, 2007). Des précautions particulières à l'emploi de la rosiglitazone sont désormais préconisées par l'AFSSAPS.

V.7. Autres thérapies et molécules

Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion (IEC) diminuent la synthèse d'angiotensine II (vasoconstricteur) et les bloqueurs des récepteurs de l'angiotensine (BRAT) sont utilisés pour le traitement de l'hypertension dans le syndrome métabolique, surtout chez les personnes qui présentent un diabète de type 2 et/ou une maladie rénale chronique (Israili, 2007).

De faibles doses d'aspirine sont souvent prescrites pour traiter l'état pro-thrombotique des patients atteints d'un syndrome métabolique (Shields, 2004). Mais l'action de l'aspirine, ou

d'autres agents anti-plaquettaires, pour la prévention des risques cardiovasculaires chez des personnes atteintes d'un syndrome métabolique, n'est pas encore validée.

Il n'y a pas à l'heure actuelle de thérapie ciblant directement l'inflammation des personnes atteintes d'un syndrome métabolique.

Le système endocannabinoïde est un système physiologique récemment découvert (Scheen, 2009). Il joue un rôle important dans la régulation de l'apport alimentaire, le stockage et le métabolisme des graisses et du glucose. Un système endocannabinoïde hyperactif est associé à l'obésité et à des troubles métaboliques. Des études ont montré que la prise d'un antagoniste sélectif du récepteur des cannabinoïdes CB1, le rimonabant, diminuait la masse corporelle, l'IR, les taux de triglycérides et de LDL, les concentrations de CRP, la pression artérielle, et augmentait les concentrations de HDL et d'adiponectine chez des patients obèses (Scheen, 2009).

Les incréтино-mimétiques sont des agonistes du récepteur au GLP-1 (glucagon-like-peptide-1). Les premiers représentants de cette classe sont l'exenatide et le liraglutide (Hansen, 2009). Ils potentialisent l'insulino-sécrétion de manière adaptée au niveau glycémique, préservent les cellules β pancréatiques, réduisent les taux circulants de glucagon, et ralentissent la vidange gastrique (Hansen, 2009).

En résumé : Le syndrome métabolique est un ensemble de facteurs de risques cardiovasculaires dont les origines sont principalement métaboliques. L'obésité et l'IR apparaissent au centre de ce syndrome. Une personne atteinte de syndrome métabolique présente deux fois plus de risques cardiovasculaires et cinq fois plus de risques de diabète de type 2.

Il n'y a pas à l'heure actuelle de consensus sur la définition du syndrome métabolique. Bien que la prévalence de ce syndrome dépende de la définition utilisée, elle est globalement en augmentation. Le syndrome métabolique ne concerne pas uniquement les adultes, sa prévalence chez l'enfant est en augmentation, parallèlement à celle de l'obésité.

Les études sur la biologie du tissu adipeux et surtout sur sa fonction endocrine ont permis une meilleure compréhension du lien entre l'obésité et l'IR. Les adipokines produites par les adipocytes ou les macrophages : induisent un état inflammatoire de "bas grade" qui accentue les complications de l'obésité et de l'IR, participent à l'augmentation des concentrations d'acides gras circulants en favorisant la lipolyse, et participent au développement d'une IR périphérique en inhibant le signal insulinique.

Le syndrome métabolique est associé à de nombreuses pathologies telles que la stéatose hépatique non alcoolique, un état pro-inflammatoire et pro-thrombotique ou des maladies de la microcirculation. La plupart de ces pathologies ne sont pas comptabilisées dans les critères de définition et elles potentialisent les risques apportés par les facteurs diagnostiques.

Le premier objectif du traitement du syndrome métabolique est la perte de poids. Un traitement pharmacologique peut être suivi parallèlement, il cible les composants du syndrome métabolique de façon individuelle.

Chapitre III : Méthodes d'évaluation de l'insulino-sensibilité *in vivo*

La mesure de la sensibilité à l'insuline est évaluée à partir des concentrations plasmatiques en insuline et en glucose à jeun, ou lors de tests dynamiques, dont la plupart requièrent une administration de glucose et/ou d'insuline. Ces différentes méthodes sont classées en trois grandes catégories (Muniyappa, 2008) :

- Les méthodes directes : elles sont généralement basées sur l'injection d'insuline et de glucose exogènes. Ces méthodes sont précises mais demandent un protocole complexe.

- Les méthodes indirectes : ce sont principalement des tests dynamiques. Ces méthodes ne demandent pas de protocole complexe, mais nécessitent souvent une analyse des résultats par modélisation mathématique (traduction mathématique du comportement dynamique d'un système physiologique).

- Les méthodes simples : elles proposent des index, basés sur les concentrations plasmatiques en insuline et en glucose à jeun. Ces méthodes plus simples sont souvent peu reproductibles et peu informatives.

I. Les méthodes directes de mesure

I.1. Le clamp euglycémique hyperinsulinémique

Cette technique de mesure, développée par Ralph DeFronzo et collaborateurs (DeFronzo, 1979), est considérée comme la technique de référence pour la mesure de la sensibilité à l'insuline. Elle consiste à perfuser au sujet de l'insuline exogène à débit constant. Cette perfusion a pour but de placer le sujet en hyperinsulinémie et par conséquent d'augmenter le transport du glucose dans les tissus sensibles à l'insuline, et également d'inhiber la production hépatique de glucose, si cette hyperinsulinémie est suffisamment élevée. En parallèle, la glycémie du sujet est suivie tout au long du protocole. Elle est "clampée" à sa valeur mesurée à jeun, c'est-à-dire qu'elle est maintenue constante grâce à une perfusion variable de glucose exogène. Après 2 à 3 heures de perfusion, un état d'équilibre est atteint pour lequel la production endogène de glucose est inhibée, ce qui signifie que l'intégralité du glucose

perfusé est assimilée par les tissus insulino-sensibles. Le "Glucose Infusion Rate" (GIR) est ainsi calculé, il correspond à la quantité de glucose perfusée pour maintenir la glycémie constante, il reflète ainsi le taux de disparition du glucose sous insuline (M). La valeur M est normalisée au poids de l'individu afin de s'affranchir de la sous-estimation de la consommation du glucose chez l'obèse, expliquée par un volume de distribution plus important. Elle permet aussi de calculer un index de sensibilité SI_{clamp} , résultat du rapport de M sur la glycémie à l'équilibre. La technique du clamp euglycémique hyperinsulinémique n'est pas physiologique, mais elle est simple à interpréter : plus la quantité de glucose à perfuser pour maintenir l'euglycémie est faible, moins les muscles consomment du glucose et plus le sujet est considéré comme insulino-résistant. Sa reproductibilité, évaluée par un test de Bland-Altman est satisfaisante (Le, 2009).

Les conditions stables d'équilibre du clamp peuvent être associées à d'autres méthodes de mesure (calorimétrie indirecte, technique de dilution isotopique) afin d'évaluer l'oxydation du glucose ou la production de glucose hépatique. La mesure conjointe de la production hépatique de glucose par la méthode de dilution par traceurs (glucose deutéré ou glucose marqué au carbone 13) est indispensable chez les patients diabétiques de type 2. Chez ces patients, la production endogène de glucose n'est pas totalement freinée sous 40 mUI/m²/min d'insuline. Dans cette situation, il faut ajouter la production hépatique de glucose au débit de perfusion de glucose pour calculer la valeur M (Pacini, 2003).

Cependant, le clamp euglycémique hyperinsulinémique mesure l'utilisation du glucose dans des conditions non physiologiques, puisque les concentrations d'insuline obtenues sont pharmacologiques. De plus, le plateau d'équilibre n'est pas toujours atteint à la deuxième heure. Enfin, cette méthode est longue et demande des équipes expérimentées afin d'être fiable (Pacini, 2003). Elle ne peut s'inscrire dans le cadre d'études épidémiologiques visant à mesurer la sensibilité à l'insuline sur des grandes cohortes de patients. Par ailleurs, pour comparer les GIR mesurés, ces derniers doivent être obtenus pour des doses similaires d'insuline perfusée et ces doses diffèrent souvent en fonction des études.

I.2. Le test de suppression insulinique

Au cours de ce test, du glucose (6 à 8 mg/kg/min) et de l'insuline (0,9 à 2,5 mUI/kg/min) sont perfusés de façon simultanée à débits fixes, et de la somatostatine (hormone qui supprime la sécrétion d'insuline) est également perfusée de façon à ce que la sécrétion insulinique

endogène soit supprimée. Le niveau glycémique atteint en fin de test est inversement proportionnel au degré de sensibilité à l'insuline des tissus. Le niveau glycémique atteint à la fin du test dépend à la fois de l'action de l'insuline et de l'effet propre du glucose, et la suppression de la production hépatique de glucose peut-être plus ou moins complète. Cette technique corrèle bien au clamp ($r=0,93$) (Greenfield, 1981). Mais elle présente deux inconvénients importants : elle a été peu utilisée et le coefficient de variation intra-sujet est important. De plus, l'emploi de la somatostatine pose un problème majeur de coût tout en augmentant la complexité de cet examen.

II. Les méthodes indirectes de mesure

II.1. Le test de tolérance intraveineuse à l'insuline ("Insulin Tolerance Test" : ITT)

L'injection de 0,1 UI/kg d'insuline permet de calculer un indice à partir de la diminution de la glycémie au cours des 15 ou 30 premières minutes post-injection. Ce test est facile à mettre en œuvre mais il a de nombreux inconvénients avec en particulier un risque d'hypoglycémie susceptible d'induire une contre-régulation hormonale, elle-même responsable d'une diminution de la sensibilité à l'insuline. De plus, le résultat obtenu dépend à la fois de l'utilisation périphérique du glucose mais aussi de la suppression, plus ou moins complète, de la production hépatique de glucose. Une bonne corrélation a été rapportée avec le clamp euglycémique, mais l'effet aigu obtenu au cours de ce test est probablement très différent de celui obtenu avec une imprégnation plus prolongée comme lors du clamp.

II.2. Analyse par "Minimal Model" (MINMOD)

Le "minimal model" de Bergman 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, 1979). Ce modèle fournit deux indices : l'indice SI représente la sensibilité des tissus (hépatique et périphériques) à l'action de l'insuline, tandis que l'indice SG représente le "glucose effectiveness index", c'est-à-dire l'effet du glucose sur sa propre disparition, indépendamment de toute élévation de l'insulinémie. La reproductibilité de ce test dynamique est acceptable puisque les coefficients

de variation intra-sujet rapportés dans la littérature sont proches de 15%, même si l'utilisation du Minimal Model chez le patient diabétique est moins validée. Les données fournies par le minimal model ne corrèlent pas (Foley, 1985) ou peu, avec les données du clamp ($r=0,55$) (Saad, 1994).

II.3. Test de tolérance au glucose par voie orale ("Oral Glucose Tolerance Test", OGTT) et index dérivés

L'OGTT (HyperGlycémie Provoquée par voie Orale, HGPO) est un test simple, utilisé en routine clinique. Il consiste à suivre les concentrations plasmatiques en glucose et en insuline après une charge orale en glucose ou un repas, pendant 120 minutes. La tolérance au glucose est reflétée par l'efficacité de l'organisme à faire diminuer la glycémie après une charge en glucose. Toutefois, l'OGTT fournit des informations sur la tolérance au glucose, mais pas sur la sensibilité à l'insuline, qui demeurent deux concepts distincts. Par contre, de nombreux index, basés sur la méthode de l'OGTT ont été proposés. Deux sont fréquemment utilisés et assez bien corrélés avec le clamp euglycémique hyperinsulinémique. La formule proposée par M. Mastuda et R. DeFronzo repose sur les valeurs moyennes de glycémie et d'insulinémie à jeun et au cours du test (Matsuda, 1999) ; la formule proposée par M. Stumvoll utilise moins de valeurs de glycémie et d'insulinémie mais incorpore l'index de masse corporelle (poids (kg)/taille (m^2)) (Stumvoll, 2000). Récemment, de nouvelles formules ont été proposées : 1) l'index ISI_{0,120}, proposé par M. Gutt, repose sur le poids, les valeurs d'insuline et de glycémie à jeun et après 2 heures d'OGTT. Il est corrélé avec le clamp euglycémique hyperinsulinémique ($r=0,63$) (Gutt, 2000) et présente une bonne valeur prédictive pour la survenue du diabète de type 2 ; une bonne corrélation avec le clamp euglycémique hyperinsulinémique est obtenue en tenant compte de l'excrétion urinaire du glucose au cours de l'OGTT (coefficient de corrélation de Pearson à 0,869) (Soonthornpun, 2003). 2) A. Mari a proposé des méthodes de modélisation permettant d'évaluer la sensibilité et la sécrétion d'insuline à partir d'OGTT réalisés sur 2 ou 3 heures (corrélation avec le clamp : $r=0,77$) (Mari, 2001).

L'intérêt de ces tests repose sur leur faisabilité et sur l'aspect dynamique, reflétant en théorie la boucle d'homéostasie glucidique et insulinémique. Cependant, ces méthodes sont souvent mises à défaut chez les sujets diabétiques, car une sécrétion d'insuline insuffisante ne permet pas d'évaluer son action sur la capacité de captation du glucose (Pacini, 2003).

II.4. Index basés sur les concentrations à jeun d'insuline et de glucose

II.4.1. "HOMeostasis Model Assessment" (HOMA)

Parmi les index basés sur les concentrations à jeun d'insuline et de glucose, le plus utilisé et le mieux validé est celui obtenu par le modèle HOMA. Il s'agit d'un modèle mathématique basé sur les réponses quantitatives des principaux organes impliqués dans l'homéostasie du glucose. Cette méthode permet de caractériser les anomalies de la sensibilité et de la sécrétion insulinaire à partir des concentrations plasmatiques à jeun de glucose (G_0) et d'insuline (I_0). L'index HOMA est donné par la formule : $IR_{HOMA} = (I_0 \times G_0)/22,5$.

La variabilité de l'estimation de la sensibilité à l'insuline avec la méthode HOMA est d'environ 30%, ce qui limite l'aspect réellement quantitatif de l'information qui peut être déduite d'une mesure individuelle. Cette variabilité est améliorée par l'utilisation de kits fiables de mesure de l'insuline et par l'utilisation de la moyenne de plusieurs couples de glycémie-insulinémie. La corrélation entre les valeurs du HOMA-R, de ses dérivés ($1/HOMA$ et $\log(HOMA)$) et celles du clamp euglycémique hyperinsulinémique est très variable d'une étude à l'autre, et reste plutôt modeste ($r= 0,34-0,40$) (Muniyappa, 2009). Cependant, l'index HOMA et le clamp euglycémique n'explorent pas les mêmes domaines de la sensibilité à l'insuline. À jeun, l'insuline plasmatique a une action beaucoup plus importante sur l'inhibition de la production hépatique de glucose que sur l'utilisation périphérique du glucose, aussi l'index HOMA est avant tout un reflet de l'IR hépatique (Tripathy, 2004). A l'opposé, le GIR obtenu lors d'un clamp euglycémique reflète l'effet périphérique, principalement musculaire de l'insuline sur la captation de glucose. De plus, en l'absence de standardisation du dosage de l'insuline, les comparaisons entre les différentes études ayant utilisé l'index HOMA sont hasardeuses et la définition d'un seuil à partir duquel on peut parler d'IR est difficile. Ces problèmes limitent l'utilisation de l'index HOMA au niveau individuel.

II.4.2. "Quantitative Insulin Sensitivity Check Index" (QUICKI)

Le QUICKI est obtenu de façon empirique à partir des concentrations plasmatiques à jeun de glucose (G_0) et d'insuline (I_0). L'index QUICKI est donné par la formule : $IR_{QUICKI} = 1/(\log I_0 + \log G_0)$. Le QUICKI concerne une gamme plus vaste de sensibilité à l'insuline que le

HOMA ou que le MINMOD. Il corrèle aux valeurs d'IR fournies par le clamp euglycémique ($R= 0,57$) (Katz, 2000). Cependant cet index présente les mêmes limitations que le HOMA quant à la standardisation du dosage de l'insuline.

Malgré toutes les méthodes d'évaluation de la sensibilité à l'insuline existantes, aucune n'est à l'heure actuelle simple, robuste, reproductible et suffisamment sensible pour une utilisation en routine clinique. C'est pourquoi, de nouveaux index, dont la plupart sont basés sur le test d'OGTT, sont régulièrement proposés (Muniyappa, 2008).

En résumé : Il existe de nombreuses méthodes de mesure de la sensibilité à l'insuline. Le choix d'une méthode dépendra des populations étudiées (diabétiques ou non diabétiques), des objectifs fixés et des moyens disponibles. Les tests dynamiques donnent plus d'informations qu'une simple mesure à jeun et doivent être privilégiés pour l'évaluation de la sensibilité à l'insuline dans les études réalisées sur de petits effectifs. Parmi les tests dynamiques, le clamp euglycémique hyperinsulinémique reste la méthode de référence. Cette technique n'est pas adaptée pour les études épidémiologiques, pour lesquelles les mesures de glycémie et d'insulinémie à jeun sont préférables. Toutefois, un dosage radio-immunologique fiable pour l'insuline est nécessaire afin d'exclure les interférences avec la pro-insuline et ses fragments qui peuvent conduire à une surévaluation de l'IR.

Chapitre IV : La mesure du transport du glucose *in vivo*

Le clamp euglycémique hyperinsulinémique mesure la sensibilité globale d'un individu à l'insuline, alors que la résistance à l'insuline est une pathologie dont la sévérité peut varier d'un organe à l'autre. Pour ces raisons, des méthodes de mesure du métabolisme du glucose et de son transport dans différents organes ont été développées, en association au clamp. Elles utilisent différentes techniques comme la spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (SRMN), la dilution de traceurs radioactifs ou encore la tomographie par émission de positons (TEP).

I. La SRMN (Roden, 1999)

La SRMN est une technique basée sur l'aimantation intrinsèque (moments magnétiques ou "spin") de certains noyaux atomiques, tels que le ^1H , le ^{13}C ou le ^{31}P . La SRMN permet de mesurer la concentration de certains métabolites dans un volume d'intérêt, de manière non invasive. Ce volume est placé dans un fort champ magnétique, qui polarise l'aimantation nucléaire et fournit des informations obtenues sous forme de spectres. Chaque raie de ce spectre correspond à un environnement moléculaire particulier et l'amplitude de ces raies détermine la concentration des molécules correspondantes.

La SRMN est une méthode non invasive qui permet de suivre les cinétiques de formation/dégradation d'une molécule d'intérêt. Elle est basée sur les cinétiques du substrat naturel. La SRMN a été largement utilisée pour l'étude du métabolisme du glycogène dans le muscle squelettique (Roden, 1999). Elle a été validée en comparant les mesures obtenues par SRMN dans le foie et dans le muscle squelettique avec les données fournies par des biopsies. La synthèse de glycogène est suivie après perfusion de glucose marqué au ^{13}C en position 1. Une étude menée chez des sujets sains ou diabétiques a montré que cette technique permettait de mettre en évidence le défaut de synthèse de glycogène chez les sujets diabétiques (Rothman, 1991). Les données nécessitent, par contre, un traitement comprenant des corrections complexes.

II. La technique de dilution des multiples traceurs

Cette technique est basée sur l'injection simultanée de plusieurs traceurs à l'entrée de l'organe d'intérêt et sur l'étude de leurs courbes de ressortie. Suivant les traceurs utilisés, cette technique permet d'explorer la sensibilité à l'insuline, à travers le métabolisme glucidique ou le métabolisme des acides gras. Pour le métabolisme du glucose, un ou plusieurs traceurs sont perfusés seuls ou simultanément avec de l'insuline. Une étude complète nécessite la co-injection d'un marqueur vasculaire (qui ne traverse pas l'endothélium des capillaires), d'un marqueur extracellulaire (qui ne pénètre pas dans la cellule une fois parvenu dans le milieu interstitiel), d'un marqueur du transport du glucose (qui entre dans les cellules de l'organe par les GLUTs et qui en ressort sans être modifié), et enfin de glucose. Pour l'étude de l'étape de transport du glucose, la combinaison la plus retenue est la co-injection d'un marqueur extracellulaire et d'un marqueur de transport. Les deux traceurs extracellulaires les plus utilisés sont le [³H]-L-glucose et le [³H]-D-mannitol. Concernant le transport du glucose, le traceur de référence est le [¹⁴C]-3-O-méthyl-D-glucose (3-OMG). Le 3-OMG a un comportement similaire à celui du glucose *in vitro* et *in vivo* (Carruthers, 1990). Il entre dans la cellule par les mêmes transporteurs que le glucose et n'étant pas phosphorylé, il ressort librement, traçant ainsi uniquement l'étape de transport. Le modèle mathématique développé pour analyser les cinétiques du 3-OMG dans le muscle squelettique est un modèle multicompartimental à 15 compartiments. Cette complexité vient du fait que le carbone 14 n'est pas détectable par voie externe, donc les mesures ne sont réalisées qu'au niveau sanguin. De plus, ce modèle prend en compte les échanges du traceur avec les globules rouges, l'hétérogénéité du débit sanguin au sein du muscle squelettique et les échanges du traceur entre le milieu interstitiel et le milieu intracellulaire.

Cette technique ne requiert aucune technologie sophistiquée, elle permet de décrire le tissu de façon plausible car la modélisation permet de prendre en compte tous les échanges compartimentaux, et permet d'obtenir des paramètres cinétiques de transport du glucose *in vivo*.

Cependant, l'analyse des résultats de cette technique est relativement complexe. De plus, elle ne permet pas l'acquisition d'images et ne permet donc pas de localiser les phénomènes métaboliques au sein d'un tissu. Enfin, l'utilisation du carbone 14 chez l'homme, n'est pas autorisée dans tous les pays, notamment en France, en raison de sa période (5730 ans).

III. La TEP

L'imagerie par émission de positons repose sur les propriétés des émetteurs de rayonnements β^+ ou positons. Les émetteurs de positons produisent deux photons γ de 511 keV, émis à 180 degrés l'un de l'autre par annihilation, après rencontre avec un électron de la matière. L'imagerie TEP est basée sur la co-détection simultanée de ces deux photons.

Dans le cadre de l'étude du transport du glucose, le traceur utilisé en TEP est le [^{18}F]-2-fluoro-2-déoxy-D-glucose ou FDG. Le FDG est un analogue du 2-déoxy-D-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 fluoro-2-DG-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. Le transport et la phosphorylation du FDG sont estimés à partir d'un modèle mathématique à trois compartiments (figure 39). Ce traceur est principalement utilisé pour la détection de tumeurs cancéreuses (Bourre, 2009). La résolution spatiale de la TEP fournit un grand nombre de régions d'intérêt de petit volume dans lesquelles l'homogénéité du métabolisme est bonne. L'activité émise par le ^{18}F provient à fois du [^{18}F]-FDG et du [^{18}F]-FDG-6-phosphate, ce qui, malgré le processus de modélisation, biaise l'estimation du transport du glucose.

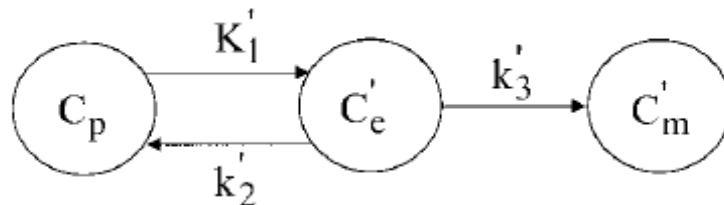


Figure 39. Modélisation à trois compartiments du transport et du métabolisme du FDG. C_p représente le compartiment plasmatique, C_e représente le compartiment intracellulaire et C_m représente la concentration de FDG phosphorylé. Les constantes cinétiques du traceur (K_1' , k_2' et k_3') permettent de quantifier les échanges du traceur entre chaque compartiment (Bertoldo, 2001).

Le 3-O-méthyl-D-glucose (3OMG) est également utilisé en TEP. Le 3OMG n'est utilisable *in vivo* que marqué par du carbone 11, ce qui a été fait dans certains travaux portant sur le métabolisme cérébral (Feinendegen, 1986). Il a également été utilisé pour l'étude du transport du glucose dans le muscle squelettique chez l'homme (Bertoldo, 2005). L'analyse des données requiert, comme pour le FDG, une modélisation du transport à l'aide d'un modèle à trois compartiments (figure 40).

Cependant, le carbone 11 présente une période de 20 minutes, ce qui empêche son utilisation en routine clinique.

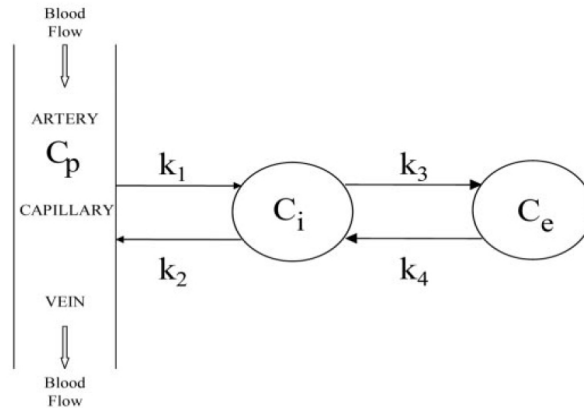


Figure 40. Modélisation à trois compartiments du transport du 3OMG. C_p représente le compartiment plasmatique, C_i représente le compartiment interstitiel et C_e représente le compartiment intracellulaire. Les constantes cinétiques du traceur (k_1 , k_2 , k_3 et k_4) permettent de quantifier les échanges du traceur entre chaque compartiment (Bertoldo, 2005).

IV. Le 6-déoxy-6-iodo-D-glucose (6DIG)

Compte tenu de l'intérêt clinique d'un traceur pur du transport du glucose *in vivo*, utilisable en routine clinique, l'équipe "Radiopharmaceutiques Biocliniques" a travaillé sur l'élaboration de plusieurs analogues du glucose marqués avec des émetteurs γ purs tels 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 ou SPECT (Tomographie par Emission Mono-Photonique ou Single Photon Emission Computed Tomography).

Les premiers analogues synthétisés ont été marqués en position 1, 2, et 3 (Koumanov, 1996). Par la suite, d'autres analogues ont été marqués en positions 4, 5 et 6 (Perret, 2004). Le devenir biologique des molécules a été étudié aux différents niveaux d'organisation de l'animal : *in vitro* sur modèles cellulaires, *ex vivo* sur cœur isolé et perfusé de rat, et *in vivo* en biodistribution chez la souris.

Parmi les quinze analogues étudiés, aucun des analogues iodés en positions 1, 2, 3, 4 et 5 de la molécule de glucose n'interagissaient avec le transporteur. En revanche, trois molécules iodées en positions 6 ont montré des résultats intéressants et ont fait l'objet d'un dépôt de brevet avec Cis Bio International (Bignan, 1993). L'une de ces molécules présente un comportement similaire à celui du 3OMG : le 6-déoxy-6-iodo-D-glucose ou 6DIG.

Le 6DIG a été synthétisé pour la première fois en 1973 par W. Wassenar qui le proposait comme traceur pour le diagnostic des tumeurs cérébrales, sans savoir qu'il marquait le transport du glucose (Wassenar, 1973). Cependant, la biodistribution de ce traceur, chez des souris qui présentaient des tumeurs, n'avait pas donné de résultats concluants, et aucune autre étude biologique n'avait été effectuée.

La synthèse du 6DIG a été reprise par G. Bignan, et les études biologiques qui suivirent ont montré que le 6DIG est un équivalent du 3OMG (Koumanov, 1995 ; Henry, 1997a). Le 6DIG a été validé comme traceur pur du transport du glucose. Les études effectuées sur des érythrocytes humains en suspension et sur des cardiomyocytes de rats nouveau-nés en culture primaire ont montré que le 6DIG entre dans les cellules par les transporteurs du glucose, qu'il n'est pas substrat de l'hexokinase, qu'il n'est pas modifié dans la cellule, et qu'il ressort de la cellule par l'intermédiaire des mêmes transporteurs. De plus, les études sur adipocytes de rat en suspension montrent que l'insuline provoque une augmentation du V_{max} du traceur, sans modification du K_m , voisin de celui du 3OMG (3-10 mM). Ainsi, 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, 1997b). Une étude préliminaire de validation du 6DIG comme traceur du transport du glucose *in vivo* a été réalisée sur un modèle de souris génétiquement diabétiques (C57BL/Ks/Rj-*db/db*), modèle de pathologie animale liée à une anomalie de transport du glucose (Perret, 2003). Ces études de biodistribution avec le 6DIG ont été effectuées en conditions basales et en présence d'insuline. 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 (Perret, 2007). Cette étude a été conduite chez des rats contrôles d'une part, et chez des rats rendus insulino-résistants par un régime riche en fructose d'autre part. Le régime riche en fructose génère une IR modérée, une hyperinsulinémie, une hypertension et une hypertriglycéridémie mais les animaux restent normoglycémiques (Faure, 1999). 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 bien plus faible chez les rats soumis à un régime fructose (Perret, 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 de la radiocativité suivant une double exponentielle décroissante (Perret, 2007). Le muscle squelettique et le cerveau sont les

seuls organes où la cinétique est différente, c'est-à-dire qu'elle suit une courbe qui croît rapidement jusqu'à atteindre un plateau. Pour vérifier que le 6DIG n'était pas modifié dans le muscle, des études ont été menées sur des muscles soléus isolés de rat. Ces expériences ont montré 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). Le 6DIG est donc capable de mettre en évidence *in vivo* des variations du transport du glucose, variations physiologiques ou pathologiques.

La modélisation mathématique, qui consiste à formaliser le comportement dynamique du système étudié par des équations mathématiques, permet une synthèse quantitative des données biologiques issues d'études cinétiques. Les modèles compartimentaux sont les plus utilisés en médecine. Ainsi, pour prendre en compte la totalité des données biologiques et quantifier l'IR, une modélisation mathématique du transport du 6DIG a été développée (Slimani, 2002 ; Perret, 2007).

La mesure du transport du glucose en condition basale et en présence d'insuline permet de mettre en évidence des anomalies de transport, caractéristiques de l'IR. Afin d'envisager l'utilisation du 6DIG, traceur pur du transport du glucose, dans les services de médecine nucléaire, un protocole de mesure de l'IR avec le 6DIG a été développé, par simple détection externe de la radioactivité (Briat, 2007). Les mesures de transport du 6DIG ont été effectuées en conditions basales et en présence d'insuline chez des rats nourris avec un régime riche en fructose (IR modérée), des rats Zucker obèses (IR plus sévère) et des rats ZDF diabétiques ainsi que chez leurs contrôles respectifs. Le protocole proposé consistait à suivre les cinétiques sanguines et les cinétiques cardiaques du 6DIG, à l'aide de sondes NaI, avant et après l'injection d'un bolus d'insuline (3 UI/kg). Les cinétiques du traceur étaient suivies pendant 45 minutes pour chaque acquisition (basale et sous insuline). Les données biologiques recueillies étaient transposées dans un modèle mathématique à trois compartiments (figure 41).

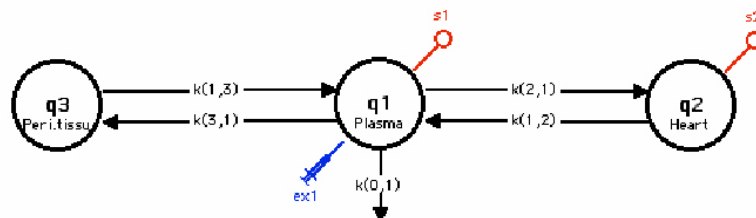


Figure 41. Modèle mathématique à trois compartiments développé pour la mesure de l'IR cardiaque avec le 6DIG. q1 représente le compartiment plasmatique, q2 le compartiment cardiaque et q3 le compartiment regroupant les tissus périphériques. Les constantes cinétiques k sont déterminées entre chaque compartiment. $k(0,1)$ représente la fuite, principalement urinaire, du traceur.

Les constantes cinétiques du traceur étaient évaluées entre chaque compartiment. Le ratio 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'IR cardiaque. L'étude, effectuée sur les différents groupes de rats, montre que les index d'IR calculés chez les rats contrôles sont significativement plus élevés que ceux calculés chez les rats malades, résultants des résistances à l'insuline de sévérités variables (Briat, 2007). Cette étude a montré pour la première fois la faisabilité de la mesure de l'IR cardiaque *in vivo* avec le 6DIG. Ce protocole a été adapté à l'imagerie du 6DIG à l'aide d'une gamma-caméra dédiée au petit animal (Gamma-Imager, Biospace Lab). 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.

Travail Expérimental

Travail Expérimental

L'insulino-résistance (IR), définie par une résistance de l'organisme à l'action de l'insuline, est l'élément central du syndrome métabolique. Elle précède de plusieurs années l'apparition des signes cliniques du diabète de type 2, et elle est, à elle seule, un seul un facteur de risque cardiovasculaire. Les personnes atteintes d'un diabète de type 2 meurent principalement de maladies cardiovasculaires, qui représentent la première cause de mortalité dans les pays industrialisés.

Le dépistage précoce de l'IR est donc de la première importance en clinique.

Il n'existe pas à l'heure actuelle de méthode simple et robuste pour évaluer l'insulino-résistance en routine clinique. Ce type d'approche peut être envisagé en médecine nucléaire en utilisant des traceurs radioactifs adaptés et dont la détection est non invasive.

Dans ce contexte, le 6DIG (6-déoxy-6-Iodo-D-glucose) a été validé comme traceur pur du transport du glucose (Koumanov, 1995 ; Henry, 1997a). La mesure du transport du 6DIG en condition basale d'une part et en présence d'insuline d'autre permet de mettre en évidence les défauts de transport du glucose chez des animaux insulino-résistants (Briat, 2007).

L'utilisation du 6DIG chez l'homme est en cours dans le cadre d'une étude clinique de phase I. Mon travail a porté sur la validation de la méthode de mesure de l'IR avec ce nouveau traceur.

Dans ce contexte, nous nous sommes intéressé à deux organes insulino-sensibles : le cœur et le muscle squelettique.

La première partie de mon travail expérimental a été :

- de valider la méthode de mesure de l'insulino-résistance dans le cœur, en étudiant sa reproductibilité et sa sensibilité,
- de développer une méthode de traitement graphique (ou descripteur empirique, DE) de la mesure de l'IR cardiaque avec le 6DIG.

La deuxième partie de mon travail expérimental a consisté à :

- développer et valider une méthode de mesure de la sensibilité à l'insuline dans le muscle squelettique avec le 6DIG,

- développer un descripteur empirique, basé sur une méthode d'analyse graphique, pour la mesure de l'IR musculaire.

La troisième partie de mon travail expérimental a consisté à :

- valider les deux DE, cardiaque et musculaire, lors de protocoles expérimentaux courts, dans le cadre de la transposition de la méthode de mesure chez l'homme.

1^{ère} partie : Validation de la méthode de mesure de l'insulino-résistance cardiaque avec le 6DIG

Des études précédentes ont montré qu'il était possible de mettre en évidence l'IR cardiaque avec le 6DIG (Thèses de A. Briat et de L. Slimani ; Briat, 2007).

Cette première partie expérimentale consiste à étudier la reproductibilité et la sensibilité de la méthode de mesure proposée avec le 6DIG.

I. Validation de l'index d'insulino-résistance cardiaque

1. Matériels.

a. Matériels

Les rats mâles Wistar et Zucker fatty (*fa/fa*) sont fournis par Charles River (Saint Germain sur l'Arbresle, France). Les animaux sont gardés en animalerie standard (cycle jour/nuit de 12h/12h, température 20°C, un rat par cage) et suivent un régime alimentaire standard SAFE (Lyon, France).

L'insuline (Actrapid, 100 UI/ml) est fournie par Novo Nordisk (Paris, France), le kit de mesure de la glycémie pour l'analyseur YSI 2300 STATPLUS (Yellow Spring Instrument, Ohio, Etats-Unis) par Bioblock Scientific (Illkirch, France), les cathéters en polyuréthane par Portex (Kent, UK). La Rosiglitazone, Avandia[®], est commercialisée par GlaxoSmithKline.

b. Synthèse et marquage du 6DIG

Le 6-Déoxy-6-Iodo-D-Glucose (6DIG) (figure 42) est synthétisé à partir du 6-déoxy-6-iodo-1,2,3,4-tetra-O-acétyl-β-D-glucopyranose par désacétylation et il est fourni par la société ERAS Labo (St Nazaire les Eymes, France).

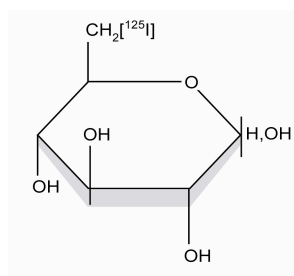


Figure 42. Le 6-déoxy-6-iodo-D-glucose ou 6DIG.

Radiomarquage du 6DIG

Le radiomarquage est réalisé par échange isotopique $^{125}\text{I}/^{127}\text{I}$ (Mathieu, 1982). Cinq milligrammes d'analogue iodé sont dissous dans 1 ml d'une solution de Na^{127}I ($4\mu\text{g/ml}$) dans l'acétone. On ajoute à ce mélange environ $1,85 \cdot 10^8$ Becquerel de la solution d'iodure de sodium Na^{125}I dans la soude (NaOH 2,02 M). Le mélange est ensuite chauffé à 95°C pendant deux heures. Après refroidissement à 60°C , l'acétone est éliminée par évaporation sous vide. Le 6DIG est ensuite dissous dans 3 ml de NaCl (0,9%).

Les iodures libres représentent environ 15-20% de l'activité mesurée en fin de marquage ; ils sont éliminés par passage sur une résine anionique AG1-X8 (Bio Rad).

Stabilité

Il a été montré que la molécule marquée restait stable *in vitro* pendant au moins 60 jours. La bonne stabilité du 6DIG dans le NaCl a permis d'envisager son marquage à l'iode 125 ($T_{1/2} = 59,9$ jours) plutôt qu'à l'iode 123 ($T_{1/2} = 13,2$ heures), afin d'éviter les marquages répétitifs du composé. La stabilité de la molécule est vérifiée après chaque nouveau marquage et régulièrement par la suite par chromatographie liquide haute performance (CLHP, Shimadzu, phase solide RP18, éluant : eau, débit : 7ml/min). La figure 43 montre la stabilité du 6DIG environ 60 jours après marquage. Sur cette figure, les deux pics les plus importants correspondent au 6DIG. Ils correspondent aux anomères α et β de la molécule de glucose.

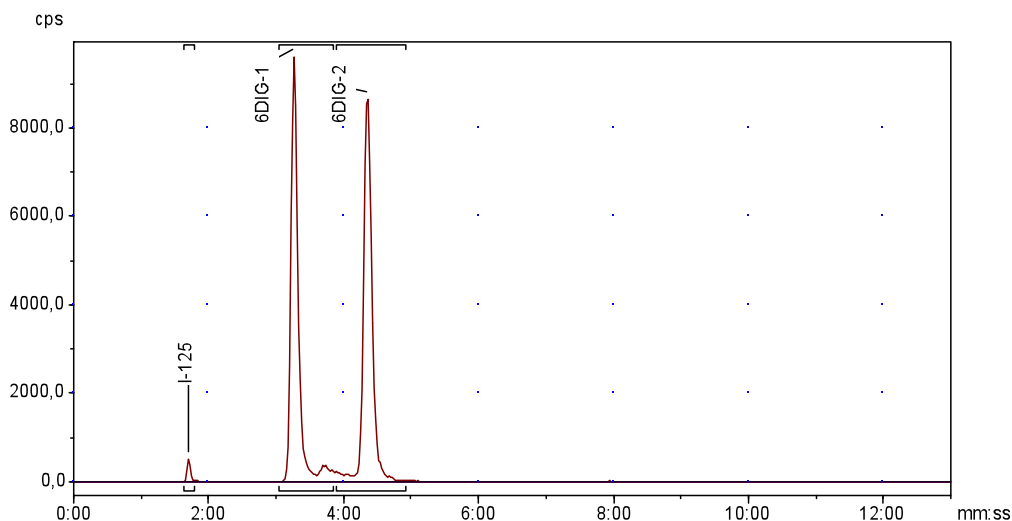


Figure 43. Stabilité du 6DIG 60 jours (~ une période) après marquage (Colonne : C18 waters spherisorbe $5\mu\text{m}$ ODS2, éluant : H_2O pure). Les 2 pics représentés sont caractéristiques du 6-DIG, ils correspondent aux deux formes de la molécule (α et β) qui ne sont pas éluées à la même vitesse.

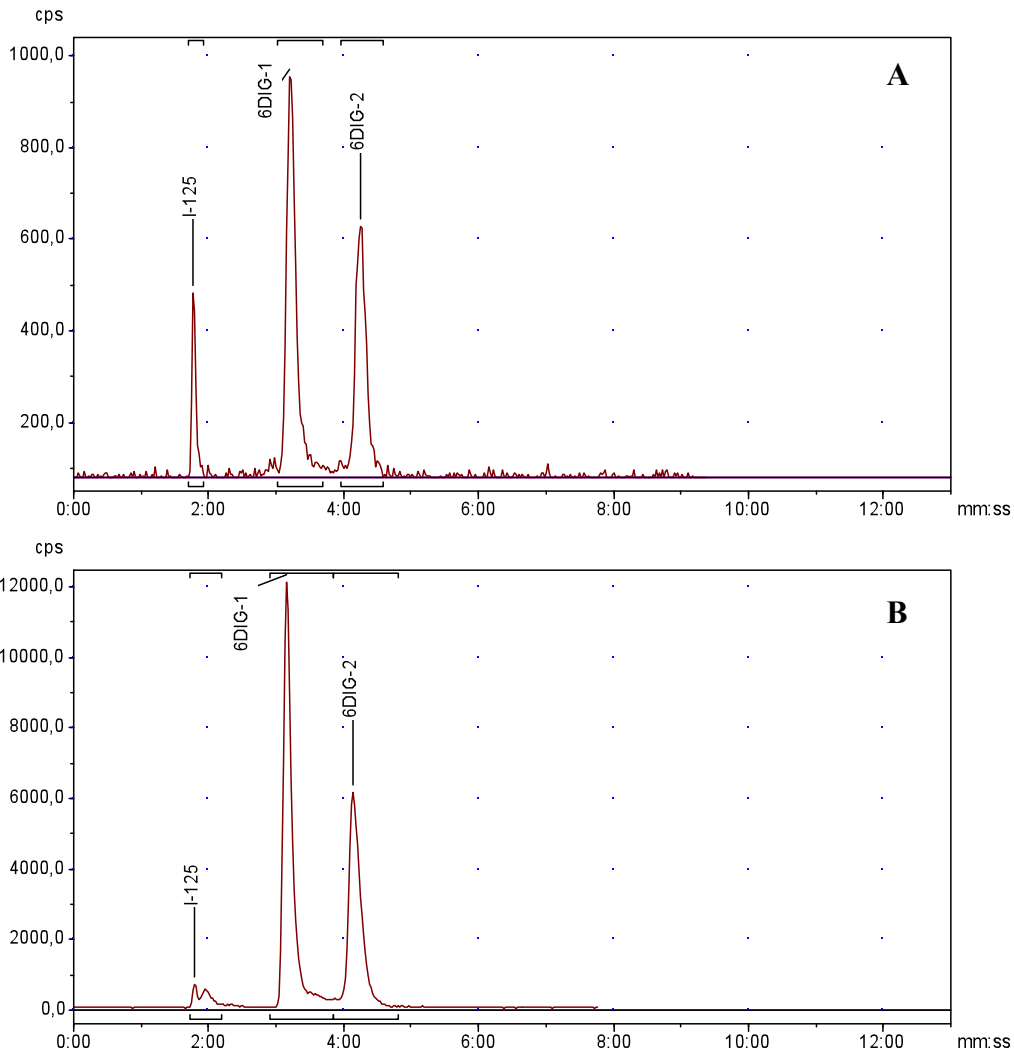


Figure 44. Etude *in vivo* du métabolisme du 6DIG chez le rat Wistar. Les prélèvements sanguins (A) et urinaires (B) ont été réalisés 45 minutes après l'injection du traceur. Le sérum a été purifié par ultracentrifugation (Etude CLHP colonne C18, phase mobile aqueuse).

La stabilité dans le sang et dans les urines a été étudiée en fin de protocole de mesure de l'IR avec le 6DIG (figure 44). La proportion d'iode 125 libre à 45 minutes est d'environ 5% dans les urines et d'environ 11% dans le sang, mais le 6DIG n'est pas modifié 45 minutes après injection *in vivo*.

c. Acquisition de la radioactivité

La radioactivité dans le cœur est détectée grâce à une gamma caméra dédiée au petit animal (γ -imager, Biospace Lab, France), permettant de faire de l'imagerie planaire (figure 45). Cette caméra est équipée d'un collimateur iode 125, elle possède un champ de vue de 10 cm et une

résolution intrinsèque de 2 mm. Les logiciels d'acquisition (γ -acquisition) et de traitement d'image (γ -vision plus) sont fournis par Biospace Lab.

La radioactivité sanguine est mesurée à l'aide d'un compteur gamma (Cobra-II auto-gamma, Packard). L'activité injectée est mesurée dans une chambre d'ionisation (CRC15R Capintec, Ariès, France).



Figure 45. Gamma caméra Biospace Lab dédiée au petit animal, en configuration planaire.

d. Dosage du glucose

La glycémie des rats est mesurée avec un analyseur de glucose YSI 2300 STATPLUS (Ohio, Etats-Unis). Les mesures sont réalisées sur 25 μ l de sang ou de plasma.

2. Méthodes.

a. Animaux

Pour l'étude de reproductibilité, des rats sains Wistar mâles d'environ 300g ont été utilisés (n=8). Pour l'étude de sensibilité, des rats insulino-résistants Zucker *fa/fa* mâles, âgés de 10 semaines, d'environ 350g ont été utilisés (n=12). Après la première mesure d'insulino-

résistance avec le 6DIG, les rats Zucker sont repartis de façon aléatoire dans deux groupes : un groupe "placebo" (n=6) et un groupe traité à la rosiglitazone (n=6).

b. Protocole expérimental

Protocole général - Préparation des animaux

Les études de reproductibilité et de sensibilité nécessitent deux mesures de la sensibilité à l'insuline cardiaque pour un même animal, à 7 jours d'intervalle (figure 46). La période de sept jours est suffisante pour éliminer l'activité résiduelle due au ¹²⁵I-6DIG de la première expérience, et pour permettre à l'animal de récupérer (Vollaire, 2005). Les animaux sont reconduits à l'animalerie après la première mesure à J0.

Pour l'étude de sensibilité, les rats Zucker sont traités par gavage oral quotidien, avec soit un placebo (eau), soit avec de la rosiglitazone (1 mg/ml à raison de 3 mg/kg/jour) pendant 7 jours. Des études préliminaires par HyperGlycémie Provoquée Oralement (HGPO) ont permis de fixer la période de traitement à la rosiglitazone à 7 jours. Ce traitement est suffisant pour améliorer la baisse de glycémie des rats Zucker à 60 et 120 minutes après une charge en glucose (vs. un groupe "placebo").

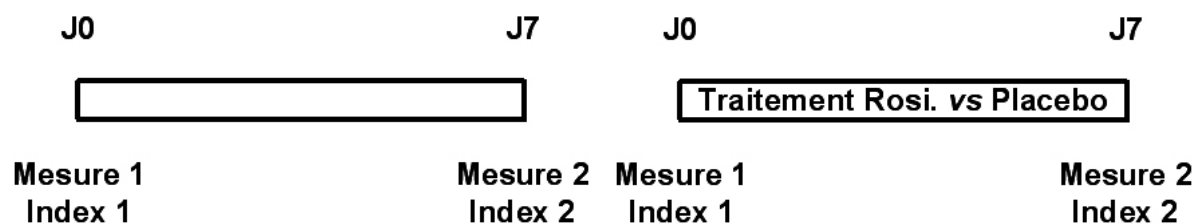


Figure 46. Protocoles de l'étude de reproductibilité (à gauche) et de sensibilité (à droite).

Les rats sont mis à jeun 10h environ avant chaque expérience. Lors des deux expériences J0 et J7, les rats sont anesthésiés par une injection intrapéritonéale de Pentobarbital Sodique (54,7 mg/ml) à raison de 100 µl/100 g, soit 54,7 mg/kg. Afin de pouvoir effectuer des prélèvements sanguins et les injections, deux cathéters sont placés : l'un dans la veine jugulaire droite pour les injections, l'autre dans l'artère carotidienne gauche pour les prélèvements. Les cathéters sont ensuite "tunnelisés" sous la peau, pour ressortir entre les omoplates, et fixés sur le dos de l'animal (figure 47). Les animaux sont suturés et placés sous la caméra.

Pour la deuxième expérience, les premiers cathéters sont inutilisables car ils se bouchent. De nouveaux cathéters sont placés, dans la veine et l'artère fémorale (figure 48). Les cathéters sont remplis de sérum physiologique hépariné (Heparine Choay, Sanofi Aventis, 5%, soit 25000 UI dans 100 ml).



Figure 47. Pose des cathéters dans l'artère carotide et la veine jugulaire (à gauche) et "tunnélisation" (à droite).

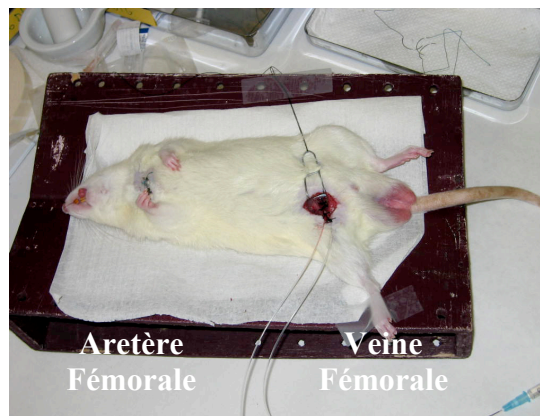


Figure 48. Pose des cathéters dans l'artère et la veine fémorale.

Durant toute la durée de l'expérience, la température du rat est contrôlée et stabilisée à l'aide d'une couverture chauffante réglée par un système de sonde rectale, mesurant la température interne du rat en continu (Homeothermic blanket control unit, Harvard Apparatus, UK).

Protocole d'acquisition de la radioactivité

Un collimateur "basse énergie" est utilisé, il est positionné au plus près de la cage thoracique du rat. Un premier bolus de 6DIG (9,25 MBq) est injecté, la radioactivité cardiaque est mesurée pendant 20 minutes. Un bolus d'insuline est ensuite injecté (2,5 UI/kg). Après 5 minutes d'action de l'insuline, un nouveau bolus de traceur est injecté (9,25 MBq) et la radioactivité est de nouveau mesurée pendant 20 minutes (figure 49). Des prélèvements sanguins de 10 μ l (n=2) sont effectués à 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 11, 13, 15 et 20 minutes post-injection (p.i.) lors de chaque acquisition afin d'obtenir la cinétique sanguine du traceur.

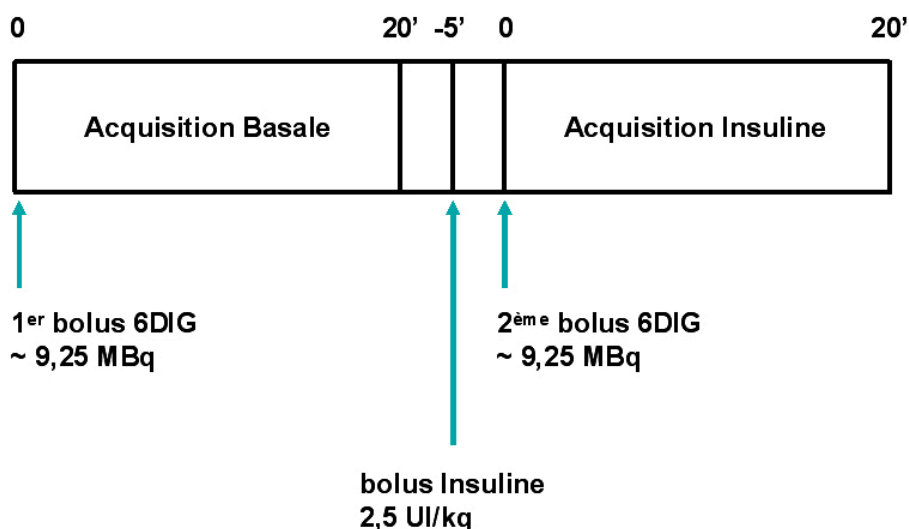


Figure 49. Protocole de mesure du transport du 6DIG dans le cœur en condition basale et en présence d'insuline.

Ce protocole d'acquisition est le même lors des deux expériences (J0 et J7). A J7, en fin d'expérience, le rat est sacrifié par une injection létale de 1 ml de Pentobarbital par voie i.v., le cœur est prélevé, pesé et la radioactivité tissulaire est comptée.

c. Analyse des résultats et modélisation mathématique

Analyses des cinétiques cardiaques et sanguines du 6DIG

Sur la figure 50 (à gauche), est représenté un exemple d'image obtenue à l'aide de la γ -caméra. Le placement manuel de la région d'intérêt sur l'image brute est délicat, car la zone d'activité correspondante à la région cardiaque est diffuse. Ce placement nécessite une analyse de l'image pour des temps courts d'acquisition, représentée sur la figure 50, à droite. La cinétique du traceur dans région d'intérêt est obtenue grâce au logiciel γ -vision plus. La figure 51 représente un exemple de cinétique cardiaque du 6DIG. Pour des raisons de normalisation du traitement, la taille de la région d'intérêt a été fixée à 40,74 mm². Cette taille correspond à une valeur moyenne de régions d'intérêt. La cinétique sanguine du traceur est obtenue directement après comptage des prélèvements sanguins.

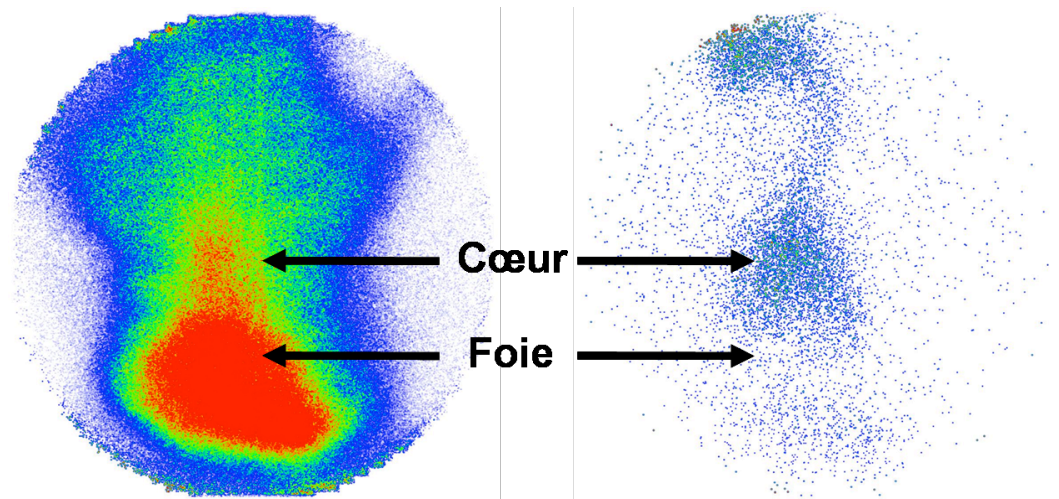


Figure 50. Exemple de scintigraphie obtenue chez le rat, 20 minutes après injection d'un bolus de 6DIG (à gauche). Une image aux temps courts d'acquisition (ici 30 secondes) est nécessaire au traitement des données (à droite).

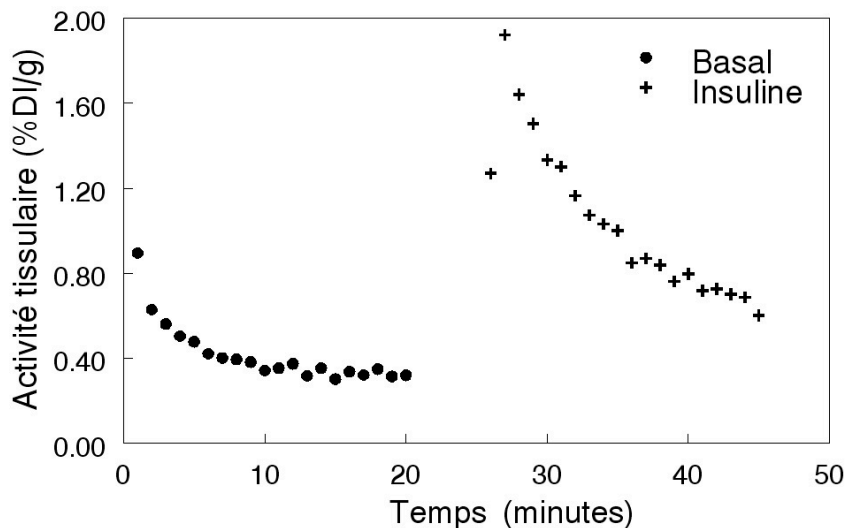


Figure 51. Exemple de cinétiques cardiaques obtenues avec le 6DIG.

Lors de l'acquisition de la radioactivité en condition sous insuline, les données doivent être corrigées de l'activité résiduelle de la première injection (basale). Les cinétiques cardiaque et sanguine répondent à une fonction "double-exponentielle". Grâce au module "numérique" du logiciel SAAM II (Simulation, Analysis And Modeling institute, Seattle, WA, 1997), les courbes en condition basale sont extrapolées jusqu'à 45 minutes. Ainsi, les données extrapolées sont retranchées aux données obtenues sous insuline. Les données sanguine et cardiaque pour les deux conditions sont ensuite transposées dans le modèle mathématique développé pour le 6DIG.

Modèle mathématique du transport du 6DIG

L'étude du transport du glucose, avec un traceur, requiert l'utilisation d'une modélisation mathématique compartimentale. Un modèle mathématique de transport du 6DIG (figure 52) a été développé par le Dr. Lotfi Slimani au cours de sa thèse d'université, en collaboration avec le Pr. J. Demongeot (UMR CNRS 5525, Grenoble) (Slimani, 2003). Ce modèle, développé à l'aide du module "compartimental" du logiciel SAAM II, permet de quantifier le transport du traceur à partir des données biologiques, obtenues après l'injection du 6DIG *in vivo* chez le rat. Ce modèle comprend trois compartiments : le cœur, le sang et les tissus périphériques.

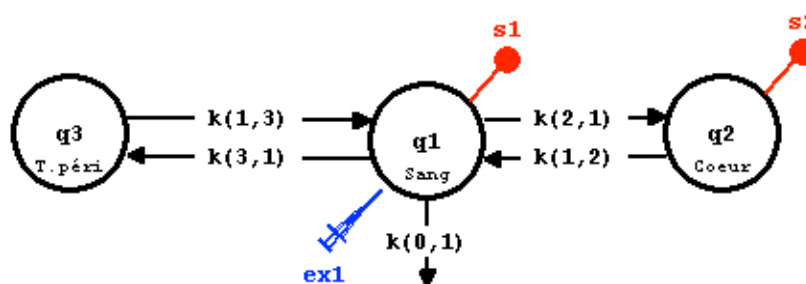


Figure 52. Modèle mathématique à trois compartiments développé pour l'étude du transport du 6DIG dans le coeur, chez le rat *in vivo*, par détection externe de la radioactivité.

Ce modèle comporte une fonction d'entrée au niveau du compartiment sanguin (ex1) et deux fonctions d'observation, l'une au niveau du compartiment sanguin (s1) et la seconde au niveau du compartiment cardiaque (s2). Les constantes k représentent les coefficients de transfert entre deux compartiments, $s1=q1/V$, avec V représentant le volume de sang total et $s2=q2/M$, avec M représentant la masse du coeur ; les échanges entre compartiments sont supposés linéaires. Les coefficients de transfert $k(2,1)$ et $k(1,2)$ représentent respectivement le flux de 6DIG du sang vers le cœur et du cœur vers le sang. Les coefficients de transfert $k(3,1)$ et $k(1,3)$ représentent respectivement le flux de 6DIG du sang vers les organes périphériques et de ces organes vers le sang. Le coefficient de transfert $k(0,1)$ représente la fuite irréversible du traceur, principalement urinaire.

Le transport du glucose à travers la membrane d'un compartiment j à un compartiment i est représenté par les coefficients de transfert k_{ij} . Ces coefficients sont décrits par l'équation :

$$k_{ij} = V_{mi} / (K_{mi} + q_i) \quad \text{et} \quad k_{ji} = V_{mj} / (K_{mj} + q_j)$$

où q_i et q_j sont les quantités de traceur dans les compartiments i et j , K_{mi} et K_{mj} sont les constantes de Michaëlis et V_{mi} et V_{mj} les vitesses maximales.

Comme $q_i \ll K_{mi}$ et $q_j \ll K_{mj}$, l'analogie du glucose étant injecté à l'état de trace, on peut effectuer une approximation linéaire du modèle. Dans ce cas, les coefficients de transfert sont

donnés par : $k_{ij} = V_m / K_m$. Les équations décrivant les échanges entre les compartiments sont donc :

$$\frac{dq_1(t)}{dt} = -\left(\sum_{i=2}^3 k_{i1} + k_{01}\right) q_1(t) + \sum_{j=2}^3 k_{1j} q_j(t) + u_1(t)$$

$$\frac{dq_j(t)}{dt} = k_{j1} q_1(t) - k_{1j} q_j(t) \quad j = 2, 3$$

où k_{ij} est le paramètre représentant le coefficient de transfert du traceur du compartiment j au compartiment i ($j \neq i$), q est la quantité de traceur dans le compartiment considéré et $u(t)$ la fonction d'entrée.

Les paramètres sont estimés en supposant que les mesures de radioactivité sont décrites par :

$$z(t_i) = y(t_i) + e(t_i) \quad i = 1, \dots, N$$

où e représente l'erreur de mesure et N le nombre de temps de mesure. L'erreur de mesure est supposée additive, de répartition Gaussienne et de moyenne nulle.

La précision de l'estimation des paramètres fournis par le modèle est évaluée par l'étude des résidus. Ils sont calculés à différents temps comme les différences entre les valeurs expérimentales et les valeurs calculées :

$$res_{ij} = [s(\hat{p}, t_{ij}) - y_{i,j}]$$

où $s(\hat{p}, t_{ij})$ est la valeur prédite par le modèle, $y_{i,j}$ est la valeur mesurée et \hat{p} est le paramètre estimé inconnu. Pour un ajustement acceptable des données, la représentation graphique des résidus doit être aléatoire dans une bande symétrique par rapport à 0, entre -2 et +2 (figure 53).

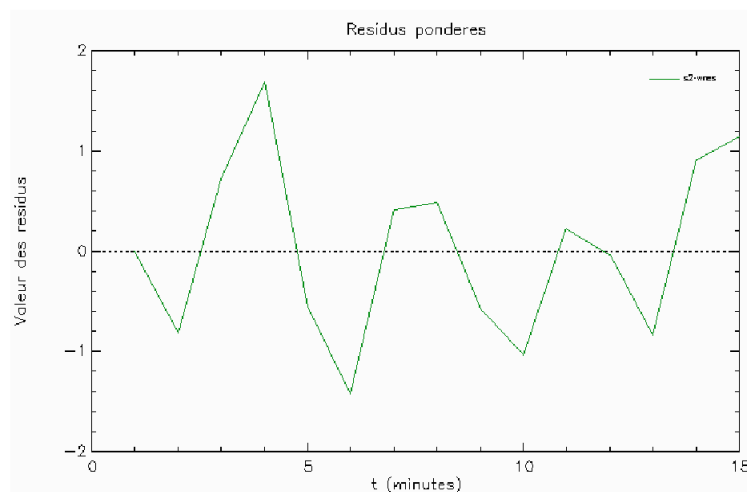


Figure 53. Exemple de la distribution aléatoire des résidus.

A l'aide des coefficients de transfert d'entrée du traceur dans le cœur, $k(2,1)$, un index d'insulino-résistance cardiaque est calculé à J0 (1^{ère} expérience) et à J7 (2^{ème} expérience). Il correspond au rapport du coefficient d'entrée du traceur dans le compartiment cardiaque mesuré en présence d'insuline sur ce même coefficient mesuré en condition basal.

$$R = \frac{k(2,1)^{insuline}}{k(2,1)^{basal}}$$

Plus l'index est élevé, plus le sujet est sensible à l'insuline. Les coefficients de transfert sont obtenus grâce au module "compartimental" du logiciel SAAM II qui gère le modèle. Le modèle développé grâce au logiciel permet d'obtenir pour chaque coefficient de transfert une estimation moyenne du paramètre, associée à un écart-type, un coefficient de variation (CV) et un intervalle de confiance. Les paramètres estimés, et plus particulièrement le paramètre d'intérêt $k(2,1)$, sont retenus lorsque les 5 coefficients de transfert du modèle présentent des CV les plus faibles possibles et surtout inférieurs à 100%.

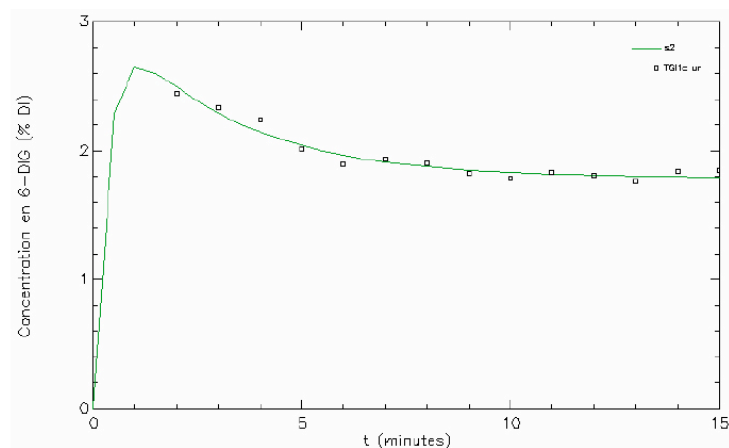


Figure 54. Cinétique du 6DIG dans le muscle cardiaque (s2) obtenue après ajustement du modèle aux données.

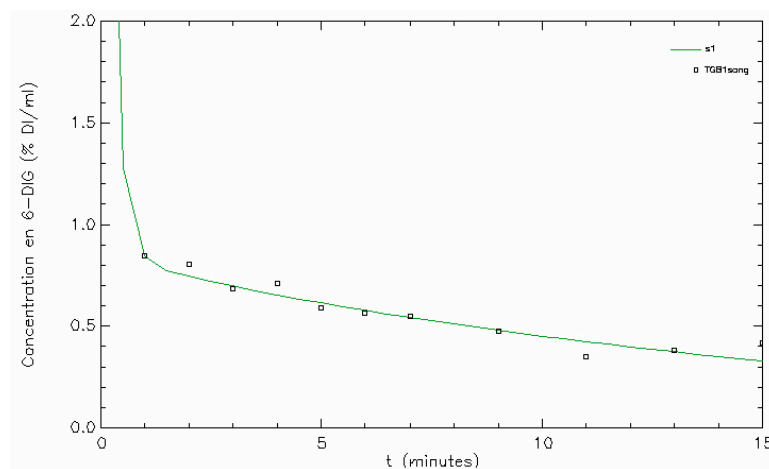


Figure 55. Cinétique du 6DIG dans le sang (s1) obtenue après ajustement du modèle aux données.

d. Expression des résultats et tests statistiques.

Les données sont présentées sous la forme moyenne \pm SEM. Les valeurs sont comparées statistiquement par un test de Wilcoxon pour les valeurs appariées (intra-groupe) et par un test de Mann et Whitney pour les valeurs non appariées (inter-groupes). La limite de significativité est fixée à 5% ($p < 0,05$). La comparaison des résultats d'étude de reproductibilité inter- et intra-observateur est jugée par un test de Kappa.

3. Résultats

a. Etude de reproductibilité de l'index cardiaque

Le poids des rats Wistar mâles ($n=8$) est de 304 ± 15 g à J0. En moyenne, ce poids n'a pas varié à J7 (295 ± 15 g ; NS vs. J0). La glycémie à jeun des rats (t0 basal) ne diffère pas entre J0 et J7 (tableau 6).

	t0 basal	t20 basal	t0 insuline	t20 insuline
Gly. à J0 (mM)	$4,04 \pm 0,21$	$4,17 \pm 0,14$	$2,84 \pm 0,11$ ***	$2,39 \pm 0,07$ ***
Gly. à J7 (mM)	$4,10 \pm 0,08$	$4,19 \pm 0,17$	$2,85 \pm 0,12$ ***	$2,39 \pm 0,05$ ***

Tableau 6. Glycémie des rats Wistar au cours des deux expériences (condition "basale" : t0 et t20 ; condition "insuline" : t0 et t20) ($n=8$), *** $p < 0,001$ vs. t20 basal.

L'effet de l'insuline injectée 5 minutes avant le deuxième bolus de 6DIG, est évalué par la diminution de la glycémie entre le temps t20 basal et le temps t0 insuline. La diminution moyenne de la glycémie mesurée au temps t0 insuline est de 31,8% à J0 et de 32,1% à J7.

Les résultats des index obtenus avec le modèle sont représentés dans le tableau 7.

RAT	Index J0	Index J7
Wistar 1	4,74	2,75
Wistar 2	1,02	1,59
Wistar 3	1,15	1,45
Wistar 4	3,52	2,63
Wistar 5	3,74	1,68
Wistar 6	4,05	2,84
Wistar 7	0,62	1,59
Wistar 8	1,68	1,85
Moyenne	2,56	2,05
SEM	0,57	0,21

Tableau 7. Index d'insulino-résistance cardiaque obtenus lors de l'étude de reproductibilité.

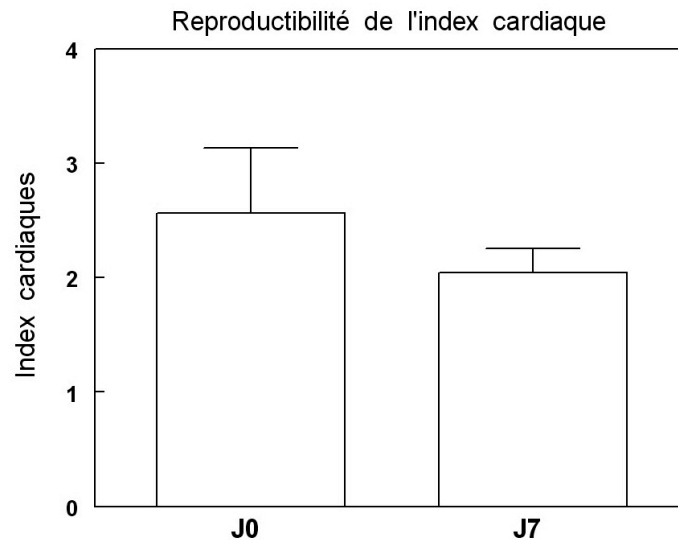


Figure 56. Valeur de l'index d'IR cardiaque mesuré à J0 et à J7 chez des rats Wistar.

En moyenne, les index obtenus lors des deux expériences ne montrent pas de différence significative ($2,56 \pm 0,57$ à J0 vs. $2,05 \pm 0,21$ à J7, $p=0,327$) (figure 56).

b. Etude de sensibilité

Le poids des rats Zucker mâles insulino-résistants ($n=12$) est de $355 \pm 5g$ à J0. Après la première mesure (J0), les rats sont séparés de façon aléatoire en deux groupes de traitement. En considérant le poids des rats par groupe, le poids des rats "placebo" ne varie pas entre J0 et J7 ($357 \pm 10g$ à J0 et $367 \pm 7g$ à J7), celui des rats "rosiglitazone" ne varie pas non plus ($352 \pm 6g$ à J0 et $353 \pm 6g$ à J7).

La glycémie est suivie tout au long de l'expérience (tableau 8). Lors de la première expérience, la glycémie des rats Zucker diminue en moyenne de 15,6% après le bolus d'insuline. Après traitement, la glycémie du groupe "placebo" diminue en moyenne de 14,3%, alors que celle du groupe "rosiglitazone" diminue de 28,5%.

De la même façon que pour l'étude de reproductibilité, les coefficients de transfert fractionnels sont obtenus à partir des cinétiques cardiaques et sanguines du 6DIG. Les index d'insulino-résistance R sont calculés à partir des coefficient $k(2,1)$ d'entrée du traceur dans le cœur. Les résultats des groupes "placebo" et "rosiglitazone" sont représentés dans les tableaux 9 et 10 respectivement.

Travail Expérimental - 1^{ère} Partie : Insulino-résistance cardiaque

"Placebo"	t0 basal	t20 basal	t0 insuline	t20 insuline
Gly. à J0 (mM)	4,21 ± 0,42	4,85 ± 0,82	4,27 ± 0,84 *	4,05 ± 1,09 *
Gly. à J7 (mM)	4,53 ± 0,11	4,51 ± 0,21	3,86 ± 0,22 *	3,00 ± 0,39 *
"Rosi."	t0 basal	t20 basal	t0 insuline	t20 insuline
Gly. à J0 (mM)	4,54 ± 0,20	4,59 ± 0,27	3,76 ± 0,20 *	3,30 ± 0,19 *
Gly. à J7 (mM)	4,32 ± 0,12	4,35 ± 0,18	3,09 ± 0,15 *	2,05 ± 0,15 ***

Tableau 8. Glycémie des rats Zucker du groupe "placebo" et "rosiglitazone" au cours des deux expériences (condition "basale": t0 et t20 ; condition "insuline": t0 et t20) (n=6 pour chaque groupe), *p<0,05 et ***p<0,001 vs. t20 basal.

RAT	Index J0	Index J7
Placebo 1	1,07	0,65
Placebo 2	1,53	1,15
Placebo 3	0,91	1,39
Placebo 4	1,18	0,51
Placebo 5	0,77	0,43
Placebo 6	0,49	0,65
Moyenne	0,99	0,80
SEM	0,15	0,16

Tableau 9. Index d'insulino-résistance cardiaque entre J0 et J7 dans le groupe de rats "placebo".

RAT	Index J0	Index J7
Rosi 1	1,68	1,59
Rosi 2	0,55	1,90
Rosi 3	1,06	1,46
Rosi 4	0,48	4,15
Rosi 5	1,08	1,53
Rosi 6	0,91	2,94
Moyenne	0,96	2,26 *
SEM	0,18	0,44

Tableau 10. Index d'insulino-résistance cardiaque entre J0 et J7 dans le groupe de rats "rosiglitazone". * p<0,05 vs. J0.

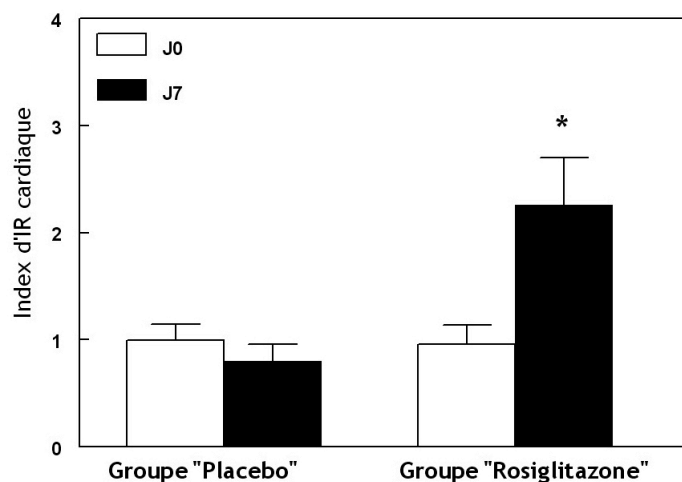


Figure 57. Valeur de l'index d'IR cardiaque mesurées à J0 et à J7 chez des rats Zucker, traités ou non à la rosiglitazone. * $p < 0,05$ vs. J0.

En moyenne, les index d'insulino-résistance cardiaque ne sont pas différents entre les groupes à J0 : $0,99 \pm 0,15$ pour le groupe "placebo" et $0,96 \pm 0,18$ pour le groupe "rosiglitazone" ($p=0,82$). Ils ne varient pas significativement entre J0 et J7 pour le groupe de rats traités avec un placebo, de $0,99 \pm 0,18$ à J0 vs. $0,80 \pm 0,16$ à J7 ($p=0,35$). En revanche, les index calculés pour le groupe de rats "rosiglitazone" sont statistiquement plus élevés après traitement ($2,26 \pm 0,44$ à J7 vs. $0,96 \pm 0,18$ à J0, $p < 0,05$) (tableaux 9-10 et figure 57).

Comparaison Zucker-Wistar : A J0, les index calculés pour les rats Zucker sont significativement plus faibles que les index calculés chez les rats Wistar lors de l'étude de reproductibilité : $0,98 \pm 0,11$ pour les rats Zucker ($n=12$) vs. $2,56 \pm 0,57$ pour les rats Wistar ($n=8$) ($p < 0,05$).

c. Etude de la reproductibilité inter et intra-observateur

L'analyse des images scintigraphiques ainsi que le traitement des données par le logiciel SAAM, a fait l'objet d'une étude de reproductibilité intra- et inter-observateur. Pour cela, les données de la première expérience (J0) des études de sensibilité et de reproductibilité ont été traitées par la même personne deux fois (Observateur1, reproductibilité intra-observateur), et également par une seconde personne (Observateur2, reproductibilité inter-observateur) (tableau 11).

	Observateur1	Observateur1 2 ^{ème} traitement	Observateur2
Moyenne Wistar	2,17	1,67	2,56
SEM	0,50	0,20	0,57
Moyenne Zucker	1,01	1,06	1,05
SEM	0,10	0,04	0,14

Tableau 11. Reproductibilité inter et intra-observateur (Wistar : n=8 ; Zucker : n=12). Les index d'IR sont calculés soit deux fois par le même observateur (Observateur1 et Observateur1- 2^{ème} traitement), soit calculés par un second observateur (Observateur 2).

Un même traitement des données, de l'image scintigraphique brute jusqu'au calcul de l'index, ne permet pas de calculer des valeurs numériques strictement identiques. L'étude de A. Briat et L. Slimani (Briat, 2007) montre que pour un groupe de rats insulino-résistants, les index les plus élevés étaient en moyenne de $1,34 \pm 0,06$. Cette étude a permis de fixer "un seuil limite d'IR" pour des index inférieurs à 1,35. Le nombre de rats classés dans chaque catégorie pour les trois séries est représenté dans la figure 59.

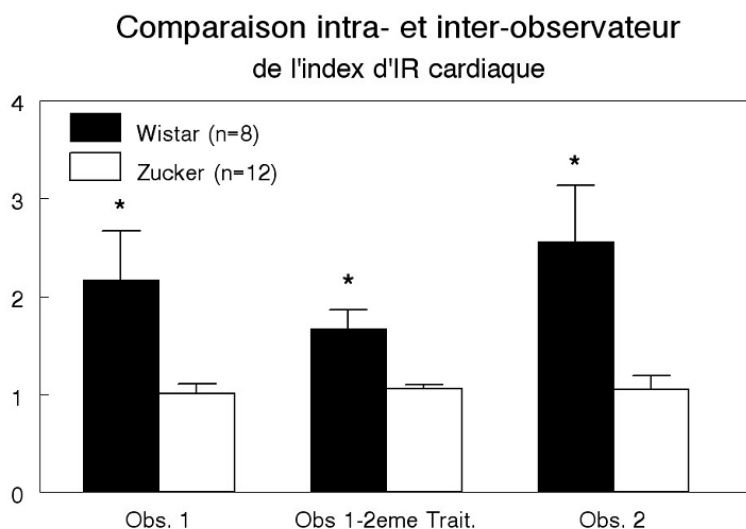


Figure 58. Comparaison des index obtenus lors des trois séries de mesures. * : $p < 0,05$ vs. Zucker.

Les index obtenus pour les rats Wistar sont, quelque soit l'observateur, significativement plus élevés que pour les rats Zucker (figure 58).

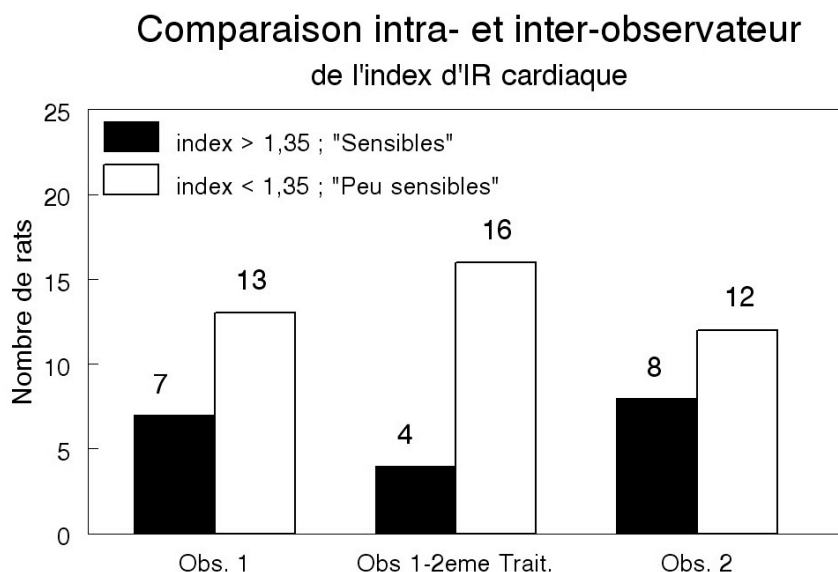


Figure 59. Classement qualitatif des index lors des trois séries de mesures (n=20 rats, 8 Wistar et 12 Zucker).

Le coefficient Kappa permet d'estimer l'accord entre des jugements catégoriels fournis par deux ou plusieurs techniques ou observateurs en l'absence de référence et plus généralement, d'étudier la reproductibilité pour des variables aléatoires non continues. Plus ce coefficient est proche de 1, plus les séries sont en accord.

Coeff. Kappa	Accord
<0,2	très faible
0,21-0,40	faible
0,41-0,60	moyen
0,61-0,80	bon
0,81-1,00	très bon

Les coefficients de Kappa calculés pour les différentes séries de mesures :

- Observateur 1 - Observateur 2 : coefficient de Kappa = 0,47 (intervalle de confiance à 95% [0,0643 ; 0,872])

- Observateur 1 - Observateur 1-2^{ème} trait. : coefficient de Kappa = 0,63 (intervalle de confiance à 95% [0,252 ; 1,016])

- Observateur 2 - Observateur 1-2^{ème} trait. : coefficient de Kappa = 0,55 (intervalle de confiance à 95% [0,147 ; 0,944])

II. Détermination et validation d'un descripteur empirique d'insulino-résistance cardiaque

Pour le transfert de la méthode de mesure de l'IR cardiaque avec le 6DIG chez l'homme, le protocole doit s'affranchir des prélèvements sanguins. C'est pourquoi, un descripteur empirique (DE), basé sur la simple analyse des courbes de cinétique cardiaque, a été développé.

1. Détermination du descripteur empirique.

L'analyse des courbes de cinétiques cardiaques du 6DIG, enregistrées lors des études de reproductibilité et sensibilité de l'index cardiaque, ont permis d'élaborer et de valider un descripteur empirique. Parmi les différents descripteurs empiriques (DE) testés (voir Annexe I), celui qui a été retenu est celui qui présente la plus forte corrélation avec l'index R. Ce DE est calculé par la formule (figure 60) :

$$DE = \frac{[A0 - A1]^{insuline}}{[A0 - A1]^{basal}}$$

A0 représente l'ordonnée à l'origine de la fonction mono-exponentielle d'équation $y_a(t) = A0 \cdot \exp(-a1 \cdot t)$, calculée entre le pic d'activité tissulaire et $t=10$ minutes. A1 représente l'ordonnée à l'origine de la fonction linéaire d'équation $y_a(t) = a1 \cdot t + A1$, calculée entre 10 et 15 minutes.

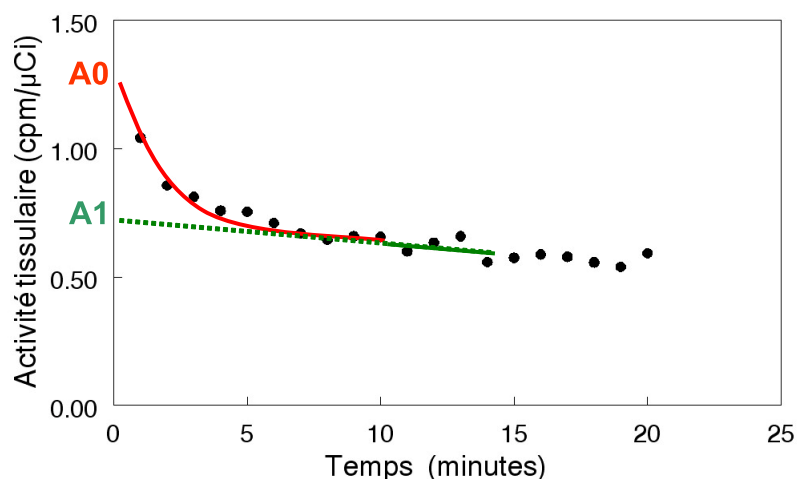


Figure 60. Calcul du descripteur empirique à partir de la cinétique cardiaque par analyse graphique.

Les valeurs de A0 et de A1 sont calculées en condition basale et sous insuline.

2. Validation du DE cardiaque.

Les cinétiques cardiaques sont exprimées en coups par minute, rapportés à la dose injectée et du poids du coeur. De la même façon que lors du calcul de l'index, les valeurs obtenues sous insuline sont corrigées de l'activité résiduelle basale. Les résultats sont présentés dans le tableau 12.

	DE J0	DE J7
Moyenne Wistar	2,04 ‡	2,56 †
SEM	0,42	0,36
Moyenne "Placebo"	1,52	0,82
SEM	0,73	0,22
Moyenne "Rosi"	0,75	3,51 * †
SEM	0,32	0,96

Tableau 12. Valeurs des descripteurs empiriques cardiaques mesurés chez les mêmes rats lors d'une étude de reproductibilité et d'une étude de sensibilité (* vs. J0; † vs. Placebo; ‡ vs. tous les rats Zucker à J0).

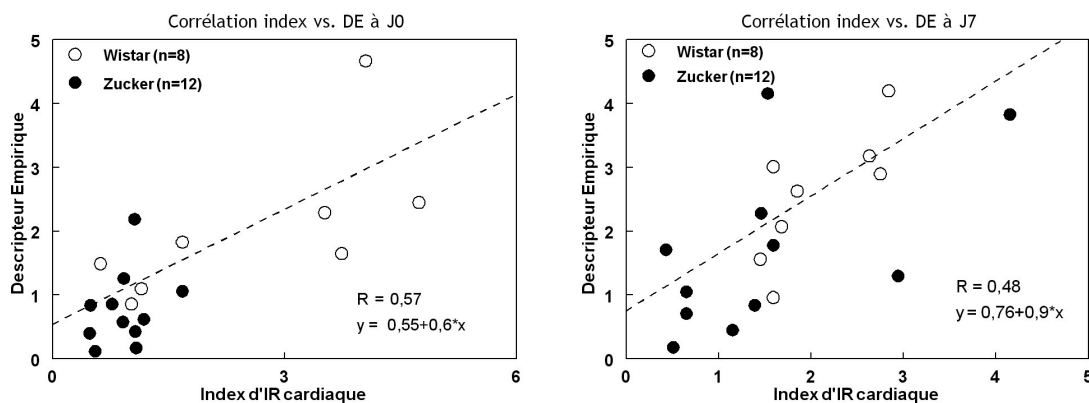


Figure 61. Corrélation entre l'index obtenu avec le modèle mathématique et le DE calculés à J0 (à gauche) et à J7 (à droite).

La corrélation à J0 entre les index et les DE est établie avec un coefficient de Pearson $r=0,57$ ($p=0,01$) (figure 61). Cette même corrélation à J7 est établie avec un coefficient de Pearson de $r=0,48$ ($p=0,03$).

Les DE cardiaques obtenus à J0 chez les rats Wistar ne sont pas statistiquement différents de ceux calculés à J7 ($2,04 \pm 0,42$ à J0 vs. $2,56 \pm 0,36$ à J7 ; $p=0,07$). A J0, ils sont significativement plus élevés que chez les rats Zucker ($2,04 \pm 0,42$ pour les rats Wistar vs. $1,14 \pm 0,40$ pour l'ensemble des rats Zucker ; $p=0,02$).

Comme les index R, les valeurs de DE cardiaques augmentent chez les rats traités à la rosiglitazone ($0,75 \pm 0,32$ à J0 vs. $3,51 \pm 0,96$ à J7 ; $p=0,03$). Aucune augmentation de la valeur des DE n'est observée dans le groupe de rats "placebo" ($1,52 \pm 0,73$ à J0 vs. $0,82 \pm 0,22$ à J7 ; $p=0,6$) (figure 62).

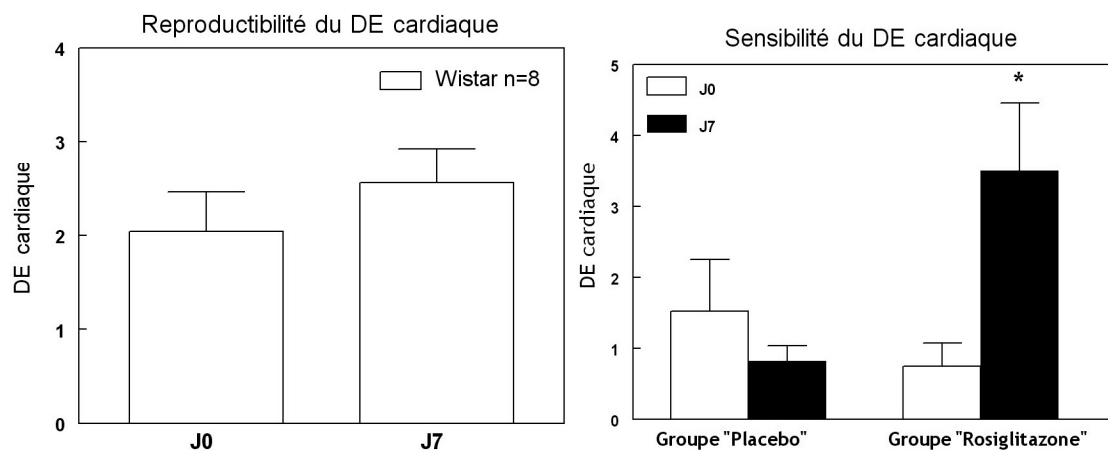


Figure 62. Reproductibilité (à gauche) et sensibilité (à droite) du DE cardiaque (* $p < 0,05$ vs. J0).

III. Comparaison à la méthode de référence et aux index d'IR proposées dans la littérature (HOMA et QUICKI).

L'objectif de ce travail est de comparer chez un même rat, les valeurs d'index R et de DE cardiaques obtenus avec le 6DIG avec les valeurs de GIR du clamp euglycémique hyperinsulinémique, méthode de référence de mesure de la sensibilité globale à l'insuline, et les valeurs de HOMA et de QUICKI, obtenus à partir des mesures de glycémie et d'insulinémie à jeun.

1. Matériels et méthodes.

a. Matériels

Onze rats Wistar mâles d'environ 300g ont été utilisés, ils sont fournis par Charles River (Saint Germain sur l'Arbresle, France). Les animaux sont gardés en animalerie standard (cycle jour/nuit de 12h/12h, température 20°C, un rat par cage) et suivent un régime alimentaire standard SAFE (Lyon, France).

Le glucose et l'insuline sont injectés à l'aide de deux pousse-seringues distincts ("Harvard Pump 11 Plus", Harvard Apparatus). Le glucose 50% est préparé à partir de glucose anhydre (Sigma) solubilisé dans du sérum physiologique. La solution d'insuline perfusée, à une

concentration de 1 UI/ml, est préparée à partir d'une solution commerciale (Actrapid, 100 UI/ml, Novo Nordisk, France). Les perfusions de glucose et d'insuline s'effectuent grâce à un connecteur, qui permet de relier les seringues de glucose et d'insuline à la voie veineuse.

b. Méthodes

Ce protocole nécessite deux expériences distinctes (figure 63).

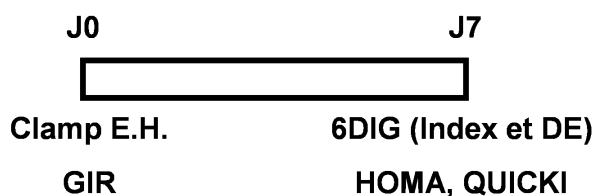


Figure 63. Protocole de l'étude de comparaison de l'index R d'insulino-résistance et du DE cardiaque obtenus avec le 6DIG et le GIR obtenu avec la technique du clamp euglycémique hyperinsulinémique.

Le protocole de préparation des animaux est le même que celui de l'étude précédente (p118), il nécessite la pose de cathéters dans la veine jugulaire et l'artère carotide à J0, et la pose de deux nouveaux cathéters dans la veine et l'artère fémorale à J7.

Le HOMA est calculé selon la formule : $(\text{Insulinémie (mU/l)} \times \text{Glycémie (mmol/l)}) / 22,5$.

Le QUICKI est calculé selon la formule : $1 / (\log \text{ Insulinémie } (\mu\text{U/ml}) + \log \text{ Glycémie (mg/dl)})$. La glycémie et l'insulinémie sont mesurées à jeun sur du plasma obtenu après un prélèvement sanguin effectué en début d'expérience.

J0 : Protocole du clamp euglycémique hyperinsulinémique.

A J0, les rats, à jeun d'environ 10h, subissent un clamp euglycémique hyperinsulinémique. Après la pose des cathéters, les rats sont maintenus anesthésiés, par des injections intrapéritonéales répétées de Pentobarbital Sodique. La glycémie "basale" des rats est estimée pendant les 20 premières minutes post-chirurgie. Une fois la glycémie stabilisée, une "primed infusion" d'insuline est effectuée pendant 5 minutes (débits de pompe variables : 3,9 ml/h pendant 2 minutes, 2,9 ml/h pendant 2 minutes et 1,9 ml/h pendant 1 minute), après laquelle le débit d'insuline est réglé à 0,9 ml/h pour toute la durée du clamp de manière à perfuser 15 mUI/kg/min d'insuline. La glycémie est mesurée toutes les 5 minutes et le débit de glucose est ajusté en conséquence. Lorsque la glycémie "basale" est atteinte, le débit de glucose est conservé et le perfusé est récupéré dans une fiole (q.s.p 50ml d'eau distillée) pendant 10 minutes. La concentration en glucose perfusé est alors déterminée par l'analyseur de glucose YSI afin d'obtenir le GIR qui est exprimé en mg de glucose perfusé par minute par kg de rat.

Les animaux sont ensuite reconduits à l'animalerie.

J7 : Protocole de mesure de l'IR avec le 6DIG.

Le protocole est identique à celui utilisé pour la validation de l'index d'IR cardiaque. Les deux injections de traceur sont suivies d'une période d'acquisition de la radioactivité de 20 minutes, elles sont séparées par l'injection d'un bolus d'insuline. La cinétique sanguine est suivie parallèlement par prélèvements.

Avant le début de l'imagerie, environ 100 µl de plasma sont prélevés et immédiatement congelés pour le dosage de la glycémie et de l'insulinémie. Ces dosages n'ont pas été effectués à J0 car le suivi de la glycémie lors du clamp EH nécessite de nombreux prélèvements sanguins.

2. Résultats.

Le poids des rats Wistar à J0 était de 305 ± 3g. Leur poids n'a pas statistiquement changé à J7 (309 ± 2g ; NS vs. J0).

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 13.

	Index	GIR	HOMA	QUICKI	DE card.
Moyenne	1.68	18.10	9,72	0,279	2,45
SEM	0,14	0,64	0,64	0,002	0,49

Tableau 13. Résultats de l'étude de comparaison entre la mesure de l'index R et du DE d'insulino-résistance cardiaque avec le 6DIG, la mesure du GIR obtenu grâce au clamp euglycémique hyperinsulinémique et les valeurs de HOMA et de QUICKI (rats Wistar n=11).

Les valeurs de HOMA et de QUICKI sont très bien corrélées puisqu'elles sont calculées à partir des mêmes valeurs de glycémies et d'insulinémies.

Les valeurs d'index R et de DE cardiaques calculés, proches de 2, sont en accord avec celles trouvées dans les études précédentes.

Les corrélations effectuées entre les différents paramètres calculés sont présentées dans le tableau 14.

L'index d'insulino-résistance cardiaque est bien corrélé au GIR ($r=0,68$; $p=0,02$) (figure 66), mais n'est pas statistiquement corrélé aux indices HOMA et QUICKI.

Le GIR n'est pas corrélé aux indices HOMA ($r=0,33$; $p=0,32$) et QUICKI ($r=0,39$; $p=0,24$).

Le DE cardiaque est bien corrélé aux valeurs d'index ($r=0,74$; $p=0,01$) (figure 66).

Travail Expérimental - 1^{ère} Partie : Insulino-résistance cardiaque

Indices comparés	Coefficient de Pearson (r)	Test de régression (p=)
Index cardiaque vs. GIR	0,68	0,02
Index cardiaque vs. HOMA	0,45	0,17
Index cardiaque vs. QUICKI	0,47	0,14
GIR vs. HOMA	0,33	0,32
GIR vs. QUICKI	0,39	0,24
HOMA vs. QUICKI	0,99	<0,001
DE vs. Index cardiaque	0,74	0,01
DE vs. GIR	0,51	0,10
DE vs. HOMA	0,07	0,83
DE vs. QUICKI	0,12	0,73

Tableau 14. Comparaison des différents indices d'insulino-résistance mesurés.

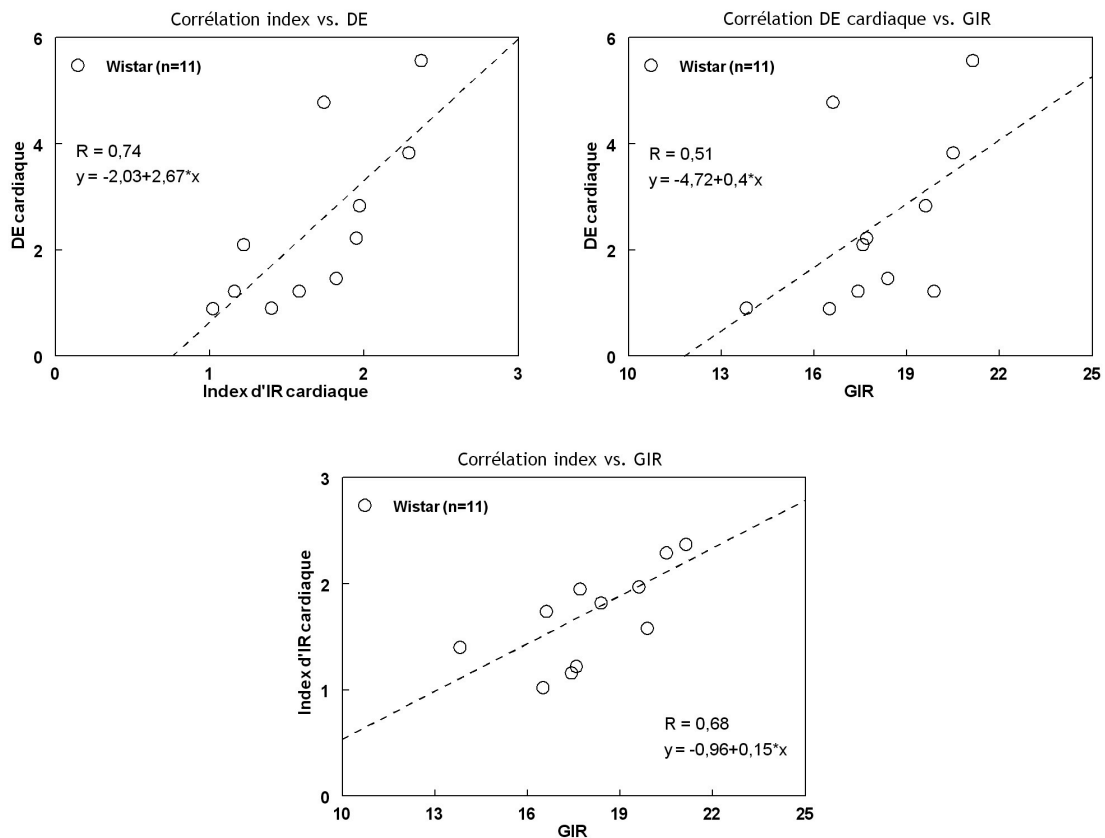


Figure 64. Corrélation entre le DE et l'index (en haut à gauche), entre le DE et le GIR (en haut à droite) et entre l'index et le GIR (en bas).

IV. Discussion

L'objectif de mon travail, dans cette première partie, a été de valider la méthode de mesure de l'IR cardiaque avec le 6DIG chez le rat, en démontrant sa reproductibilité et sa sensibilité.

Le protocole de reproductibilité de la méthode a été effectué sur des rats sains Wistar. Une période de sept jours sépare les deux mesures. La durée de cette période a été fixée lors de tests préliminaires (Vollaire, 2005), et est suffisante pour que : l'animal récupère de la première mesure (poids, cicatrisation), et pour que la radioactivité restante dans l'animal après la première mesure soit éliminée. Les résultats montrent que, lors de cette étude de reproductibilité, le poids des animaux ne varie pas d'une mesure à l'autre, indiquant une bonne récupération après la première expérience.

Dans le groupe de rats Wistar, la diminution de la glycémie après l'injection du bolus d'insuline, environ de 30% après 5 minutes, est reproductible. Les index d'IR cardiaque sont proches de 2, comme observés lors des études antérieures (Briat, 2007) et la moyenne de ces index est la même à J0 et à J7.

Le protocole de sensibilité a été effectué sur des rats Zucker insulino-résistants, âgés d'environ 10 semaines. Dans le groupe de rats Zucker, la diminution de la glycémie après le bolus d'insuline à J0, environ 15% après 5 minutes, est la même dans les deux groupes "rosiglitazone" et "placebo". Cette variation moins importante que chez les rats Wistar témoigne d'un défaut métabolique majeur chez ces animaux. Le poids des animaux ne varie pas entre les deux mesures, ce qui signifie que la semaine de traitement par gavage n'a pas eu d'influence sur leur alimentation. La dose de 3 mg/kg/jour a été déterminée à partir de données de la littérature (Jiang, 2002). Cette période de traitement ainsi que la dose ont été, au préalable, validées par une étude par HGPO, test de tolérance au glucose ou hyperglycémie provoquée par un gavage oral. Après 7 jours de traitement, la diminution de la glycémie, 20 minutes après l'injection du bolus d'insuline pendant le protocole 6DIG, est significativement plus forte dans le groupe de rats traités à la rosiglitazone. La rosiglitazone agit principalement sur le tissu adipeux (Takasawa, 2008), mais en induisant une redistribution des lipides dans l'organisme, elle contribue à la re-sensibilisation des tissus à l'insuline.

Les index d'IR cardiaques des rats des deux groupes, à J0, sont proches de un, ce qui témoigne d'une insulino-résistance (Briat, 2007). Après 7 jours de traitement, les index d'IR cardiaques des rats du groupe "rosiglitazone" sont statistiquement plus élevés que ceux mesurés à J0 et ils se rapprochent de deux, alors que ceux des rats du groupe "placebo" ne varient pas.

L'amélioration de la sensibilité cardiaque à l'insuline, induite par le traitement à la rosiglitazone, est ainsi mise en évidence par une augmentation de la valeur de l'index cardiaque calculé, traduisant une augmentation du transport du 6DIG sous insuline.

La mesure du transport du 6DIG dans le cœur, et sa modélisation par un modèle mathématique à trois compartiments, permettent de calculer un index d'insulino-résistance reproductible, et capable de mesurer des différences de sensibilité à l'insuline.

La méthodologie de traitement des images scintigraphiques a été normalisée ; la région d'intérêt placée sur l'image est de taille fixe et le set de paramètres initiaux du modèle reste le même pour tous les ajustements. L'étape de correction de l'activité résiduelle, due à l'injection de traceur en condition basale, n'a pas pu être normalisée et s'effectue toujours de façon manuelle et expérimentateur dépendant. Le paramètre déterminant du traitement est le placement de la région d'intérêt sur l'image. La région de l'image correspondant au cœur est souvent diffuse et malgré une analyse cinétique rigoureuse pour des temps courts d'acquisition, pour lesquels on observe le premier passage du traceur dans le cœur, il est parfois difficile de cerner avec précision le cœur. Le traitement de l'image scintigraphique et le placement de la zone d'intérêt ne permettent pas d'obtenir exactement les mêmes valeurs de cinétique du traceur. Un "seuil de sensibilité" a été déterminé. Ce seuil permet de classer les individus dans deux catégories, sensibles ou non sensibles, et permet de s'affranchir des comparaisons chiffrées entre valeurs.

L'étude de reproductibilité de la mesure a été effectuée avec deux observateurs différents. Les résultats obtenus lors des deux séries traitées par l'Observateur 1, montrent que les index calculés pour des rats sains sont en moyenne proches de 2, et ceux calculés pour des rats insulino-résistants sont en moyenne proches de 1.

Les deux séries traitées par l'observateur 1 sont cohérentes lorsque l'on applique le seuil de sensibilité (coefficient de Kappa =0,63).

Les données traitées par l'Observateur 2 et comparées à celles obtenues par l'Observateur1, constituent la reproductibilité inter-observateur. Les résultats obtenus lors de la série traitée par l'Observateur 2, montrent que les index calculés pour des rats sains sont en moyenne proches de 2, et ceux calculés pour des rats insulino-résistants sont en moyenne proches de 1. Les trois séries de mesure distinguent donc des rats sains des rats insulino-résistants. Pour les mêmes raisons que lors de l'étude intra-observateur, un "seuil de sensibilité" a été appliqué à cette série de mesure, et les résultats calculés par l'observateur 2 sont en accord avec les deux autres séries.

Le traitement, des images scintigraphiques brutes jusqu'au calcul de l'index, a été le plus normalisé possible, mais il comprend encore des étapes observateur dépendantes (placement de la région d'intérêt, correction de l'activité résiduelle). Ces limites méthodologiques, ajoutées aux conditions métaboliques des animaux lors des expériences entraînant des variations intra-groupe importantes, explique les différences obtenues entre les observateurs (Obs.1 - Obs.1(2^{ème} trait.) coefficient de Kappa =0,63 ; Obs. 1 - Obs. 2 coefficient de Kappa =0,47 ; Obs. 2 - Obs. 1 (2^{ème} trait.) coefficient de Kappa =0,55).

Afin de permettre le transfert de cette méthode de mesure en routine clinique dans les services de médecine nucléaire, le protocole expérimental doit s'affranchir des prélèvements sanguins. Pour cela, un descripteur empirique a été développé, basé sur une méthode d'analyse graphique des courbes d'activité cardiaque uniquement. La recherche de paramètres graphiques, à la fois discriminants une population saine d'une malade, et corrélés aux valeurs de l'index, a conduit à la formulation d'un descripteur empirique cardiaque. Ce DE combine une approche exponentielle et linéaire de la courbe cinétique. Les valeurs de ce DE, calculées sur les données des études de reproductibilité et de sensibilité de l'index, sont significativement corrélées aux valeurs d'index calculées chez un même animal. Par ailleurs, l'estimation du DE cardiaque est reproductible pour un même animal, à 7 jours d'intervalle, et elle permet de mettre en évidence une amélioration de la sensibilité à l'insuline, après un traitement à la rosiglitazone. Parmi les différentes approches graphiques et numériques testées, la formule de ce DE a donc été conservée.

Le clamp euglycémique hyperinsulinémique est la méthode de référence de mesure de la sensibilité à l'insuline. Il permet une mesure précise de la sensibilité générale d'un individu. La mesure de l'insulino-résistance cardiaque avec le 6DIG, à la fois le DE et l'index, a donc été comparée à cette méthode de référence. Le clamp E.H. s'effectue normalement sur animal vigile. Le clamp est ici pratiqué sur animal anesthésié, afin de se placer dans les mêmes conditions métaboliques que lors de la mesure du transport du 6DIG.

La valeur de 15 mUI/kg/min d'insuline lors du clamp a été choisie à partir de données de la littérature et d'expériences préliminaires, elle permet d'inhiber totalement la production hépatique de glucose chez des rats sains et la mesure d'un GIR chez des rats Zucker insulino-résistants (Hom, 1983). Les clamps E.H. ont été effectués sous anesthésie au Pentobarbital Sodique. Le GIR est par conséquent bien plus bas que les valeurs observées dans la littérature où le clamp est appliqué sur un animal vigile (Kraegen, 1985).

Le poids des animaux ne varie pas en moyenne entre le clamp E.H. et la mesure de l'IR avec le 6DIG, indiquant une bonne récupération des rats après 7 jours. Les valeurs d'index et de DE cardiaques sont en accord avec celles trouvées lors des études de reproductibilité précédentes pour des rats Wistar.

Les valeurs du DE et celles de l'index sont bien corrélées ($r=0,74$; $p=0,01$), ce qui signifie que le calcul du DE est robuste et ne varie pas selon les différentes expériences.

Les valeurs de HOMA et de QUICKI, calculées à partir des mêmes concentrations plasmatiques de glucose et d'insuline, sont logiquement très liées ($r=0,99$; $p<0,001$).

Les valeurs de GIR ne corrélaient pas de façon significative avec celles du HOMA ($r=0,33$; $p=0,32$), ni avec celles du QUICKI ($r=0,39$; $p=0,24$). Dans une étude de R. Muniyappa, les auteurs comparent les valeurs de différents indices biologiques tels que le HOMA et le QUICKI, avec les valeurs de GIR mesurées chez les mêmes animaux (Muniyappa, 2009). Les auteurs observent une faible corrélation du GIR avec les valeurs de HOMA ($r=0,37$; $p<0,001$) et de QUICKI ($r=0,40$; $p<0,001$). Ils expliquent ces faibles corrélations par les perturbations dues à l'instrumentalisation des animaux (pose de cathéters), et par le jeûne d'une nuit entière avant la mesure qui n'est pas physiologique chez le rat. Lors de cette étude, les corrélations sont calculées pour une cohorte de 80 rats. Le nombre élevé d'animaux dans cette étude explique pourquoi la corrélation est significative, malgré un coefficient de Pearson faible. De plus, l'absence de standardisation du dosage de l'insuline rend les comparaisons entre les différents travaux ayant utilisé les index HOMA et QUICKI hasardeuses.

L'index d'IR cardiaque est corrélé au GIR ($r=0,68$; $p=0,02$). Le DE, quant à lui, ne l'est pas ($r=0,51$; $p=0,10$). La modélisation mathématique, qui permet de calculer l'index d'IR cardiaque, prend en compte les échanges sanguins du traceur. Le calcul du DE n'est basé que sur une analyse graphique stricte des cinétiques cardiaques. Par ailleurs, les valeurs de GIR sont assez homogènes (coefficient de variation des données estimé à 11%) alors que les données des DE sont beaucoup plus hétérogènes (coefficient de variation des données estimé à 66%). Ceci pourrait expliquer le fait que malgré une bonne corrélation entre le DE et l'index, ce dernier soit le seul à corréler au GIR.

Aucune des deux mesures de l'IR avec le 6DIG, index et DE, ne corrélaient avec les indices cliniques HOMA et QUICKI. Il n'y a d'ailleurs pas de corrélation non plus entre les valeurs de GIR et les valeurs des HOMA et QUICKI. La mesure de l'insulinémie pour ces indices est variable en fonction du kit de dosage utilisé et est également manipulateur dépendant (Muniyappa, 2008). Ces indices sont basés sur des mesures plasmatiques à jeun, et reflètent ainsi une sensibilité générale, alors que le DE et l'index reflètent le transport du traceur dans

le coeur. De plus, à jeun, l'insuline plasmatique aurait une action plus importante sur l'inhibition de la production hépatique de glucose que sur son utilisation périphérique. Par conséquent, la glycémie est directement reliée à la production de glucose hépatique. Les indices HOMA et QUICKI semblent refléter préférentiellement l'IR hépatique (Muniyappa, 2008). Ceci pourrait donc expliquer que les mesures de l'IR cardiaque avec le 6DIG, comme le GIR, ne corrèlent pas avec le HOMA ni le QUICKI.

En résumé : La première partie de mon travail concerne l'étude du transport du 6DIG dans le cœur. L'index d'IR cardiaque, développé par A. Briat et L. Slimani, est reproductible et sensible et corrèle au GIR obtenu avec la méthode de référence, le clamp E.H. Il reste cependant quelques étapes qui demeurent sous influence de la personne qui traite les données tissulaires et sanguines. Cet index a servi de référence pour l'élaboration d'une méthode d'analyse simplifiée des données de cinétiques cardiaques du traceur. Cette nouvelle méthode d'analyse fournit un descripteur empirique basé sur l'étude stricte des courbes cinétiques. Ce DE est également reproductible et sensible.

2^{ème} partie : Développement et validation d'une méthode de mesure de l'insulino-résistance musculaire avec le 6DIG

La mesure du transport du 6DIG dans le muscle squelettique a, dans un premier temps, été estimée à partir de l'analyse des cinétiques du traceur dans le muscle.

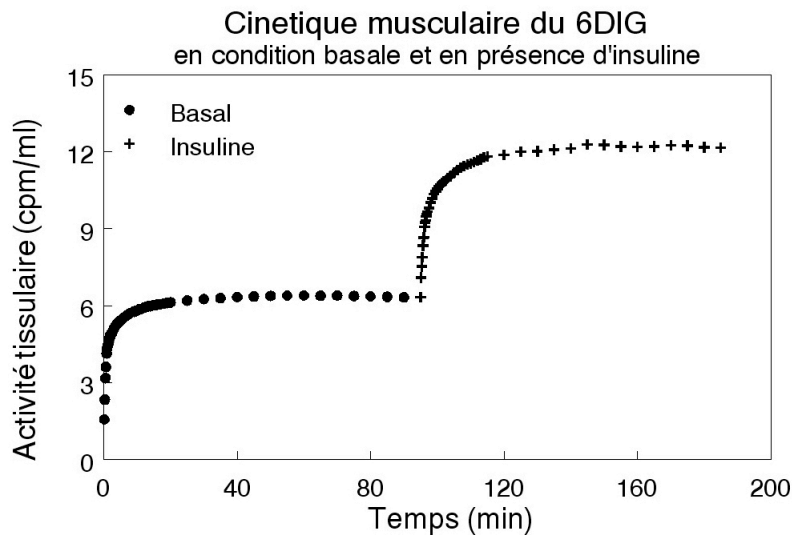


Figure 65. Exemple de cinétique du 6DIG dans le muscle squelettique.

La cinétique du traceur dans le muscle est composée de deux phases : une augmentation rapide de la radioactivité, puis une phase plus lente, de plateau (figure 65). Comme lors de l'étude de l'IR cardiaque, les études du transport du 6DIG dans le muscle squelettique nécessitent deux injections de 6DIG et deux périodes d'acquisition, séparées par l'injection d'un bolus d'insuline.

Lors des premières études de mise au point de la méthode, la période d'acquisition de la radioactivité était de 20 minutes. L'acquisition de la radioactivité sous insuline était corrigée de la radioactivité résiduelle due à l'injection en condition basale. Pour cela, la valeur moyenne du plateau en condition basale était retranchée aux données mesurées sous insuline. La valeur moyenne du plateau sous insuline était également calculée. L'insulino-résistance était appréciée par le rapport du plateau obtenu sous insuline sur le plateau obtenu en condition basale. Cependant cette méthode de traitement des données n'a pas permis de mettre en évidence l'action de l'insuline sur le transport du 6DIG dans le muscle squelettique de façon reproductible.

Le développement d'un modèle mathématique permettant de quantifier précisément le transport du 6DIG dans le muscle squelettique a alors été envisagé.

I. Développement du modèle pour l'étude du transport du 6DIG dans le muscle squelettique

1. Matériels et méthodes.

a. Modèle mathématique

Le modèle mathématique permettant de mesurer le transport du 6DIG dans le muscle squelettique est un modèle à compartiments inspiré du modèle développé par A. Bertoldo et collaborateurs (Bertoldo, 2005) pour la modélisation du transport du 3OMG dans le muscle squelettique chez l'homme (figure 66).

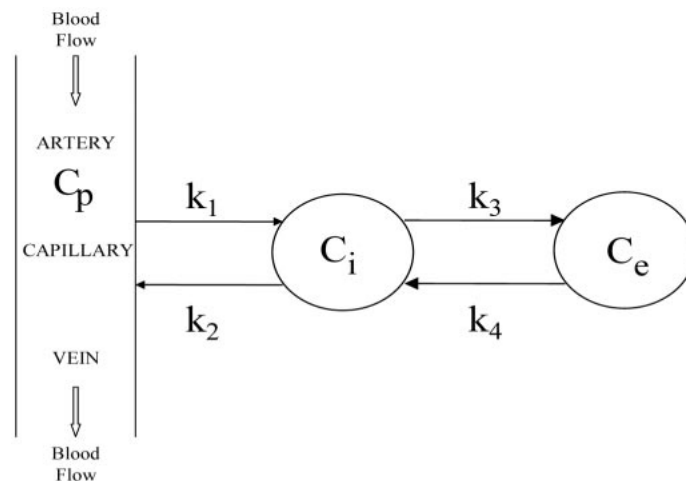


Figure 66. Modèle à 3 compartiments développé par A. Bertoldo pour le transport du 3OMG dans le muscle squelettique. C_p représente le compartiment plasmatique, C_i représente le compartiment interstitiel et C_e le compartiment intracellulaire. Les constantes k représentent les coefficients de transport du 3OMG entre chaque compartiment (Bertoldo, 2005).

Ce modèle a été développé à l'origine pour l'évaluation du transport du glucose dans le muscle squelettique humain, avec le $[^{11}\text{C}]-3\text{OMG}$ en PET, injecté à l'équilibre lors d'un clamp euglycémique hyperinsulinémique.

Un modèle mathématique de transport du 6DIG a été développé à partir du modèle de A. Bertoldo (E. Pellegrini, L. Slimani et P. Millet). Le protocole utilisé avec le 6DIG chez le rat ne requiert pas de clamp euglycémique hyperinsulinémique, mais une injection du traceur et de l'insuline sous forme de bolus. Ce modèle permet d'obtenir des données chiffrées du transport du glucose à partir des données biologiques, après son injection *in vivo* chez le rat, et un index quantitatif R, reflet de l'IR musculaire.

Ce modèle comprend trois compartiments : un compartiment plasmatique (Cp), un compartiment interstitiel (Ci) et un compartiment intracellulaire (Ce) (figure 67).

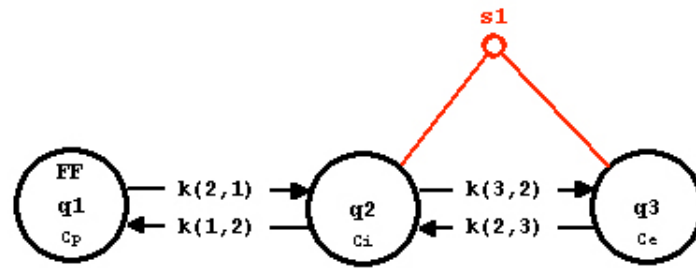


Figure 67. Modèle mathématique à trois compartiments développé pour l'étude du transport du 6DIG dans le muscle squelettique, chez le rat *in vivo*, par détection externe (Sonde NaI). Cp représente le compartiment plasmatique, Ci représente le compartiment interstitiel et Ce représente le compartiment tissulaire. Les coefficients de transfert fractionnel sont représentés entre chaque compartiment, notés par les constantes k.

Les coefficients de transfert fractionnel $k(2,1)$, $k(1,2)$, $k(3,2)$ et $k(2,3)$ représentent le transport du traceur entre chaque compartiment. Le modèle mathématique est décrit par le système d'équations :

$$\begin{aligned} \dot{C}_i(t) &= k(2,1) * C_p(t) - (k(1,2) + k(3,2)) * C_i(t) + k(2,3) * C_e(t) & C_i(0) &= 0 \\ \dot{C}_e(t) &= k(3,2) * C_i(t) - k(2,3) * C_e(t) & C_e(0) &= 0 \end{aligned}$$

$$C(t) = (1 - V_b) * (C_i(t) + C_e(t)) + V_b * C_p(t)$$

où Cp est la concentration plasmatique, Ci la concentration interstitielle (extracellulaire), Ce la concentration intracellulaire en traceur, C est l'activité totale dans la région d'intérêt et Vb représente la fraction de sang qui occupe le volume imagé. Ce dernier paramètre étant très faible, il est négligé dans le calcul.

L'activité mesurée est décrite par :

$$C_{obs}(t_j) = C(t_j) + e(t_j) \quad j = 1, 2 \dots N$$

où $e(t_j)$ est l'erreur de mesure au temps t_j . Cette erreur est estimée indépendante, de répartition Gaussienne et de moyenne nulle.

La précision des paramètres fournis par le modèle est évaluée par la somme des résidus pondérés au carré (WRSS). Les résidus sont calculés à différents temps comme les variations entre les valeurs expérimentales et les valeurs calculées :

$$WRSS(\hat{p}) = \sum_{j=1}^N w_j \left[C^{obs}(t_j) - C(\hat{p}, t_j) \right]^2$$

où N est le nombre de mesure, \hat{p} est le paramètre estimé, w_j la pondération donnée par $w_j = \Delta t_j / C^{obs}(t_j)$ (où Δt_j est l'intervalle d'acquisition relatif à $C^{obs}(t_j)$).

La radioactivité mesurée dans le muscle correspond aux compartiments Ci et Ce et est notée s1. La valeur k représente les coefficients de transfert entre deux compartiments ; les échanges entre compartiments sont supposés linéaires. Les coefficients de transfert k(3,2) et k(2,3) représentent respectivement le flux de 6DIG du compartiment interstitiel vers le compartiment intracellulaire et inversement. Les coefficients de transfert k(2,1) et k(1,2) représentent respectivement le flux de 6DIG du sang vers le compartiment interstitiel et inversement.

Le module "compartimental" de SAAMII calcule pour chaque coefficient de transfert un intervalle de confiance, un écart-type et un coefficient de variation en % (CV). Les k(3,2) sont retenus lorsque les 4 coefficients de transfert du modèle présentent des CV inférieurs à 100%.

Les données tissulaires et sanguines ont été traitées à l'aide du module "compartimental" du logiciel SAAM II (L. Slimani, E. Pellegrini). Les acquisitions de 180 minutes ont permis de montrer que les constantes cinétiques k peuvent être identifiées seulement à partir de 90 minutes d'acquisition pour chaque condition (figure 68).

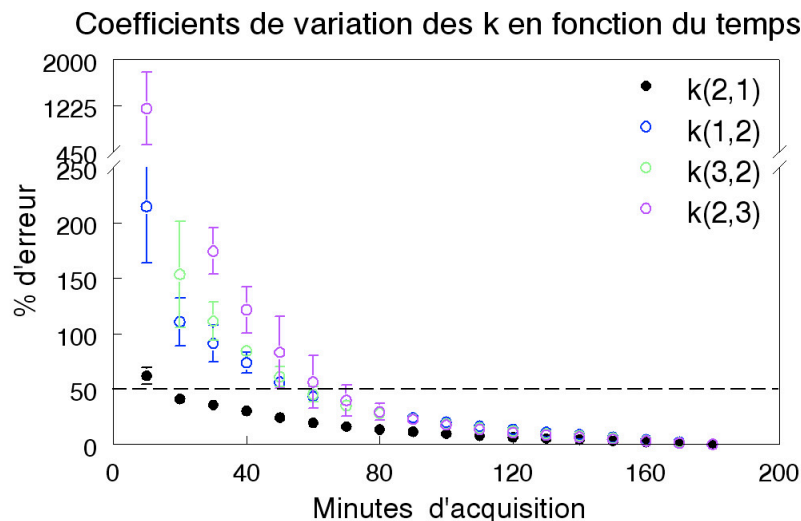


Figure 68. Exemple de calcul des coefficients de variation des constantes cinétiques du modèle en fonction du temps (ici pour 3 rats). Jusqu'à 90 minutes, les coefficients sont trop variables pour être identifiés.

Analyse des cinétiques musculaires et sanguines du 6DIG

Les données sanguines et tissulaires sont exprimées en coups par minute par millilitre (cpm/ml). La normalisation s'effectue par une conversion des données fournies par la sonde (coups/10 secondes) en cpm/ml, grâce à une courbe étalon effectuée au préalable avec des activités connues diluées dans 1 ml.

b. Protocole expérimental

L'utilisation du 6DIG avec ce modèle a tout d'abord été validée avec des acquisitions de la radioactivité en condition "basale" ou en condition "insuline". Ces études préliminaires avaient pour objectif de mesurer les coefficients cinétiques en condition basale ou en présence d'insuline.

Des cathéters dans la veine jugulaire et l'artère carotidienne ont été posés chez des rats Wistar (groupe condition "basale" n=7, groupe condition "insuline" n=5), mis à jeun environ 10 heures avant. Pour les deux conditions, le traceur est injecté pendant une minute à l'aide d'un pousse-seringue et la radioactivité musculaire est suivie pendant 180 minutes à l'aide d'une sonde NaI (P14, Bicon Corp., USA) reliée à un analyseur multicanaux fonctionnant en multi-échelles (SM512, Novelec, France) (figure 69). La période d'acquisition a été fixée à 180 minutes afin d'obtenir une cinétique suffisamment longue pour couvrir l'intégralité des échanges du 6DIG entre le sang et le muscle.

Acquisition de la radioactivité sanguine et tissulaire du 6DIG

L'échantillonnage de mesure est de 10 secondes. La sonde est placée sur le quadriceps de la patte postérieure droite de l'animal. Un collimateur en plomb (fabriqué à partir d'une plaque de plomb de 5 millimètres d'épaisseur dans laquelle une fenêtre de 3 centimètres de diamètre est percée) est placé au préalable sur la patte afin de délimiter une zone de détection identique pour chaque animal. La cinétique sanguine est suivie par des prélèvements sanguins de 10 µl (n=2), effectués à 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 90, 120 et 150 secondes p.i., puis à 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 90, 120 et 180 minutes pi.

Pour la condition "basale", le traceur est directement injecté. Pour la condition "insuline", un bolus d'insuline (2,5 UI/kg) est injecté au préalable, et l'injection du traceur s'effectue 5 minutes après ce bolus.



Figure 69. Sonde NaI et analyseur.

2. Résultats.

Les résultats de cette étude sont présentés dans le tableau 15. Dans ce tableau les constantes k sont calculées à 90 minutes.

	k(2,1)	k(1,2)	k(3,2)	k(2,3)
Condition "basale"	0,598 ± 0,347	0,502 ± 0,265	0,096 ± 0,025	0,024 ± 0,012
Condition "insuline"	0,863 ± 0,278	0,675 ± 0,248	0,189 ± 0,041 *	0,040 ± 0,006 *

Tableau 15. Résultats de l'étude préliminaire pour le développement du modèle mathématique. Les constantes k(2,1), k(1,2), k(3,2) et k(2,3) sont estimées pour chaque condition basale et insuline ; moyenne ± écart-type ; condition "basale" n=7, condition "insuline" n=5 ; * p<0,05 vs. condition basale.

Les coefficients de transfert fractionnel k(2,1) et k(1,2) ne varient pas entre les deux conditions (k(2,1): 0,598 ± 0,347 pour le groupe "basal" vs. 0,863 ± 0,278 pour le groupe "insuline" (NS) ; k(1,2): 0,502 ± 0,265 pour le groupe "basal" vs. 0,675 ± 0,248 pour le groupe "insuline" (NS). Les coefficients de transfert fractionnel k(3,2) et k(2,3) augmentent

statistiquement sous insuline ($k(3,2)$: $0,096 \pm 0,025$ pour le groupe "basale" vs. $0,189 \pm 0,041$ pour le groupe "insuline" ($p < 0,05$) ; $k(2,3)$: $0,024 \pm 0,012$ pour le groupe "basale" vs. $0,040 \pm 0,006$ pour le groupe "insuline" ($p < 0,05$)).

A l'aide des coefficients de transfert d'entrée du traceur dans le compartiment intracellulaire, $k(3,2)$, un index d'IR musculaire peut être envisagé pour un protocole comprenant deux injections de traceur, dont une sous insuline. Cet index est donné par la formule :

$$R = \frac{k(3,2)_{insuline}}{k(3,2)_{basal}}$$

Plus l'index est élevé, plus le sujet est sensible à l'insuline.

II. Comparaison des valeurs de l'index à la méthode de référence et aux index d'IR proposés dans la littérature (HOMA et QUICKI)

L'objectif de cette étude est de comparer, chez un même animal, les valeurs d'index musculaire fournis par le modèle mathématique avec les valeurs de GIR du clamp E.H. et avec les valeurs de HOMA et de QUICKI.

La durée des acquisitions de la radioactivité nécessaire à l'obtention de l'index d'IR musculaire étant de 3 heures (deux acquisitions de 90 minutes), cette méthode n'est pas applicable en l'état en routine clinique. C'est pourquoi, le deuxième objectif de cette étude a été l'élaboration d'un descripteur empirique (DE) d'IR musculaire, basé sur l'analyse graphique des courbes cinétiques, et calculé pour des temps courts d'acquisition.

1. Matériels et méthodes.

1^{ère} partie: Comparaison de l'index d'IR mesuré en modélisation mathématique au GIR et aux HOMA et QUICKI

a. Matériels

Dix rats Wistar mâles d'environ 340g ont été utilisés.

Le glucose et l'insuline sont injectés à l'aide de deux pousse-seringues distincts ("Harvard Pump 11 Plus", Harvard Apparatus). Le glucose 50% est préparé à partir de glucose anhydre (Sigma). La solution d'insuline injectée, à une concentration de 1UI/ml, est préparée à partir de la solution commerciale (Actrapid, 100 UI/ml). Les perfusions de glucose et d'insuline (15

mUI/kg/min) s'effectuent grâce à un connecteur, qui permet de relier les deux à la voie veineuse.

b. Méthodes

Ce protocole nécessite deux expériences distinctes (figure 70).

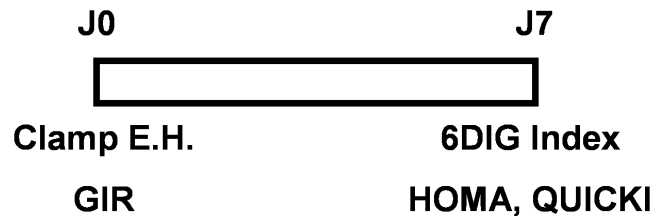


Figure 70. Protocole de l'étude de comparaison de l'index R d'insulino-résistance musculaire obtenu avec le 6DIG et avec le GIR obtenu avec le clamp euglycémique hyperinsulinémique.

Le protocole de préparation des animaux nécessite la pose de cathéters jugulaires et carotidiens à J0, et la pose de deux nouveaux cathéters en veine et artère fémorale à J7.

Le HOMA est calculé selon la formule : $(\text{Insulinémie (mU/l)} \times \text{Glycémie (mmol/l)})/22,5$.

Le QUICKI est calculé selon la formule : $1/(\log \text{ Insulinémie } (\mu\text{U/ml}) + \log \text{ Glycémie (mg/dl)})$.

J0 : Protocole du clamp euglycémique hyperinsulinémique.

A J0, les rats subissent un clamp euglycémique hyperinsulinémique à un débit d'insuline fixe de 15 mUI/kg/min. Le protocole expérimental est identique à celui décrit pour la validation de l'index cardiaque (p139).

J7 : Protocole 6DIG.

Le premier bolus de 6DIG (9,25 Mbq) est injecté sur une minute à l'aide d'un pousse-seringue ("Harvard Pump 11 Plus", Harvard Apparatus). La radioactivité est ensuite mesurée sur 90 minutes. Un bolus d'insuline est injecté (2,5 UI/kg). Après 5 minutes d'action de l'insuline, le deuxième bolus de 6DIG (9,25 Mbq) est injecté sur une minute, et la radioactivité est de nouveau mesurée pendant 90 minutes (figure 71). Des prélèvements sanguins de 10 μl (n=2) sont effectués lors de chaque acquisition à 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 90, 120 et 150 secondes pi, puis à 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60 et 90 minutes pi.

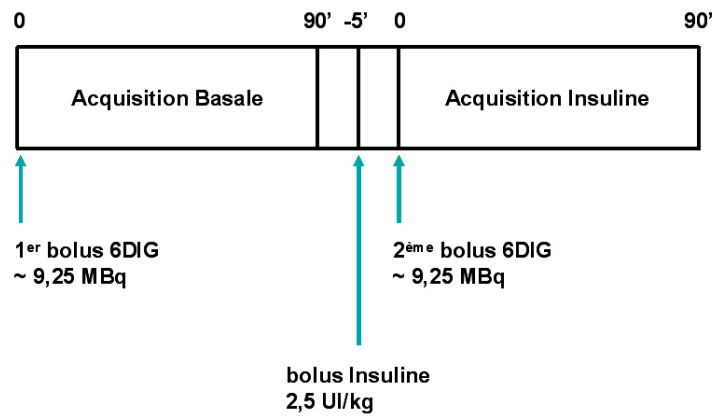


Figure 71. Protocole de mesure du transport du 6DIG dans le muscle squelettique en condition basale et en présence d'insuline.

2^{ème} partie: Détermination d'un descripteur empirique musculaire.

L'analyse des courbes de cinétique musculaire du 6DIG ont permis d'élaborer un descripteur empirique. Parmi les différents DE testés (voir Annexe 2), celui qui a été retenu est celui qui présente la plus forte corrélation avec l'index d'un part, et qui peut être calculé pour des temps courts d'autre part. Ce DE est calculé par la formule :

$$DE = \frac{[a1]^{insuline} \times [a2]^{insuline}}{[p]^{basal}}$$

a1 représente la pente de la droite d'équation $y_a(t) = a1*t + A1$, calculée entre 1 et 5 minutes sur la courbe d'acquisition sous insuline, a2 la pente de la droite d'équation $y_a(t) = a2*t + A2$, calculée entre 5 et 10 minutes également lors de l'acquisition sous insuline, et p la valeur du plateau moyen calculé entre 15 et 20 minutes sur la courbe lors de l'acquisition basale (figure 72).

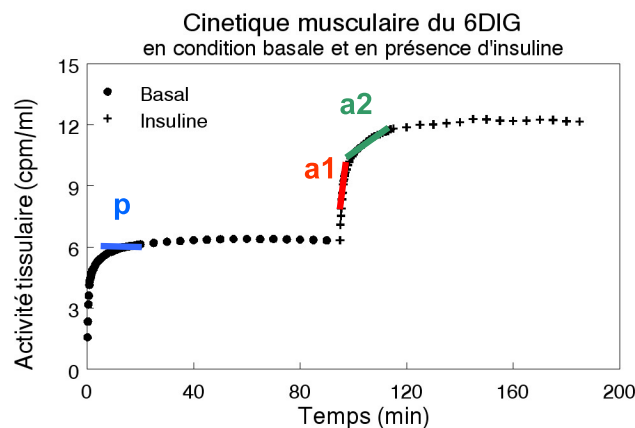


Figure 72. Calcul du descripteur empirique à partir de la cinétique musculaire.

2. Résultats.

Le poids des animaux à J0 était de 340 ± 5 g. Ce poids n'est pas statistiquement différent de celui de ces mêmes animaux à J7 (335 ± 6 g ; NS vs. J0).

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 16.

	Index	GIR	HOMA	QUICKI	DE musc.
Moyenne	2,87	22,97	11,16	0,275	8,50
SEM	0,44	1,33	0,95	0,003	0,70

Tableau 16. Résultats de l'étude de comparaison entre la mesure de l'index R et du DE d'insulino-résistance musculaire avec le 6DIG, la mesure du GIR grâce au clamp euglycémique hyperinsulinémique et les valeurs de HOMA et de QUICKI (rats Wistar n=11).

Les différentes corrélations entre les paramètres calculés sont présentées dans le tableau 17.

Indices comparés	Coefficient de Pearson (r)	Test de régression (p=)
Index musculaire vs. GIR	0,71	0,02
Index musculaire vs. HOMA	0,14	0,71
Index musculaire vs. QUICKI	0,09	0,81
GIR vs. HOMA	0,38	0,28
GIR vs. QUICKI	0,37	0,29
HOMA vs. QUICKI	0,98	<0,001
DE vs. Index musculaire	0,66	0,04
DE vs. GIR	0,60	0,07
DE vs. HOMA	0,50	0,14
DE vs. QUICKI	0,55	0,10

Tableau 17. Comparaison des différents indices d'insulino-résistance mesurés.

L'index d'insulino-résistance musculaire est bien corrélé au GIR ($r=0,71$; $p=0,02$), mais n'est pas statistiquement corrélé aux indices HOMA et QUICKI (figure 73).

Le GIR n'est pas corrélé aux indices HOMA et QUICKI respectivement ($r=0,38$; $p=0,28$) et ($r=0,37$; $p=0,29$) (figure 73).

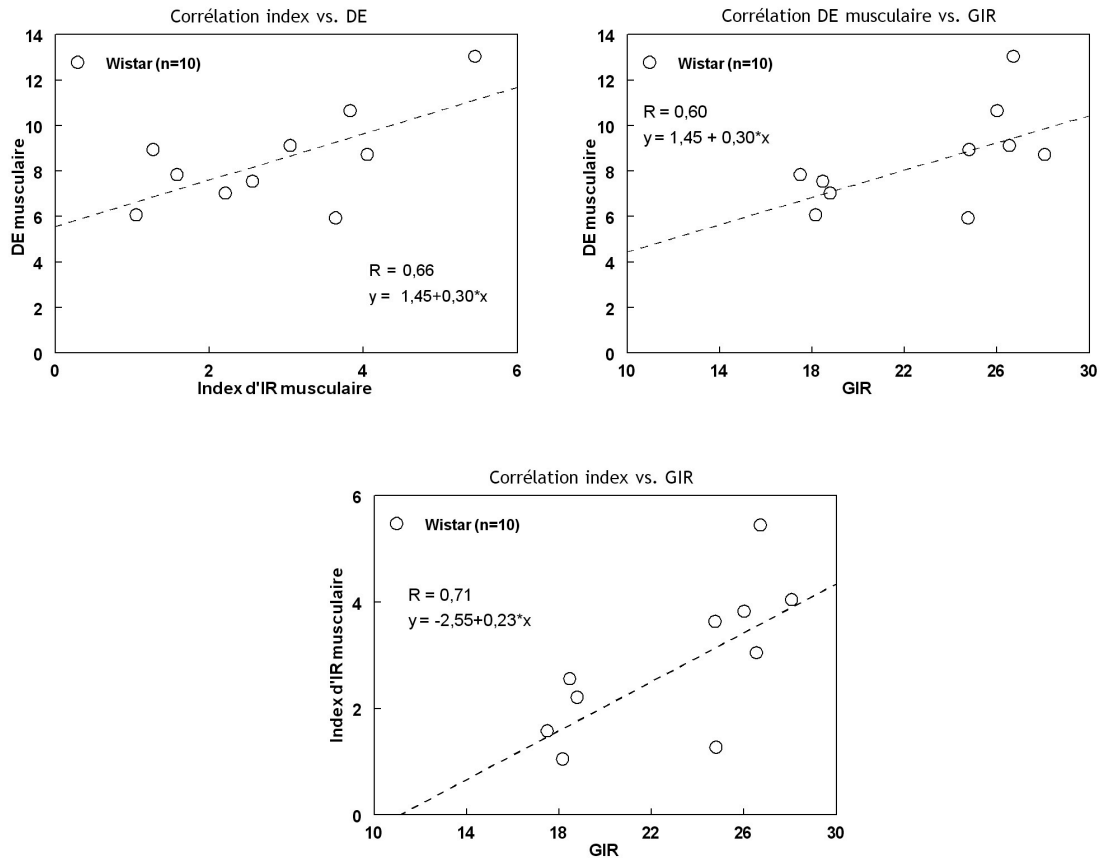


Figure 73. Corrélation entre le DE et l'index (en haut à gauche), entre le DE et le GIR (en haut à droite) et entre l'index et le GIR (en bas).

Le DE musculaire est bien corrélé aux valeurs d'index ($r=0,66$; $p=0,04$), mais malgré un coefficient de Pearson de 0,60, il n'est pas corrélé significativement au GIR ($r=0,60$; $p=0,07$) (figure 73).

III. Discussion

Le muscle squelettique est l'organe insulino-sensible le plus important de l'organisme. L'étude du transport du glucose dans cet organe est donc d'un intérêt clinique majeur.

Les premières études concernant le transport du 6DIG dans le muscle squelettique étaient basées sur le protocole utilisé pour la mesure de l'index cardiaque, c'est-à-dire deux acquisitions de 20 minutes, séparées d'un bolus d'insuline. Lors de ces premières études sur le muscle squelettique, le traitement des données était basé sur l'analyse des cinétiques tissulaires seules (calcul de valeurs moyennes aux plateaux, de pentes, d'aire sous la courbe). Cependant, l'action de l'insuline n'a pas pu être mise en évidence de façon reproductible, et les

différences entre une population saine et une insulino-résistante non plus. Le développement et la validation d'un modèle mathématique ont alors été envisagés. Le modèle de transport du 3OMG est initialement conçu pour l'étude du transport du 3OMG en condition stable, lors d'un clamp euglycémique hyperinsulinémique, et chez l'homme. L'étude avec le 6DIG s'effectue quant à elle chez le rat, et l'insuline est injectée en bolus. Dans le cadre de ce travail, les acquisitions chez des rats pour une condition donnée (basale ou insuline) devaient être suffisamment longues pour recouvrir la totalité des échanges du 6DIG avec le muscle squelettique. Les résultats de cette étude ont montré que les constantes $k(3,2)$ du modèle (entrée du traceur dans le compartiment intracellulaire) sont significativement plus élevées dans le groupe de rats qui a reçu le bolus d'insuline. Le modèle développé pour le 3OMG, permet donc de mettre en évidence une augmentation du transport du 6DIG dans le muscle squelettique en présence d'insuline. Les résultats de l'étude d'identifiabilité des constantes cinétiques du modèle montrent que ces constantes présentent de forts coefficients de variation (supérieurs à 50%) jusqu'à 90 minutes, quelle que soit la condition. Le temps d'acquisition pour chaque condition a donc été fixé au temps minimal d'identifiabilité des paramètres cinétiques du modèle, c'est-à-dire 90 minutes. L'identifiabilité a été déterminée en fonction des coefficients de variation calculés pour chaque paramètre cinétique. Le protocole de détermination de mesure de l'index d'IR musculaire, 2 acquisitions de 90 minutes séparées par l'injection du bolus d'insuline, est basé sur ces résultats.

La durée des acquisitions nécessaires au calcul de l'index d'IR musculaire ne permet pas l'utilisation du protocole en routine clinique. De la même manière que pour l'étude cardiaque, le développement d'un descripteur empirique musculaire, basé uniquement sur l'analyse graphique des courbes cinétiques, était donc indispensable pour la transposition de la méthode chez l'homme. Le DE musculaire est corrélé aux valeurs d'index fournies par la modélisation mathématique ($r=0,66$; $p=0,04$). Par ailleurs, il permet de réduire la durée des acquisitions de la radioactivité, puisqu'il est calculé entre 1 et 20 minutes post-injection.

Comme pour la mesure de l'IR cardiaque, la mesure de l'IR musculaire avec le 6DIG a été comparée aux valeurs de GIR fournies par le clamp E.H. ainsi qu'aux valeurs de HOMA et QUICKI. L'index d'IR musculaire corrèle bien avec les valeurs de GIR du clamp E.H. ($r=0,71$; $p=0,02$). La corrélation entre le DE musculaire et le GIR est en limite de significativité ($r=0,60$; $p=0,07$). L'index mathématique prend en compte la cinétique sanguine du traceur et requiert des cinétiques tissulaires plus longues que le DE. Les informations supplémentaires

obtenues améliorent la précision de la mesure de la sensibilité à l'insuline et permettent une corrélation significative au GIR.

Les valeurs de HOMA et de QUICKI, calculées à partir des mêmes concentrations plasmatiques, sont très liées ($r=0,98$ $p<0,001$). Les valeurs des indices HOMA et QUICKI et celles du GIR ne corrént pas de façon significative respectivement ($r=0,38$; $p=0,28$) pour le HOMA et ($r=0,37$; $p=0,29$) pour le QUICKI. Ici également, les problèmes de standardisation du dosage de l'insuline plasmatique et la période de jeune, exposés dans l'étude de R. Muniyappa (Muniyappa, 2009) peuvent expliquer les résultats obtenus.

Les mesures de l'IR musculaire avec le 6DIG, index et DE, ne corrént pas avec les indices HOMA et QUICKI. Comme expliqué précédemment, les indices HOMA et QUICKI seraient plus en lien avec l'IR hépatique qu'avec l'IR musculaire. Il n'est donc pas illogique que l'index d'IR musculaire et le DE, qui sont calculés à partir de cinétiques musculaires, ne soient pas corrélés à ces indices.

En résumé : La deuxième partie de mon travail concerne l'étude du transport du 6DIG dans le muscle squelettique. La mesure du transport du 6DIG dans le muscle squelettique a requis l'élaboration d'un modèle mathématique à trois compartiments, basé sur l'analyse des cinétiques sanguines et tissulaires obtenues sur 3 heures de protocole. Comme pour l'étude du transport du 6DIG dans le cœur, l'index d'IR musculaire fourni par la modélisation a servi de référence pour l'élaboration d'une méthode d'analyse simplifiée des données de cinétiques musculaires du traceur. Cette nouvelle méthode d'analyse fournit un descripteur empirique basé sur l'étude stricte des courbes cinétiques et calculé pour des acquisitions de la radioactivité de 20 minutes. Ce temps d'acquisition est maintenant compatible avec une utilisation chez l'homme.

3ème partie : Validation des descripteurs empiriques d'insulino-résistance cardiaque et musculaire.

Nous avons montré dans les deux premières parties de ce travail que les descripteurs empiriques, obtenus par simple analyse graphique des courbes d'évolution de la radioactivité sont bien corrélés aux index d'IR obtenus par modélisation mathématique, et le temps d'acquisition nécessaire à leur calcul est compatible avec un protocole de mesure commun dans le cœur et le muscle squelettique. Ces descripteurs peuvent être calculés pour des acquisitions de la radioactivité de 20 minutes par condition.

C'est pourquoi nous avons développé un protocole de mesure du transport du 6DIG, simultanément dans le cœur et le muscle squelettique. Ce protocole consiste à suivre le transport du traceur dans le cœur avec la gamma-caméra et, parallèlement, celui du muscle squelettique avec une sonde NaI.

Dans le cadre du transfert de la méthode de mesure de l'IR avec le 6DIG chez l'homme, les deux descripteurs empiriques cardiaque et musculaire doivent être validés. Pour cela, ces DE doivent être reproductibles, sensibles et permettre de discriminer une population saine d'une population malade.

I. Comparaison des DE cardiaque et musculaire calculés pour un groupe de rats sains et pour un groupe de rats insulino-résistants.

L'objectif de cette étude est d'étudier la faisabilité d'un protocole unique de mesure de l'IR cardiaque et musculaire, et de comparer les descripteurs empiriques cardiaques et musculaires calculés chez des rats sains (Wistar) et chez des rats insulino-résistants (Zucker).

1) Matériels et méthodes.

a. Matériels

Les rats Wistar et les rats Zucker obèses (fa/fa) sont fournis par Charles River (Saint-Germain sur l'Arbresles, France). Les animaux sont gardés en animalerie standard (cycle jour/nuit de 12h/12h, température 20°C, un rat par cage), et suivent un régime alimentaire standard SAFE (Lyon, France). L'insuline (Actrapid, 100 UI/ml) est fournie par Novo Nordisk (Paris,

France), le kit de mesure de la glycémie pour l'analyseur YSI 2300 STATPLUS par Bioblock Scientific (Illkirch, France), les cathéters en polyuréthane par Portex (Kent, UK).

Pour cette étude, 9 rats Wistar d'environ 380 grammes et 10 rats Zucker d'environ 470 grammes ont été utilisés.

b. Protocole expérimental

Préparation des animaux

Les rats sont mis à jeun 10h avant l'expérience. Les rats sont anesthésiés par une injection intrapéritonéale de Pentobarbital Sodique (54,7 mg/ml) à raison de 100 µl/100 g, soit 54,7 mg/kg. Deux cathéters sont placés, l'un dans la veine jugulaire pour les injections, et l'autre dans l'artère carotidienne pour les prélèvements. Les cathéters sont remplis de sérum physiologique hépariné (Héparine 5%).

Protocole d'acquisition de la radioactivité

Le collimateur "basse énergie" de la caméra est positionné au plus près de la cage thoracique. La sonde NaI est placée au contact du quadriceps de la patte postérieure droite de l'animal.

Le premier bolus de 6DIG (9,25 MBq) est injecté pendant une minute à l'aide d'un pousse-seringue ("Harvard Pump 11 Plus", Havard Apparatus). La radioactivité est ensuite mesurée pendant 20 minutes. Un bolus d'insuline (2,5 UI/kg) est injecté. Après 5 minutes d'action de l'insuline, le deuxième bolus de 6DIG (9,25 MBq) est injecté pendant une minute, et l'activité est de nouveau mesurée sur 20 minutes.

Les données brutes (en cpm/mm²) obtenues avec la gamma-caméra sont normalisées à la dose injectée (en µCi). Les données brutes (en coups/10 secondes) obtenues avec la sonde NaI sont converties en cpm/ml.

2) Résultats.

Les résultats des DE cardiaque et musculaire sont présentés dans le tableau 18.

	DE Coeur	DE Muscle
Moy. Wistar	1,82 *	10,73 *
SEM	0,05	1,37
Moy. Zucker	1,66	6,51
SEM	0,02	1,00

Tableau 18. Comparaison des différents indices d'insulino-résistance mesurés chez des rats Wistar (n=9) et chez des rats Zucker (n=10) (* p<0,05 vs. Zucker).

Les DE cardiaque et musculaire sont statistiquement plus élevés chez les rats sains Wistar que chez les rats Zucker insulino-résistants.

II. Reproductibilité et sensibilité des descripteurs empiriques cardiaque et musculaire.

Le protocole consiste à mesurer les DE cardiaque et musculaire, sur le même animal, à deux reprises. Dans l'étude de reproductibilité, les deux DE sont mesurés chez des rats sains, à sept jours d'intervalle. Dans l'étude de sensibilité, les deux DE sont mesurés chez des rats insulino-résistants, avant et après traitement avec un médicament améliorant la sensibilité à l'insuline.

1. Matériels et méthodes.

a. Matériels

Les rats Wistar et les rats Zucker obèses (*fa/fa*) sont fournis par Charles River (Saint-Germain sur l'Arbresles, France). Les animaux sont gardés en animalerie standard (cycle jour/nuit de 12h/12h, température 20°C, un rat par cage), et suivent un régime alimentaire standard SAFE (Lyon, France). L'insuline (Actrapid, 100 UI/ml) est fournie par Novo Nordisk (Paris, France), le kit de mesure de la glycémie pour l'analyseur YSI 2300 STATPLUS par Bioblock Scientific (Illkirch, France), les cathéters en polyuréthane par Portex (Kent, UK).

b. Méthodes.

Pour cette étude, 8 rats Wistar d'environ 270 grammes et 12 rats Zucker d'environ 460 grammes ont été utilisés.

Protocole général

Les études de reproductibilité et de sensibilité nécessitent de mesurer les DE d'un même animal, à 7 ou 21 jours d'intervalle, laps de temps nécessaire à l'élimination du bruit de fond dû à la première expérience, à la récupération des animaux, ou au traitement à la rosiglitazone

(figure 74). Pour cela les animaux sont reconduits à l'animalerie après la première mesure à J0.

Pour l'étude de sensibilité, les rats Zucker obèses et insulino-résistants sont traités par gavage oral quotidien, avec soit un placebo (eau), soit de la rosiglitazone (1mg/ml à raison de 5 mg/kg/jour) pendant 21 jours. La durée du traitement a été basée sur des études préliminaires et fixée à 21 jours. Une période de 7 jours de traitement ne permet pas d'observer une amélioration du transport du 6DIG dans le muscle squelettique.

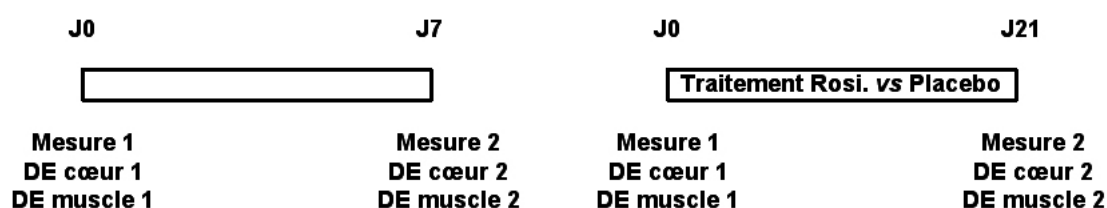


Figure 74. Protocole de l'étude de reproductibilité (à gauche) et de sensibilité (à droite) des DE cardiaque et musculaire.

Préparation des animaux

Les rats sont mis à jeun 10h avant chaque expérience. Lors des deux expériences, les rats sont anesthésiés par une injection intrapéritonéale de Pentobarbital Sodique (54,7 mg/ml) à raison de 100 µl/100 g, soit 54,7 mg/kg. Deux cathéters sont placés, l'un dans la veine jugulaire pour les injections, et l'autre dans l'artère carotidienne pour les prélèvements. Les cathéters sont ensuite "tunnelisés" sous la peau entre les omoplates et fixés sur le dos de l'animal. Les animaux sont suturés quelques minutes avant le début du protocole de mesure d'IR avec le 6DIG à J0. Pour la deuxième expérience (J7 pour l'étude de reproductibilité ou J21 pour l'étude de sensibilité), les premiers cathéters étant inutilisables, de nouveaux cathéters sont placés, dans la veine et l'artère fémorale. Les cathéters sont remplis de sérum physiologique hépariné (Héparine 5%).

Protocole d'acquisition de la radioactivité

La gamma-caméra est positionnée sur le cœur et la sonde NaI sur le quadriceps de la patte postérieure droite. Les deux injections de traceur sont suivies d'une période d'acquisition de la radioactivité de 20 minutes, elles sont séparées par l'injection d'un bolus d'insuline.

2. Résultats.

a. Etude de reproductibilité

Le poids des rats Wistar mâles (n=8) était de 272 ± 4 g à J0. En moyenne, ce poids n'a pas varié à J7 (263 ± 7 ; NS vs. J0).

	DE Cœur J0	DE Cœur J7	DE Muscle J0	DE Muscle J7
Moyenne Wistar	2,33	1,79	12,56	10,00
SEM	0,26	0,20	2,46	1,23

Tableau 19. DE cardiaque et musculaire mesurés lors de l'étude de reproductibilité.

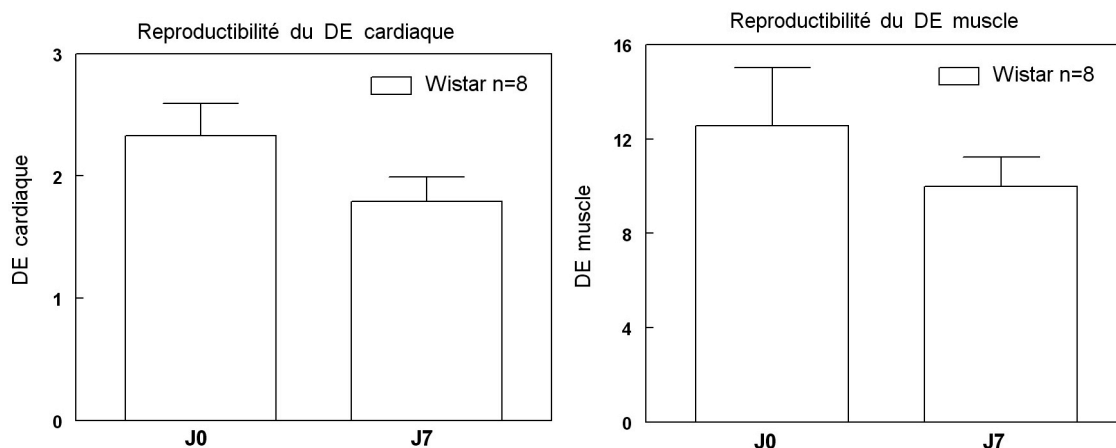


Figure 75. Reproductibilité du DE cardiaque (à gauche) et du DE musculaire (à droite).

Les deux DE cardiaque et musculaire mesurés à J7 ne sont pas significativement différents de ceux mesurés à J0 ($2,33 \pm 0,26$ à J0 vs. $1,79 \pm 0,20$ à J7 pour le DE cardiaque, $p=0,07$; $12,56 \pm 2,46$ à J0 vs. $10,00 \pm 1,23$ à J7 pour le DE musculaire, $p=0,48$) (tableau 19 et figure 75).

b. Etude de sensibilité.

Il n'y a pas de différence de poids entre les groupes de rats Zucker à J0 (457 ± 26 g pour le groupe "placebo" vs. 519 ± 31 g pour le groupe "rosiglitazone"; $p=0,154$). Le poids des rats du groupe "placebo" ne varie pas entre les deux mesures (457 ± 26 g à J0 vs. 471 ± 18 g à J21, NS). En revanche, le poids des rats du groupe "rosiglitazone" augmente de façon significative après traitement (519 ± 31 g à J0 vs. 564 ± 23 g à J21, $p<0,01$).

	DE Card. J0	DE Card. J21	DE Musc. J0	DE Musc. J21
Moyenne "Placebo"	1,07	1,06	6,97	5,37
SEM	0,16	0,14	1,39	1,15
Moyenne "Rosi"	1,20	2,06 † ‡	4,92	9,24 †
SEM	0,18	0,18	0,89	1,47

Tableau 20. DE cardiaque et musculaire mesurés lors de l'étude de sensibilité (†, $p < 0,05$ vs. J0; ‡, $p < 0,05$ vs. placebo).

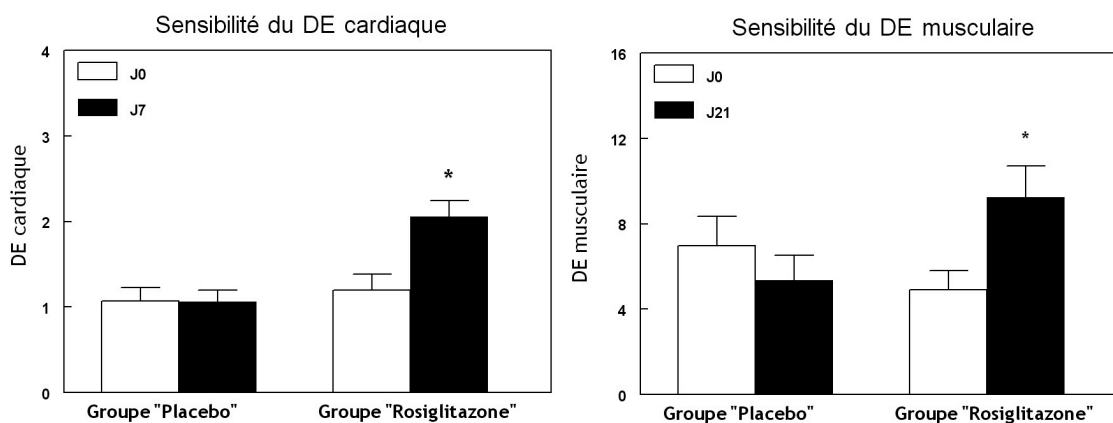


Figure 76. Sensibilité des DE cardiaque (à gauche) et musculaire (à droite). * $p < 0,05$ vs. J0

Pour le DE cardiaque, il n'y a pas de différence entre les deux groupes à J0 : $1,20 \pm 0,18$ pour le groupe "rosiglitazone" vs. $1,07 \pm 0,16$ pour le groupe "placebo" ($p=0,48$). Les DE musculaires des deux groupes ne sont pas non plus significativement différents à J0 : $4,92 \pm 0,89$ pour le groupe "rosiglitazone" vs. $6,97 \pm 1,39$ pour le groupe "placebo" ($p=0,20$).

Pour le groupe de rats "placebo", ni le DE cardiaque ($1,07 \pm 0,16$ à J0 vs. $1,06 \pm 0,14$ à J7 ; $p=0,75$), ni le DE musculaire ($6,97 \pm 1,39$ à J0 vs. $5,37 \pm 1,15$ à J21 ; $p=0,35$) ne varient de manière significative (tableau 20 et figure 76).

Pour le groupe de rats traités à la rosiglitazone, le DE cardiaque augmente de façon significative : $1,20 \pm 0,18$ à J0 vs. $2,06 \pm 0,18$ à J7 ($p=0,03$), de même que le DE musculaire : $4,92 \pm 0,89$ à J0 vs. $9,24 \pm 1,47$ à J21 ($p=0,04$).

Comparaison Wistar - Zucker : Les deux DE cardiaque et musculaire, mesurés à J0, pour les rats Zucker sont significativement inférieurs à ceux mesurés chez les rats Wistar lors de l'étude de reproductibilité : DE cardiaque ($2,33 \pm 0,26$ pour les Wistar vs. $1,14 \pm 0,12$ pour les Zucker ; $p < 0,01$) et DE muscle ($12,56 \pm 2,46$ pour les rats Wistar vs. $5,94 \pm 0,84$ pour les Zucker ; $p=0,03$).

III. Descripteur empirique musculaire chez le rat éveillé.

Les conditions expérimentales du protocole précédant nécessitent l'anesthésie de l'animal au pentobarbital. Cette anesthésie provoque une diminution de l'apport sanguin au muscle squelettique, et donc une diminution de l'accessibilité du traceur au niveau des transporteurs du glucose (Kraegen, 1990). Les autres anesthésiques (kétamine/xylazine, isoflurane) affectent moins la respiration et le rétablissement des animaux, mais ils ont un effet direct sur la glycémie (Saha, 2005). Les conditions expérimentales de ce travail n'étaient pas des plus favorables pour l'évaluation de la sensibilité de la méthode, mais elles étaient nécessaires pour une validation chez l'animal. Pour les études cliniques, le 6DIG sera injecté chez le patient non anesthésié. Pour compléter cette étude et évaluer l'effet de cette anesthésie, le DE musculaire a été mesuré chez le rat éveillé sous contention, l'étude du cœur sur un rat éveillé restant encore trop complexe.

1. Matériels et méthodes.

a. Matériels

Les rats Wistar et les rats Zucker obèses (*fa/fa*) sont fournis par Charles River (Saint-Germain sur l'Arbresles, France). Les animaux sont gardés en animalerie standard (cycle jour/nuit de 12h/12h, température 20°C, un rat par cage), et suivent un régime alimentaire standard SAFE (Lyon, France). L'insuline (Actrapid, 100 UI/ml) est fournie par Novo Nordisk (Paris, France), le kit de mesure de la glycémie pour l'analyseur YSI 2300 STATPLUS par Bioblock Scientific (Illkirch, France), les cathéters en polyuréthane par Portex (Kent, UK).

b. Méthodes.

Pour cette étude, 7 rats Wistar d'environ 270 grammes et 9 rats Zucker d'environ 330 grammes ont été utilisés.

Protocole général

Les études de reproductibilité et de sensibilité nécessitent de mesurer les descripteurs d'un même rat, à 7 jours d'intervalle. Pour cela, la pose de cathéter est effectuée deux jours avant l'expérience à J0 comme à J7 (figure 77).

Pour l'étude de sensibilité, les rats Zucker sont traités par gavage oral quotidien, avec soit un placebo (eau), soit de la rosiglitazone (1mg/ml à raison de 5 mg/kg/jour) pendant 7 jours.

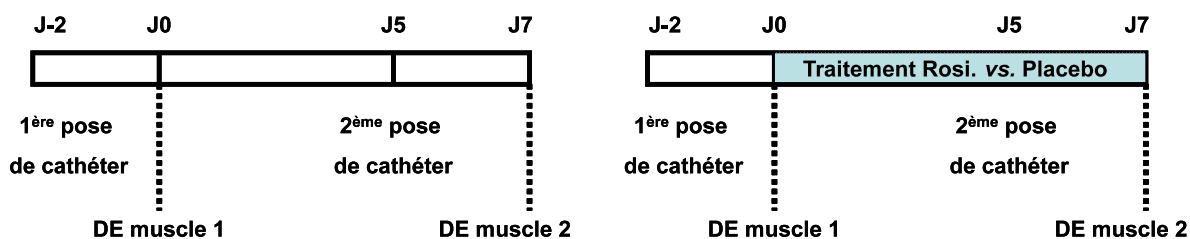


Figure 77. Protocole de l'étude de reproductibilité (à gauche) et de sensibilité (à droite) du DE musculaire chez le rat éveillé.

Préparation des animaux

Les rats sont anesthésiés pour la pose du cathéter en veine jugulaire avec une solution 50% kétamine (50mg/kg) / 50% xylazine (10 mg/kg) par injection intrapéritonéale à raison de 100 mg/ml. Cet anesthésique est plus adapté que le Pentobarbital pour une étude chronique car il est rapidement éliminé de l'organisme et induit une anesthésie relativement courte (30 minutes) favorisant le réveil rapide de l'animal. Un cathéter est placé dans la veine jugulaire droite pour les injections. Le cathéter est ensuite "tunnelisé" sous la peau entre les omoplates et fixé sur le dos de l'animal. L'animal est reconduit en animalerie. Pour l'expérience à J7, l'animal est de nouveau anesthésié, et un nouveau cathéter est placé dans la veine jugulaire gauche. L'animal est ensuite reconduit à l'animalerie.

Protocole d'acquisition de la radioactivité

L'animal est placé dans un tube de contention préalablement découpé et sa patte postérieure droite est fixée à l'extérieur du tube, sur un support (figure 78). L'animal est maintenu dans cette position pendant une vingtaine de minutes afin qu'il s'habitue au tube de contention.



Figure 78. Le rat est placé dans un tube de contention, sa patte est fixée à l'extérieur pour l'imagerie.

La gamma-caméra est placée horizontalement, au plus près de la patte postérieure de l'animal. Un premier bolus de 6DIG (9,25 MBq) est injecté, la radioactivité musculaire est mesurée pendant 20 minutes. Un bolus d'insuline est ensuite injecté (2,5 UI/kg). Après 5 minutes d'action de l'insuline, un nouveau bolus de traceur est injecté (9,25 MBq) et la radioactivité est de nouveau mesurée pendant 20 minutes. La figure 79 représente un exemple de scintigraphie obtenue avec le 6DIG dans le muscle d'un rat éveillé.

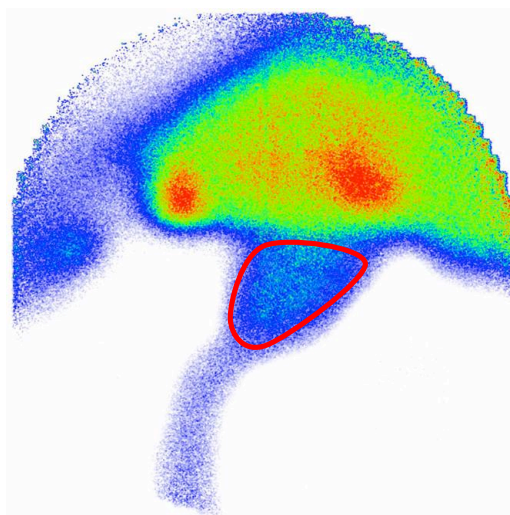


Figure 79. Exemple de scintigraphie obtenue dans le muscle avec le 6DIG, chez un rat éveillé.

Les données (en cpm/mm²) sont obtenues après traitement de l'image scintigraphique et détermination de la région d'intérêt. Les données sont converties en cpm/ml.

2. Résultats.

a. Etude de reproductibilité

Le poids des rats Wistar mâles (n=7) était de 266 ± 6 g à J0. En moyenne, ce poids n'a pas varié à J7 (271 ± 6 g ; $p=0,115$). Les moyennes des DE musculaires obtenues chez ces rats sont représentées dans le tableau 21 et sur la figure 80.

	DE Muscle J0	DE Muscle J7
Moyenne	6,12	5,05
SEM	1,09	1,12

Tableau 21. DE musculaires mesurés lors de l'étude de reproductibilité chez le rat éveillé.

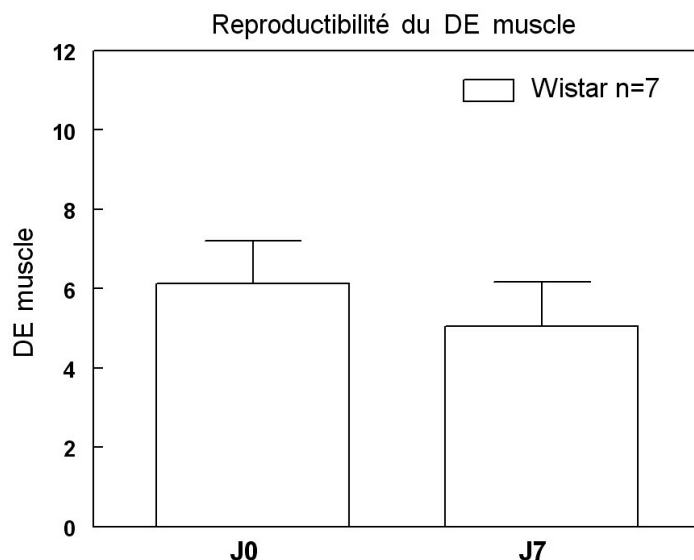


Figure 80. Reproductibilité du DE musculaire chez le rat éveillé.

Les DE musculaires calculés à J7 ne sont pas statistiquement différents de ceux calculés à J0 ($6,12 \pm 1,09$ à J0 vs. $5,05 \pm 1,12$ à J7 ; $p=0,24$).

b. Etude de sensibilité.

Le poids des rats Zucker ($n=9$) était de $327 \pm 10g$ à J0. Après la première mesure (J0), les rats sont séparés de façon aléatoire en deux groupes de traitement. En considérant le poids des rats par groupe, le poids des rats "rosiglitazone" ne varie pas entre J0 et J7 ($329 \pm 10g$ à J0 et $333 \pm 10g$ à J7 ; $p=0,50$), celui des rats "placebo" ne varie pas non plus ($325 \pm 19g$ à J0 et $323 \pm 9g$ à J7 ; $p=0,71$).

Les DE muscle calculés pour l'étude de sensibilité sont représentés dans le tableau 22 et figure 81.

	DE Muscle J0	DE Muscle J7
Moyenne "Placebo"	2,43	3,46
SEM	0,87	1,03
Moyenne "Rosi"	1,78	5,75 *
SEM	0,24	1,10

Tableau 22. DE muscle mesurés lors de l'étude de sensibilité chez le rat éveillé (* $p<0,05$ vs. J0).

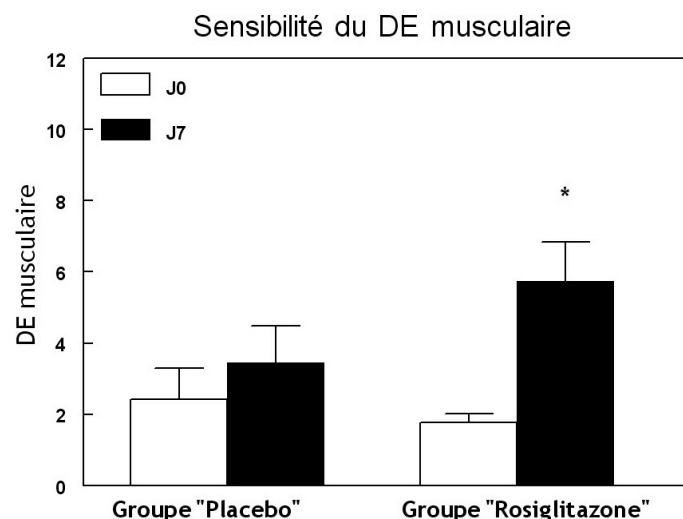


Figure 81. Sensibilité du DE musculaire chez le rat éveillé.

Les DE musculaires calculés à J0 ne diffèrent pas entre chaque groupe ($1,78 \pm 0,24$ pour le groupe "rosiglitazone" vs. $2,43 \pm 0,87$ pour le groupe "placebo"; $p=0,46$).

Dans le groupe "placebo", le DE musculaire ne varie pas entre J0 et J7 : $2,43 \pm 0,87$ vs. $3,46 \pm 1,03$ ($p=0,71$). En revanche, après 7 jours de traitement, le DE musculaire est multiplié par trois pour les rats traités à la rosiglitazone ($1,78 \pm 0,24$ à J0 vs. $5,75 \pm 1,10$ à J7 ; $p=0,04$).

Comparaison Wistar - Zucker : Les DE musculaires de la totalité des rats Zucker sont statistiquement plus faibles que le DE des rats Wistar sains à J0 ($6,12 \pm 1,09$ pour les rats Wistar vs. $2,07 \pm 0,39$ pour les rats Zucker ; $p=0,01$).

IV. Discussion.

Les deux DE cardiaque et musculaire sont validés et corréntent au index d'IR fournis par la modélisation mathématique. Dans le cadre du transfert de la méthode de mesure de l'IR avec le 6DIG, l'objectif de cette troisième partie était de concevoir un protocole unique de mesure de la sensibilité à l'insuline cardiaque et musculaire, basé sur l'utilisation de ces deux DE.

La première partie de ce travail a montré la faisabilité d'un protocole unique pour cette mesure à la fois de l'IR cardiaque et musculaire chez le rat anesthésié. Le protocole de mesure, appliqué chez des rats sains et des rats insulino-résistants, a permis de discriminer ces deux populations. Les deux DE sont plus élevés dans la population saine. Le protocole expérimental permet donc la mesure de la sensibilité à l'insuline dans le cœur et le muscle squelettique.

La deuxième partie de cette étude concerne la reproductibilité et la sensibilité des deux DE.

La mesure des deux DE sur le même animal, à sept jours d'intervalle, est reproductible pour les DE cardiaque et musculaire.

Les DE cardiaque et musculaire, mesurés chez des animaux insulino-résistants traités à la rosiglitazone, permettent de mettre en évidence une amélioration de la sensibilité à l'insuline.

La reproductibilité et la sensibilité des deux DE, calculées au cours d'un même protocole de 45 minutes, sont donc validées.

Pour se rapprocher des conditions expérimentales qui seront appliquées chez l'homme et pour s'affranchir des effets de l'anesthésie, le transport du 6DIG dans le muscle squelettique a été mesuré également chez des rats éveillés. Cette étude montre que le DE musculaire est également reproductible et sensible chez le rat éveillé.

Cependant, les valeurs des DE musculaires obtenues sur rats anesthésiés sont plus élevées que celles obtenues lors de ces mêmes études sur rats "éveillés". Malgré l'acclimatation de l'animal à la contention, le stress induit par ce protocole peut expliquer ces différences (les conditions expérimentales étant très différentes). Le résultats tout à fait encourageant de cette étude est que l'effet de la rosiglitazone sur l'augmentation du DE musculaire après traitement est plus important pour le groupe de rats éveillés (augmentation de 1,9 fois pour 21 jours de traitement lors de l'étude sur rats anesthésiés, alors que l'augmentation est de 3,2 fois pour 7 jours de traitement lors de l'étude sur rats éveillés). L'étude du transport du 6DIG dans le muscle squelettique chez le rat éveillé permet une meilleure sensibilité, et laisse présager des résultats très positifs chez l'homme.

Discussion Générale

Discussion générale

L'insulino-résistance (IR), est souvent associée à d'autres anomalies métaboliques, telles que le surpoids et l'obésité, qui affectent plus d'un milliard de personnes dans le monde (rapport OMS, 2006). L'IR est également au centre d'un regroupement de perturbations métaboliques désigné sous le terme de "Syndrome Métabolique" et elle contribue au développement du diabète de type 2. Le syndrome métabolique et le diabète de type 2 augmentent considérablement le risque de maladies cardiovasculaires, qui sont la première cause de mortalité dans le monde (Gami, 2007).

Le dépistage précoce de la résistance à l'insuline, permettant une prise en charge rapide des sujets à risque et diminuant ainsi le risque de développer un diabète de type 2, est d'un intérêt clinique majeur. Or, parmi les techniques actuelles de mesure de la sensibilité à l'insuline, aucune n'est applicable en routine clinique. Ces techniques sont soit trop contraignantes, comme la méthode de référence le clamp euglycémique hyperinsulinémique (clamp E.H.), soit peu reproductibles et peu informatives, comme le HOMA et le QUICKI. De plus, elles ne permettent pas la mesure de la sensibilité à l'insuline de façon régionale (Muniyappa, 2008). C'est dans ce cadre que la technique de mesure de l'IR cardiaque et musculaire avec le 6DIG a été développée.

La modélisation mathématique du transport du 6DIG dans le cœur permet de calculer un index d'IR cardiaque (Briat, 2007). Le premier objectif de mon travail a été de valider cette méthode de mesure de l'IR cardiaque avec le 6DIG. Les études de sensibilité et de reproductibilité montrent que ces index mesurés chez les mêmes animaux sont similaires à sept jours d'intervalle et qu'ils sont augmentés lorsque la sensibilité à l'insuline d'un animal est améliorée par un traitement pharmacologique. Cependant, le calcul de l'index par la modélisation mathématique ne permet pas, en l'état, son utilisation chez l'homme, car il requiert beaucoup trop de prélèvements sanguins et un traitement des données un peu complexe. Le développement d'une procédure de traitement des cinétiques cardiaques du traceur, basée sur une simple analyse graphique des courbes, était indispensable. Le descripteur empirique, qui a été développé et validé par rapport aux valeurs d'index fournies par le modèle au cours de ce travail, est reproductible et sensible.

Le deuxième objectif de mon travail a été d'établir et de valider une méthode de mesure de l'IR musculaire avec le 6DIG. La détermination de l'IR musculaire avec le 6DIG a nécessité l'adaptation du modèle développé dans la littérature pour le 3OMG (Bertoldo, 2005). Les études réalisées ont montré que le transport du 6DIG dans le muscle squelettique pouvait être modélisé et fournir un index d'IR musculaire, calculé à partir des cinétiques tissulaire et sanguine du 6DIG mesurées sur trois heures. Cette méthodologie, trop longue, n'est cependant pas envisageable pour une utilisation chez l'homme ou même pour des études physiopathologiques chez l'animal. C'est pourquoi, un DE corrélé aux valeurs d'index du modèle mathématique, et surtout calculé pour des temps courts d'acquisition, a été recherché.

La validation complète de cette méthode de mesure de la sensibilité cardiaque et musculaire à l'insuline avec le 6DIG nécessitait la comparaison avec la méthode de référence, le clamp E.H. Pour un groupe de rats donné, les index d'IR cardiaques et musculaires corrèlent significativement avec le GIR. Ces deux index reflètent donc la sensibilité à l'insuline d'un individu, et apportent en plus une information tissulaire. Les DE cardiaque et musculaire sont très bien corrélés à leur index respectif. La corrélation entre les DE et le GIR est bonne mais non significative. Il apparaît que l'analyse des cinétiques tissulaires seules est légèrement moins sensible que les index issus de la modélisation.

Les index d'IR HOMA et QUICKI ont été proposés dans la littérature en alternative au clamp E.H., trop long et contraignant (Muniyappa, 2008). Dans notre étude, ni le HOMA ni le QUICKI ne corrèlent avec le GIR, valeur de référence pour la mesure de la sensibilité à l'insuline. Déjà dans leur étude, R. Muniyappa et collaborateurs présentaient le HOMA et le QUICKI comme des index reflétant plutôt de l'IR hépatique (Muniyappa, 2009). Il semble en effet que ces index ne soient pas une bonne alternative au GIR. De même, aucune corrélation n'est observée entre le HOMA et le QUICKI et les mesures d'IR obtenues avec le 6DIG. Le 6DIG permettant la mesure de l'IR cardiaque et musculaire, et l'IR hépatique ne résultant pas d'un défaut de transport du glucose, mais d'un défaut d'action de l'insuline sur le foie, ce manque de corrélation n'est donc pas surprenant.

Le troisième objectif de mon travail a été la mise au point d'un protocole de mesure simultanée de l'IR cardiaque et musculaire, basé sur l'utilisation des deux DE, afin d'envisager le passage de ces deux mesures chez l'homme. C'est ce protocole qui a été utilisé pour l'étude de reproductibilité et de sensibilité des deux DE. Les résultats montrent que les deux DE sont

reproductibles et sensibles, pour un protocole de 45 minutes. Ce protocole ouvre des perspectives très intéressantes pour des études physiopathologiques chez l'animal.

Le traitement des cinétiques cardiaques du 6DIG présente cependant des limitations méthodologiques. Le traitement en aval étant standardisé, le placement de la région d'intérêt sur les images scintigraphiques reste le principal problème. L'injection d'une plus grande quantité de radioactivité et/ou l'utilisation d'un scanner permettra peut-être d'optimiser le placement de la région d'intérêt. De plus, les protocoles mis en œuvre pour la mesure de l'IR cardiaque et musculaire avec le 6DIG restent contraignants pour l'animal.

Les problèmes méthodologiques restant sont maintenant clairement identifiés. L'objectif futur sera de simplifier le protocole en s'affranchissant de l'implantation de deux cathéters, en posant une simple voie d'injection dans la veine caudale de l'animal. Ce protocole devrait permettre des études longitudinales de mesures de l'IR.

La première injection du 6DIG chez l'homme, lors des études cliniques de phase I, a eu lieu le 6 mai 2010. L'étude du transport du 6DIG chez l'homme, pour lequel les contraintes techniques et méthodologiques sont moindres, sera facilitée également par le fait que la mesure ne nécessite pas d'anesthésie. De plus, les conditions métaboliques sont plus facilement contrôlables chez l'homme. Ces études testeront également la faisabilité d'une région d'intérêt sur l'aorte pour obtenir la cinétique sanguine du traceur. En effet, comme l'ont montré les corrélations entre les DE et le GIR, la cinétique sanguine apporte des informations importantes sur le comportement du 6DIG *in vivo*. De ce fait, elles faciliteront probablement le traitement des données. La reformulation des descripteurs empiriques et l'adaptation des modèles mathématiques seront nécessaires.

Annexes

Annexe 1: Descripteurs empiriques cardiaques testés

Pour le développement d'un DE cardiaque, la recherche d'un paramètre discriminant à partir des courbes cinétiques s'est effectuée en plusieurs étapes :

1. Calcul de pentes

Plusieurs rapports de pentes (insuline / basal) ont tout d'abord été testés : pentes "pic d'activité"-2 minutes, pentes "pic d'activité"-5 minutes, pentes "pic d'activité"-10 minutes, pentes 2-4 minutes, pentes 2-8 minutes, pentes 4-6 minutes, pentes 6-8 minutes, pentes 10-15 minutes et pentes 15-20 minutes. La meilleure corrélation avec l'index d'IR fourni par le modèle mathématique est obtenue pour le rapport de pente 10-15 minutes ($r=0,10$).

Le calcul de rapport de pentes seul ne donnant aucun résultat concluant, l'association de rapport de pentes (addition, soustraction, multiplication et rapport), calculées à différents temps, a également été testée. Mais, aucune de ces formules ne présentait de corrélation satisfaisante avec l'index.

2. Fonction double exponentielle

Les cinétiques cardiaques du 6DIG sur les 20 minutes d'acquisition de radioactivité peuvent être ajustées avec une fonction double exponentielle décroissante de la forme : $ya(t)=A1*\exp(-a1*t)+A2*\exp(-a2*t)$. Les paramètres A et a, calculés en conditions basale et sous insuline, ont fait l'objet de plusieurs combinaisons, mais aucune n'a été retenue.

3. Aire sous la courbe et activité ponctuelle

Les différences d'aire sous la courbe ont été déduites des ajustements des données avec la fonction double exponentielle. Les aires sous la courbe ont été calculées à deux temps

différents : 10 et 20 minutes. Diverses combinaisons (rapport, addition, multiplication et soustraction) ont été testées, mais aucune n'a montré de corrélation avec l'index d'IR.

La valeur ponctuelle de l'activité à différents temps donnés a également été étudiée, mais n'a rien fourni de concluant.

4. Fonction mono-exponentielle

De la même façon qu'avec la fonction double exponentielle, l'ajustement des courbes cinétiques avec une fonction mono-exponentielle de type $y_a(t) = A1 * \exp^{-a1*t}$ a été testé. L'ajustement a été fait sur la durée totale d'acquisition de la radioactivité, en partant du "pic d'activité", ainsi que pour plusieurs temps différents ("pic d'activité"-5 minutes et "pic d'activité"-10 minutes). Ici encore, les paramètres d'ajustement A et a ont été combinés. Les meilleurs résultats ont été obtenus pour le rapport (insuline / basal) des paramètres A : $r=0,37$ avec l'index d'IR.

Annexe 2: Descripteurs empiriques musculaires testés

Comme lors de la recherche du DE cardiaque, l'étude du DE musculaire s'est effectuée en plusieurs étapes :

1. Calcul de pentes

Plusieurs rapports de pentes (insuline / basal) ont tout d'abord été effectués : pentes "début d'acquisition"-2 minutes, pentes 50-90 secondes, pentes 70-110 secondes, pentes 2,5-5 minutes, pentes 5-10 minutes, pentes 10-15 minutes, pentes 15-20 minutes, pentes 10-20 minutes, pentes 1-5 minutes et pentes 5-10 minutes.

Le calcul des rapports de pentes seul ne donnant aucun résultat concluant, l'association de rapport de pentes (addition, soustraction, multiplication et rapport), calculées à différents temps, a également été testée. Mais, aucune de ces formules ne présentait de corrélation satisfaisante avec l'index.

La meilleure corrélation avec l'index d'IR fourni par le modèle mathématique est obtenue pour les pentes calculées entre 1-5 minutes et 5-10 minutes sous insuline seulement (respectivement, $r=0,52$ et $r=0,49$). Le produit de ces deux pentes a été retenue.

2. Fonction double exponentielle

L'allure des cinétiques musculaires obtenues avec le 6DIG sur les 90 minutes d'acquisitions de la radioactivité permet d'ajuster les courbes avec une fonction double exponentielle croissante du type : $y_b(t) = B1 * (1 - \exp^{-b1*t}) + B2 * (1 - \exp^{-b2*t})$. Les paramètres B et b ont été calculés en condition basale et sous insuline, lors de l'ajustement des cinétiques musculaires. La combinaison de paramètres qui corrélait le mieux avec l'ajustement de la courbe était obtenue par la formule: $(B1^{ins} - B1^{bas}) / (B1^{ins} + B2^{ins})$, où $B1^{ins}$ et $B2^{ins}$ représentent les valeurs des paramètres B1 et B2 mesurés en condition insuline et le $B1^{bas}$ représente le paramètre B1 mesuré en condition basale. Cette formule présentait une corrélation satisfaisante avec l'index d'IR fourni par le modèle. Cependant, lorsque cette formule est appliquée pour des temps courts d'acquisition (20 minutes), la corrélation avec l'index n'est plus acceptable. Ce DE n'a donc pas été retenu.

3. Aire sous la courbe et activité ponctuelle

Comme lors de la recherche du DE cardiaque, les différences d'aires sous la courbe ont été déduites des ajustements des données avec la fonction double exponentielle. Les aires sous la courbe ont été calculées à plusieurs temps différents. Diverses combinaisons (rapport, addition, multiplication et soustraction) ont été testées, mais aucune n'a montré de corrélation avec l'index d'IR. La valeur ponctuelle de l'activité à différents temps donnés a également été étudiée, mais n'a rien fourni de concluant.

Références bibliographiques

- Abbasi F**, Kamath V, Rizvi AA, Carantoni M, Chen YD, Reaven GM. Results of a placebo-controlled study of the metabolic effects of the addition of metformin to sulfonylurea-treated patients. Evidence for a central role of adipose tissue. *Diabetes Care* 1997 ; 20(12):1863-9.
- Aboderin I**, A. Kalache. Life course perspectives on coronary heart disease, stroke and diabetes : key issues and implications for policy and research. Geneva, World Health Organisation, 2001.
- Adams JM**, Pratipanawatr T, Berria R, et al. Ceramide content is increased in skeletal muscle from obese insulin-resistant humans. *Diabetes* 2004 ; 53:25-31.
- Ajuwon KM**, Spurlock ME. Palmitate activates the NF-kB transcription factor and induces IL-6 and TNF α expression in 3T3-L1 adipocytes. *J Nutr* 2005 ; 135:1841-1846.
- Alberti KG**, Zimmet P, Shaw J. The metabolic syndrome-a new worldwide definition. *Lancet* 2005 Sep 24-30 ; 366(9491):1059-62.
- 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.
- Alessi MC**, Juhan-Vague I. PAI-1 and the metabolic syndrome:links, causes, and consequences. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006 ; 26:2200-7.
- Alvarez-Blasco F**, Botella-Carretero JI, San Millan JL, Escobar- Morreale HF. Prevalence and characteristics of the polycystic ovary syndrome in overweight and obese women. *Arch Intern Med* 2006 ; 166:2081-2086
- Andersen G**, Rose CS, Hamid YH, et al. Genetic variation of the GLUT10 glucose transporter (SLC2A10) and relationships to type 2 diabetes and intermediary traits. *Diabetes* 2003 Sep ; 52(9):2445-8.
- Angulo C**, Rauch MC, Droppelmann A, et al. Hexose transporter expression and function in mammalian spermatozoa: cellular localization and transport of hexoses and vitamin C. *J Cell Biochem* 1998 ; 71(2):189-203.
- Araki E**, Oyadomari S, Mori M. Impact of endoplasmic reticulum stress pathway on pancreatic β -cells and diabetes mellitus. *Exp Biol Med* 2003 ; 228:1213-1217.
- 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 Jun ; 30(6):437-40.
- Assmann G**, Nofer JR, Schulte H. Cardiovascular risk assessment in metabolic syndrome: view from PROCAM. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2004 ; 33:377-92.
- Augustin R**, Carayannopoulos MO, Dowd LO, Phay JE, Moley JF, Moley KH. Identification and characterization of human glucose transporter-like protein-9 (GLUT9): alternative splicing alters trafficking. *J Biol Chem*. 2004 Apr 16 ; 279(16):16229-36.
- Baillyes EM**, Navé BT, Soos MA, Orr SR, Hayward AC, Siddle K. Insulin receptor IGF-I receptor hybrids are widely distributed in mammalian tissues: quantification of individual receptor species by selective immunoprecipitation and immunoblotting. *Biochem J* 1997 Oct 1 ; 327 (Pt 1):209-15.
- Bajzová M**, Kováčiková M, Vítková M, et al. Retinol-binding protein 4 expression in visceral and subcutaneous fat in human obesity. *Physiol Res* 2008 ; 57(6):927-34.

- Baker GF**, Widdas WF. The asymmetry of the facilitated transfer system for hexoses in human red cells and the simple kinetics of a two component model. *J Physiol* 1973 ; 231(1):143-65.
- Baker JL**, Olsen LW, Sorensen TI. Childhood body-mass index and the risk of coronary heart disease in adulthood. *N Engl J Med* 2007 ; 357:2329–2337.
- Balkau B**, Charles MA. Comment on the provisional report from the WHO consultation. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR). *Diabet Med* 1999 ; 16(5):442-3.
- Balkau B**, Valensi P, Eschwège E, Slama G. A review of the metabolic syndrome. *Diabetes & Metab* 2007 ; 33 405–413.
- Balkau B**, Charles MA, Drivsholm T, et al. Frequency of the who metabolic syndrome in european cohorts, and an alternative definition of an insulin resistance syndrome. *Diabetes Metab* 2002 ; 28(5) :364–76.
- Barnett JE**, Holman GD, Chalkley RA, Munday KA. Evidence for two asymmetric conformational states in the human erythrocyte sugar-transport system. *Biochem J* 1975 Mar ; 145(3):417-29.
- Bastard JP**, Maachi M, Tran Van Nhieu J. Adipose tissue IL-6 content correlates with resistance to insulin activation of glucose uptake both in vivo and in vitro. *J Clin Endocrinol Metab* 2002 ; 87:2084-9.
- Bastard JP**, Pieroni L, Hainque B. Relationship between plasma plasminogen activator inhibitor 1 and insulin resistance. *Diabetes Metab Res Rev* 2000 ; 16:192-201.
- Berghofer A**, Pischon T, Reinhold T, Apovian CM, Sharma AM, Willich SN. Obesity prevalence from a European perspective: a systematic review. *BMC Public Health* *BMC Public Health* 2008 ; 8:200.
- Bergman RN**, Ider YZ, Bowden CR, Cobelli C. Quantitative estimation of insulin sensitivity. *Am J Physiol* 1979 Jun ; 236(6):E667-77.
- Bergman RN**, Ader M. Free fatty acids and pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Trends Endocrinol. Metab* 2000 ; 11:351–356.
- Bergsten P**. Pathophysiology of impaired pulsatile insulin release. *Diabetes Metab Res Rev* 2000 ; 16:179-91.
- Bernard L**, Christin-Maître S, Basille C, Chabbert-Buffet N. Insulino-résistance et syndrome des ovaires polykystiques. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité* 2003 ; 31:109–116.
- Bertoldo A**, Peltoniemi P, Oikonen V, Knuuti J, Nuutila P, Cobelli C. Kinetic modeling of [(18)F]FDG in skeletal muscle by PET: a four-compartment five-rate-constant model. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2001 Sep ; 281(3):E524-36.
- Bertoldo A**, Price J, Mathis C, et al. 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 Mar ; 90(3):1752-9.
- Bignan G**. Synthèse d’analogues iodés du glucose. Grenoble, Université Joseph Fourier 1993.
- Biolo G**, Declan Fleming RY, Wolfe RR. Physiologic hyperinsulinemia stimulates protein synthesis and enhances transport of selected amino acids in human skeletal muscle. *J Clin Invest* 1995 ; 95:811-819.
- Bjørbaek C**, Kahn BB. Leptin signaling in the central nervous system and the periphery. *Recent Prog Horm Res* 2004 ; 59:305-31.
- Björnholm M**, Kawano Y, Lehtihet M, Zierath JR. Insulin receptor substrate-1 phosphorylation and phosphatidylinositol 3-kinase activity in skeletal muscle from NIDDM subjects after in vivo insulin stimulation. *Diabetes* 1997 Mar ; 46(3):524-7.
- Blakemore SJ**, Aledo JC, James J, Campbell FC, Lucocq JM, Hundal HS. The GLUT5 hexose transporter is also localized to the basolateral membrane of the human jejunum. *Biochem J* 1995 ; 309(Pt 1): 7-12.

- Bland JM**, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 1986 ; 1(8476):307-10.
- Blodgett DM**, De Zutter JK, Levine KB, Karim P, Carruthers A. Structural basis of GLUT1 inhibition by cytoplasmic ATP. *J Gen Physiol* 2007 ; 130(2):157-68.
- Blodgett DM**, Graybill C, Carruthers A. Analysis of glucose transporter topology and structural dynamics. *J Biol Chem* 2008 Dec 26 ; 283(52):36416-24.
- Bloomgarden ZT**. Second World Congress on the Insulin Resistance Syndrome: insulin resistance syndrome and nonalcoholic fatty liver disease. *Diabetes Care* 2005 ; 28:1518–1523.
- Bloomgarden ZT**. American Association of Clinical Endocrinologist (AACE) consensus conference on the insulin resistance syndrome. *Diabetes Care* 2003 ; 26:1297-1303.
- Boden G**, Chen X, Capulong E & Mozzoli M. Effects of free fatty acids on gluconeogenesis and autoregulation of glucose production in type 2 diabetes. *Diabetes* 2001 ; 50:810–816.
- Boden G**, Chen X, Ruiz J. Mechanisms of fatty acid-induced inhibition of glucose uptake. *Journal of Clinical Investigation* 1994 ; 93:2438–2446.
- Boden G**, Shulman GI. Free fatty acids in obesity and type 2 diabetes: defining their role in the development of insulin resistance and beta-cell dysfunction. *Eur J Clin Invest* 2002 Jun ; 32 Suppl 3:14-23.
- Bogan JS**, Hendon N, McKee AE, Tsao TS, Lodish HF. Functional cloning of TUG as a regulator of GLUT4 glucose transporter trafficking. *Nature* 2003 ; 425:727-33.
- Boirie Y**, Gachon P, Cordat N. Differential insulin sensitivities of glucose, amino acid, and albumin metabolism in elderly men and women. *J Clin Endocrinol Metab* 2001, 86 : 638-644.
- Bonadonna RC**, Cucinotta D, Fedele D, Riccardi G, Tiengo A. The metabolic syndrome is a risk indicator of microvascular and macrovascular complications in diabetes: results from Metascreen, a multicenter diabetes clinic-based survey. *Diabetes Care* 2006 ; 29:2701-2707.
- Bonner-Weir S**, Baxter LA, Schuppin GT, Smith FE. A second pathway for regeneration of adult exocrine and endocrine pancreas. A possible recapitulation of embryonic development. *Diabetes* 1993 ; 42:1715–1220.
- Bonner-Weir S**. Islet growth and development in the adult. *J Mol Endocrinol* 2000 ; 24:297–302.
- Bonora E**, Targher G, Formentini G, Calcaterra F, Lombardi S, et al. The metabolic syndrome is an independent predictor of cardiovascular disease in type 2 diabetic subjects. Prospective data from the Verona Diabetes Complications Study. *Diabet Med* 2004 ; 21:52–58.
- Boucher J**, Masri B, Daviaud D, Gesta S, Guigné C, Mazzucotelli A, Castan-Laurell I, Tack I, Knibiehler B, Carpené C, Audigier Y, Saulnier-Blache JS, Valet P. Apelin, a newly identified adipokine up-regulated by insulin and obesity. *Endocrinology* 2005; 146(4):1764-71.
- Bouloumie A**, Marumo T, Lafontan M, Busse R. Leptin induces oxidative stress in human endothelial cells. *FASEB J* 1999 ; 13:1231–1238.
- Bourre JC**, Vuillez JP. Imaging in oncology and international rules for evaluation: the nuclear medicine. *Bull Cancer* 2009 ; 96(11):1127-37.
- Bouzakri K**, Roques M, Gual P, Espinosa S, Guebre-Egziabher F, et al. Reduced activation of phosphatidylinositol-3 kinase and increased serine 636 phosphorylation of insulin receptor substrate-1 in primary culture of skeletal muscle cells from patients with type 2 diabetes. *Diabetes* 2003; 52(6):1319-25.

- Bouzakri K**, Zierath JR. MAP4K4 gene silencing in human skeletal muscle prevents tumor necrosis factor-alpha-induced insulin resistance. *J Biol Chem* 2007; 282(11):7783-9.
- Bozaoglu K**, Bolton K, McMillan J, Zimmet P, Jowett J, Collier G, Walder K and Segal D. Chemerin is a novel adipokine associated with obesity and metabolic syndrome. *Endocrinology* 2007 ; 148, 4687–4694.
- Braun JEA**, Severson DL. Regulation of the synthesis, processing and translocation of lipoprotein lipase. *Biochem J* 1992 ; 287:337–347.
- Bray GA**, Greenway FL. Pharmacological treatment of the overweight patient. *Pharmacol Rev* 2007 ; 59:151–184.
- 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):1756-64.
- Brown JD**, Plutzky J. Peroxisome proliferator-activated receptors as transcriptional nodal points and therapeutic targets. *Circulation* 2007 ; 115(4):518-33.
- Bryant NJ**, Govers R, James DE. Regulated transport of the glucose transporter GLUT4. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2002 ; 3:267-77.
- Buchwald H**, Avidor Y, Braunwald E, Jensen MD, Pories W, Fahrback K, Schoelles K. Bariatric surgery: a systematic review and meta-analysis. *JAMA* 2004 ; 292:1724–1737.
- Burant CF**, Takeda J, Brot-Laroche E, Bell GI, Davidson NO. Fructose transporter in human spermatozoa and small intestine is GLUT5. *J Biol Chem* 1992 ; 267(21):14523-6.
- Butler AE**, Janson J, Bonner-Weir S, Ritzel R, Rizza RA, Butler PC. β -cell deficit and increased β -cell apoptosis in humans with type 2 diabetes. *Diabetes* 2003 ; 52:102–110.
- Butler PC**, Chou J, Carter WB, Wang YN, Bu BH, Chang D, Chang JK, Rizza RA. Effects of meal ingestion on plasma amylin concentration in NIDDM and nondiabetic humans. *Diabetes* 1990 ; 39:752–756.
- Byrne MM**, Sturis J, Clément K. Insulin secretory abnormalities in subjects with hyperglycemia due to glucokinase mutations. *J Clin Invest* 1994 ; 93:1120-30.
- Cameron AJ**, Shaw JE, and Zimmet PZ. The metabolic syndrome : prevalence in worldwide populations. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2004 ; 33(2):351–75.
- Capeau J**. Voies de signalisation de l'insuline: mécanismes affectés dans l'insulino-résistance. *Medecine/Sciences* 2003 ; 19:834-9.
- Caprio S**. Insulin resistance in childhood obesity. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2002 ; 15(Suppl 1):487–492.
- Carayannopoulos MO**, Chi MM, Cui Y, Pingsterhaus JM, McKnight RA, Mueckler M, Devaskar SU, Moley KH. GLUT8 is a glucose transporter responsible for insulin-stimulated glucose uptake in the blastocyst. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000 ; 97(13):7313-8.
- Carpentier JL**, Insulin receptor internalization: molecular mechanisms and physiopathological implications. *Diabetologia* 1994 ; 37(suppl 2):S117-S124.
- Carr MC**. The emergence of the metabolic syndrome with menopause. *J Clin Endocrinol Metab* 2003 ; 88:2404–2411.
- Carruthers A**. Anomalous asymmetric kinetics of human red cell hexose transfer: role of cytosolic adenosine 5'-triphosphate. *Biochemistry* 1986 ; 25(12):3592-602.
- Carruthers A**. Facilitated diffusion of glucose. *Physiol Rev* 1990 ; 70(4):1135-76.
- CDACPGE**. Canadian Diabetes Association and Clinical Practice Guidelines Expert Committee. Canadian Diabetes Association 2003 Clinical Practice Guidelines for the

- Prevention and Management of Diabetes in Canada. *Can J Diabetes* 2003 ; 27(suppl 2):S1-S152.
- Chandran M**, Phillips SA, Ciaraldi T, Henry R. Adiponectin: More Than Just Another Fat Cell Hormone? *Diabetes Care* 2003 ; 26(8):2442-2450.
- Charles MA**, Eschwège E, Basdevant A. Monitoring the obesity epidemic in France: the obepi surveys 1997-2006. *Obesity* 2008 ; 16(9):2182-6.
- Chen X**, Iqbal N & Boden G. The effects of free fatty acids on gluconeogenesis and glycogenolysis in normal subjects. *Journal of Clinical Investigation* 1999 ; 103:365–372.
- Cheng AY**, Fantus IG. Oral antihyperglycemic therapy for type 2 diabetes mellitus. *CMAJ*. 2005 ; 172(2):213-26.
- Cherrington AD**. Banting lecture 1997. Control of glucose uptake and release by the liver in vivo. *Diabetes* 1999 ; 48:1198–1214.
- Cho LW**, Atkin SL. Cardiovascular risk in women with polycystic ovary syndrome. *Minerva Endocrinol* 2007 ; 32:263–273.
- 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):1171-9.
- Considine RV**, Sinha M, Heiman M, Kriauciunas A, Stephens T, Nyce M, Ohannesian J, and Marco C. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med* 1996 ; 334:292-295.
- Cook S**, Auinger P, Li C, Ford ES. Metabolic syndrome rates in United States adolescents, from the National Health and Nutrition Examination Survey, 1999–2002. *J Pediatr* 2008 ; 152:165–170.
- Cooper GJ**, Willis AC, Clark A, Turner RC, Sim RB, Reid KB. Purification and characterization of a peptide from amyloid-rich pancreases of type 2 diabetic patients. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987 ; 84:8628–8632.
- Cornelius P**, MacDougald OA, Lane MD. Regulation of adipocyte development. *Annu Rev Nutr* 1994 ; 14:99e129.
- Cornier MA**, Dabelea D, Hernandez TL, Lindstrom RC, Steig AJ, Stob NR, Van Pelt RE, Wang H, and Eckel RH. The Metabolic Syndrome. *Endocrine Reviews* 2008 ; 29(7):777–822.
- Corona G**, Mannucci E, Petrone L, Balercia G, Paggi F, et al. NCEPATPIII defined metabolic syndrome, type 2 diabetes mellitus, and prevalence of hypogonadism in male patients with sexual dysfunction. *J Sex Med* 2007 ; 4:1038–1045.
- Cruz ML** and Goran MI. The metabolic syndrome in children and adolescents. *Curr Diab Rep* 2004 ; 4(1) :53–62.
- Cummings DE**, Schwartz MW. Genetics and pathophysiology of human obesity. *Annu Rev Med* 2003 ; 54:453–71.
- Curat CA**, Miranville A, Sengenès C, Diehl M, Tonus C, Busse R, Bouloumié A. From blood monocytes to adipose tissue-resident macrophages: induction of diapedesis by human mature adipocytes. *Diabetes*. 2004 ; 53(5):1285-92.
- Cusi K**, Maezono K, Osman A, Pendergrass M, Patti ME, et al. Insulin resistance differentially affects the PI 3-kinase- and MAP kinase-mediated signaling in human muscle. *J Clin Invest* 2000 ; 105:311– 320.
- Dauterive R**, Laroux S, Bunn RC, Chaisson A, Sanson T, Reed BC. C-terminal mutations that alter the turnover number for 3-O-methylglucose transport by GLUT1 and GLUT4. *J Biol Chem* 1996 May 10 ; 271(19):11414-21.

- Davidson NO**, Hausman AM, Ifkovits CA, Buse JB, Gould GW, Burant CF, Bell GI. Human intestinal glucose transporter expression and localization of GLUT5. *Am J Physiol* 1992 ; 262(3 Pt 1):C795-800.
- Davignon J**. Beneficial cardiovascular pleiotropic effects of statins. *Circulation* 2004 ; 109:III39 –III43.
- Dawson D**, Vincent MA, Barrett EJ, Kaul S, Clark A, Leong-Poi H, Lindner JR. Vascular recruitment in skeletal muscle during exercise and hyperinsulinemia assessed by contrast ultrasound. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002 ; 282:E714–E720.
- Dawson PA**, Mychaleckyj JC, Fossey SC, Mihic SJ, Craddock AL, Bowden DW. Sequence and functional analysis of GLUT10: a glucose transporter in the Type 2 diabetes-linked region of chromosome 20q12-13.1. *Mol Genet Metab* 2001 Sep-Oct ; 74(1-2):186-99.
- de Alvaro C**, Teruel T, Hernandez R, Lorenzo M. Tumor necrosis factor alpha produces insulin resistance in skeletal muscle by activation of inhibitor κ B kinase in a p38 MAPK-dependent manner. *J Biol Chem* 2004 ; 279:17070–17078.
- de Lorgeril M**, Salen P, Martin JL, Monjaud I, Delaye J, Mamelle N. Mediterranean diet, traditional risk factors, and the rate of cardiovascular complications after myocardial infarction: final report of the Lyon Diet Heart Study. *Circulation* 1999 ; 99:779–785.
- De Meyts P**. The insulin receptor: a prototype for dimeric, allosteric membrane receptors? *Trends in Biochemical Sciences* 2008 ; 33:8.
- de Souza Batista CM**, Yang RZ, Lee MJ, Glynn NM, Yu DZ, et al. Omentin plasma levels and gene expression are decreased in obesity. *Diabetes* 2007 ; 56(6):1655-61.
- DeFronzo RA**, Cooke CR, Andres R, Faloona GR, Davis PJ. The effect of insulin on renal handling of sodium, potassium, calcium, and phosphate in man. *J Clin Invest* 1975 ; 55:845 855.
- 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: E214–E223.
- DeFronzo RA**. Dysfunctional fat cells, lipotoxicity and type 2 diabetes. *Int J Clin Pract Suppl* 2004 ; 143:9–21.
- Dekker JM**, Girman C, Rhodes T, Nijpels G, Stehouwer CD, Bouter LM, Heine RJ. Metabolic syndrome and 10-year cardiovascular disease risk in the Hoorn Study. *Circulation* 2005 ; 112: 666 – 673.
- Diez-Sampedro A**, Hirayama BA, Osswald C, Gorboulev V, Baumgarten K, et al. A glucose sensor hiding in a family of transporters. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003 ; 100(20):11753-8.
- Doege H**, Bocianski A, Joost HG, Schürmann A. Activity and genomic organization of human glucose transporter 9 (GLUT9), a novel member of the family of sugar-transport facilitators predominantly expressed in brain and leucocytes. *Biochem J* 2000 ; 350 Pt 3:771-6(b).
- Doege H**, Bocianski A, Scheepers A, Axer H, Eckel J, Joost HG, Schürmann A. Characterization of human glucose transporter (GLUT) 11 (encoded by SLC2A11), a novel sugar-transport facilitator specifically expressed in heart and skeletal muscle. *Biochem J*. 2001 ; 359(Pt 2):443-9.
- Doege H**, Schürmann A, Bahrenberg G, Brauers A, Joost HG. GLUT8, a novel member of the sugar transport facilitator family with glucose transport activity. *J Biol Chem* 2000 ; 275(21):16275-80(a).
- Doege H**, Schürmann A, Ohnimus H, Monser V, Holman GD, Joost HG. Serine-294 and threonine-295 in the exofacial loop domain between helices 7 and 8 of glucose

- transporters (GLUT) are involved in the conformational alterations during the transport process. *Biochem J* 1998 ; 329 (Pt 2):289-93.
- Dray C**, Knauf C, Daviaud D, Waget A, Boucher J, et al. Apelin stimulates glucose utilization in normal and obese insulin-resistant mice. *Cell Metab* 2008 ; 8(5):437-45.
- Dresner A**, Laurent D, Marcucci M, Griffin ME, Dufour S, et al. Effects of free fatty acids on glucose transport and IRS-1-associated phosphatidylinositol 3-kinase activity. *J Clin Invest* 1999 ; 103: 253–259.
- Drolet R**, Richard C, Sniderman AD, Mailloux J, Fortier M, Huot C, Rhéaume C, Tchernof A. Hypertrophy and hyperplasia of abdominal adipose tissues in women. *Int J Obes (Lond)*. 2008 ; 32(2):283-91.
- Du X**, Edelstein D, Obici S, Higham N, Zou MH, Brownlee M. Insulin resistance reduces arterial prostacyclin synthase and eNOS activities by increasing endothelial fatty acid oxidation. *J Clin Invest* 2006 ; 116:1071–1080.
- Dubois SG**, Heilbronn LK, Smith SR, Albu JB, Kelley DE, Ravussin E. Decreased expression of adipogenic genes in obese subjects with type 2 diabetes. *Obesity* 2006 ; 14: 1543-1552.
- Duman H**, Forte JG. What is the role of SNARE proteins in membrane fusion? *Am J Physiol Cell Physiol* 2003 ; 285:C237–C249.
- Duncan GE**. Prevalence of diabetes and impaired fasting glucose levels among US adolescents: National Health and Nutrition Examination Survey, 1999–2002. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2006 ; 160:523–528.
- Eckel RH**. Mechanisms of the components of the metabolic syndrome that predispose to diabetes and atherosclerotic CVD. *Proc Nutr Soc* 2007 ; 66:82–95.
- Eckel RH**, Grundy SM, Zimmet PZ. The metabolic syndrome. *Lancet* 2005 ; 365:1415–1428.
- Eliasson L**, Abdulkader F, Braun M, Galvanovskis J, Hoppa MB and Rorsman P. Novel aspects of the molecular mechanisms controlling insulin secretion. *J Physiol* 2008 ; 586(14): 3313–3324.
- Emanuelli B**, Peraldi P, Filloux C, Chavey C, Freidinger K, Hilton DJ, Hotamisligil GS, Van Obberghen E. SOCS-3 inhibits insulin signaling and is up-regulated in response to tumor necrosis factor-alpha in the adipose tissue of obese mice. *J Biol Chem* 2001 ; 276:47944–47949.
- Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP)**. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 2001 ; 285:2486–2497.
- Fain JN**, Madan AK, Hiler ML, Cheema P, Bahouth SW. Comparison of the release of adipokines by adipose tissue, adipose tissue matrix, and adipocytes from visceral and subcutaneous abdominal adipose tissues of obese humans. *Endocrinology* 2004 ; 145:2273- 82.
- Fajans SS**, Bell GI, Polonsky KS. Molecular mechanisms and clinical pathophysiology of maturity-onset diabetes of the young. *N Engl J Med* 2001 ; 345:971-80.
- Farmer SR**. Transcriptional control of adipocyte formation. *Cell Metab* 2006 ; 4:263-273.
- Faure P**, Rossini E, Wiernsperger N, Richard MJ, Favier A, Halimi S. An insulin sensitizer improves the free radical defense system potential and insulin sensitivity in high fructose-fed rats. *Diabetes*. 1999 ; 48(2):353-7.
- 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):1867-77.
- Fernandez-Real JM**, Ricart W. Insulin resistance and chronic cardiovascular inflammatory syndrome. *Endocr Rev* 2003 ; 24:278–301.

- Ferrannini E**, Haffner SM, Mitchell BD, Stern MP. Hyperinsulinaemia: the key feature of a cardiovascular and metabolic syndrome. *Diabetologia* 1991 ; 34:416–22.
- Ford ES**, Giles WH, and Dietz WH. Prevalence of the metabolic syndrome among us adults : findings from the third national health and nutrition examination survey. *Jama* 2002 ; 287(3) :356–9.
- Ford ES (a)**, Li C. Defining the metabolic syndrome in children and adolescents: will the real definition please stand up? *J Pediatr* 2008 ; 152:160–164.
- Ford ES (b)**, Li C, Sattar N. Metabolic syndrome and incident diabetes: current state of the evidence. *Diabetes Care* 2008 ; 31:1898–1904.
- Ford ES**, Giles WH. A comparison of the prevalence of the metabolic syndrome using two proposed definitions. *Diabetes Care* 2003 ; 26:575–581.
- Ford ES**. Prevalence of the Metabolic Syndrome defined by the International Diabetes Federation among adults in the U.S. *Diabetes Care* 2005 ; 28:2745 –2749.
- Froguel P**. Récepteurs de la mélanocortine et obésité humaine. *Médecine/Science* 2001 février; 2:17.
- Frühbeck G**. Intracellular signalling pathways activated by leptin. *Biochem J* 2006 ; 393(Pt 1):7-20.
- Fukuhara A**, Matsuda M, Nishizawa M. A protein secreted by visceral fat that mimics the effects of insulin. *Science* 2005 ; 307:426-30.
- Gami AS**, Witt BJ, Howard DE, Erwin PJ, Gami LA, Somers VK, Montori VM. Metabolic syndrome and risk of incident cardiovascular events and death: a systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. *J Am Coll Cardiol* 2007 ; 49:403–414.
- Garber AJ**, Duncan TG, Goodman AM, Mills DJ, Rohlf JL. Efficacy of metformin in type II diabetes: results of a double-blind, placebo-controlled, doseresponse trial. *Am J Med* 1997 ; 103(6):491-7.
- Garcia JC**, Strube M, Leingang K, Keller K, Mueckler MM. Amino acid substitutions at tryptophan 388 and tryptophan 412 of the HepG2 (Glut1) glucose transporter inhibit transport activity and targeting to the plasma membrane in *Xenopus* oocytes. *J Biol Chem* 1992 ; 267(11):7770-6.
- Gautam D**, Jeon J, Li JH, Han SJ, Hamdan FF, et al. Metabolic roles of the M3 muscarinic acetylcholine receptor studied with M3 receptor mutant mice: a review. *J Recept Signal Transduct Res* 2008 ; 28(1-2):93-108.
- Geiger PC**, Han DH, Wright DC, Holloszy JO. How muscle insulin sensitivity is regulated: testing of a hypothesis. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2006 ; 291:E1258–E1263.
- Gerozissis K**. Brain insulin: regulation, mechanisms of action and functions. *Cellular and Molecular Neurobiology* 2003 ; 23:1.
- Getty L**, Hamilton-Wessler M, Ader M, Dea MK, Bergman RN. Biphasic insulin secretion during intravenous glucose tolerance test promotes optimal interstitial insulin profile. *Diabetes* 1999 ; 47:1941-7.
- Ghilardi N**, Ziegler S, Wiestner A, Stoffel R, Heim MH, Skoda RC. Defective STAT signaling by the leptin receptor in diabetic mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996 ; 93:6231-6235.
- Ginsberg HN**. Insulin resistance and cardiovascular disease. *J Clin Invest* 2000 ; 106:453–458.
- Girard J**. Role of free fatty acids in the insulin resistance of non-insulin-dependent diabetes. *Diabetes Metab* 1995 ; 21(2):79-88.
- Girard J**. The incretins: From the concept to their use in the treatment of type 2 diabetes. Part A: Incretins: Concept and physiological functions. *Diabetes Metab* 2008 ; 34:550–559.
- Goodyear LJ**, Giorgino F, Sherman LA, Carey J, Smith RJ, Dohm GL. Insulin receptor phosphorylation, insulin receptor substrate-1 phosphorylation, and

- phosphatidylinositol 3-kinase activity are decreased in intact skeletal muscle strips from obese subjects. *J Clin Invest* 1995 ; 95(5):2195-204.
- Goralski KB**, McCarthy TC, Hanniman EA, Zabel BA, Butcher EC, Parlee SD, Muruganandan S and Sinal CJ. Chemerin: A novel adipokine that regulates adipogenesis and adipocyte metabolism. *J Biol Chem* 2007 ; 282:28175–28188.
- Gordon Smith A, Robinson Singleton J**. Idiopathic neuropathy, prediabetes and the metabolic syndrome. *J Neurol Sci* 2006 ; 242: 9–14.
- Gould GW** and Holman GD. The glucose transporter family: structure, function and tissue-specific expression. *Biochem J* 1993 ; 295(Pt 2):329-41.
- Gould GW**, Thomas HM, Jess TJ, Bell GI. Expression of human glucose transporters in *Xenopus* oocytes: kinetic characterization and substrate specificities of the erythrocyte, liver, and brain isoforms. *Biochemistry* 1991 ; 30(21):5139-45.
- Gould GW**. Facilitative Glucose Transporters. Heidelberg 1997.
- Graham TE**, Yang Q, Blüher M, Hammarstedt A, Ciaraldi TP, Henry RR, Wason CJ, Oberbach A, Jansson PA, Smith U, Kahn BB. Retinol-binding protein 4 and insulin resistance in lean, obese, and diabetic subjects. *N Engl J Med* 2006 ; 354(24):2552-63.
- Greenfield MS**, Doberne L, Kraemer F, Tobey T, Reaven G. Assessment of insulin resistance with the insulin suppression test and the euglycemic clamp. *Diabetes* 1981 ; 30(5):387-92.
- Gregor MF**, Hotamisligil GS. Thematic review series: Adipocyte Biology. Adipocyte stress: the endoplasmic reticulum and metabolic disease. *J Lipid Res* 2007 ; 48(9):1905-14.
- Groop L**, Forsblom C, Lehtovirta M, Tuomi T, Karanko S, et al. Metabolic consequences of a family history of NIDDM (the Botnia study): evidence for sex-specific parental effects. *Diabetes* 1996 ; 45(11):1585-93.
- Grover-McKay M**, Walsh SA, Thompson SA. Glucose transporter 3 (GLUT3) protein is present in human myocardium. *Biochim Biophys Acta* 1999 ; 1416(1-2):145-54.
- Grundy SM**, Metabolic syndrome pandemic. *2008 Arterioscler Thromb Vasc Biol* 28:629-636
- Grundy SM**, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA. Diagnosis and Management of the Metabolic Syndrome. An American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation* 2005 ; 112:2735–52.
- Grundy SM**. Metabolic Syndrome: Connecting and Reconciling Cardiovascular and Diabetes Worlds. *JACC* 2006 ; 47:6.
- Guerre-Millo M**. Adipose tissue hormones. *J Endocrinol Invest* 2002 ; 25 : 855-861.
- Guilherme A**, Virbasius JV, Puri V, Czech MP. Adipocyte dysfunctions linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2008 ; 9(5):367-77.
- Gutt M**, Davis CL, Spitzer SB, Llabre MM, Kumar M, et al. Validation of the insulin sensitivity index (ISI(0,120)): comparison with other measures. *Diabetes Res Clin Pract* 2000 ; 47(3):177-84.
- Haataja L**, Gurlo T, Huang CJ, Butler PC. Islet amyloid in type 2 diabetes, and the toxic oligomer hypothesis. *Endocr Rev* 2008 ; 29(3):303-16.
- Haider DG**, Schindler K, Prager G, Bohdjalian A, Luger A, Wolzt M. Serum retinol-binding protein 4 is reduced after weight loss in morbidly obese subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 2007 ; 92: 1168e1171.
- Hales CN**, Barker DJ. The thrifty phenotype hypothesis. *Br Med Bull* 2001 ; 60:5-20.

- Hamaguchi M**, Kojima T, Takeda N, Nakagawa T, Taniguchi H, et al. The metabolic syndrome as a predictor of nonalcoholic fatty liver disease. *Ann Intern Med* 2005 ; 143:722–728
- Hamill S**, Cloherty EK, Carruthers A. The human erythrocyte sugar transporter presents two sugar import sites. *Biochemistry* 1999 ; 38(51):16974-83.
- Hamman RF**, Wing RR, Edelstein SL, Lachin JM, Bray GA, et al. Effect of weight loss with lifestyle intervention on risk of diabetes. *Diabetes Care* 2006 ; 29:2102–2107
- Hanefeld M**, Sachse G. The effects of orlistat on body weight and glycaemic control in overweight patients with type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab* 2002 ; 4:415-23.
- Hanefeld M**. Cardiovascular benefits and safety profile of acarbose therapy in prediabetes and established type 2 diabetes. *Cardiovasc Diabetol* 2007 ; 6:20.
- Hanley AJ**, Karter AJ, Williams K, Festa A, D’Agostino Jr RB, Wagenknecht LE, Haffner SM. Prediction of type 2 diabetes mellitus with alternative definitions of the metabolic syndrome: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *Circulation* 2005 ; 112: 3713– 3721
- Hansen KB**, Knop FK, Holst JJ, Vilsbøll T. Treatment of type 2 diabetes with glucagon-like peptide-1 receptor agonists. *Int J Clin Pract* 2009 Aug ; 63(8):1154-60.
- Harber MP**, Schenk S, Barkan AL, Horowitz JF. Alterations in carbohydrate metabolism in response to short-term dietary carbohydrate restriction. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2005 ; 289:E306– E312
- Harris MI**. Onset of NIDDM occurs at least 4-7 years before clinical diagnosis. *Diabetes Care* 1992 ; 15:815-819.
- Haslam DW**, James WP. Obesity. *Lancet* 2005 ; 366:1197-209.
- Hauge-Evans AC**, King AJ, Carmignac D, Richardson CC, Robinson IC, et al. Somatostatin secreted by islet delta-cells fulfills multiple roles as a paracrine regulator of islet function. *Diabetes* 2009 ; 58(2):403-11.
- He J**, Ogden LG, Bazzano LA, Vupputuri S, Loria C, Whelton PK. Dietary sodium intake and incidence of congestive heart failure in overweight US men and women: first National Health and Nutrition Examination Survey Epidemiologic Follow-up Study. *Arch Intern Med* 2002 ; 162:1619–1624.
- He J**, Ogden LG, Vupputuri S, Bazzano LA, Loria C, Whelton PK. Dietary sodium intake and subsequent risk of cardiovascular disease in overweight adults. *JAMA* 1999 ; 282:2027–2034.
- He L**, Sabet A, Djedjos S, Miller R, Sun X, Hussain MA, Radovick S, Wondisford FE. Metformin and insulin suppress hepatic gluconeogenesis through phosphorylation of CREB binding protein. *Cell*. 2009 ; 137(4):635-46.
- Hebert DN**, Carruthers A. Glucose transporter oligomeric structure determines transporter function. Reversible redox-dependent interconversions of tetrameric and dimeric GLUT1. *J Biol Chem* 1992 ; 267(33):23829-38.
- Hediger MA**, Coady MJ, Ikeda TS, Wright EM. Expression cloning and cDNA sequencing of the Na⁺/glucose co-transporter. *Nature* 1987 ; 330(6146): 379-81.
- Heilbronn LK**, Rood J, Janderova L, Albu JB, Kelley DE, Ravussin E, Smith SR. Relationship between serum resistin concentrations and insulin resistance in nonobese, obese, and obese diabetic subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 2004 ; 89(4):1844-8.
- Hennige AM**, Stefan N, Kapp K, Lehmann R, Weigert C, et al. Leptin down-regulates insulin action through phosphorylation of serine- 318 in insulin receptor substrate 1. *FASEB J* 2006 ; 20:1206–1208.
- Henquin, JC**, Dufrane D, Nenquin M. Nutrient control of insulin secretion in isolated normal human islets. *Diabetes* 2006 ; 55:3470–3477.

- 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):527-34.
- 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.
- Heymann WR**, Lipodystrophies and the metabolic syndrome. *J Am Acad Dermatol* 2008 ; 59:887-8
- Hida K**, Wada J, Eguchi J. Visceral adipose tissue-derived serine protease inhibitor: a unique insulin-sensitizing adipocytokine in obesity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005 ; 102:10610-10615.
- Hillier TA**, Fagot-Campagna A, Eschwege E, Vol S, Cailleau M, Balkau B. Weight change and changes in the metabolic syndrome as the French population moves towards overweight: the D.E.S.I.R. cohort. *Int J Epidemiol* 2006 ; 35:190–196.
- Hoffman RP**. Sympathetic mechanisms of hypoglycemic counterregulation. *Curr Diabetes Rev* 2007 ; 3(3):185-93.
- Hoggard N**, Mercer JG, Rayner DV, Moar K, Trayhurn P, Williams LM. Localization of leptin receptor mRNA splice variants in murine peripheral tissues by RT-PCR and in situ hybridization. *Biochem Biophys Res Commun*. 1997 ; 232(2):383-7.
- Holloszy JO**. Exercise-induced increase in muscle insulin sensitivity. *J Appl Physiol* 2005 ; 99:338–343
- Holmes BF**, Kurth-Kraczek EJ, Winder WW. Chronic activation of 5'-AMPactivated protein kinase increases GLUT-4, hexokinase, and glycogen in muscle. *J Appl Physiol* 1999 ; 87:1990-5.
- Hossain P**, Kavar B, El Nahas M. Obesity and Diabetes in the Developing World A Growing Challenge. *N Engl J Med* 2007 ; 356:3.
- Houstis N**, Rosen ED, Lander ES. Reactive oxygen species have a causal role in multiple forms of insulin resistance. *Nature* 2006 ; 440(7086):944-8.
- Howard BV**, Klimes I, Vasquez B, Brady D, Nagulesparan M, Unger RH. The antilipolytic action of insulin in obese subjects with resistance to its glucoregulatory action. *J Clin Endocrinol Metab* 1984 ; 58:544–48.
- Huang CJ**, Lin CY, Haataja L, Gurlo T, Butler AE, Rizza RA, Butler PC. High expression rates of human islet amyloid polypeptide induce endoplasmic reticulum stress mediated β -cell apoptosis, a characteristic of humans with type 2 but not type 1 diabetes. *Diabetes* 2007 ; 56:2016–2027.
- Ilanne-Parikka P**, Eriksson JG, Lindstrom J, Peltonen M, Aunola S, Hamalainen H, Keinanen-Kiukaanniemi S, Laakso M, Valle TT, Lahtela J, Uusitupa M, Tuomilehto J. Effect of lifestyle intervention on the occurrence of metabolic syndrome and its components in the Finnish Diabetes Prevention Study. *Diabetes Care* 2008 ; 31:805–807.
- Imamura T**, Koffler M, Helderman JH. Severe diabetes induced in subtotally depancreatized dogs by sustained hyperglycemia. *Diabetes* 1988 ; 37:600–609.
- Inoguchi T**, Li P, Umeda F, Yu HY, Kakimoto M, et al. High glucose level and free fatty acid stimulate reactive oxygen species production through protein kinase C-dependent activation of NAD(P)H oxidase in cultured vascular cells. *Diabetes* 2000 ; 49:1939–1945.
- Inzucchi SE**. Oral antihyperglycemic therapy for type 2 diabetes: scientific review. *JAMA* 2002 ; 287(3):360-72.
- Israili ZH**, Lyoussi B, Hernandez-Hernandez R, Velasco M. Metabolic syndrome: treatment of hypertensive patients. *AmJ Ther* 2007 ; 14:386–402.

- James DE**, Brown R, Navarro J, Pilch PF. Insulin-regulatable tissues express a unique insulin-sensitive glucose transport protein. *Nature* 1988 ; 333(6169):183-5.
- James WPT**, Rigby N, Leach R. The obesity epidemic, metabolic syndrome and future prevention strategies. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2004 ; 11: 3–8.
- Jensen MD**, Johnson CM. Contribution of leg and splanchnic free fatty acid (FFA) kinetics to postabsorptive FFA flux in men and women. *Metabolism* 1996 ; 45:662–666.
- Jialal I**, Devaraj S, Venugopal SK. C-reactive protein: risk marker or mediator in atherothrombosis? *Hypertension* 2004 ; 44:6–11.
- Jiang G**, Dallas-Yang Q, Li Z, Szalkowski D, Liu F, et al. Potentiation of insulin signaling in tissues of Zucker obese rats after acute and long-term treatment with PPARgamma agonists. *Diabetes* 2002 ; 51(8):2412-9.
- Johnson AG**, Nguyen TV, Davis D. Blood pressure is linked to salt intake and modulated by the angiotensinogen gene in normotensive and hypertensive elderly subjects. *J Hypertens* 2001 ; 19:1053– 1060.
- Johnson BD**, Kip KE, Marroquin OC. Serum amyloid A as a predictor of coronary heart disease and cardiovascular outcome in women : the National Heart, Lung, and Blood Institute Sponsored Women’s Ischemia Syndrome Evaluation (WISE). *Circulation* 2004 ; 109 : 726-32.
- Joost HG**, Bell GI, Best JD, Birnbaum MJ, Charron MJ, et al. Nomenclature of the GLUT/SLC2A family of sugar/polyol transport facilitators. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002 ; 282: E974–E976.
- Joost HG**, Thorens B. The extended GLUT-family of sugar/polyol transport facilitators: nomenclature, sequence characteristics, and potential function of its novel members (review). *Mol Membr Biol.* 2001 ; 18(4):247-56.
- Jovanovic L**, Pettitt DJ. Gestational diabetes mellitus. *JAMA* 2001 ; 286:2516–2518.
- Juan-Vague I**, Alessi MC, Vague P. Increased plasma plasminogen activator inhibitor 1 levels. A possible link between insulinresistance and atherothrombosis. *Diabetologia* 1991 ; 34 : 457-62.
- Jung CY**, Carlson LM, Whaley DA. Glucose transport carrier activities in extensively washed human red cell ghosts. *Biochim Biophys Acta* 1971 ; 241(2):613-27.
- Kadowaki T**, Yamauchi T, Kubota N, Hara K, Ueki K, Tobe K. Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome. *J Clin Invest* 2006 ; 116:1784-1792.
- Kadowaki T**, Yamauchi T. Adiponectin and Adiponectin Receptors. *Endocr Rev* 2005 ; 26 : 439-51.
- Kahn SE**, D’Alessio DA, Schwartz MW, Fujimoto WY, Ensinnck JW, Taborsky GJ, Porte D. Evidence of cosecretion of islet amyloid polypeptide and insulin by beta cells. *Diabetes* 1990 ; 39:634–638
- Kalyani RR**, Dobs AS. Androgen deficiency, diabetes, and the metabolic syndrome in men. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2007 ; 14:226–234.
- Kanai Y**, Lee WS, You G, Brown D, Hediger MA. The human kidney low affinity Na⁺/glucose cotransporter SGLT2. Delineation of the major renal reabsorptive mechanism for D-glucose. *J Clin Invest* 1994 ; 93(1): 397-404.
- Kanda H**. MCP-1 contributes to macrophage infiltration into adipose tissue, insulin resistance, and hepatic steatosis in obesity. *J Clin Invest* 2006 ; 116:1494–505.
- Kane S**, Sano H, Liu SC, Asara JM, Lane WS, Garner CC, Lienhard GE. A method to identify serine kinase substrates. Akt phosphorylates a novel adipocyte protein with a Rab GTPase-activating protein (GAP) domain. *J Biol Chem.* 2002 ; 277(25):22115-8.

- Kannel WB**, Larson M. Long-term epidemiologic prediction of coronary disease. The Framingham experience. *Cardiology* 1993 ; 82: 137–52
- Karagiannides I**, Tchkonja T, Dobson DE, Stepan CM, Cummins P, Chan G. Altered expression of C/EBP family members results in decreased adipogenesis with aging. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2001 ; 280:R1772-1780.
- Karlsson HK**, Zierath JR, Kane S, Krook A, Lienhard GE, Wallberg-Henriksson H. Insulin-stimulated phosphorylation of the Akt substrate AS160 is impaired in skeletal muscle of type 2 diabetic subjects. *Diabetes* 2005 ; 54(6):1692-7.
- Kayano T**, Burant CF, Fukumoto H, Gould GW, Fan YS, Eddy RL, Byers MG, Shows TB, Seino S, Bell GI. Human facilitative glucose transporters. Isolation, functional characterization, and gene localization of cDNAs encoding an isoform (GLUT5) expressed in small intestine, kidney, muscle, and adipose tissue and an unusual glucose transporter pseudogene-like sequence (GLUT6). *J Biol Chem* 1990 ; 265(22):13276-82.
- Kelley DE**, He J, Menshikova EV, Ritov VB. Dysfunction of mitochondria in human skeletal muscle in type 2 diabetes. *Diabetes* 2002 ; 51:2944–2950.
- Kelley DE**, Mandarino LJ. Fuel Selection in Human Skeletal Muscle in Insulin Resistance. *Diabetes* 2000 ; 49:677–683.
- Kelley DE**, Wing R, Buonocore C, Sturis J, Polonsky K, Fitzsimmons M. Relative effects of calorie restriction and weight loss in noninsulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 1993 ; 77:1287–1293.
- Kido Y**, Nakae J, Accili D. The insulin receptor and its cellular targets. *J Clin Endocrinol Metab* 2001 ; 86:972-9.
- Kim KH**, Lee K, Moon YS, Sul HK. A cysteine-rich adipose tissue specific secretory factor inhibits adipocyte differentiation. *J Biol Chem* 2001 ; 276 :11252-6.
- Kim S**, Moustaid-Moussa N. Secretory, endocrine and autocrine/paracrine function of the adipocyte. *J Nutr* 2000 ; 130:3110S-3115S.
- Kim YB**, Kotani K, Ciaraldi TP, Henry RR, Kahn BB. Insulin-stimulated protein kinase C lambda/zeta activity is reduced in skeletal muscle of humans with obesity and type 2 diabetes: reversal with weight reduction. *Diabetes* 2003 ; 52(8):1935-42.
- Kirpichnikov D**, McFarlane SI, Sowers JR. Metformin: an update. *Ann Intern Med* 2002 ; 137:25-33.
- Klausen KP**, Parving HH, Scharling H, Jensen JS. The association between metabolic syndrome, microalbuminuria and impaired renal function in the general population: impact on cardiovascular disease and mortality. *J Intern Med* 2007 ; 262:470–478.
- Klepzig H**, Kober G, Matter C, Luus H, Schneider H, Boedeker KH. Sulfonylureas and ischaemic preconditioning: a double-blind, placebo-controlled evaluation of glimepiride and glibenclamide. *Eur Heart J* 1999 ; 20(6):403-5.
- Klötting N**, Berndt J, Kralisch S, Kovacs P, Fasshauer M, Schön MR, Stumvoll M, Blüher M. Vaspin gene expression in human adipose tissue: association with obesity and type 2 diabetes. *Biochem Biophys Res Commun* 2006 ; 339(1):430-6.
- Kong CT**, Yet SF, Lever JE. Cloning and expression of a mammalian Na⁺/amino acid cotransporter with sequence similarity to Na⁺/glucose cotransporters. *J Biol Chem* 1993 ; 268(3):1509-12.
- Kougiass P**, Chai H, Lin PH, Lumsden AB, Yao Q, Chen C. Adipocyte-derived cytokine resistin causes endothelial dysfunction of porcine coronary arteries. *J Vasc Surg* 2005 ; 41:691–698
- 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.

- Koumanov F.** Dérivés iodés de monosaccharides utilisables comme produits radiopharmaceutiques. Au nom de Cis Bio International. France, 1995 ; 95214.
- Koumenis C,** Naczki C, Koritzinsky M, Rastani S, Diehl A, Sonenberg N, Koromilas A, Wouters BG. Regulation of protein synthesis by hypoxia via activation of the endoplasmic reticulum kinase PERK and phosphorylation of the translation initiation factor eIF2a. *Mol Cell Biol* 2002 ; 22:7405–16.
- Kraegen EW,** Jenkins AB, Storlien LH, Chisholm DJ. Tracer studies of in vivo insulin action and glucose metabolism in individual peripheral tissues. *Horm Metab Res Suppl* 1990 ; 24:41-8.
- Kralisch S,** Bluher M, Paschke R. Adipokines and adipocyte targets in the future management of obesity and the metabolic syndrome. *Mini Rev Med Chem* 2007 ; 7:39–45.
- Kris-Etherton PM,** Harris WS, Appel LJ. Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease. *Circulation* 2002 ; 106:2747–2757.
- Kroder G,** Bossenmaier B, Kellerer M. Tumor necrosis factor-alpha- and hyperglycemia-induced insulin resistance. Evidence for different mechanisms and different effects on insulin signalling. *J Clin Invest* 1996 ; 97:1471-7.
- Krook A,** Björnholm M, Galuska D, Jiang XJ, Fahlman R, et al. Characterization of signal transduction and glucose transport in skeletal muscle from type 2 diabetic patients. *Diabetes* 2000 ; 49(2):284-92.
- Kusminski CM,** McTernan PG, Kumar S. Role of resistin in obesity, insulin resistance and Type II diabetes. *Clin Sci (Lond)* 2005 ; 109:243–256.
- Lakka HM,** Laaksonen DE, Lakka TA, Niskanen LK, Kumpusalo E, Tuomilehto J, Salonen JT. The metabolic syndrome and total and cardiovascular disease mortality in middle-aged men. *JAMA* 2002 ; 288:2709–2716.
- Landin K,** Tengborn L, Smith U. Treating insulin resistance in hypertension with metformin reduces both blood pressure and metabolic risk factors. *J Intern Med* 1991 ; 229:181-7.
- Large V,** Peroni O, Letexier D, Ray H, Beylot M. Metabolism of lipids in human white adipocyte. *Diabetes Metab* 2004 ; 30(4):294-309.
- Lash JM,** Nase GP, Bohlen HG. Acute hyperglycemia depresses arteriolar NO formation in skeletal muscle. *Am J Physiol* 1999 ; 277:H1513–H1520.
- 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. 2003
- Leaf DA,** Connor WE, Illingworth DR, Bacon SP, Sexton G. The hypolipidemic effects of gemfibrozil in type V hyperlipidemia. A double-blind, crossover study. *JAMA* 1989 ; 262:3154–3160.
- Lebovitz HE.** Type 2 diabetes: an overview. *Clin Chem* 1999 ; 45:1339–1345.
- Lebovitz HE.** Alpha-glucosidase inhibitors. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1997 ; 26:539-51.
- Lee YH,** Giraud J, Davis RJ, White MF. c-Jun N-terminal kinase (JNK) mediates feedback inhibition of the insulin signaling cascade. *J Biol Chem.* 2003 ; 278(5):2896-902.
- Lehrke M,** Lazar MA. The many faces of PPARgamma. *Cell* 2005 ; 123(6):993-9.
- Leibiger B,** Leibiger IB, Moede T, Kemper S, Kulkarni RN, Kahn CR, de Vargas LM, Berggren PO. Selective insulin signaling through A and B insulin receptors regulates transcription of insulin and glucokinase genes in pancreatic beta cells. *Mol Cell* 2001 Mar ; (3):559-70.
- Leighton B,** Cooper GJ. Pancreatic amylin and calcitonin related peptide cause resistance to insulin in skeletal muscle in vitro. *Nature* 1988 ; 335:632–635

- Leinonen E**, Hurt-Camejo E, Wiklund O, Hulten LM, Hiukka A, Taskinen MR. Insulin resistance and adiposity correlate with acute phase reaction and soluble cell adhesion molecules in type 2 diabetes. *Atherosclerosis* 2003 ; 166 :387-94.
- Levine KB**, Cloherty EK, Hamill S, Carruthers A. Molecular determinants of sugar transport regulation by ATP. *Biochemistry*. 2002 ; 41(42):12629-38.
- Li Q**, Manolescu A, Ritzel M, Yao S, Slugoski M, Young JD, Chen XZ, Cheeseman CI. Cloning and functional characterization of the human GLUT7 isoform SLC2A7 from the small intestine. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2004 ; 287(1):G236-42.
- Lichtenstein AH**, Schwab US. Relationship of dietary fat to glucose metabolism. *Atherosclerosis* 2000 ; 150:227–243.
- Lienhard GE**, Slot JW, James DE, Mueckler MM. How cells absorb glucose. *Sci Am* 1992 ; 266(1):86-91.
- Lin Y**, Rajala MW, Berger JP, Moller DE, Barzilai N, Scherer PE. Hyperglycemia-induced production of acute phase reactants in adipose tissue. *J Biol Chem* 2001 ; 276:42077-83.
- Lindner TH**, Njolstad PR, Horikawa Y. A novel syndrome of diabetes mellitus, renal dysfunction and genital malformation associated with a partial deletion of the pseudo-POU domain of hepatocyte nuclear factor-1 beta. *Hum Mol Genet* 1999 ; 8:2001-8.
- Lisinski I**, Schürmann A, Joost HG, Cushman SW, Al-Hasani H. Targeting of GLUT6 (formerly GLUT9) and GLUT8 in rat adipose cells. *Biochem J* 2001 ; 358(Pt 2):517-22.
- Liu GX**, Hanley PJ, Ray J, Daut J. Long-chain acyl-coenzyme A esters and fatty acids directly link metabolism to K(ATP) channels in the heart. *Circ Res* 2001 ; 88:918–924.
- Loffreda S**, Yang SQ, Lin HZ, Karp CL, Brengman ML, et al. Leptin regulates proinflammatory immune responses. *FASEB J* 1998 ; 12:57–65.
- Lolmède K**, Durand de Saint Front V, Galitzky J, Lafontan M, Bouloumié A. Effects of hypoxia on the expression of proangiogenic factors in differentiated 3T3-F442A adipocytes. *Int J Obesity* 2003 ; 27:1187–95.
- Lonnqvist F**, Arner P, Nordfors L, Schalling M. Overexpression of the obese (ob) gene in adipose tissue of human obese subjects. *Nat Med* 1995 ; 1:950–53.
- Lucove JC**, Kaufman JS, James SA. Association between adult and childhood socioeconomic status and prevalence of the metabolic syndrome in African Americans: the Pitt County Study. *Am J Public Health* 2006 ; 97:234–236.
- Lutsey PL**, Steffen LM, Stevens J. Dietary intake and the development of the metabolic syndrome: the Atherosclerosis Risk in Communities study. *Circulation* 2008 ; 117:754–761.
- Ma LJ**, Mao SL, Taylor KL. Prevention of obesity and insulinresistance in mice lacking plasminogen activator inhibitor-1. *Diabetes* 2004 ; 53:336-46.
- Ma Y**, Li Y, Chiriboga DE, Olendzki BC, Hebert JR, Li W, Leung K, Hafner AR, Ockene IS. Association between carbohydrate intake and serum lipids. *J Am Coll Nutr* 2006 ; 25:155–163.
- Maachi M**, Piéroni L, Bruckert E. Systemic low grade inflammation is related to both circulating and adipose tissue TNF α , leptin and IL-6 levels in obese women. *Int J Obes* 2004 ; 28:993-7.
- MacDougald OA**, Burant CF. The rapidly expanding family of adipokines. *Cell Metab* 2007 ; 6:159-161.
- Magnan C**, Ktorza A. Production and secretion of insulin by pancreatic β -cell. *EMC-Endocrinologie* 2005 ; 241–264.

- Maher F** (b) and Simpson IA. The GLUT3 glucose transporter is the predominant isoform in primary cultured neurons: assessment by biosynthetic and photoaffinity labelling. *Biochem J* 1994 ; 301(Pt 2):379-84.
- Maher F** (a), Vannucci SJ, Simpson IA. Glucose transporter proteins in brain. *Faseb J* 1994 ; 8(13):1003-11.
- Malik S**, Wong ND, Franklin SS, Kamath TV, L'Italien GJ, Pio JR, Williams GR. Impact of the metabolic syndrome on mortality from coronary heart disease, cardiovascular disease, and all causes in United States adults. *Circulation* 2004 ; 110:1245–1250.
- Mari A**, Murphy E, Ludvik B, Nolan JJ. A model-based method for assessing insulin sensitivity from the oral glucose tolerance test. *Diabetes Care* 2001 ; 24:539-48.
- Massiera F**, Bloch-Faure M, Cellier D. Adipose angiotensinogen is involved in adipose tissue growth and blood pressure regulation. *FASB J* 2001 ; 55:2727-9.
- Matsuda M**, DeFronzo RA. Insulin sensitivity indices obtained from oral glucose tolerance testing: comparison with the euglycemic insulin clamp. *Diabetes Care* 1999 ; 22(9):1462-70.
- McClain DA**. Different ligand affinities of the two human insulin receptor splice variants are reflected in parallel changes in sensitivity for insulin action. *Mol Endocrinol* 1991 ; 5(5):734-9.
- McVie-Wylie AJ**, Lamson DR, Chen YT. Molecular cloning of a novel member of the GLUT family of transporters, SLC2a10 (GLUT10), localized on chromosome 20q13.1: a candidate gene for NIDDM susceptibility. *Genomics* 2001 ; 72(1):113-7.
- Medhurst AD**, Jennings CA, Robbins MJ, Davis RP, Ellis C, et al. Pharmacological and immunohistochemical characterization of the APJ receptor and its endogenous ligand apelin. *J Neurochem* 2003 ; 84:1162–1172.
- Meigs JB**, Rutter MK, Sullivan LM, Fox CS, D'Agostino Sr RB, Wilson PW. Impact of insulin resistance on risk of type 2 diabetes and cardiovascular disease in people with metabolic syndrome. *Diabetes Care* 2007 ; 30:1219–1225.
- Meigs JB**, Wilson PW, Fox CS, Vasan RS, Nathan DM, Sullivan LM, D'Agostino RB. Body mass index, metabolic syndrome, and risk of type 2 diabetes or cardiovascular disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2006 ; 91:2906–2912.
- Menge BA**, Tannapfel A, Belyaev O. Partial pancreatectomy in adult humans does not provoke β -cell regeneration. *Diabetes* 2008 ; 57:142–149.
- Misbin RI**, Green L, Stadel BV, Gueriguian JL, Gubbi A, Fleming GA. Lactic acidosis in patients with diabetes treated with metformin. *N Engl J Med* 1998 ; 338:265–6.
- Mobasher A**, Neama G, Bell S, Richardson S, Carter SD. Human articular chondrocytes express three facilitative glucose transporter isoforms: GLUT1, GLUT3 and GLUT9. *Cell Biol Int* 2002 ; 26(3):297-300.
- Montagnani M**, Golovchenko I, Kim I, Koh GY, Goalstone ML, et al. Inhibition of phosphatidylinositol 3-kinase enhances mitogenic actions of insulin in endothelial cells. *J Biol Chem* 2002 ; 277:1794–1799.
- Montagnani M**, Ravichandran LV, Chen H, Esposito DL, Quon MJ. Insulin receptor substrate-1 and phosphoinositide-dependent kinase-1 are required for insulin-stimulated production of nitric oxide in endothelial cells. *Mol Endocrinol* 2002 ; 16:1931–1942.
- Mueckler M**, Caruso C, Baldwin SA, Panico M, Blench I, Morris HR, Allard WJ, Lienhard GE, Lodish HF. Sequence and structure of a human glucose transporter. *Science* 1985 ; 229(4717):941-5.
- Mueckler M**, Weng W, Kruse M. Glutamine 161 of Glut1 glucose transporter is critical for transport activity and exofacial ligand binding. *J Biol Chem* 1994 ; 269(32):20533-8.

- Müller G**, Wied S, Crecelius A, Kessler A, Eckel J. Phosphoinositolyglycan-peptides from yeast potently induce metabolic insulin actions in isolated rat adipocytes, cardiomyocytes, and diaphragms. *Endocrinology* 1997 ; 138(8):3459-75.
- Muniyappa R**, Lee S, Chen H, Quon MJ. Current approaches for assessing insulin sensitivity and resistance in vivo: advantages, limitations, and appropriate usage. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2008 ; 294(1):E15-26.
- Muniyappa R**, Montagnani M, Koh KK, Quon MJ. Cardiovascular actions of insulin. *Endocr Rev* 2007 ; 28(5):463-91.
- Muniyappa R**, Chen H, Muzumdar R, Einstein FH, Yan X, Yue LQ, Barzilai N, Quon MJ. Comparison between Surrogate Indexes of Insulin Sensitivity/Resistance and Hyperinsulinemic Euglycemic Clamp Estimates in Rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2009 Aug 25.
- Musi N**, Goodyear LJ. Insulin resistance and improvements in signal transduction. *Endocrine* 2006 ; 29(1):73-80.
- Neel V**. Diabetes mellitus: a “thrifty” genotype rendered detrimental by progress? *Am J Hum Genet* 1962 ; 14:352–362.
- Nissen SE**, Wolski K. Effect of rosiglitazone on the risk of myocardial infarction and death from cardiovascular causes. *N Engl J Med* 2007 Jun 14 ; 356(24):2457-71.
- Norgren S**, Zierath J, Wedell A, Wallberg-Henriksson H, Luthman H. Regulation of human insulin receptor RNA splicing in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994 ; 91(4):1465-9.
- Ogden CL**, Yanovski SZ, Carroll MD, and Flegal KM. The Epidemiology of Obesity. *Gastroenterology* 2007 ; 132:2087–2102.
- Ohkawara K**, Tanaka S, Miyachi M, Ishikawa-Takata K, Tabata I. A dose-response relation between aerobic exercise and visceral fat reduction: systematic review of clinical trials. *Int J Obes (Lond)* 2007 ; 31:1786–1797.
- Ohkubo Y**, Kishikawa H, Araki E, Miyata T, Isami S, Motoyoshi S, Kojima Y, Furuyoshi N, Shichiri M. Intensive insulin therapy prevents the progression of diabetic microvascular complications in Japanese patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus: a randomized prospective 6-year study. *Diabetes Res Clin Pract* 1995 ; 28(2):103-17.
- Ohsawa H**, Kanatsuka A, Yamaguchi T, Makino H, Yoshida S. Islet amyloid polypeptide inhibits glucose-stimulated insulin secretion from isolated rat pancreatic islets. *Biochem Biophys Res Commun* 1989 ; 160:961–967.
- Olson AL** and JE Pessin. Structure, function, and regulation of the mammalian facilitative glucose transporter gene family. *Annu Rev Nutr* 1996 ; 16:235-56.
- Ouchi N**, Kihara S, Arita Y. Novel modulator for endothelial adhesion molecules : adipocyte-derived plasma protein adiponectin. *Circulation* 1999 ; 100:2473-6.
- Pan J**, Lin M, Kesala RL, Van J, Charles MA. Niacin treatment of the atherogenic lipid profile and Lp(a) in diabetes. *Diabetes Obes Metab* 2002 ; 4:255–26.
- Paolisso G**, Manzella D, Rizzo MR, Ragno E, Barbieri M, Varricchio G, Varricchio M. Elevated plasma fatty acid concentrations stimulate the cardiac autonomic nervous system in healthy subjects. *Am J Clin Nutr* 2000 ; 72:723–730.
- Paolisso G**, Scheen AJ, Giugliano D, Sgambato S, Albert A, Varricchio M. Pulsatile insulin delivery has greater metabolic effects than continuous hormone administration in man: importance of pulse frequency. *J Clin Endocrinol Metab* 1991 ; 72:607-15.
- Parham WA**, Mehdirad AA, Biermann KM, Fredman CS. Hyperkalemia revisited. *Tex Heart Inst J* 2006 ; 33(1):40-7.
- Parish JM**, Adam T, Facchiano L. Relationship of metabolic syndrome and obstructive sleep apnea. *J Clin Sleep Med* 2007 ; 3:467–472.

- Park YW**, Zhu S, Palaniappan L, Heshka S, Carnethon MR, Heymsfield SB. The metabolic syndrome: prevalence and associated risk factor findings in the US population from the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988–1994. *Arch Intern Med* 2003 ; 163:427–436.
- Pasanisi F**, Contaldo F, de Simone G, Mancini M. Benefits of sustained moderate weight loss in obesity. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2001 ; 11:401–406.
- Pearson ER**, Velho G, Clark P. beta-cell genes and diabetes: quantitative and qualitative differences in the pathophysiology of hepatic nuclear factor 1- alpha and glucokinase mutations. *Diabetes* 2001 ; 50(suppl 1):S101-7.
- 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):306-12.
- Perret P**. Etudes biologiques de nouveaux analogues iodés du glucose et validation du 6-déoxy-6-iodo-D-glucose comme traceur pur du transport du glucose in vivo. Thèse de l'Université Joseph Fourier 1999, Grenoble.
- 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):734-44.
- Perseghin G**, Scifo P, De Cobelli F. Intramyocellular triglyceride content is a determinant of in vivo insulin resistance in humans: a 1H-13C nuclear magnetic resonance spectroscopy assessment in offspring of type 2 diabetic parents. *Diabetes* 1999 ; 48:1600–1606.
- Petersen KF**, Befroy D, Dufour S, Dziura J, Ariyan C, Rothman DL, DiPietro L, Cline GW, Shulman GI. Mitochondrial dysfunction in the elderly: possible role in insulin resistance. *Science* 2003 ; 300:1140–1142.
- Petersen KF**, Dufour S, Befroy D, Garcia R, Shulman GI. Impaired mitochondrial activity in the insulin-resistant offspring of patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2004 ; 350:664–671.
- Pfeiffer MA**, Halter JB, Porte D. Insulin secretion in diabetes mellitus. *Am J Med* 1981 ; 70:579-88.
- Phay JE**, Hussain HB, Moley JF. Cloning and expression analysis of a novel member of the facilitative glucose transporter family, SLC2A9 (GLUT9). *Genomics* 2000 ; 66(2):217-20.
- Pilkis SJ**, Granner DK. Molecular physiology of the regulation of hepatic gluconeogenesis and glycolysis. *Annu Rev Physiol* 1992 ; 54:885–909.
- Piroli GG**, Grillo CA, Charron MJ, McEwen BS, Reagan LP. Biphasic effects of stress upon GLUT8 glucose transporter expression and trafficking in the diabetic rat hippocampus. *Brain Res* 2004 ; 1006(1):28-35.
- Pontoglio M**, Sreenan S, Roe M. Defective insulin secretion in hepatocyte nuclear factor 1-a deficient mice. *J Clin Invest* 1998 ; 101:2215-22.
- Potenza MA**, Marasciulo FL, Chieppa DM, Brigiani GS, Formoso G, Quon MJ, Montagnani M. Insulin resistance in spontaneously hypertensive rats is associated with endothelial dysfunction characterized by imbalance between NO and ET-1 production. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2005 ; 289:H813–H822.
- Proud CG**. Regulation of protein synthesis by insulin. *Biochem Soc Trans* 2006;34(2):213-6.
- Quon MJ**, Cochran C, Taylor SI, Eastman RC. Non-insulin-mediated glucose disappearance in subjects with IDDM. Discordance between experimental results and minimal model analysis. *Diabetes* 1994 ; 43:890–896.

- Rader JD.** Effect of Insulin Resistance, Dyslipidemia, and Intra-abdominal Adiposity on the Development of Cardiovascular Disease and Diabetes Mellitus. *The American Journal of Medicine* 2007 ; 120(3):S12–S18.
- Radikova Z.** Assessment of insulin sensitivity/resistance in epidemiological studies. *Endocrine Regulations* 2003 ; 37:189-194.
- Rahmouni K,** Morgan DA, Morgan GM, Liu X, Sigmund CD, Mark AL, Haynes WG. Hypothalamic PI3K and MAPK differentially mediate regional sympathetic activation to insulin. *J Clin Invest* 2004 ; 114:652–658.
- Rajala MW,** Qi Y, Patel HR. Regulation of resistin expression and circulating levels in obesity, diabetes, and fasting. *Diabetes* 2004 ; 53:1671–1679.
- Randle PJ,** Garland PB, Hales CN, Newsholme EA. The glucose fatty-acid cycle. Its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. *Lancet* 1963 ; 1:785–789.
- Rattigan S,** Clark MG, Barrett EJ. Hemodynamic actions of insulin in rat skeletal muscle: evidence for capillary recruitment. *Diabetes* 1997 ; 46:1381–1388.
- Ratzmann KP,** Schulz B, Heinke P, Michaelis D. Quantitative and qualitative changes in the early insulin response to glucose in subjects with impaired carbohydrate tolerance. *Diabetes Care* 1981 ; 4:85-91.
- Reaven GM.** Insulin resistance, the insulin resistance syndrome, and cardiovascular disease. *Panminerva Med* 2005 ; 47:201–210.
- Reaven GM.** Banting Lecture 1988: Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988 ; 37:1595–1607.
- Reaven GM.** The fourth musketeer - from Alexandre Dumas to Claude Bernard. *Diabetologia* 1995 ; 38:3–13.
- Reusch JE.** Diabetes, microvascular complications, and cardiovascular complications: what is it about glucose? *J Clin Invest* 2003 ; 112:986–988.
- Ridker PM,** Buring JE, Cook NR, Rifai N. C-reactive protein, the metabolic syndrome, and risk of incident cardiovascular events: an 8-year follow-up of 14,719 initially healthy American women. *Circulation* 2003 ; 107:391–397.
- Rieusset J,** Bouzakri K, Chevillotte E. SOCS (Suppressor Of Cytokine Signaling)-3 Expression and Insulin Resistance in Skeletal Muscle of Obese and Type 2 Diabetic Patients. *Diabetes* 2004 ; 53:2232-41.
- Ritov VB,** Menshikova EV, He J, Ferrell RE, Goodpaster BH, Kelley DE. Deficiency of subsarcolemmal mitochondria in obesity and type 2 diabetes. *Diabetes* 2005 ; 54:8–14.
- Roden M,** Shulman GI. Applications of NMR spectroscopy to study muscle glycogen metabolism in man. *Annu Rev Med* 1999 ; 50:277-90.
- Rogers S,** Macheda ML, Docherty SE, Carty MD, Henderson MA, Soeller WC, Gibbs EM, James DE, Best JD. Identification of a novel glucose transporter-like protein-GLUT-12. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002 ; 282(3):E733-8.
- Roh SG,** Song SH, Choi KC, Katoh K, Wittamer V, Parmentier M and Sasaki S. Chemerin—a new adipokine that modulates adipogenesis via its own receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 2007 ; 362:1013–1018.
- Rose AJ,** Richter EA. Skeletal muscle glucose uptake during exercise: how is it regulated? *Physiology (Bethesda)* 2005 ; 20:260-70.
- Sacks FM,** Svetkey LP, Vollmer WM, Appel LJ, Bray GA, et al. Effects on blood pressure of reduced dietary sodium and the Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) diet. DASH-Sodium Collaborative Research Group. *N Engl J Med* 2001 ; 344:3–10.
- Sagen JV,** Baumann ME, Salvesen HB, Molven A, Søvik O, Njølstad PR. Diagnostic screening of NEUROD1 (MODY6) in subjects with MODY or gestational diabetes mellitus. *Diabet Med* 2005 ; 22(8):1012-5.

- Samaras K**, Wand H, Law M, Emery S, Cooper D, Carr A. Prevalence of metabolic syndrome in HIV-infected patients receiving highly active antiretroviral therapy using International Diabetes Foundation and Adult Treatment Panel III criteria: associations with insulin resistance, disturbed body fat compartmentalization, elevated C-reactive protein, and [corrected] hypoadiponectinemia. *Diabetes Care* 2007 ; 30:113–119.
- Sampalis JS**, Bissonnette S, Habib R, Boukas S. Reduction in estimated risk for coronary artery disease after use of ezetimibe with a statin. *Ann Pharmacother* 2007 ; 41:1345–1351.
- Samuel VT**, Liu ZX, Qu X, Elder BD, Bilz S, Befroy D, Romanelli AJ, Shulman GI. Mechanism of hepatic insulin resistance in non-alcoholic fatty liver disease. *J Biol Chem* 2004 ; 279:32345–32353.
- Sartipy P**, Loskutoff DJ. Monocyte chemoattractant protein 1 in obesity and insulin resistance. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003 ; 100(12):7265-70.
- Sattar N**, McConnachie A, Shaper AG, Blauw GJ, Buckley BM, et al. Can metabolic syndrome usefully predict cardiovascular disease and diabetes? Outcome data from two prospective studies. *Lancet* 2008 ; 371:1927–1935.
- Savage DB**, Petersen KF, Shulman GI. Disordered lipid metabolism and the pathogenesis of insulin resistance. *Physiol Rev* 2007 ; 87(2):507-20.
- Scheen AJ**, Paquot N. Use of cannabinoid CB1 receptor antagonists for the treatment of metabolic disorders. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2009 ; 23(1):103-16.
- Scherrer U**, Sartori C. Insulin as a vascular and sympathoexcitatory hormone: implications for blood pressure regulation, insulin sensitivity, and cardiovascular morbidity. *Circulation* 1997 ; 96:4104–4113.
- Schmidt S**, Joost HG, Schürmann A. GLUT8, the enigmatic intracellular hexose transporter. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2009 ; 296(4):E614-8.
- Schmitz O**, Rungby J, Edge L, Juhl CB. On high-frequency insulin oscillations. *Ageing Res Rev* 2008 ; 7(4):301-5.
- Schnyder B**, Pittet M, Durand J, Schnyder-Candrian S. Rapid effects of glucose on the insulin signaling of endothelial NO generation and epithelial Na transport..*Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002 ; 282:E87–E94.
- Schopfer FJ**, Lin Y, Baker PR, Cui T, Garcia-Barrio M, Zhang J, Chen K, Chen YE, Freeman BA. Nitrolinoleic acid: an endogenous peroxisome proliferator-activated receptor gamma ligand. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005 ; 102(7):2340-5.
- Schürmann A**, Axer H, Scheepers A, Doege H, Joost HG. The glucose transport facilitator GLUT8 is predominantly associated with the acrosomal region of mature spermatozoa. *Cell Tissue Res* 2002 ; 307(2):237-42.
- Sebokova E**, Klimes I. Molecular and cellular determinants of triglyceride availability. *Ann NY Acad Sci* 1997 ; 827:200-214.
- Seeley RJ**, Yagaloff KA, Fisher SL. Melanocortin receptors in leptin effects. *Nature* 1997 ; 390:349.
- Seino S**. S20G mutation of the amylin gene is associated with type II diabetes in Japanese. Study Group of Comprehensive Analysis of Genetic Factors in Diabetes Mellitus. *Diabetologia* 2001 ; 44:906-909.
- Sesti G**, Federici M, Lauro D, Sbraccia P, Lauro R. Molecular mechanism of insulin resistance in type 2 diabetes mellitus: role of the insulin receptor variant forms. *Diabetes Metab Res Rev* 2001 ; 17(5):363-73.
- Shields TM**, Hennekens CH. Management of metabolic syndrome: aspirin. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2004 ; 33:577-593.
- Shulman GI**, Rothman DL, Jue T, Stein P, DeFronzo RA, Shulman RG. Quantitation of muscle glycogen synthesis in normal subjects and subjects with non-insulin-dependent

- diabetes by ^{13}C nuclear magnetic resonance spectroscopy. *N Engl J Med* 1990 ; 322: 223-228.
- Shulman GI**. Unraveling the cellular mechanism of insulin resistance in humans: new insights from magnetic resonance spectroscopy. *Physiology (Bethesda)* 2004 ; 19:183–190.
- Silventoinen K**, Pankow J, Jousilahti P, Hu G, Tuomilehto J. Educational inequalities in the metabolic syndrome and coronary heart disease among middle-aged men and women. *Int J Epidemiol* 2005 ; 34:327-334.
- 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):529-46.
- Soonthornpun S**, Setasuban W, Thamprasit A, Chayanunnukul W, Rattarasarn C, Geater A. Novel insulin sensitivity index derived from oral glucose tolerance test. *J Clin Endocrinol Metab* 2003 ; 88:1019-23.
- Spalding KL**, Arner E, Westermark PO, Bernard S, Buchholz BA, et al. Dynamics of fat cell turnover in humans. *Nature* 2008 ; 453(7196):783-7.
- Stamler R**, Stamler J, Grimm R, Gosch FC, Elmer P, et al. Nutritional therapy for high blood pressure. Final report of a fouryear randomized controlled trial-the Hypertension Control Program. *JAMA* 1987 ; 257:1484-1491.
- Stark K**, Reinhard W, Neureuther K, Wiedmann S, Sedlacek K, et al. Association of common polymorphisms in GLUT9 gene with gout but not with coronary artery disease in a large case-control study. *PLoS ONE* 2008 ; 3(4):1948.
- Stefan N**, Kantartzis K, Machann J, Schick F, Thamer C, et al. Identification and characterization of metabolically benign obesity in humans. *Arch Intern Med* 2008 ; 168:1609-1616.
- Steppan CM**, Bailey ST, Bhat S. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature* 2001 ; 409:307-12.
- Stoffers DA**, Ferrer J, Clarke WL, Habener JF. Early-onset type 2 diabetes mellitus (MODY4) linked to IPF1. *Nat Genet* 1997 ; 17:138-9.
- Stratton IM**, Adler AI, Neil HA, Matthews DR, Manley SE, et al. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. *BMJ* 2000 ; 321(7258):405-12.
- Stumvoll M**, Goldstein BJ & van Haefen TW. Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy. *Lancet* 2005 ; 365:1333-1346.
- Stumvoll M**, Mitrakou A, Pimenta W, Jenssen T, Yki-Järvinen H, et al. Use of the oral glucose tolerance test to assess insulin release and insulin sensitivity. *Diabetes Care* 2000 ; 23(3):295-301.
- Sun SS**, Liang R, Huang TT, Daniels SR, Arslanian S, Liu K, Grave GD, Siervogel RM. Childhood obesity predicts adult metabolic syndrome: the Fels Longitudinal Study. *J Pediatr* 2008 ; 152:191-200.
- Suzuki K**, Kono T. Evidence that insulin causes translocation of glucose transport activity to the plasma membrane from an intracellular storage site. *Proc Natl Acad Sci USA* 1980 ; 77(5):2542-5.
- Szokodi I**, Tavi P, Foldes G. Apelin, the novel endogenous ligand of the orphan receptor APJ, regulates cardiac contractility. *Circ Res* 2002 ; 91:434–40.
- Takahashi M**, Takahashi Y, Takahashi K. Chemerin enhances insulin signaling and potentiates insulin-stimulated glucose uptake in 3T3-L1 adipocytes. *FEBS Lett* 2008 ; 582:573-8.

- Takasawa K**, Kubota N, Terauchi Y, Kadowaki T. Impact of increased PPAR γ activity in adipocytes in vivo on adiposity, insulin sensitivity and the effects of rosiglitazone treatment. *Endocr J* 2008 ; 55(4):767-76.
- Tan GD**, Goossens GH, Humphreys SM, Vidal H, and Karpe F. Upper and lower body adipose tissue function: a direct comparison of fat mobilization in humans. *Obes Res* 2004 ; 12:114-118.
- Tasali E**, Van Cauter E. Sleep-disordered breathing and the current epidemic of obesity: consequence or contributing factor? *Am J Respir Crit Care Med* 2002 ; 165:562–563.
- Tatemoto K**, Takayama K, Zou MX. The novel peptide apelin lowers blood pressure via a nitric oxide-dependent mechanism. *Regul Pept* 2001 ; 99:87–92.
- Tengholm A**, Gylfe E. Oscillatory control of insulin secretion. *Mol Cell Endocrinol* 2009 ; 297(1-2):58-72.
- Tesz GJ**, Guilherme A, Guntur KV, Hubbard AC, Tang X, Chawla A, Czech MP. Tumor necrosis factor alpha (TNF α) stimulates Map4k4 expression through TNF α receptor 1 signaling to c-Jun and activating transcription factor 2. *J Biol Chem*. 2007 ; 282(27):19302-12.
- The world health report 2006**: working together for health. Geneva: World Health Organization, 2006. therapeutic applications in heart failure and obesity. *Trends Pharmacol Sci* 27:190–194.
- Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report**. *Circulation* 2002 ; 106:3143–3421.
- Todd MK**, Watt MJ, Le J, Hevener AL, Turcotte LP. Thiazolidinediones enhance skeletal muscle triacylglycerol synthesis while protecting against fatty acid-induced inflammation and insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2007 Feb ; 292(2):E485-93.
- Tontonoz P**, Spiegelman BM. Fat and beyond: the diverse biology of PPAR γ . *Annu Rev Biochem* 2008 ; 77:289-312.
- Trayhurn P**, Wood IS. Adipokines: Inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *Br J Nutr* 2004 ; 92:347–55.
- Trayhurn P**, Thomas MEA, Duncan JS and Rayner DV. Effects of fasting and refeeding on Ob gene expression in white adipose tissue of lean and obese mice. *FEBS Lett* 1995 ; 368:488-490.
- Tsuchida A**, Yamauchi T, Ito Y. Insulin/foxo1 pathway regulates expression levels adiponectin receptors adiponectin sensitivity. *J Biol Chem* 2004 ; 279:30817-30822.
- UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group**. Effect of intensive blood-glucose control with metformin on complications in overweight patients with type 2 diabetes (UKPDS 34). *Lancet* 1998 ; 352:854–65.
- Uldry M**, Ibberson M, Horisberger JD, Chatton JY, Riederer BM, Thorens B. Identification of a mammalian H(+)-myo-inositol symporter expressed predominantly in the brain. *EMBO J* 2001 ; 20(16):4467-77.
- Van Gaal LF**, Wauters MA, De Leeuw IH. The beneficial effects of modest weight loss on cardiovascular risk factors. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1997 ; 21(Suppl 1):S5–S9.
- Van Harmelen V**, Ariapart P, Hoffstedt J, Lundkvist I, Bringman S, Arner P. Increased adipose angiotensinogen gene expression in human adiposity. *Obes Res* 2000 ; 8:337-41.
- Vázquez-Vela ME**, Torres N, Tovar AR. White adipose tissue as endocrine organ and its role in obesity. *Arch Med Res* 2008 ; 39(8):715-28.

- Vecchione C**, Aretini A, Maffei A, Marino G, Selvetella G, Poulet R, Trimarco V, Frati G, Lembo G. Cooperation between insulin and leptin in the modulation of vascular tone. *Hypertension* 2003 ; 42:166–170.
- Velho G**, Bellanné-Chantelot C, Timsit J. MODY, a model of genotype/phenotype interactions in type 2 diabetes. *Med Sci (Paris)* 2003; 19(8-9):854-9.
- Velho G**, Froguel P, Clément K. Primary pancreatic beta-cell secretory defect caused by mutations in the glucokinase in kindreds of maturity onset diabetes of the young. *Lancet* 1992 ; 340:444-8.
- Verma S**, Li SH, Wang CH, Fedak PW, Li RK, Weisel RD, Mickle DA. Resistin promotes endothelial cell activation: further evidence of adipokine-endothelial interaction. *Circulation* 2003 ; 108:736-740.
- Vincent MA**, Clerk LH, Lindner JR, Price WJ, Jahn LA, Leong-Poi H, Barrett EJ. Mixed meal and light exercise each recruit muscle capillaries in healthy humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2006 ; 290:E1191-E1197.
- Vogt C**, Ardehali H, Iozzo P. Regulation of hexokinase II expression in human skeletal muscle in vivo. *Metabolism* 2000 ; 49(6):814-818.
- Vollaire J**. Nouvelle approche diagnostique du Syndrome Métabolique par la médecine nucléaire. Master 2^{ème} année, 2005.
- Wang CC**, Goalstone ML, Draznin B. Molecular mechanisms of insulin resistance that impact cardiovascular biology. *Diabetes* 2004 ; 53:2735–40.
- Wang XL**, Zhang L, Youker K, Zhang MX, Wang J, LeMaire SA, Coselli JS, Shen YH. Free fatty acids inhibit insulin signaling-stimulated endothelial nitric oxide synthase activation through upregulating PTEN or inhibiting Akt kinase. *Diabetes* 2006;55:2301–2310.
- Wassenaar W**, Tator CH. Glucose analogues as potential agents for brain tumour diagnosis and treatment. *Trans Am Neurol Assoc* 1973 ; 98:43-8.
- Watanabe S**, Tagawa T, Yamakawa K, Shimabukuro M, Ueda S. Inhibition of the renin-angiotensin system prevents free fatty acid-induced acute endothelial dysfunction in humans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005 ; 25:2376–2380.
- Weber P**, Raederstorff D. Triglyceride-lowering effect of omega-3 LC-polyunsaturated fatty acids—a review. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2000 ; 10:28–37.
- Weigert C**, Hennige AM, Lehmann R, Brodbeck K, Baumgartner F, et al. Direct cross-talk of interleukin-6 and insulin signal transduction via insulin receptor substrate-1 in skeletal muscle cells. *J Biol Chem* 2006 ; 281(11):7060-7.
- Weisberg SP**, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante AW Jr. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest* 2003 ; 112(12):1796-808.
- Weiss R**, Dziura J, Burgert TS, Tamborlane WV, Taksali SE, et al. Obesity and the metabolic syndrome in children and adolescents. *N Engl J Med* 2004 ; 350:2362–2374.
- Werner N**, Nickenig G. From fat fighter to risk factor: the zigzag trek of leptin. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004 ; 24(1):7-9.
- Westermarck P**, Wernstedt C, O'Brien TD, Hayden DW, Johnson KH . Islet amyloid in type 2 human diabetes mellitus and adult diabetic cats contains a novel putative polypeptide hormone. *Am J Pathol* 1987 ; 127:414–417.
- Whelton SP**, Chin A, Xin X, He J. Effect of aerobic exercise on blood pressure: a meta-analysis of randomized, controlled trials. *Ann Intern Med* 2002 ; 136:493–503.
- White MF**. IRS proteins and the common path to diabetes. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002 ; 283:E413-22.

- Widmer M**, Uldry M, Thorens B. GLUT8 subcellular localization and absence of translocation to the plasma membrane in PC12 cells and hippocampal neurons. *Endocrinology*. 2005 ; 146(11):4727-36.
- 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 ; 27:1047-53.
- Williams SB**, Goldfine AB, Timimi FK, Ting HH, Roddy MA, Simonson DC, Creager MA. Acute hyperglycemia attenuates endothelium-dependent vasodilation in humans in vivo. *Circulation* 1998 ; 97:1695–1701.
- Wood IS**, Trayhurn P. Glucose transporters (GLUT and SGLT): expanded families of sugar transport proteins. *Br J Nutr* 2003 ; 89(1):3-9.
- Wright EM**. Renal Na(+)-glucose cotransporters. *Am J Physiol Renal Physiol* 2001 ; 280(1): F10-8.
- Wright EM**, Loo DD, Hirayama BA, Turk E. Surprising versatility of Na⁺-glucose cotransporters: SLC5. *Physiology (Bethesda)* 2004 ; 19:370-6.
- Wu X**, Freeze HH. GLUT14, a duplicon of GLUT3, is specifically expressed in testis as alternative splice forms. *Genomics* 2002 ; 80(6):553-7.
- Xiao C**, Giacca A, Carpentier A, Lewis GF. Differential effects of monounsaturated, polyunsaturated and saturated fat ingestion on glucose-stimulated insulin secretion, sensitivity and clearance in overweight and obese, non-diabetic humans. *Diabetologia* 2006 ; 49:1371– 1379.
- Xu JW**, Morita I, Ikeda K, Miki T, Yamori Y. C-reactive protein suppresses insulin signaling in endothelial cells. Role of Syk tyrosine kinase. *Mol Endocrinol* 2007 ; 21:564–573.
- Yamagishi SI**, Edelstein D, Du XL, Kaneda Y, Guzman M, Brownlee M. Leptin induces mitochondrial superoxide production and monocyte chemoattractant protein-1 expression in aortic endothelial cells by increasing fatty acid oxidation via protein kinase A. *J Biol Chem* 2001 ; 276:25096-25100.
- Yamauchi T**, Kamon J, Ito YA. Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nature* 2003 ; 423:762-9.
- Yamauchi T**, Kamon J, Minokoshi Y. Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nat Med* 2002 ; 8:1288-95.
- Yang Q**, Graham TE, Mody N, Preitner F, Peroni OD, Zabolotny JM. Serum retinol binding protein 4 contributes to insulin resistance in obesity and type 2 diabetes. *Nature* 2005 ; 436:356-362.
- Yang R**, Lee MJ, Hu H, Pray J, Wu HB, Hansen BC. Identification of omentin as a novel depot-specific adipokine in human adipose tissue: possible role in modulating insulin action. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2006 ; 290:1253–61.
- Yates T**, Khunti K, Bull F, Gorely T, Davies MJ. The role of physical activity in the management of impaired glucose tolerance: a systematic review. *Diabetologia* 2007 ; 50:1116–1126.
- Ye J**, Gao Z, Yin J, He Q. Hypoxia is a potential risk factor for chronic inflammation and adiponectin reduction in adipose tissue of ob/ob and dietary obese mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2007 ; 293:E1118–28.
- Yu C**, Chen Y, Cline GW, Zhang D, Zong H, et al. Mechanism by which fatty acids inhibit insulin activation of insulin receptor substrate-1 (IRS-1)-associated phosphatidylinositol 3-kinase activity in muscle. *J Biol Chem* 2002 ; 277:50230–50236.
- Zabel BA**, Allen SJ, Kulig P, Allen JA, Cichy J, Handel TM and Butcher EC. Chemerin activation by serine proteases of the coagulation, fibrinolytic, and inflammatory cascades. *J Biol Chem* 2005 ; 280:34661–34666.

- Zaid H**, Antonescu CN, Randhawa VK, Klip A. Insulin action on glucose transporters through molecular switches, tracks and tethers. *Biochem. J* 2008 ; 413:201–215.
- Zhang B**, Berger J, Hu E, Szalkowski D, White-Carrington S, Spiegelman BM, Moller DE. Negative regulation of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma gene expression contributes to the antiadipogenic effects of tumor necrosis factor-alpha. *Mol Endocrinol* 1996 ; 10(11):1457-66.
- Zhang S**, Liu H, Yu H, Cooper GJ. Fas-associated death receptor signaling evoked by human amylin in islet β -cells. *Diabetes* 2008 ; 57:348–356.
- Zhang Y**, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994 ; 372:425-432.
- Zhou G**, Myers R, Li Y, Chen Y, Shen X, Fenyk-Melody J. Role of AMP-activated protein kinase in mechanism of metformin action. *J Clin Invest* 2001 ; 108(8):1167-74.
- Zhou L**, Cryan EV, D'Andrea MR, Belkowsi S, Conway BR, Demarest KT. Human cardiomyocytes express high level of Na⁺/glucose cotransporter 1 (SGLT1). *J Cell Biochem* 2003 ; 90(2):339-46.
- Zhu S**, St-Onge MP, Heshka S, Heymsfield SB. Lifestyle behaviors associated with lower risk of having the metabolic syndrome. *Metabolism* 2004 ; 53(11):1503-11.
- Zierler KL**. Fatty acids as substrates for heart and skeletal muscle. *Circ Res* 1976 ; 39:459-63.
- Zimmerman BR**. Sulfonylureas. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1997 ; 26:511-21.
- Zimmet P**, Alberti G, Kaufman F, Tajima N, Silink M, Arslanian S, Wong G, Bennett P, Shaw J, Caprio S. The metabolic syndrome in children and adolescents. *The Lancet* 2007 Jun 23 ; 369(9579):2059-61.
- Zorzano A**, Wilkinson W. Insulin regulated glucose uptake in rat adipocytes is mediated by two transporter isoforms present in at least two vesicles population. *J Biol Chem* 1989 ; 264:12358-12636.

Résumé. L'insulino-résistance (IR), est un défaut métabolique clef dans le développement de nombreuses anomalies métaboliques, et augmente considérablement le risque de maladies cardiovasculaires. Le dépistage précoce de l'IR, est donc d'un intérêt clinique majeur. Parmi les techniques de mesure de l'IR, aucune n'est applicable en routine clinique. L'UMR_S 877 a développé un analogue iodé du glucose, le [¹²³I]-6-déoxy-6-iodo-D-glucose (6DIG), traceur pur du transport du glucose. Un protocole de mesure a été développé pour étudier le transport du 6DIG dans le cœur, et fournir un index R d'IR cardiaque. L'objectif de mon travail consiste à valider l'index d'IR cardiaque, à développer une méthode de mesure de l'IR dans le muscle squelettique avec le 6DIG, et de regrouper ces deux méthodes en un seul protocole transposable chez l'homme. Les résultats montrent que l'index cardiaque est reproductible et sensible, il est validé. Un descripteur empirique (DE), basé sur l'analyse des cinétiques tissulaires a été développé. Il est également reproductible et sensible. Le transport du 6DIG dans le muscle squelettique peut être modélisé et fournir un index d'IR musculaire. Un DE musculaire corrélé aux valeurs d'index du modèle mathématique a été recherché. Les index d'IR cardiaques et musculaires corrélaient significativement avec le GIR, obtenu avec la méthode de référence de mesure de l'IR, le clamp euglycémique hyperinsulinémique. Les deux DE, mesurés simultanément lors d'un même protocole, sont reproductibles et sensibles. Ces résultats permettent d'envisager l'utilisation du 6DIG chez l'homme, et pour des études physiopathologiques chez l'animal.

Mots clefs : Radiopharmaceutiques, résistance à l'insuline, analogues iodés du glucose, Médecine Nucléaire

Abstract. Insulin resistance (IR) is a key defect in the development of many metabolic complications, such as Metabolic Syndrome and type 2 diabetes. Assessment of IR is of great clinical interest. There are no accurate and convenient procedure for insulin resistance measurement available in clinical practice. [¹²³I]6-deoxy-6-iodo-D-glucose (6DIG) has been developed as a new tracer of glucose transport. An experimental protocol and a compartmental model were developed to study 6DIG transport in myocardium, and provide a cardiac IR index. The aim of this study was first to validate this cardiac IR index, second to develop a protocol for muscle IR index with 6DIG, and third to group this two protocols in one, transposable in humans. Results show that cardiac IR index is reproducible and sensitive. An empirical descriptor (ED), based on an analysis of tissue-activity curves has been developed. It is reproducible and sensitive. Mathematical modelisation permit to estimate 6DIG transport in skeletal muscle, and provide a muscle IR index. An ED, correlated with index values, has been developed. Skeletal muscle and myocardic IR index are significantly correlated with GIR, provided by the gold standard assessment of IR, the hyperinsulinaemic glucose clamp. ED are well correlated with GIR but no significantly. The two ED measured during the same experimental protocol, are reproducible and sensitive. Results are very encouraging for further use in Nuclear Medicine in humans, and for physiopathological studies in animals.

Key words : Radiopharmaceuticals, insulin resistance, iodinated glucose analogues, Nuclear Medicine