



Open Archive TOULOUSE Archive Ouverte (OATAO)

OATAO is an open access repository that collects the work of Toulouse researchers and makes it freely available over the web where possible.

This is an author-deposited version published in : <http://oatao.univ-toulouse.fr/>
Eprints ID : 2850

To cite this document :

Pons, Emmanuelle (2009) [Influence de l'obésité sur l'insulinémie chez le chien sain : étude expérimentale](#) Thesis

Any correspondance concerning this service should be sent to the repository administrator: staff-oatao@inp-toulouse.fr

Influence de l'obésité sur l'insulinémie chez le chien sain *Etude expérimentale*

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

DIPLOME

Emmanuelle, Anne PONS
Née le 9 février 1982 à Libourne (Gironde)

Directeur de thèse : Mme le Docteur Lydie BRET-BENNIS

JURY

PRESIDENT :
M. Philippe CARON

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEUR :
Mme Lydie BRET-BENNIS
Mme Nathalie PRIYMENKO

Maître de Conférence à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Maître de Conférence à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Ministère de l'Agriculture et de la Pêche
ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

Directeur : M. **A. MILON**

Directeurs honoraires : M. **G. VAN HAVERBEKE**
M. **P. DESNOYERS**

Professeurs honoraires :

M.	L. FALIU	M.	A. CAZIEUX	M.	D. GRIESS
M.	C. LABIE	Mme	V. BURGAT	M.	CABANIE
M.	C. PAVAU	M.	J. CHANTAL	M.	DARRE
M.	F. LESCURE	M.	JF. GUELF	M.	HENROTEAUX
M.	A. RICO	M.	EECKHOUTTE	M.	BODIN-ROZAT DE MENDRES NEGRE

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

M. **BRAUN Jean-Pierre**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
M. **DORCHIES Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
M. **EUZEBY Jean**, *Pathologie générale. Microbiologie, Immunologie*
M. **TOUTAIN Pierre-Louis**, *Physiologie et Thérapeutique*

PROFESSEURS 1^{ère} CLASSE

M. **AUTEFAGE André**, *Pathologie chirurgicale*
Mme **CLAUW Martine**, *Pharmacie-Toxicologie*
M. **CORPET Denis**, *Science de l'Aliment et Technologies dans les Industries agro-alimentaires*
M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie Pathologique*
M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
M. **FRANC Michel**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
M. **MARTINEAU Guy**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*
M. **PETIT Claude**, *Pharmacie et Toxicologie*
M. **REGNIER Alain**, *Physiopathologie oculaire*
M. **SAUTET Jean**, *Anatomie*
M. **SCHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

PROFESSEURS 2nd CLASSE

Mme **BENARD Geneviève**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
M. **BERTHELOT Xavier**, *Pathologie de la Reproduction*
M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Physiologie et Thérapeutique*
M. **CONCORDET Didier**, *Mathématique, Statistique, Modélisation*
M. **DUCOS Alain**, *Zootéchnie*
M. **DUCOS DE LAHITTE Jacques**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
Mme **HAGEN-PICARD Nicole**, *Pathologie de la Reproduction*
M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et Thérapeutique*
M. **LIGNE REUX Yves**, *Anatomie*
M. **PICAVET Dominique**, *Pathologie infectieuse*
M. **SANS Pierre**, *Productions animales*
M. **TRUMEL Catherine**, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*

INGENIEUR DE RECHERCHE

M. **T AMZALI Youssef**, *Responsable Clinique Equine*

PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

Mme **MICHAUD Françoise**, *Professeur d'Anglais*

M. **SEVERAC Benoît**, *Professeur d'Anglais*

MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE

M. **JOUGLAR Jean-Yves**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

MAITRES DE CONFERENCES (classe normale)

M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*

M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*

Mme **BENNIS-BRET Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*

M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*

M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*

Mme **BOUCLAINVILLE-CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*

Mle **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*

Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, Anatomie pathologique*

M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*

Mle **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie*

M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*

Mle **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*

M. **DOSSIN Olivier**, (DISPONIBILITE) *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*

M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie du Bétail*

M. **GUERIN Jean-Luc**, *Elevage et Santé avicoles et cunicoles*

M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*

M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*

Mle **LACROUX Caroline**, *Anatomie Pathologique des animaux de rente*

M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et Mathématiques*

M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*

M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*

Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie Chirurgicale*

M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*

M. **MONNEREAU Laurent**, *Anatomie, Embryologie*

Mle **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*

Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*

Mme **RAYMOND-LETRON Isabelle**, *Anatomie pathologique*

Mme **TROGELER-MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation*

M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et Infectiologie*

M. **VERWAERDE Patrick**, *Anesthésie, Réanimation*

MAITRES DE CONFERENCES CONTRACTUELS

Mle **BUCK-ROUCH Petra**, *Médecine interne des animaux de compagnie*

M. **CASSARD Hervé**, *Pathologie du bétail*

M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophthalmologie*

M. **SEGUELA Jérôme**, *Médecine interne des animaux de compagnie*

M. **VERSET Michaël**, *Chirurgie des animaux de compagnie*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

Mle **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'origine animale*

M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*

M. **GIN Thomas**, *Production et pathologie porcine*

M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*

M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction*

M. **RABOISSON Didier**, *Productions animales*

Mle **TREVENNEC Karen**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles et porcins*

A Monsieur le Professeur Philippe CARON, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, *Endocrinologie et Maladies métaboliques*, qui a accepté la présidence de notre jury de thèse.

A Madame le Docteur Lydie BRET-BENNIS, Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, *Physique et chimie biologiques et médicales*, pour son aide précieuse, sa patience et son temps passé à la correction, au prix d'en perdre presque son latin.

A Madame le Docteur Nathalie PRIYMENKO, Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, *Alimentation*, qui nous a conseillées et fait l'honneur de participer à notre jury de thèse.

Un très grand merci à Monsieur Renaud, l'ACCA et tous les propriétaires de chiens sans qui cette étude n'aurait pu être réalisée.

A toute l'équipe du laboratoire d'analyses de biologie médicale G. Dennery et J.F. Crockett qui m'a gracieusement fourni du matériel et permis d'utiliser leur centrifugeuse.

A Sarra, pour avoir réalisé les dosages de l'insulinémie en dépit de tous les obstacles ayant entravé son travail.

Grand merci à Fabien et les longues heures sacrifiées au téléphone pour m'expliquer les statistiques et le fonctionnement du logiciel R.

A mes parents, pour leur soutien quotidien et le sang froid dont ils ont du faire preuve, certes aidés par d'innombrables boîtes de Lexomyl, pendant mes années de prépa...

A ma sœur, à nos ballades à cheval, dont je ne reviens pas souvent en un seul morceau...

A mes grands-parents pour leurs enseignements et leurs bons petits plats cuisinés avec amour...

A toute ma famille pour leurs encouragements et nos repas pluriannuels souvent bien arrosés...

A toute l'équipe d'Aquivet pour l'enrichissante année passée à vos côtés...

Pauline, Marie, Caro, Fred, Marielle, Véro, Aude, Marion, Julie, Sylvain, à nos 20 ans d'amitié, nos fous-rires, et nos retrouvailles annuelles, puissent-elles durer éternellement, "qu'on se le dise au fond des ports"...

Alex, Mariette, Anaïg, Ju et Gerem, Marlène, Audrey, Elo, à toutes nos soirées et virées dans les Pyrénées aux-quelles nous avons finalement tous survécus...

A toute l'équipe des Morues et les fabuleux moments passés sur les pelouses de Toulouse et d'ailleurs... we are the champions !

A Pixi qui m'a donné envie de faire véto...

**Influence de l'obésité sur
l'insulinémie chez le chien sain.**

Etude expérimentale

Sommaire

TABLE DES ILLUSTRATIONS	7
LISTE DES ABRÉVIATIONS	9
INTRODUCTION.....	13
PARTIE I : REGULATION DE L'INSULINEMIE CHEZ LE CHIEN SAIN	15
A. Régulation de l'insulinémie chez le chien sain non obèse.	17
1. Structure de l'insuline.....	17
2. Synthèse de l'insuline.	18
2.1. Régulation de la transcription du gène de l'insuline.	18
2.1.1. Régulation de la transcription par le complexe de transcription.	18
2.1.2. Régulation du complexe de transcription.....	21
2.2. Obtention de l'insuline mature.	25
3. La sécrétion de l'insuline et sa régulation.....	26
3.1. Mécanisme de la sécrétion d'insuline en réponse au glucose.....	26
3.2. Régulation de la sécrétion d'insuline.	31
3.2.1. Rôles des substrats énergétiques.....	31
3.2.2. Rôles des hormones gastro-intestinales.	36
3.2.3. Rôle des hormones et enzymes pancréatiques.....	37
3.2.4. Rôles des autres hormones.....	38
3.2.5. Rôle du système nerveux autonome.	39
3.3. Coopération entre les cellules β	42
3.4. Dynamique de la sécrétion d'insuline.....	42
4. Devenir de l'insuline sécrétée.....	45
4.1. Transport sanguin.	45
4.2. Dégradation de l'insuline.....	45
5. Effets de l'insuline sur l'organisme.	47
5.1. Mécanisme d'action de l'insuline.....	47
5.1.1. Initiation du signal insulinique.	47
5.1.2. Transduction du signal insulinique.....	48
5.1.3. Fin du signal insulinique.....	54
5.2. Effets spécifiques de l'insuline sur les principaux tissus cibles.....	55
5.2.1. Effets sur le foie.	55
5.2.2. Effets sur les muscles striés.....	56
5.2.3. Effets sur le tissu adipeux	56
5.3. Conséquences sur la composition biochimique du sang.....	57
6. Conclusion sur les principaux acteurs de la variation de l'insulinémie	60
B. Influence de l'obésité sur l'insulinémie.	62
1. Modifications biochimiques et physiologiques associées à l'obésité.....	62
1.1. L'obésité : un état inflammatoire chronique.....	62

1.2.	Obésité et hyperleptinémie.	66
1.3.	Obésité et hyperlipidémie.	67
1.4.	Obésité et hypertension artérielle.	69
2.	Influence de l'obésité sur la glycémie.	70
2.1.	L'obésité, une cause possible d'insulino-résistance.	70
2.1.1.	Rôles des phosphorylations des sérines et des thréonines des IRS dans la mise en place de l'insulino-résistance.	70
2.1.2.	Les voies du signallement pro-inflammatoire responsable de l'insulino-résistance liée à l'obésité.	71
2.2.	Modification du métabolisme hépatique associé à l'obésité.	74
2.3.	Hyperglycémie et hyperinsulinisme chronique.	76
3.	Influence de l'obésité sur la synthèse et la sécrétion de l'insuline.	76
3.1.	Rôles des TNF- α	76
3.2.	Effet inhibiteur de la leptine sur la sécrétion d'insuline.	78
3.3.	Dualité d'action des acides gras libres sur la cellule β pancréatique.	79
3.4.	Hyperinsulinémie chronique et amyloïdose pancréatique.	82
3.5.	Hyperglycémie chronique et glucotoxicité.	84
3.5.1.	Glucotoxicité dépendante des IL-1	84
3.5.2.	Glucotoxicité dépendante des récepteurs Fas.	87
3.6.	Modification du dynamisme de la sécrétion d'insuline associé à l'obésité.	87
4.	Influence de l'obésité sur le catabolisme insulinique.	88
5.	Synthèse des effets de l'obésité sur la boucle de régulation de l'insuline.	89
5.1.	Obésité et insulino-résistance.	89
5.2.	Obésité et insulino-pénie.	91
5.3.	Chronologie des effets de l'obésité sur la régulation de l'insulinémie.	91

PARTIE II : ETUDE EXPERIMENTALE DE L'INSULINEMIE CHEZ LES CHIENS ADULTES, CLINIQUEMENT SAINS, EN FONCTION DE LEUR ETAT D'ENGRAISSEMENT. 93

A.	Matériel et méthodes	95
1.	Animaux.	95
2.	Analyse des prélèvements.	96
2.1.	Mesure de la glycémie	98
2.2.	Mesure de l'insulinémie	100
2.3.	Traitement statistique.	101
B.	Résultats	102
1.	Variations de l'état d'engraissement en fonction des données épidémiologiques.	102
2.	Variations de la glycémie en fonction des critères de classification des chiens.	102
3.	Variations de l'insulinémie en fonction des critères de classification des chiens.	107
4.	Evaluation de boucle de régulation insulinémie/glycémie.	109
C.	Discussion	131

1. Surpoids et critères épidémiologiques.....	131
2. Glycémie et insulémie basales.....	132
3. Intérêts des index SI1, HOMA, de Bennett et QUICKI dans l'évaluation de la sensibilité périphérique à l'insuline.....	134
4. Profils insuliniques et critères épidémiologiques.....	142
CONCLUSION	148
BIBLIOGRAPHIE.....	151
ANNEXE 1 : FICHE DE RECUEIL DES COMMÉMORATIFS.....	163
ANNEXE 2 : TABLEAU DE DONNÉES INDIVIDUELLES	165
ANNEXE 3 : TABLEAUX DE VARIATION DES DIFFÉRENTS INDEX DE SENSIBILITÉ À L'INSULINE.....	167

Table des illustrations

<i>Figure 1 : Structure de la molécule d'insuline du chien</i> ⁽¹³⁸⁾	16
<i>Tableau I : Variabilité de la structure de l'insuline chez différentes espèces</i> ⁽⁹⁵⁾	16
<i>Figure 2 : Régulation du promoteur de la transcription du gène de l'insuline.</i>	20
<i>Figure 3 : Promoteur du gène de l'insuline humaine et principaux facteurs de transcription associés (d'après Magnan et Ktorza</i> ⁽⁹¹⁾).....	20
<i>Figure 4 : Régulation de la synthèse d'insuline par le glucose.</i>	22
<i>Figure 5 : Schéma de la conversion de la pré-proinsuline en insuline.</i> ⁽¹³⁸⁾	24
<i>Figure 6 : Variation de l'insulinémie suite à l'injection de glucose en intra-veineuse.</i>	27
<i>Figure 7 : Mécanisme d'action du glucose sur la sécrétion de l'insuline</i>	30
<i>Tableau II : Facteurs régulant la sécrétion d'insuline dans les conditions physiologiques</i> ⁽⁹⁵⁾	32
<i>Figure 8 : Mécanisme d'amplification par le glucose de la concentration en acyl-coA.</i>	35
<i>Figure 9 : Schématisation de l'innervation du pancréas du chien (d'après Baronne R.</i> ⁽¹²⁾)...	40
<i>Figure 10 : Schématisation de la régulation de la sécrétion de l'insuline par le système nerveux autonome</i> ⁽⁹⁵⁾	41
<i>Figure 11 : Aperçu des oscillations rapides et ultradiennes de la sécrétion d'insuline.</i>	44
<i>Figure 12 : Schéma de la variation de l'insulinémie au cours du temps et stimuli majeurs mis en jeu après ingestion de glucose à t=0 min.</i>	44
<i>Figure 13: Schéma du récepteur de l'insuline</i>	49
<i>Figure 14 : Transduction et effets du signal insulinique par la voie de la PI3 kinase (D'après Capeau J.</i> ⁽²⁰⁾).....	51
<i>Figure 15 : Transduction et effets du signal insulinique par la voie des MAP kinases (D'après Capeau J.</i> ⁽²⁰⁾).....	53
<i>Figure 16 : Mécanisme de stimulation de la lipogenèse par l'insuline.</i>	58
<i>Tableau III : Hiérarchisation des principaux effets de l'insuline sur les tissu cibles en fonction de la disponibilité en substrat</i> ⁽⁹⁵⁾	59
<i>Figure 17 : Les principaux acteurs de la variation de l'insulinémie</i>	61
<i>Figure 18 : Cytokines sécrétées par les adipocytes (D'après Trayhurn P. et al</i> ⁽¹⁴⁴⁾).....	65
<i>Tableau IV : Etiologie des hyperlipidémies chez le chien.</i> ⁽⁷²⁾	68
<i>Figure 19 : Voies du signalement pro-inflammatoire associées à l'insulino-résistance dépendante de l'obésité.</i>	73
<i>Figure 20 : Effets auto-aggravants de l'insulino-résistance associée à l'obésité.</i>	77
<i>Figure 21 : Mécanisme d'action des acides gras libres sur la sécrétion d'insuline par les cellules β pancréatiques.</i>	81
<i>Figure 22 : Mécanisme d'induction de l'apoptose des cellules β pancréatiques par les triacylglycérols.</i>	83
<i>Figure 23 : Voies de l'apoptose des cellules β pancréatiques dépendante de l'IL-1</i> ^(21, 93)	86
<i>Figure 24 : Synthèse des effets de l'obésité sur le métabolisme insulinique.</i>	90
<i>Figure 25 : Chronologie des effets prédominants de l'obésité sur l'insulinémie.</i>	92
<i>Tableau V : Critère de détermination de l'état d'engraissement du chien (d'après Case et al.</i> ⁽²²⁾).....	94
<i>Tableau VI : Effectifs pour chaque paramètre étudié.</i>	97
<i>Figure 26 : Réactions mise en jeu lors du dosage de la glycémie par une méthode enzymatique utilisant la glucose oxydase.</i>	99
<i>Tableau VII : Coefficients de variation intra-essais de la glycémie.</i>	99
<i>Tableau VIII : Variation de l'état d'engraissement en fonction des données épidémiologiques.</i>	103

<i>Tableau IX : Comparaison de la glycémie mesurée par spectrophotométrie et par réflectométrie sur 32 mesures.</i>	105
<i>Figure 27 et Tableau X : Variations de la glycémie mesurée par spectrophotométrie en fonction de l'état d'engraissement des chiens (n = 61).</i>	105
<i>Tableau XI : Variation de la glycémie (spectrophotométrie) observées chez les chiens en fonction des différents critères épidémiologiques étudiés.</i>	106
<i>Figure 28 et Tableau XII : Valeurs de l'insulinémie basale (moyenne, écart-type) en fonction du lot.</i>	108
<i>Tableau XIII : Variations de l'insulinémie en fonction des critères épidémiologiques étudiés (Sexe, Stérilisation, Format, Age, Alimentation, Activité, Mode de vie).</i>	110
<i>Tableau XIV : Statistiques descriptives des index SI_{1m}, $HOMA_m$, Index de Bennett_(m) et QUICKI_m obtenues à partir des 58 chiens de l'étude.</i>	111
<i>Tableau XV : Tableau de contingence, valeurs prédictives et gains diagnostic des différents index dans le cadre d'un hypo et d'un hyperinsulinisme.</i>	113
<i>Figure 29 : Valeurs moyennes et écartypes des index SI_{1m}, de l'$HOMA_m$, de Bennett_(m) et du QUICKI_m dans les différents lots ("maigre", "correct", "gros).</i>	115
<i>Figure 30 : Comparaison de la distribution des valeurs faibles, intermédiaires et fortes de la glycémie, de l'insulinémie et des différents index en fonction de l'appartenance à un lot....</i>	116
<i>Figure 31 : Comparaison de la distribution des valeurs faibles, intermédiaires et fortes de la glycémie, de l'insulinémie et des différents index en fonction du sexe.</i>	117
<i>Figure 32 : Comparaison de la distribution des valeurs faibles, intermédiaires et fortes de la glycémie, de l'insulinémie et des différents index en fonction de l'âge.</i>	118
<i>Figure 33 : Comparaison de la distribution des valeurs faibles, intermédiaires et fortes de la glycémie, de l'insulinémie et des différents index en fonction du format.</i>	119
<i>Figure 34 : Comparaison de la distribution des valeurs faibles, intermédiaires et fortes de la glycémie, de l'insulinémie et des différents index en fonction de l'activité.</i>	120
<i>Figure 35 : Comparaison de la distribution des valeurs faibles, intermédiaires et fortes de la glycémie, de l'insulinémie et des différents index en fonction de l'alimentation.</i>	122
<i>Figure 36 : Comparaison de la distribution des valeurs faibles, intermédiaires et fortes de la glycémie, de l'insulinémie et des différents index en fonction de la stérilisation.</i>	123
<i>Figure 37 : Comparaison de la distribution des valeurs faibles, intermédiaires et fortes de la glycémie, de l'insulinémie et des différents index en fonction du lieu de vie.</i>	124
<i>Tableau XVI : Répartition des chiens présentant ou non une altération du profil insulinique (glycémie, insulinémie ou valeurs des index SI_1, $HOMA$, QUICKI ou de Bennet en dehors des valeurs seuils fixées) en fonction des critères épidémiologiques étudiés.</i>	126
<i>Tableau XVII : Altération du profil insulinique des chiens constituant le sous-groupe 1 (n = 14).</i>	127
<i>Tableau XVIII : Altération du profil insulinique des chiens constituant le sous-groupe 2 (n = 13).</i>	127
<i>Tableau XIX : Altération du profil insulinique des chiens constituant le sous-groupe 3 (n = 7).</i>	128
<i>Tableau XX : Répartition (en pourcentage et en nombre) des 33 chiens présentant une altération du profil insulinique en fonction des différents critères épidémiologiques.</i>	130
<i>Figure 38 : Prévalence de l'obésité en fonction de l'âge chez le chien (D'après McGreevy et al. ⁽⁹⁸⁾).</i>	133
<i>Tableau XXI : Valeurs usuelles de la glycémie établies dans la population canine.</i>	133
<i>Tableau XXII : Valeurs moyenne de l'insulinémie dans l'espèce canine.</i>	135
<i>Tableau XXIII : Nature et caractéristiques des différents profils d'altération de la boucle de régulation insuline/glucose observée chez 32 chiens.</i>	140

Liste des abréviations

4E-BP1 : 4E binding protein 1
α CGlu : α céto-glutarate
Ac : anticorps
ACC : acyl-coA carboxylase
ADN : acide désoxyribonucléique
ADP : adénosine diphosphate
AG : acides gras
Ag : antigène
AGNE : acides gras non esterifiés
AMPc : adénosine phosphate cyclique
AMPK : AMP activated protein Kinase
ApoE : Apolipoprotéine E
ARN : acide ribonucléique
ARNm : acide ribonucléique messenger
ASP : Acylation-Stimulating Protein
ATP : adénosine triphosphate
Bad : Bcl-xL/ Bcl-2 associated death promoter
bHLH : basic Helix-Loop-Helix
-coA : -coenzyme A
CCK : cholécystokinine
CL : citrate lyase
CPT : carnitine palmitoyltransférase
CRE : cAMP response element
CREB : cAMP response element binding protein
CREM : CRE modulator
CRF : Corticotropin-Releasing factor
CRP : c-reactive protein
DAG : Diacylglycérol
DED : domaine de mort cellulaire
DSI : diabète sucré de type I ou insulino-dépendant
DSII : diabète sucré de type II ou non insulino-dépendant
ERK : extracellular signal-regulated kinase
FADD/MORT1 : Fas associated death domain
FKHR : forhead-relate transcription factor
FSIVGTT : frequently sampled IV glucose tolerance test
G6P : glucose 6 phosphate
GDP : guanosine di-phosphate
GH : growth hormone
GIP : Gastric Inhibitory Polypeptide
GK : glucokinase
GLP-1 : glucagon like peptide 1
GLUT : transporteur du glucose
Grb : growth factor receptor-bound protein
GSK3-β : glycogène synthase 3 kinase-β

GTP : guanosine tri-phosphate
HOMA : homeostais model assessment
HDL : High Density Lipoproteins
HMG : hight mobility group proteins
IAPP : islet amyloid polypeptide
IDE : insulin degrading enzyme
IKκB : inhibitor of nuclear factor κB kinase
IL-1, IL-6 : InterLeukine-1, Interleukine-6
iNOS : inductible azote monoxyd synthase
IP3 : inositol 1,4,5 triphosphate
IRS : insulin receptor substrate
IV : intra-veineux
IVGTT : intra-vascular glucose tolerance test
IVITT : intra-vascular insulin tolerance test
JNK : c-Jun NH₂-terminal Kinase
LAR : leukocyte common antigen-related molecule
L_B : lymphocyte B
LDL : low density lipoproteins
Lmx : LIM-homeodomains proteins
lysoPL : lysophospholipides
MCP-1 : Monocyte Chemottractant Protein-1
MEK : MAP kinase kinase
MTP : pores de perméabilité de transition
mTor : mammalian target of rapamycin
NGF : Nerve Growth Factor
NO : monoxyde de carbone
p62^{TCF} : kinase p62^{TCF}
p70^{s6k} : ribosomal 70 kDa protein S6 kinase
p90 : kinase p90
PDE-3B : phosphodiesterase 3B
PDI : Protein Disulfide Isomerase
PDK2 : 3-phosphoinositide-dependent protein kinase
PDX₁ : Pancreatic Duodenal homeobox-1
PEP : phosphoénolpyruvate
PEPCK : phosphoenolpyruvate carboxykinase
PI3K : phosphatidylinositol 3-kinase
PIP2 : phosphatidy linositol 4,5 biphosphate
PKA, PKB, PKC : protéine kinase A, B, C,...
PS : peptide signal
PTP : protéine tyrosines phosphatases
QUICKI : quantitative insulin sensitivity check index
Ras : rat sarcoma viral oncogene homolog
RE : réticulum endoplasmique
REG : réticulum endoplasmique granuleux
RI : récepteur de l'insuline
RIA : radio-immuno-essay

SAPK : stress-activated protein kinase
Shc : src homology and collagen protein
SN : système nerveux
SOCS : suppressors of cytokine signaling
SOS : son of sevenless
sPLA₂ : secretory phospholipase A₂
SR : SRP récepteur
SRIF : somatotrophin-release inhibitor factor
SRP : signal recognition particle
SSTR : récepteur de la somatostatine
T₃ : triiodothyronine
TDI : time-dependent inhibition
TDP : time-dependent potentiation
TG : triacylglycérol, triacylglycérides
TLRs : toll-like receptors
TNF- α : tumor necrosis factor-alpha
VIP : vasoactive intestinal peptide
VLDL : very low density lipoproteins

Introduction

D'après l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), l'obésité est un "état pathologique caractérisé par un excès de dépôts lipidiques entraînant des modifications des différentes fonctions corporelles" ⁽¹⁵⁰⁾. Comme chez l'homme l'obésité tend à se développer dans l'espèce canine : alors qu'elle ne concernait que 9% des chiens en 1960, sa prévalence atteindrait les 20 à 25% en ce début de XXI siècle ⁽³⁴⁾. Le diabète sucré (DS) est une maladie caractérisée par un état d'hyperglycémie chronique secondaire à un défaut de régulation de la glycémie par l'insuline, se traduisant en particulier par la présence de glucose dans les urines. Comme l'obésité, la prévalence de cette maladie a été multipliée par 3 en trente ans, et son incidence atteint les 10% chez les chiens obèses alors qu'elle n'est que de 0,64% dans l'espèce canine ⁽⁵⁶⁾. Ces faits laissent suggérer que l'obésité joue un rôle non négligeable sur la régulation de l'insulinémie et donc dans la mise en place du diabète sucré.

La première partie du développement est consacrée à l'étude des mécanismes moléculaires et physiologiques de régulation de l'insulinémie dans l'espèce canine ainsi que les effets de l'obésité sur cette dernière.

La deuxième partie est dévolue à l'étude expérimentale de l'insulinémie chez le chien cliniquement sain en fonction de son état d'engraissement. Pour cela, 61 chiens, dont 21 en surpoids, ont participé à l'étude et leur insulinémie, glycémie et index de sensibilité cellulaire périphérique à l'insuline ont été déterminés et comparés à ceux obtenus chez des chiens ne présentant pas d'embonpoint.

Partie I :
Régulation de l'insulinémie
chez le chien sain

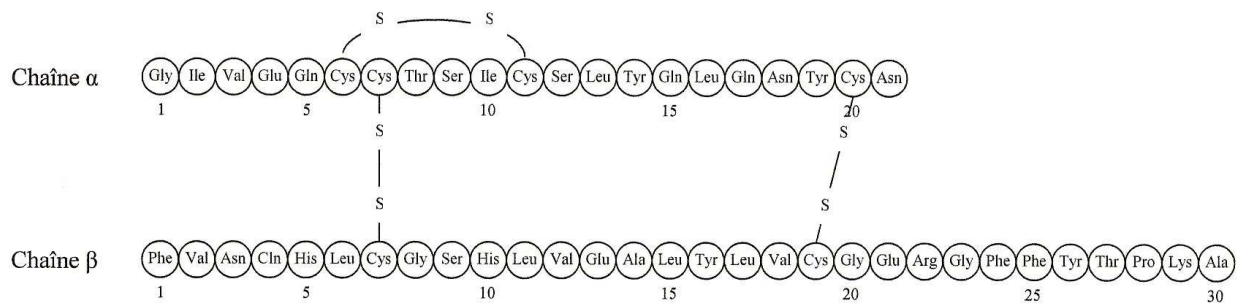


Figure 1 : Structure de la molécule d'insuline du chien (138).

Espèce	Position sur la Chaîne α					Position sur la Chaîne β
	8	9	10	17	18	30
Chien	Thr	Ser	Ile	Gln	Asn	Ala
Porc	-	-	-	-	-	-
Homme	-	-	-	-	-	Thr
Chat	Ala	-	Val	Glu	His	-
Bovin	Ala	-	Val	-	-	-

Tableau I : Variabilité de la structure de l'insuline chez différentes espèces (95).

A. Régulation de l'insulinémie chez le chien sain non obèse.

1. Structure de l'insuline.

L'insuline a été isolée pour la première fois en 1922 par Banting, *et al.* ⁽⁶⁸⁾. Il faudra attendre 1953 pour que Sanger, détermine la séquence complète de cette hormone ⁽¹⁴²⁾.

L'insuline est une hormone polypeptidique d'environ 6 kDa, 21 Å, constituée de 51 acides α -aminés réparties en deux chaînes :

- la chaîne α , composée de 21 acides α -aminés, et présentant un pont di-sulfure entre ces acides α -aminés 6 et 11,
- la chaîne β , composée de 30 acides α -aminés,

Ces deux chaînes sont reliées entre elles par deux ponts di-sulfures au niveau des acides aminés 7 et 20 de la chaîne α et 7 et 19 de la chaîne β (Figure 1).

Il n'y a pas de différence entre les structures primaires des insuline du chien et du porc. De plus, les insulines canines et humaines ne diffèrent l'une de l'autre que par un seul acide α -aminé, l'acide α -aminé n°30 de la chaîne β (Tableau I). L'insuline, quelque soit son origine, reste donc active chez tous les animaux, toutefois, des réactions antigéniques hétérologues sont possibles ⁽⁹⁵⁾. En effet, une étude réalisée par Davison *et al.* ⁽³⁰⁾ sur 30 chiens souffrant de diabète sucré et traités avec de l'insuline bovine, a mis en évidence la présence en grande quantité d'anticorps anti-insuline bovine (Ac(Ib)) chez 67% de ceux-ci. Curieusement, les Ac(Ib) n'étaient pas dirigés contre la chaîne α (2 acides α -aminés différent entre les insulines canines et bovines) mais contre la chaîne β de l'insuline ; or, la structure primaire de cette chaîne est strictement similaire entre ces deux espèces. Ce fait inattendu laisse ainsi supposer que les structures secondaires ou tertiaires de l'insuline seraient responsables de la réaction antigénique. De plus, des réactions croisées avec l'insuline de porc, qui possède quant à elle exactement la même structure primaire que celle du chien, ont été mises en évidence dans ce groupe, mais restent inexplicables et peu analysées à ce jour. L'hypothèse de l'existence d'autoanticorps qui pourrait expliquer ce fait, n'est

pas retenue à l'heure actuelle, car seulement 2 cas de diabète sucré lié à des auto-anticorps ont été décrit chez le chien contrairement à l'homme chez lequel cette situation est fréquente.

2. Synthèse de l'insuline.

Si l'insuline est sécrétée massivement lors d'hyperglycémie, elle est synthétisée de façon continue ⁽⁶⁸⁾. Seules les cellules β pancréatiques organisées en îlots, les îlots de Langerhans ou îlots endocrines, sont capables de synthétiser l'insuline et 70% de leur synthèse protéique y est consacrée ⁽⁹³⁾.

2.1. Régulation de la transcription du gène de l'insuline.

Le gène codant pour l'insuline est un petit gène unique, composé de 3 exons et 2 introns ⁽⁸⁰⁾, localisé sur le brin court du chromosome 14 chez le chien ⁽¹⁸⁾. Il existe en amont du premier exon, une région régulatrice 5' flanquante, constituée d'un promoteur et d'un activateur (enhancer) qui comportent de courtes séquences d'acide désoxyribonucléique, régulatrices en *cis*, communément appelées "boîtes". Ces séquences interagissent avec des facteurs de transcription protéiques régulateurs en *trans*, permettant ainsi l'expression du gène ainsi que sa régulation par des agents métaboliques ou hormonaux. ⁽⁹¹⁾

2.1.1. Régulation de la transcription par le complexe de transcription.

Le gène de l'insuline est régulé par un réseau complexe de facteurs, directement ou indirectement impliqués dans la formation d'un complexe de transcription assurant la spécificité de la synthèse de l'insuline par les cellules β pancréatiques. Ce complexe de transcription se lie au gène de l'insuline au niveau de deux régions

d'activations principales, les boîtes A et E situées en amont du promoteur. Le site E permet l'ancrage de dimères protéiques bHLH (basic Helix-Loop-Helix) et le site A celui de la protéine PDX₁* (Pancreatic Duodenal homeobox-1⁽¹⁵³⁾). C'est l'interaction synergique entre les dimères bHLH et PDX₁ et des co-activateurs nucléaires transcriptionnels non liés à l'ADN (dont un seul est connu à l'heure actuelle, le p300), qui permet le recrutement et la stabilisation du complexe d'initiation de la transcription de la RNAPolymérase II (Figure 2). ⁽¹⁰⁹⁾

L'intensité de la transcription peut être modulée par la liaison au chromosome des histones et des protéines HMG (high mobility group proteins). Des modifications structurelles du chromosome résultant de liaisons aux histones pourraient contrôler la disponibilité du gène vis à vis du complexe d'activation de la transcription. En se fixant sur l'ADN, les protéines HMG entraînent des modifications énergétiques (fragilisation ou stabilisation) des liaisons entre les sites d'ancrages A et E et le complexe de transcription. Ainsi, les protéines HMG I(Y) en se liant à la fois à la région A_{3/4} du promoteur de l'insuline et au dimère PDX₁-bHLH, sont responsables d'une stabilisation du complexe de transcription et en augmente ainsi la capacité transcriptionnelle. ⁽¹⁰⁹⁾

De plus, la protéine PDX₁ peut être remplacée par d'autres protéines telles que Lmx 1.1 et Lmx 1.2 (LIM-homeodomains proteins), dont l'interaction allostérique avec le domaine bHLH et le gène de l'insuline apparaît plus efficace que l'association bHLH-PDX₁ sur l'activation de la transcription ⁽¹⁰⁹⁾. Toutefois, pour certains auteurs, une mutation sur les promoteurs de régulation de PDX₁, en particuliers ceux de la famille des HNF (Hepatocyte Nuclear Factor ⁽⁸⁷⁾), serait responsable d'une baisse de la transcription des PDX₁ qui à long terme provoquerait une diminution notable de la sécrétion d'insuline qui pourrait contribuer à la mise en place d'un diabète sucré ⁽¹⁹⁾.

D'autres sites du gène de l'insuline, indépendant des sites A et E (Figure 3), comme les sites C₁ et Za, dont les protéines ligands sont encore inconnues, permettent des combinaisons multiples avec le complexe bHLH-PDX₁, combinaisons capables d'amplifier la transcription. ⁽¹⁰⁹⁾

* PDX1 est aussi appelée IPF1, STF1, IDX1, IUF1, ou GSF

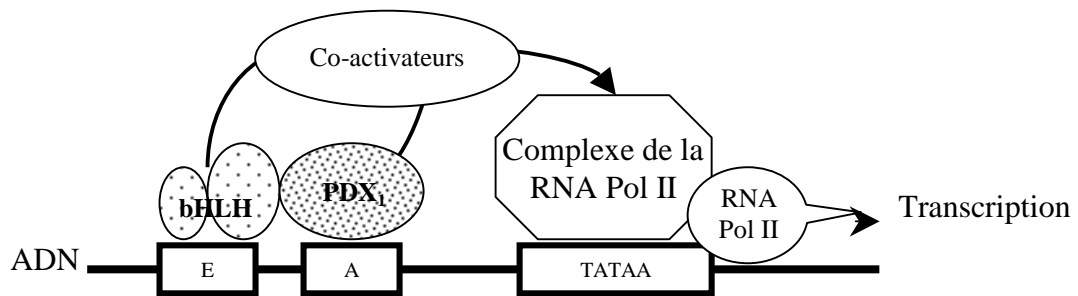


Figure 2 : Régulation du promoteur de la transcription du gène de l'insuline.

bHLH = basic Helix-Loop-Helix - RNA Pol II = ARN polymérase II

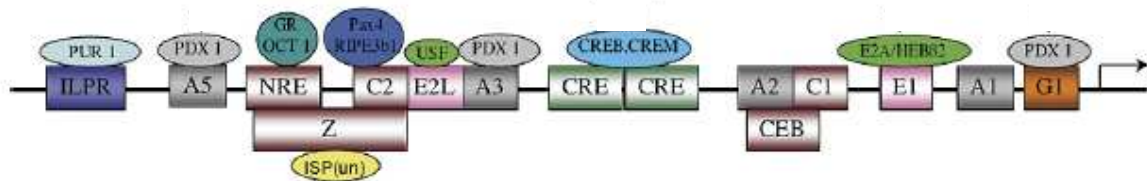


Figure 3 : Promoteur du gène de l'insuline humaine et principaux facteurs de transcription associés (d'après Magnan et Ktorza ⁽⁹¹⁾).

Facteur en *cis* :

ILPR=insulin-linked polymorphic region
 NRE=negative regulatory element
 Z=Z mini-enhancer
 CRE=cAMP response element
 E2L=E2-like

Facteur en *trans* :

PUR 1=purine rich 1
 PDX1=pancreatic duodenal homeobox 1
 GR=glucocorticoid receptor
 RIPE 3b=rat insulin promoter element
 ISP (un)=islet-specific protein (unidentified)
 HEB b2=helix loop binding protein b2
 USF =upstream stimulatory factor
 CREM=CRE modulator
 CREB : CRE binding protein

Un autre homéodomaine protéique, le Nkx 2.2, semble essentiel à la production d'insuline. En effet, des études menées chez différents modèles animaux ont mis en évidence chez les sujets ne possédant pas ce domaine, une absence totale de sécrétion d'insuline, alors que la PDX1 était surexprimée. Toutefois aucune liaison évidente entre cet homéodomaine et le gène de l'insuline ou encore de complexe de transcription n'a été mise en évidence; il semblerait donc qu'il permette l'expression de protéines nucléaires (co-activateurs) indispensables à la formation du complexe protéique de régulation. ⁽¹⁰⁹⁾

De nombreux autres domaines de régulation existent (Figure 3), dont en particulier la boîte CRE qui a la capacité de se lier à la protéine CREB (cAMP response element binding protein) après activation de cette dernière par une phosphorylation dépendante de la protéine kinase A (PKA); l'association CRE-CREB amplifie la transcription. Cette même boîte est aussi capable d'interagir avec les protéines CREM (CRE modulator) dont il existe plusieurs isoformes dont certains sont activateurs et d'autres inhibiteurs de la transcription du gène de l'insuline. ⁽⁹¹⁾

2.1.2. Régulation du complexe de transcription.

Le glucose intervient en tant qu'activateur dans la régulation de la transcription du gène de l'insuline, en favorisant la formation du complexe d'initiation de la de transcription. En effet, par de multiples mécanismes, il entraîne la phosphorylation de PDX₁ et des dimères bHLH augmentant ainsi l'affinité pour leur domaine respectif (A et E). ⁽¹⁰⁹⁾

Deux mécanismes d'actions ont été mis en évidence (Figure 4):

D'une part, les produits du catabolisme du glucose, issus vraisemblablement de la glycolyse et du cycle de krebs ⁽¹⁰⁹⁾, activent par l'intermédiaire de messagers intracellulaires encore inconnus, la PI3 kinase et la SAPK₂ (Stress-Activated Protein Kinase 2) ^(19, 109), kinases responsables à la fois, d'une augmentation de la synthèse de

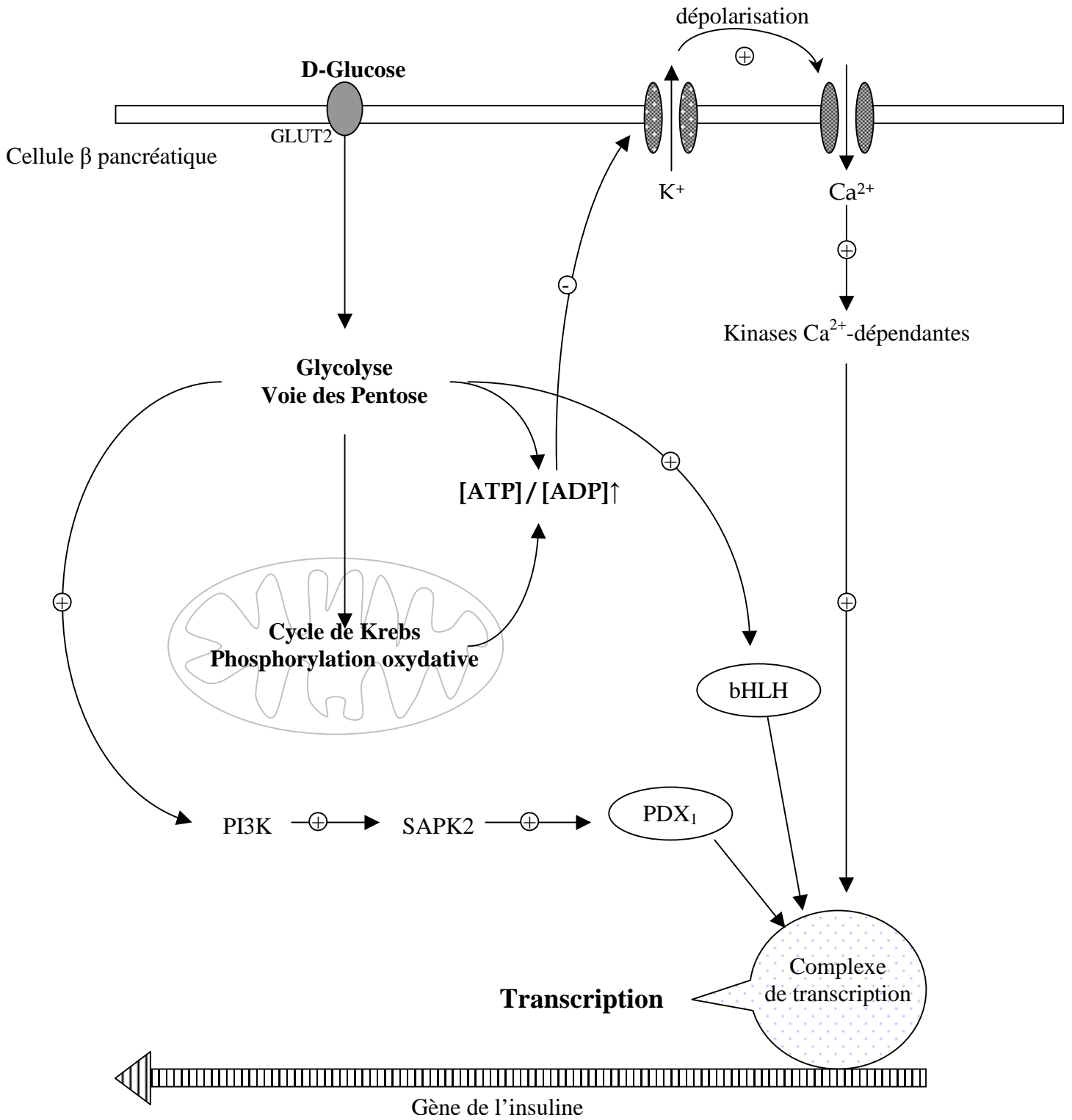


Figure 4 : Régulation de la synthèse d'insuline par le glucose.

bHLH: basic helix-loop-helix - GLUT2: transporteur du glucose 2 - PDX1: pancreatic duodenal homeobox 1 - PI3K: phosphatidylinositol 3-kinase - SAPK2: stress-activated protein kinase 2

PDX₁⁽¹⁹⁾ et de la phosphorylation et de la translocation nucléaire de cette dernière ⁽¹⁰⁹⁾. Toutefois, une diminution notable de la synthèse des PDX₁ a été observée dans les cellules β pancréatiques chroniquement exposées à de fortes quantités de glucose ⁽¹⁹⁾: cette diminution de réactivité des cellules β à l'égard du glucose est appelée glucotoxicité. ⁽¹⁰⁹⁾

D'autre part, l'action du glucose implique le Ca²⁺⁽⁶⁸⁾. En effet, le métabolisme intracellulaire du glucose (glycolyse, cycle de Krebs, voie des pentoses, suivi par la phosphorylation oxydative) génère la formation d'ATP. L'augmentation du rapport ATP/ADP entraîne la fermeture des pompes K⁺ ATP-dépendantes ; ainsi, la concentration cytosolique en K⁺ diminuant, la membrane cellulaire se dépolarise et les pompes Ca²⁺ voltage-dépendantes s'ouvrent, laissant entrer le Ca²⁺ extracellulaire dans la cellule ⁽⁶⁸⁾. Le Ca²⁺ active ensuite les kinases calcium-dépendantes qui vont stimuler la transcription par des mécanismes de phosphorylation des protéines nucléaires du complexe de transcription et des co-activateurs ⁽¹⁸⁾.

Certains glucides simples comme le fructose et le mannose peuvent également activer la synthèse de l'insuline mais de façon moindre ⁽¹⁸⁾.

L'insuline elle-même exerce un rétrocontrôle positif sur sa propre synthèse. Une étude réalisée par Campbell et Macfarlane en 2002 ⁽¹⁹⁾, sur des cellules pancréatiques de souris infusées par des solutions d'insuline, a mis en évidence une augmentation notable de la quantité d'ARNm de la pré-proinsuline. L'étude moléculaire de cette observation a fait ressortir un paradoxe ; l'insuline inhibe la PDX₁ tout en activant le complexe de transcription du gène de l'insuline.

D'autres hormones comme le GLP-1 (glucagon like peptide 1), la GH (growth hormone), la T₃ (triiodothyronine), la leptine, la prolactine... sont capables de moduler la synthèse de l'insuline. ^(19, 91)

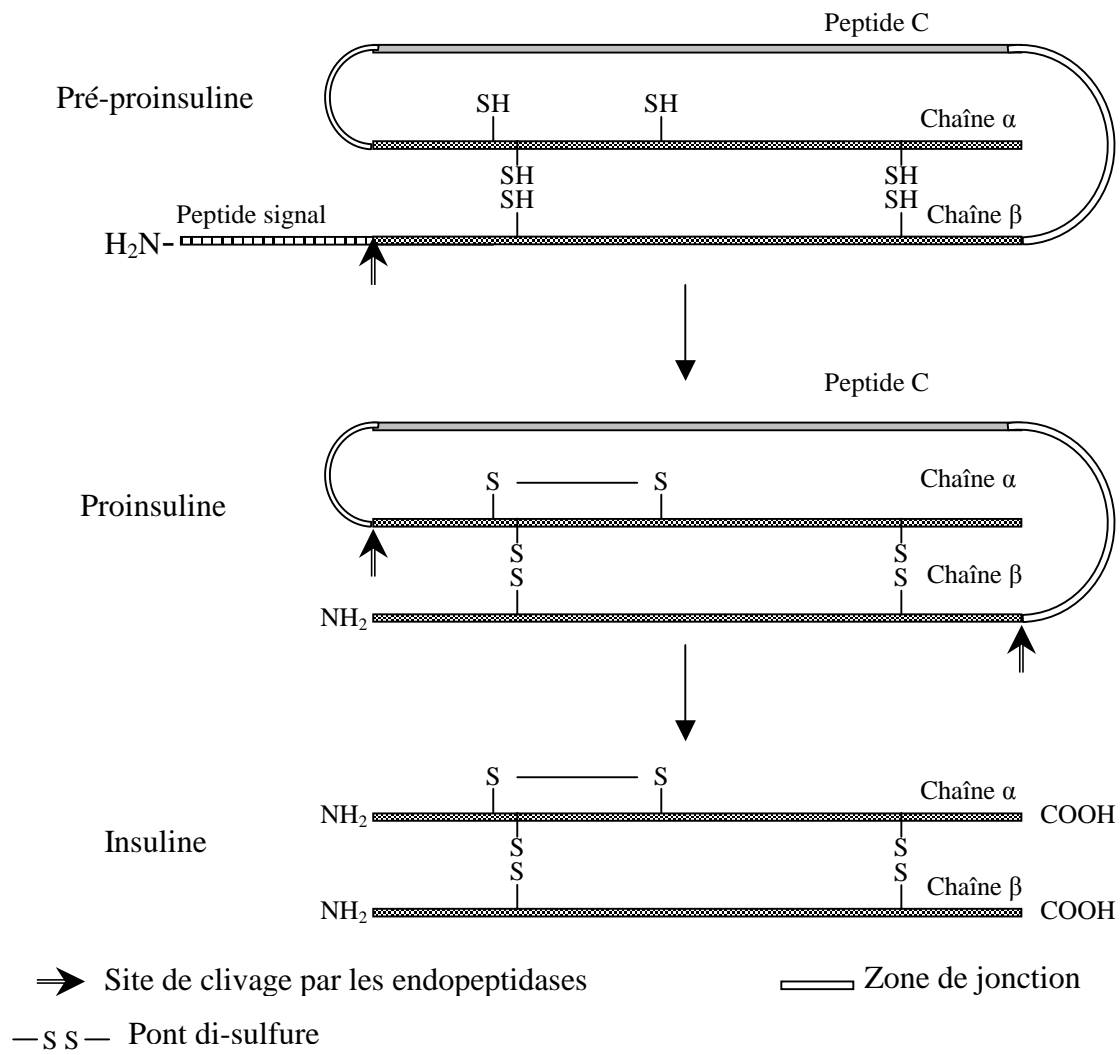


Figure 5 : Schéma de la conversion de la pré-proinsuline en insuline. ⁽¹³⁸⁾

2.2. Obtention de l'insuline mature.

Dans la cellule β pancréatique, la quantité d'ARNm de la pré-proinsuline est très élevée, et représente 10 à 15% des ARNm totaux pour des concentrations faibles en glucose (< 3 mM) ⁽⁵¹⁾.

La traduction de l'insuline commence dans le cytosol par la conversion de la séquence N-terminale de l'ARNm en un peptide signal (PS). Dès sa sortie du ribosome, ce dernier est reconnu par le SRP (Signal Recognition Particle) qui s'y fixe, inhibant alors la traduction. Le SRP lié au PS est reconnu par le SR (SRP Receptor) localisé à la surface du réticulum endoplasmique. Le GTP se lie alors au SRP et permet ainsi la libération du PS qui pénètre dans le RE par un canal (SEC61 complexe). C'est l'hydrolyse du GTP en GDP qui dissocie le SRP du SR et permet ainsi la reprise de la traduction. ⁽⁸⁹⁾

La concentration intracellulaire en glucose, en particulier si elle est élevée, est l'un des principaux régulateurs de la traduction car il permet le recrutement des ARNm par les polysomes (initiation) grâce à la phosphorylation des facteurs d'initiation (eIF 2B), l'élongation, et la libération du SRP par le récepteur ^(51, 91). Les mécanismes moléculaires à l'origine de cette régulation sont inconnus à l'heure actuelle mais il semblerait que les AcylCoA y jouent un rôle non négligeable ⁽⁵¹⁾.

La traduction de l'ARNm du gène de l'insuline aboutit à la formation, dans les polysomes, de la pré-proinsuline, molécule composée d'un peptide N-terminal (23 acide α -aminé), de la chaîne β , d'un peptide de liaison, appelé Peptide C, et de la chaîne α . Le clivage de la pré-proinsuline dans le REG (Réticulum Endoplasmique Granuleux), ainsi que la formation des ponts di-sulfures, permettent l'élaboration de la proinsuline. Au niveau de l'appareil de Golgi, le clivage du Peptide C par les endopeptidases achève la formation de l'insuline ⁽⁹⁵⁾ (Figure 5).

La conversion enzymatique de la pré-proinsuline en insuline est permise grâce à l'action de 2 endopeptidases, PC1 et PC2, qui clivent la molécule respectivement au niveau des acides α -aminés 32-33 et 55-56, et d'une exopeptidase, CPH. L'action des

endopeptidases est strictement dépendante du Ca^{2+} , dont la répartition au sein de la cellule est influencée par le glucose intracellulaire (*cf infra*). De plus, le niveau de traduction des ARNm des PC1 et PC2 est stimulé par le glucose lors d'exposition chronique à ce dernier. L'activité catalytique de la CHP est quand à elle dépendante du Zinc, et totalement indépendante de la présence du glucose. ⁽⁵¹⁾

L'insuline et le Peptide C se retrouvent en quantité équimolaire dans les vésicules sécrétoires (environ 8000 molécules par vésicule) où ils sont stockés, sous forme d'hexamères cristallisés avec les atomes de Zinc pour l'insuline, et sous forme solubilisée pour le Peptide C. Dans ces vésicules, on trouve aussi une quantité résiduelle de pro-insuline. ⁽⁹¹⁾

3. La sécrétion de l'insuline et sa régulation.

La libération de l'insuline par exocytose des vésicules matures dans la lumière des capillaires, est contrôlée par 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. ⁽⁹¹⁾

3.1. Mécanisme de la sécrétion d'insuline en réponse au glucose.

L'injection de glucose en intra-veineuse (IV) entraîne une réponse biphasique (Figure 6) : tout d'abord, la concentration plasmatique en insuline augmente très rapidement et de manière transitoire (Phase A), formant un pic résultant de la simple exocytose des vésicules matures préalablement accolées à la membrane plasmique ; puis suit une deuxième phase (Phase B) au cours de laquelle l'insulinémie augmente progressivement vers une valeur d'équilibre qui

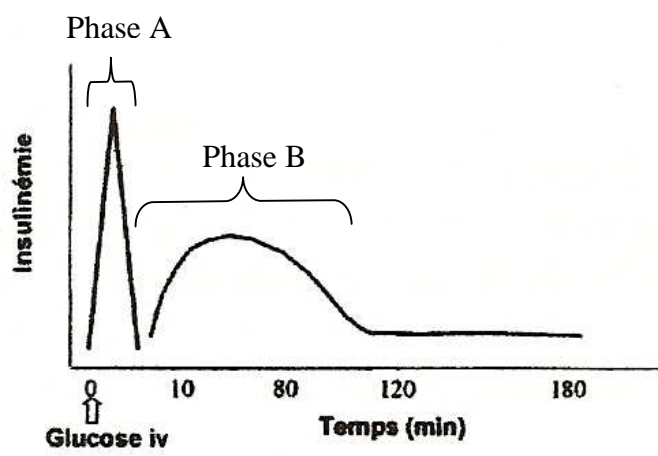


Figure 6 : Variation de l'insulinémie suite à l'injection de glucose en intra-veineuse.

(D'après Gayrard M. ⁽⁴⁷⁾)

se maintient jusqu'à l'arrêt de la stimulation, et qui résulterait à la fois de la synthèse, et de la sécrétion de l'insuline après conditionnement des vésicules immatures. (47, 91)

Le glucose, sous sa forme D-Glucose (66), est l'agent le plus puissant stimulant l'exocytose, et il conditionne l'action de tous les autres stimuli (91). Son action n'est pas directe ; il agit par l'intermédiaire de messagers intracellulaires dont les trois voies principales font intervenir l'ATP, la Phospholipase C (PLC) et l'AMPc. L'ensemble du mécanisme d'action du glucose sur la sécrétion d'insuline est représenté dans la figure 7.

Le glucose entre dans la cellule β pancréatique par les transporteurs GLUT-2, lui permettant ainsi une diffusion facilitée à travers la membrane plasmique. Ces transporteurs, constitués par 12 domaines d' α -hélices transmembranaires, n'ont qu'une faible affinité pour le glucose, dont les transferts dépendent alors essentiellement des variations de concentration de part et d'autre de la membrane, rendant ainsi la cellule β sensible aux variations de la glycémie. (16)

Une fois à l'intérieur de la cellule β pancréatique, le glucose est rapidement phosphorylé en glucose-6-phosphate (G6P) suite à l'action de la glucokinase (cette étape apparaît comme limitante dans le métabolisme du glucose (91)).

Le G6P est ensuite métabolisé au cours de la glycolyse, du cycle de Krebs suivie par la respiration oxydative, catabolisme à l'origine d'une production accrue d'ATP (Voie 1). L'augmentation du rapport ATP/ADP est responsable de l'entrée de Ca^{2+} dans la cellule grâce à un mécanisme de dépolarisation membranaire K^{+} -dépendante (cf *supra*). Le Ca^{2+} d'origine extra-cellulaire joue un rôle très important dans la sécrétion d'insuline, puisque l'administration de bloqueurs des pompes calciques entraîne une diminution importante de celle-ci (18).

Par ailleurs, le phospho-énol-pyruvate (PEP) et le pyruvate issus du catabolisme du glucose (glycolyse), favorisent l'activité de l'adénylate cyclase qui permet la conversion de l'ATP en AMPc (Voie 2) (91). Ce dernier est responsable de l'activation

de la protéine kinase A AMPc dépendante (PKA), qui active en les phosphorylant, certaines protéines du cytosquelette. De plus, l'AMPc est capable d'interagir avec la protéine AMPc-GEF (aussi appelée Efac 2) pour former un complexe activateur d'une petite protéine G (Rab3), impliquée dans l'exocytose des granules d'insuline ⁽⁹¹⁾.

Une autre voie d'activation de la sécrétion d'insuline par le glucose met en jeu la phospholipase C membranaire (PLC) (Voie 3). En effet, cette dernière possède un site de reconnaissance membranaire du G6P et en sa présence, hydrolyse le phosphatidyl inositol 4,5 diphosphate (PIP2) en inositol 1,4,5 triphosphate (IP3) et en diacylglycérol (DAG). L'IP3 entraîne la libération du Ca²⁺ stocké dans le RE vers le cytosol par diffusion passive qui est un effecteur allostérique des PKC. Le DAG, quant à lui, active aussi les protéines kinases C (PKC) dont plusieurs travaux indiquent que ses substrats favorisent le processus sécrétoire. En outre, le DAG peut être obtenu directement par réduction des trioses phosphates issus de la glycolyse suivie de réactions d'estérification avec les acyl-coA ⁽⁹¹⁾.

L'entrée du calcium dans la cellule β pancréatique ainsi que la sortie de ce dernier du RE est responsable d'une redistribution du Ca²⁺ intracellulaire en microdomaines permettant d'une part, le recrutement des protéines kinases (PKA et PKC) ⁽¹²⁹⁾ et d'autre part la contraction du réseau des micro-filaments du cytosquelette, nécessaire à la migration des vésicules à travers le cytosol et à l'exocytose. ⁽⁹⁵⁾

Un autre messager, issu du métabolisme du glucose, semble jouer un rôle dans la phase B de la sécrétion de l'insuline (celle de l'exocytose des vésicules immatures) (Voie 4) : le glutamate. Ce dernier est principalement obtenu après action des transaminases sur l' α -cétoglutarate, intermédiaire du cycle de Krebs. Le glutamate ainsi formé rentrerait dans les vésicules matures grâce à un gradient de protons ATP-dépendant ⁽⁶⁶⁾, et potentialiserait les effets du calcium sur ces dernières ^(66, 91). D'autre part, une étude réalisée par Høy *et al.* ⁽⁶⁶⁾ a permis de mettre en évidence une augmentation de la perméabilité membranaire de la cellule β pancréatique lorsque la quantité de glutamate intracellulaire augmente (1 mM), facilitant ainsi l'adhésion de la vésicule à la membrane.

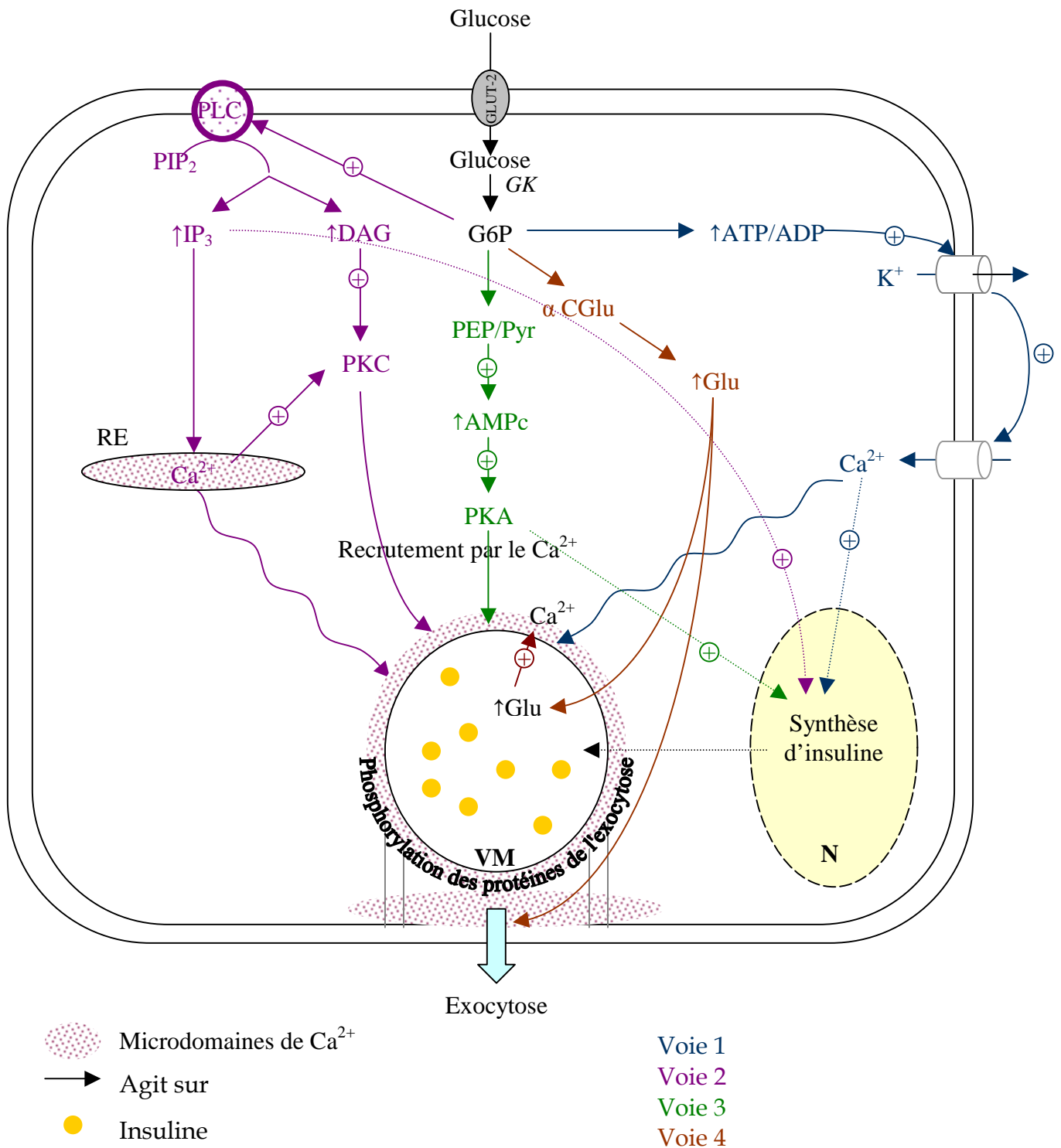


Figure 7 : Mécanisme d'action du glucose sur la sécrétion de l'insuline

α CGlu : α céto-glutarate - DAG : diacylglycérol - G6P : glucose-6-phosphate - GK : glucokinase - Glu : glutamate - IP₃ : inositol triphosphate - N : noyau - PEP/Pyruvate : Phospho-enol-pyruvate et pyruvate - PIP₂ : phosphatidyl inositol 4,5 diphosphate - PKA : protéine kinase A - PKC_{DAG} : protéine kinase C - PLC : Phospholipase C - RE : réticulum endoplasmique - VM : vésicule mature

3.2. Régulation de la sécrétion d'insuline.

De multiples facteurs influencent la sécrétion d'insuline (Tableau II), toutefois, la concentration plasmatique en substrat énergétique est le régulateur le plus important de la sécrétion et la glycémie y joue un rôle clé.

3.2.1. Rôles des substrats énergétiques.

Le D-glucose n'est pas le seul **hexose** insulino-sécréteur : le D-mannose, le D-fructose et le D-galactose activent aussi la sécrétion d'insuline mais de façon plus faible ⁽⁹²⁾.

Cerasi et Grill (1975) mettent en évidence un phénomène de "mémoire" de la cellule β pancréatique au glucose : une première exposition du pancréas au glucose conditionne la réponse insulinaire des cellules β lors d'une stimulation ultérieure par le glucose lui-même. En effet, suivant la durée et le temps qui s'écoule entre les deux stimulations, la réponse insulinaire à la deuxième stimulation est soit amplifiée, on parle de phénomène de mémoire positive au glucose ou TDP (time-dependent potentiation), soit diminuée, on parle alors de phénomène de mémoire négative ou TDI (time-dependent inhibition). La TDP entre en jeu lorsque la première exposition au glucose est longue (de 20 à 60 minutes chez l'homme) ; au contraire, lorsque la première stimulation est de courte durée (5 minutes) et que le temps séparant les deux stimulations est bref (5 minutes), on observe une diminution franche de la sécrétion d'insuline en réponse à la deuxième stimulation. ⁽⁹¹⁾

Les **acides α -aminés** sont presque tous capables de stimuler la sécrétion d'insuline. Toutefois, ils n'ont pour la plupart qu'un rôle de potentialisation des effets du glucose : leur capacité de stimulation de la sécrétion d'insuline est d'autant plus importante que la glycémie est élevée alors que leur influence lors d'hypoglycémie est insignifiante. L'arginine est l'un des plus puissants potentialisateurs de la sécrétion.^(47, 109) Toutefois, la leucine et la lysine font exception à la règle : ces acides

	Stimulateurs	Inhibiteurs
Substrats énergétiques	Glucose , mannose, fructose Acides Aminés : leucine , lysine, glutamine, (arginine) Acides gras	
Hormones gastro-intestinales	GIP, CCK, GLP-1, GLP-2, VIP, Secretine, Glicentine, Gastrine	
Hormones pancréatiques	Glucagon, NGF, (Insuline)	Somatostatine Miniglucagon, (Insuline)
Autres hormones		Leptine Hormones de croissance
Neuromédiateurs	Acétylcholine (récepteur muscarinique) Catécholamines (récepteur β -adrénergique)	Catécholamines (récepteur α_2 -adrénergique)

Tableau II : Facteurs régulant la sécrétion d'insuline dans les conditions physiologiques ⁽⁹⁵⁾.

GIP : Gastric Inhibitory Polypeptide - CCK : cholécystokinine - GLP-1 et GLP-2 : Glucagon-Like Peptide - VIP : Vasoactive Intestinal Peptide

α -aminés sont capables de stimuler également la sécrétion de l'insuline même en l'absence de glucose ⁽⁴⁷⁾. Après son entrée dans la cellule β pancréatique par un système de transport dépendant du sodium (symport), la leucine est métabolisée en acétoacétyl-coA puis en acyl-coA qui, grâce au cycle de Krebs, fournit de l'ATP, molécule responsable d'une dépolarisation membranaire à l'origine des flux de calcium (*cf supra*). La lysine et l'arginine, quant à elles, induisent directement par leurs charges positives, la dépolarisation membranaire et donc l'entrée de calcium. ⁽⁹¹⁾

Dans les conditions physiologiques (hormis une situation d'obésité), les **acides gras non estérifiés** (AGNE) et dans une moindre mesure, les corps cétoniques, potentialisent la sécrétion d'insuline induite par le glucose chez le chien (ainsi que chez le chat et les ruminants) contrairement à l'homme chez qui ils ont peu d'effet ⁽⁹⁵⁾. La longueur de la chaîne aliphatique et le degré d'insaturation influent sur leur effet ; ainsi les acides gras à moyennes et longues chaînes, en particulier les acides linoléiques et linoléiques ^(82, 110) ainsi que l'acide palmitique ⁽⁹¹⁾, amplifient fortement la réponse insulinaire pour des concentrations faibles de glucose (3 mM). Ce phénomène joue un rôle important en particulier au cours de la réalimentation après une période de jeûne : en effet, les AGNE sont alors en quantité élevée dans le sang et vont ainsi permettre la reconstitution rapide des réserves énergétiques. ⁽⁹¹⁾

Les mécanismes cellulaires responsables de cet effet potentialisateur sont encore discutés. Les hypothèses actuellement proposées place les acyl-coA au cœur du mécanisme réactionnel. Les acyl-coA sont issus du métabolisme cytoplasmique des AGNE après oxydation de ces derniers dans le cytosol par l'acyl-coA-oxydase ⁽¹⁷⁾. La quantité d'acyl-coA présents dans le cytosol est d'autant plus importante que le glucose intracellulaire abonde. En effet, le métabolisme mitochondrial du glucose (cycle de Krebs) est responsable d'une augmentation de la concentration cytoplasmique en citrate. Ce dernier après action successive de la citrate lyase et de l'acetyl-coA carboxylase aboutit à la formation de malonyl-coA. Le malonyl-coA ainsi formé inhibe la carnitine-palmitoyl-transférase I, protéine responsable de l'entrée des acyl-coA à longues chaînes dans la mitochondrie où ils subissent une β oxydation aboutissant à la formation d'acétyl-coA suivi par l'entrée de ces derniers dans le cycle

de Krebs. Ce phénomène d'inhibition est donc à l'origine d'une augmentation de la quantité cytosolique d'acyles-coA. Les réactions mises en jeu sont schématisées dans la figure 8. ⁽⁶¹⁾

Les acyles-coA pourraient favoriser directement l'exocytose des vésicules sécrétoires en facilitant la fusion des granules de sécrétion avec la membrane plasmique ^(91, 95). Ils seraient aussi responsables de l'acylation de certaines protéines dont en résulterait l'activation de voies de signalisation, et vraisemblablement aussi un rôle dans l'adressage de ces dernières vers des sites spécifiques de la membrane plasmique ⁽⁹¹⁾.

Les acyles-coA joueraient également le rôle de ligands de la protéine GPR40. La GPR40 est une protéine réceptrice capable de se lier à la sous unité Gaq de certaines protéines G membranaires, et serait responsable après reconnaissance des AGNE cytosoliques, d'induire, d'une part, les flux calciques issus à la fois de la dépolarisation membranaire et du RE, et d'autre part, l'activation de la phospholipase C dont on a déjà évoqué le mécanisme d'action sur la sécrétion. Cette hypothèse est en accord avec les résultats obtenus par Schnell *et al.* ⁽¹³⁵⁾. En effet, lors de l'incubation de cellules β -pancréatiques par divers acides gras de moyennes et longues chaînes*, une augmentation significative de la concentration cytosolique en calcium est observée, ainsi qu'une sécrétion importante d'insuline. L'administration d'inhibiteur de la carnitine-acyl-transférase ne modifie pas ces résultats, montrant ainsi que les AGNEs agissent avant leur métabolisation dans la mitochondrie, donc soit sous forme d'AGNE (peu probable), soit sous forme d'acyl-coA. L'administration de bloqueurs du GPR40 entraîne une absence quasi-totale d'amplification de la sécrétion d'insuline et une augmentation nettement moins importante du Ca^{2+} intracellulaire. Les mêmes expériences ont été réalisées avec un AGNE à courte chaîne, l'acide caproïque (C6), mais ce dernier n'agit ni sur les concentrations en calcium, ni sur la sécrétion d'insuline. ⁽¹³⁵⁾

* Acides oléique (C18:1), laurique (C12), linoléique (C18:2), linoléique (C18:2), α -linoléique (C18:3)

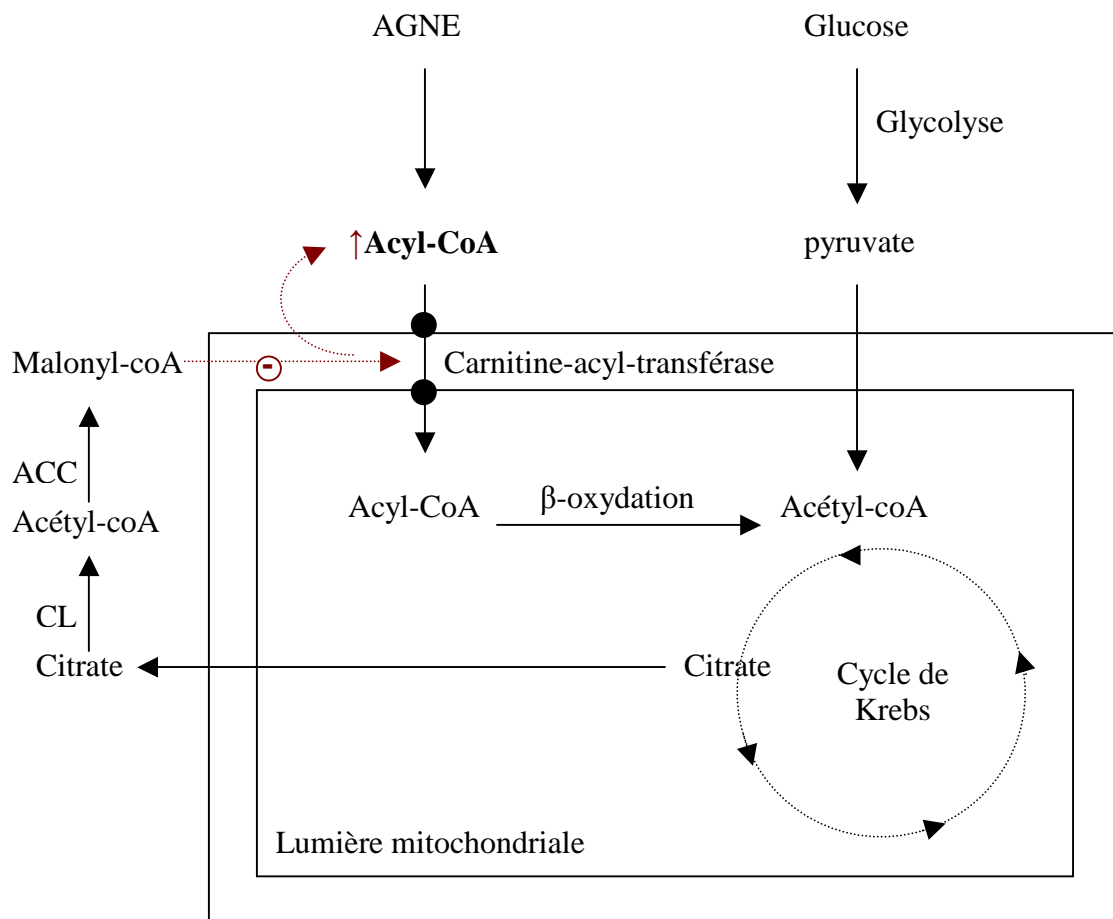


Figure 8 : Mécanisme d'amplification par le glucose de la concentration en acyl-coA.

ACC : acyl-coA carboxylase - AGNE : acide gras non estérifiés - CL : citrate lyase

3.2.2. Rôles des hormones gastro-intestinales.

Le glucose administré par voie orale induit une libération d'insuline beaucoup plus importante que le glucose administré directement en intra-veineuse. Ce fait résulte de la sécrétion par le tube digestif d'hormones, regroupées sous le terme d'incrétines⁽⁹¹⁾, qui stimulent la sécrétion d'insuline.

L'arrivée dans le tube digestif des substrats énergétiques, et en particulier du glucose, entraîne le relargage de nombreuses hormones gastro-intestinales, dont les plus importantes sont le **GIP** (Gastric Inhibitory Polypeptide encore appelé Glucose-dependant Insulinotropic Peptide), le **GLP-1** (Glucagon-Like Peptide) et la **cholécystokinine 33** (CCK33).

Le GIP, peptide de 42 acides α -aminés, synthétisé par les cellules K du duodénum et le GLP-1, produit par les cellules L du jéjunum et de l'iléon grâce à un mécanisme de clivage protéolytique de la molécule de pré-pro-glucagon, sont sécrétés lors du passage dans l'intestin du glucose, des acides gras et des acides aminés. La sécrétion quasi simultanée du GIP et du GLP-1 après une prise alimentaire, alors que ceux-ci sont produit dans des régions relativement éloignées, suggère également un mécanisme indirect impliquant le système nerveux entérique. Le GIP et le GLP-1 se lient à des récepteurs spécifiques présents à la surface des cellules β pancréatiques dont l'activation mène, par des voies encore inconnues, à la stimulation de l'adénylate cyclase et à la production d'AMPc. Toutefois, le GLP-1 qui est en concentration élevée dans le tissu intestinal est sans doute l'hormone gastro-intestinale qui a le plus de poids sur l'activation de la sécrétion d'insuline⁽⁹⁵⁾. L'effet insulino-trope du GIP et du GLP-1 est observé seulement lors de normo ou d'hyperglycémie.⁽⁹¹⁾

La CCK33, peptide de 33 acides α -aminés, quant à elle, est produite par la muqueuse duodénale⁽²⁾ et libérée lors de l'arrivée dans le duodénum des lipides⁽²⁾ ou bien des protéines et des acides α -aminés⁽⁹⁵⁾, selon les auteurs. La CCK33 agit sur la sécrétion d'insuline en activant la phospholipase C et la phospholipase A₂.

Le tube digestif sécrète d'autres hormones capables de modifier l'insulinosécrétion comme le SRIF (somatotrophin-release inhibitor factor)⁽⁹¹⁾, le VIP (vasoactive intestinal peptide), la sécrétine et la glicentine (enteroglucagon)⁽⁹⁵⁾, mais leur influence reste très faible.

3.2.3. Rôle des hormones et enzymes pancréatiques.

Le **glucagon**, secrétés par les cellules α des îlots endocrines pancréatiques, et la **somatostatine** produite par les cellules δ du pancréas, modulent la sécrétion de l'insuline grâce à une régulation paracrine. En effet, le glucagon et les peptides apparentés (GLP-1 et GLP-2), activent l'adénylate-cyclase qui génère de l'AMPc⁽⁹²⁾, et ainsi participent au déclenchement de la sécrétion d'insuline (cf *supra*). En revanche, la somatostatine, dont la sécrétion est stimulée par les mêmes hormones que celles qui activent la sécrétion d'insuline, est insulino-inhibitrice; en effet, les récepteurs de la somatostatine de la cellule β pancréatique (SSTR 2 et SSTR 3), inhibent l'adénylate-cyclase.⁽⁹¹⁾

Le rôle de l'**insuline** sur sa propre sécrétion reste très discuté : certaines études montrent l'existence d'un rétrocontrôle négatif de l'insuline sur sa propre sécrétion, d'autres un rétrocontrôle positif, et d'autres encore aucun effet de cette dernière. Toutefois, on peut supposer que l'insuline a un rôle sur la cellule β pancréatique car cette dernière possède des récepteurs à l'insuline (RI) ainsi que les protéines IRS-1, 2, 3 et 4. La phosphorylation des IRS, résultant de la fixation de l'insuline sur son récepteur, est responsable de l'activation de la voie de la PI3 kinase, voie qui module l'expression de la glucokinase, enzyme qui, rappelons-le, est l'étape limitante dans l'action intracellulaire du glucose.⁽⁸⁶⁾

Le "**miniglucagon**" est un fragment C-terminal résultant du clivage protéolytique du glucagon dans la cellule α pancréatique et dans ces tissus cibles, et est un antagoniste puissant des effets du glucagon. En particulier, il inhibe même à très faibles concentrations (< pM) la sécrétion d'insuline. Son mécanisme d'action serait

de fermer secondairement à une hyperpolarisation, les canaux Ca^{2+} voltages dépendants, suivant une voie de signalisation impliquant les protéines de la famille des protéines G. ⁽⁹¹⁾

Le **NGF** (Nerve Growth Factor) synthétisé par les cellules β joue aussi un rôle dans la régulation autocrine de la sécrétion d'insuline en permettant une concentration intracellulaire importante en sodium et en calcium. Une étude réalisée par Hiriart *et al.* ⁽⁶²⁾, a montré une diminution, *in vitro*, de 50% de la sécrétion d'insuline lors de l'administration d'anticorps anti-NGF.

La **sPLA₂** (secretory phospholipase A₂) est sécrétée en même temps que l'insuline par la cellule β pancréatique, et a une action autocrine insulino-sécrétrice sur la cellule même qui l'a secrétée. En hydrolysant les phospholipides membranaires, cette enzyme conduit à la formation de lysophospholipides (lysoPL), capables de bloquer la pompe K^+ ATP-dépendante et donc d'augmentation la concentration calcique cytosolique par le mécanisme de dépolarisation membranaire décrit précédemment. ⁽⁷³⁾

Cette régulation de type paracrine est facilitée grâce à l'existence d'un système porte intra-pancréatique permettant des liens étroits entre les cellules α , β et δ du pancréas, qui sont dispersées en îlots au sein du pancréas exocrine. ⁽¹³¹⁾

3.2.4. Rôles des autres hormones.

La **leptine**, hormone produite par les adipocytes et responsable de la satiété, inhibe la sécrétion et la synthèse d'insuline glucose-dépendante ⁽¹¹¹⁾ et limite ainsi l'hyper-insulinémie post-prandiale ⁽⁴⁷⁾. Nous développerons son action plus tard (partie B).

Les **β -endorphines** jouent aussi un rôle dépendant de leur concentration dans la régulation de la sécrétion d'insuline : à de faibles concentrations (10^{-10} à 10^{-8} mol/l), elles stimulent la sécrétion alors qu'à fortes concentrations (10^{-5} mol/l), elles l'inhibent

(39). Toutefois, une étude réalisée *in vivo* sur des chiens par Radosevich *et al.* (120), montre que les opiacés endogènes, certes influent sur la glycémie en l'augmentant, mais n'ont aucun effet sur la sécrétion d'insuline ; en fait, les β -endorphines n'agiraient sur l'homéostasie glucidique qu'en modifiant le métabolisme hépatique.

Les **effecteurs du stress**, en particulier les cytokines de type TNF- α diminuent la sécrétion d'insuline. Le CRF (Corticotropin-Releasing factor) inhibe *in vitro* la sécrétion d'insuline mais cela n'a pas été mis en évidence *in vivo*. (41)

3.2.5. Rôle du système nerveux autonome.

Le pancréas est innervé par le système sympathique et le système parasympathique. Les fibres nerveuses parasympathiques pré-ganglionnaires et sympathiques post-ganglionnaires émanent du plexus cœliaque par l'intermédiaire de plexus secondaires (101) (Figure 9):

- du plexus hépatique partent des rameaux nerveux destinés au lobe droit et au corps du pancréas,
- du plexus liéal se détachent des fibres surtout destinées au lobe gauche,
- du plexus mésentérique crânial partent des rameaux destinés au corps et un peu au lobe droit du pancréas.

Après énévation du pancréas, les hyper et les hypoglycémies sont corrigées mais beaucoup plus lentement. Le système parasympathique, grâce à l'activation des récepteurs cholinergiques de type muscarinique, stimule la sécrétion d'insuline pendant le repas, anticipant ainsi l'hyperglycémie post-prandiale et permet donc une régulation rapide de la glycémie. Le système sympathique, stimulé en particulier lors de stress ou d'exercice, quant à lui, a un double effet : l'action des catécholamines sur les récepteurs α_2 -adrénergiques inhibe la sécrétion en diminuant la quantité d'AMPc disponible, alors que l'activation des récepteurs β_2 -adrénergiques stimule la sécrétion d'insuline. (95) (Figure 10)

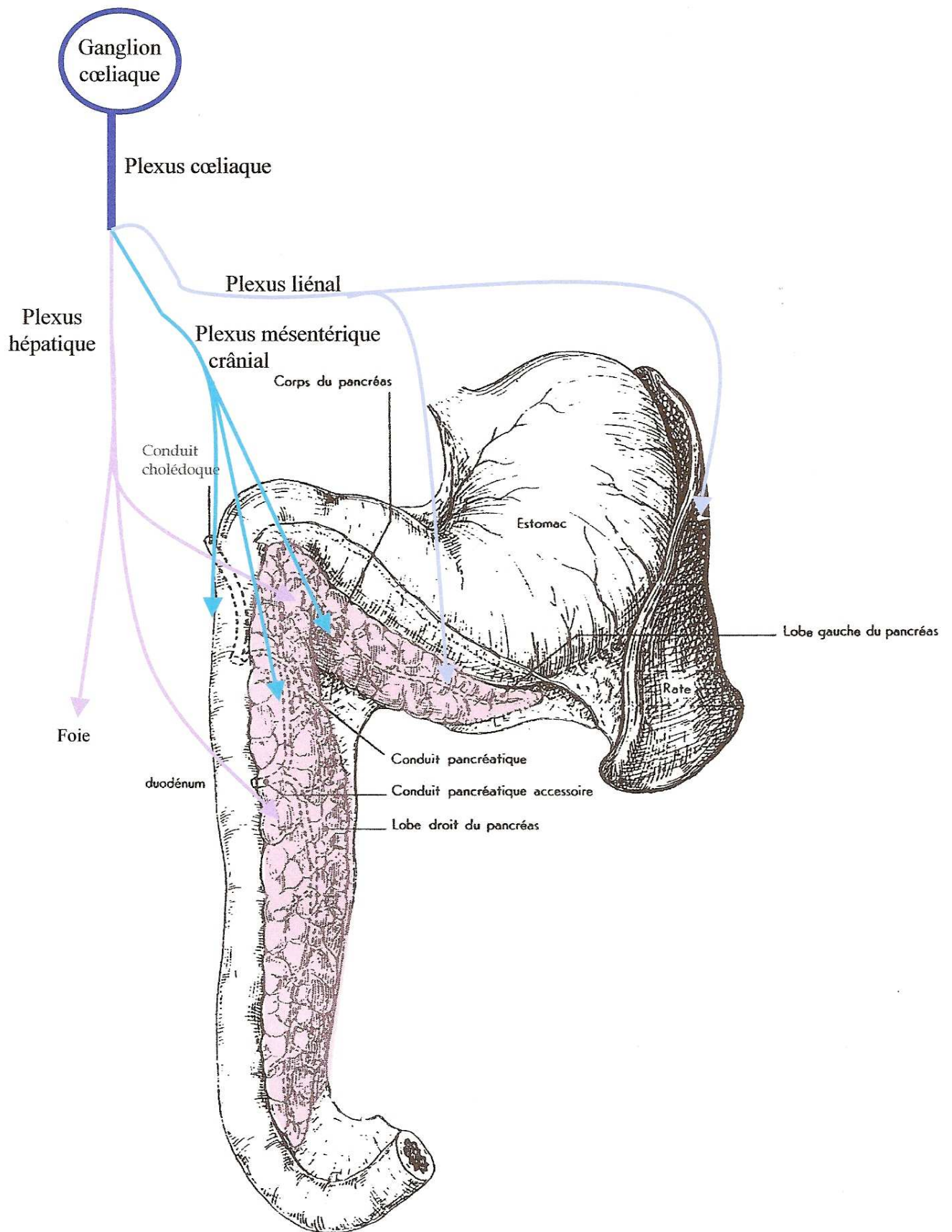


Figure 9 : Schématisation de l'innervation du pancréas du chien (d'après Baronne R.

(12).

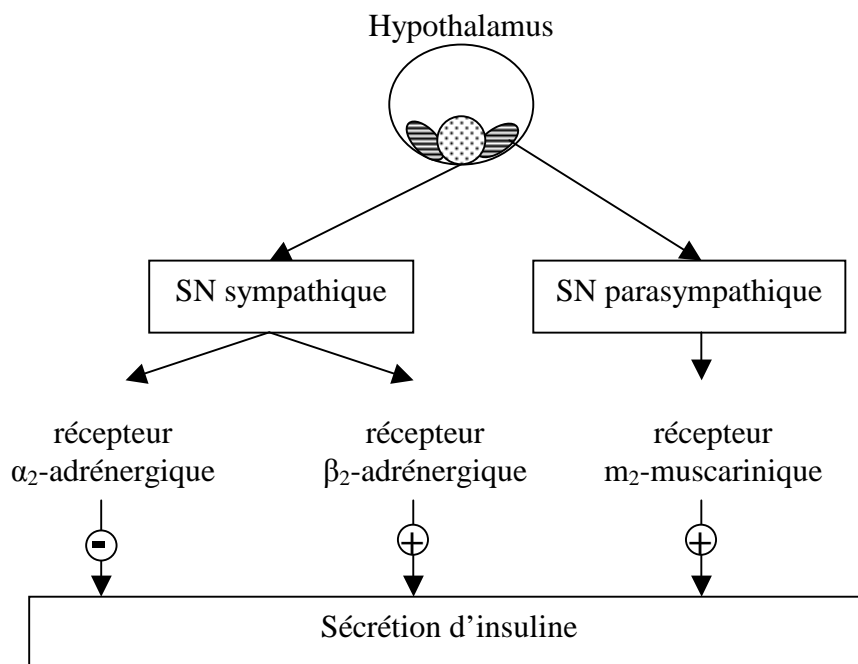


Figure 10 : Schématisation de la régulation de la sécrétion de l'insuline par le système nerveux autonome ⁽⁹⁵⁾.

▣ Partie ventro-médiale - ▨ Partie ventro-latérale - SN= système nerveux

L'innervation par le système nerveux autonome est régulée par l'hypothalamus, centre nerveux gluco-sensible, qui intervient dans les sensations de faim et de satiété directement modulée par la leptinémie ⁽¹¹⁾ : la partie ventro-médiale régule le système nerveux sympathique et la partie ventro-latérale, le système nerveux parasympathique ⁽⁹⁵⁾.

3.3. Coopération entre les cellules β . ⁽⁹¹⁾

Bien que chaque cellule β pancréatique soit équipée de son propre système de couplage stimulus-sécrétion, une réponse efficace à une hyperglycémie nécessite la réponse coordonnée de l'ensemble des cellules β des îlots. De nombreuses preuves expérimentale *in vitro* et *in vivo* de cette réponse coordonnée sont décrites. Ceci est dû à l'existence de jonctions lacunaires (gap junctions) de la famille des connexines, et en particulier les connexines 32 et 36. Ainsi, les cellules β dispersées expérimentalement montrent une expression très faible du gène de l'insuline, un niveau de base de sécrétion et une réponse sécrétoire au glucose très réduite; le rétablissement des connections cellulaires rétablit le niveau de biosynthèse de l'hormone.

Dans la gamme des concentrations physiologiques, l'amplitude de la réponse insulinaire est proportionnelle à la glycémie selon une relation sigmoïde. Cela résulte du fait que l'élévation de la concentration plasmatique en glucose recruterait un nombre croissant de cellules β , hétérogènes sur le plan fonctionnel. Ainsi, il existerait des sous-populations de cellules β dont la sensibilité au glucose serait différente, les plus actives étant recrutées aux concentrations les plus faibles et les moins actives ne répondraient aux concentrations plus élevées.

3.4. Dynamique de la sécrétion d'insuline.

La sécrétion d'insuline par le pancréas n'est pas vraiment continue : en 1922, K. Hansen étudie la concentration sanguine en glucose et met en évidence des

oscillations rapides et lentes de la concentration périphérique de ce substrat ⁽⁵⁸⁾; un demi-siècle plus tard, des oscillations de la concentration en insuline sont détectées ⁽¹¹⁶⁾.

La sécrétion d'insuline est un processus dynamique complexe au cours duquel se superposent des oscillations rapides et des oscillations ultradiennes* (Figure 11). Les oscillations rapides sont dues, entre autre, à des oscillations des concentrations intracellulaires calciques résultant de la dépolarisation membranaire K⁺ dépendante⁽⁴⁸⁾ et elles permettent une sécrétion simultanée de tous les îlots pancréatiques. Chez le chien, la sécrétion basale d'insuline suit un rythme oscillatoire de 7 à 8 minutes par pulse soit 7 à 9 pulses par heure ; lors de l'augmentation de la glycémie, la fréquence augmente à 4-5 minutes par pulse ainsi que l'amplitude, constituant alors les oscillations dites ultradiennes ⁽¹¹⁶⁾. Cette propriété apparaît comme étant une propriété intrinsèque de la cellule β pancréatique, car elle est conservée *in vitro* lors des expériences utilisant des pancréas isolés perfusés ⁽⁹¹⁾.

La sécrétion d'insuline en réponse à l'ingestion de glucose est biphasique. La première phase résulte tout d'abord de l'action de l'hypothalamus qui intervient très rapidement (moins de 2 minute après le repas) mais n'augmente la concentration plasmatique en insuline que d'environ 35 pmol/l. Puis, 5 à 10 minutes après, c'est la glycémie qui stimule l'exocytose des vésicules matures contenant l'insuline. La deuxième phase, quand à elle, résulte de la sécrétion et de la synthèse d'insuline et atteint un pic de sécrétion 2-3 heures après le repas. ⁽³²⁾ (Figure 12)

*Le *rythme ultradien* est un rythme biologique se présentant avec une fréquence pluriquotidienne donc plus rapide que le rythme circadien.

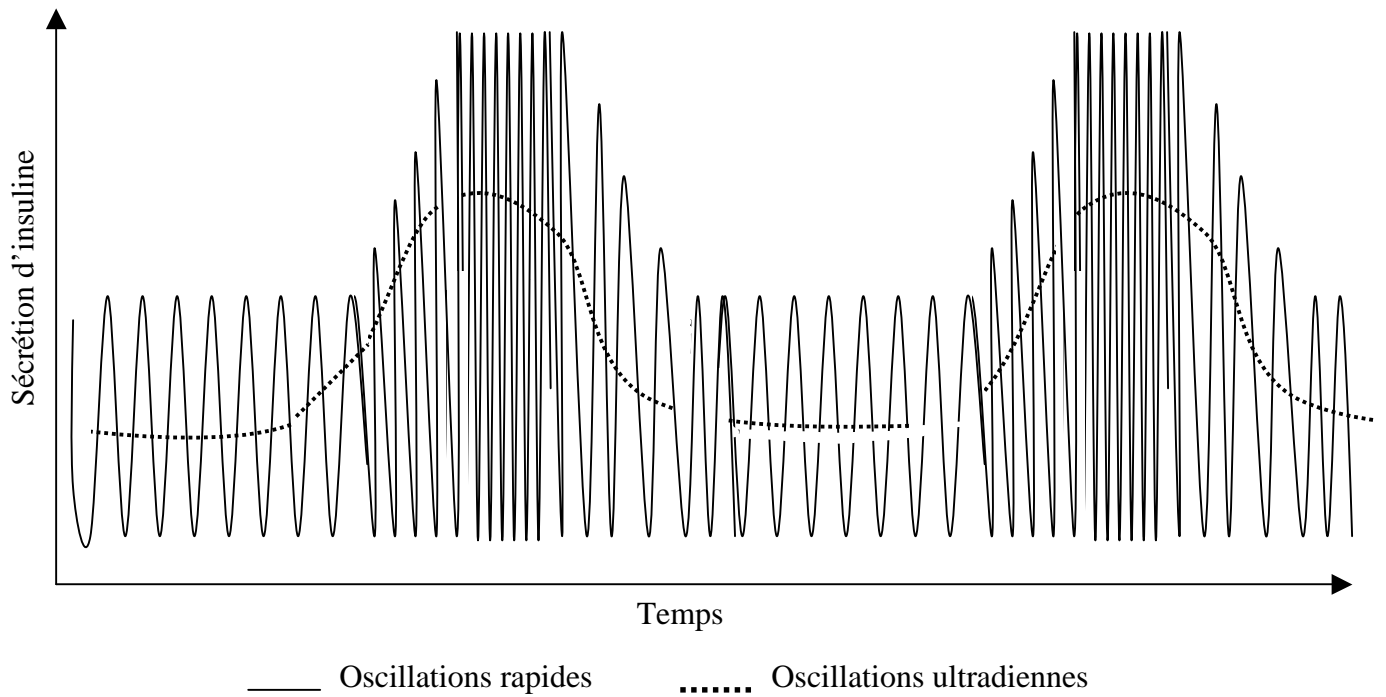


Figure 11 : Aperçu des oscillations rapides et ultradiennes de la sécrétion d'insuline.

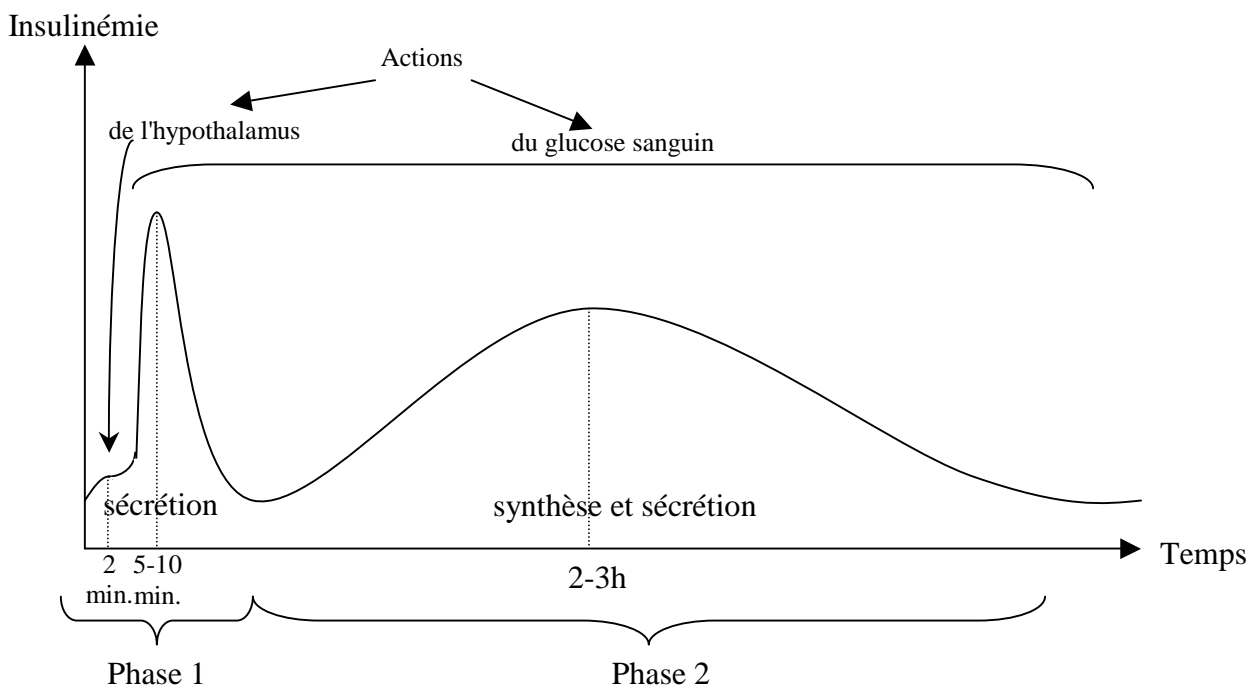


Figure 12 : Schéma de la variation de l'insulinémie au cours du temps et stimuli majeurs mis en jeu après ingestion de glucose à t=0 min.

4. Devenir de l'insuline sécrétée.

4.1. Transport sanguin.

L'exocytose des vésicules matures entraîne la libération de l'insuline, de la pro-insuline résiduelle et du peptide C* dans le plasma, où ils circulent sous forme libre, non liée à des protéines. Du réseau capillaire pancréatique, ils rejoignent la veine porte par l'intermédiaire des veines liénales, pancréatico-duodénales et éventuellement la veine mésentérique crâniale ⁽¹⁰¹⁾. Ainsi, l'insuline est acheminée directement au foie, son premier tissu cible, qui en prélève une fraction importante, jusqu'à 50% ^(18, 20), avant de gagner la circulation générale. L'insuline quitte ensuite le circuit sanguin par les pores des capillaires et diffuse de manière passive dans le milieu intercellulaire. Plusieurs études *in vitro* ont soulevé l'hypothèse de l'existence d'un transport actif saturable via un transporteur endothélial qui permettrait le passage de l'insuline du secteur vasculaire au secteur extra-vasculaire, mais aucune étude *in vivo* n'a pu mettre ce fait en évidence à ce jour ⁽⁵⁷⁾.

Pour une glycémie à jeun dans les valeurs usuelles (3,3 à 6,7 mmol/l), les valeurs usuelles de l'insulinémie basale chez le chien sain sont 62,50-222,24 pmol/l ⁽⁸⁸⁾, 69,45-277,80 pmol/l ⁽⁸⁴⁾, et 416,7-1111,2 pmol/l ⁽¹¹³⁾ selon les études, bien que la même technique de dosage (radio-immunodosage) ait été utilisée. Cette disparité entre les valeurs bibliographiques traduit l'absence de valeurs usuelles établies de l'insulinémie dans l'espèce canine.

4.2. Dégradation de l'insuline.

La dégradation de l'insuline est réalisée par toutes les cellules possédant un récepteur à l'insuline (RI), et intervient quasi-simultanément à son utilisation ; ainsi son temps de demi-vie est très court (de 4 à 5^(50, 68) voire 6⁽¹⁰²⁾ minutes selon les

* Le peptide C est le seul marqueur utilisable pour la mise en évidence d'une sécrétion résiduelle d'insuline chez le diabétique sous insulino-thérapie ⁽⁴³⁾.

auteurs chez le chien). Ce processus est régulé et joue un rôle très important dans le contrôle de l'action de l'insuline en l'inactivant.

L'insuline liée au RI peut soit retourner dans la circulation générale et être réutilisée par une autre cellule, soit être dégradée directement par la cellule utilisatrice. Les lieux de dégradation sont multiples : membrane plasmique, ou cytoplasme (lysosome, cytosol, noyau, Golgi,...) après internalisation de l'insuline liée au RI activé. L'internalisation du complexe insuline/récepteur nécessite l'activation par auto-phosphorylation de ce dernier ⁽⁸⁾. L'insuline peut aussi être internalisée non liée au RI par pinocytose, et ce mode d'internalisation est d'autant plus important que la concentration locale en insuline est élevée. La dégradation de l'insuline est catalysée par l'IDE* (Insulin Degrading Enzyme), metallo-endopeptidase dépendante du zinc présente dans la membrane plasmique et le cytoplasme, qui permet le clivage de la chaîne β en de multiples points. Les ponts disulfures sont clivés quand à eux par la PDI** (Protein Disulfide Isomerase). Les fragments de chaînes β ainsi créés participeraient selon certaines études à l'activité de l'insuline. D'autres protéinases comme la Cathepsine D, actives à pH acide, peuvent aussi dégrader l'insuline contenue dans les lysosomes. Les produits de la dégradation (chaîne α et fragments de chaîne β) sont ensuite relargués par exocytose dans le milieu extracellulaire en même temps que les RI sont recyclés. La dégradation de l'insuline est augmentée par l'œstradiol et la progestérone (ainsi que sa liaison au RI), alors que la testostérone l'inhibe. ⁽³⁶⁾

Le foie est l'un des plus gros consommateur d'insuline ; il prélève à lui tout seul jusqu'à 50% de l'insuline portale, mais une forte proportion de cette insuline se détache des RI de ce dernier et rejoint la circulation périphérique où elle sera réutilisée. Les cellules de Küpfer contribuent à la dégradation de 15% de l'insuline totale par pinocytose indépendante du RI. ⁽¹⁰²⁾

* L'IDE est aussi nommée insulinasé, insuli-dégradant enzyme, insulín protease, FLJ35968, insulínsine, insulínin glucagon protease, insulín-specific protease. ⁽⁶⁴⁾

** PDI était anciennement nommée enzyme glutathione insulín transhydrogenase. ⁽³⁶⁾

Les reins éliminent 50% de l'insuline périphérique selon deux mécanismes : par filtration glomérulaire et par réabsorption tubulaire proximale suivie d'une dégradation intra-cellulaire. La clairance glomérulaire de l'insuline résulte d'une diffusion passive non spécifique et d'une diffusion active par transporteur spécialisé. Après entrée dans la lumière tubulaire, 99% de l'insuline filtrée est réabsorbée par les cellules tubulaires proximales grâce à un mécanisme de pinocytose. L'insuline réabsorbée est ensuite détruite par les IDE et PDI. Le rein est aussi le site privilégié de la dégradation de la pro-insuline circulante et surtout du peptide C dont 70% est éliminée par cette voie. ⁽¹⁰²⁾

5. Effets de l'insuline sur l'organisme.

L'insuline joue un rôle anabolique majeur au niveau de l'organisme, dans la mise en réserve et l'utilisation des substrats énergétiques, et en particulier du glucose, permettant ainsi une diminution de la glycémie. L'insuline exerce également des fonctions pléiotropiques sur le métabolisme protéique, la multiplication cellulaire, l'apoptose et le développement embryonnaire.

5.1. Mécanisme d'action de l'insuline.

5.1.1. Initiation du signal insulinique.

L'ensemble des effets de l'insuline résulte de sa liaison à un récepteur spécifique, le récepteur de l'insuline (RI) principalement localisé sur la membrane cellulaire des cellules musculaires squelettiques, hépatocytes et adipocytes. Le RI est composé de deux sous-unités α , extracellulaires, reliées par des ponts di-sulfures à deux sous-unités β , transmembranaires et intra-cytoplasmiques.

Chaque sous-unité α possède un domaine de reconnaissance de l'insuline ; une seule molécule d'insuline, en se liant avec une haute affinité sur l'une des deux sous-unités α , va permettre d'activer complètement le récepteur. 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 au RI permet un rapprochement des deux sous-unités β et l'activation du récepteur. Chaque sous-unité β possède un domaine intrinsèque à activité tyrosine-kinase intracellulaire et une boucle régulatrice qui occlut le site catalytique tyrosine kinase le maintenant ainsi à l'état inactif. Lors de l'activation du récepteur, la liaison de l'ATP au RI sur la lysine en position 1030 de la chaîne β ^(15, 37), permet le dépliement de cette boucle et sa transphosphorylation (c'est-à-dire la phosphorylation, d'une sous-unité β par l'autre, des résidus tyrosyles 1146, 1150 et 1151). Le domaine tyrosine kinase est alors complètement activé et peut ainsi phosphoryler d'autres tyrosines présentes sur les chaînes β , conduisant à une auto-phosphorylation du récepteur, mais aussi à la phosphorylation de protéines substrats. ⁽²⁰⁾ (Figure 13)

5.1.2. Transduction du signal insulinique.

La transmission du signal insulinique met en jeu des modules protéiques tels que les IRS 1 et 2 (Insulin Receptor Substrate) qui interagissent avec la tyrosine 960⁽²⁰⁾ ou 972⁽⁷⁰⁾ du RI selon les auteurs. La phosphorylation, consécutive de leurs résidus tyrosyles conduit à l'établissement d'interactions physiques entre les IRS et des protéines relais dont les principales sont la PI3 kinase, les protéines adaptatrices Grb2 (growth factor receptor-bound protein 2) et Crkl, la tyrosine-kinase Fyn et la phosphotyrosine phosphatase SHP2 (SH2 domain protein tyrosine phosphatase-2). Deux voies principales sont mises en jeu par l'intermédiaire de ces protéines relais : la voie de la phosphatidyl-inositol 3 (PI3) kinase et la voie des MAP kinases. ⁽²⁰⁾

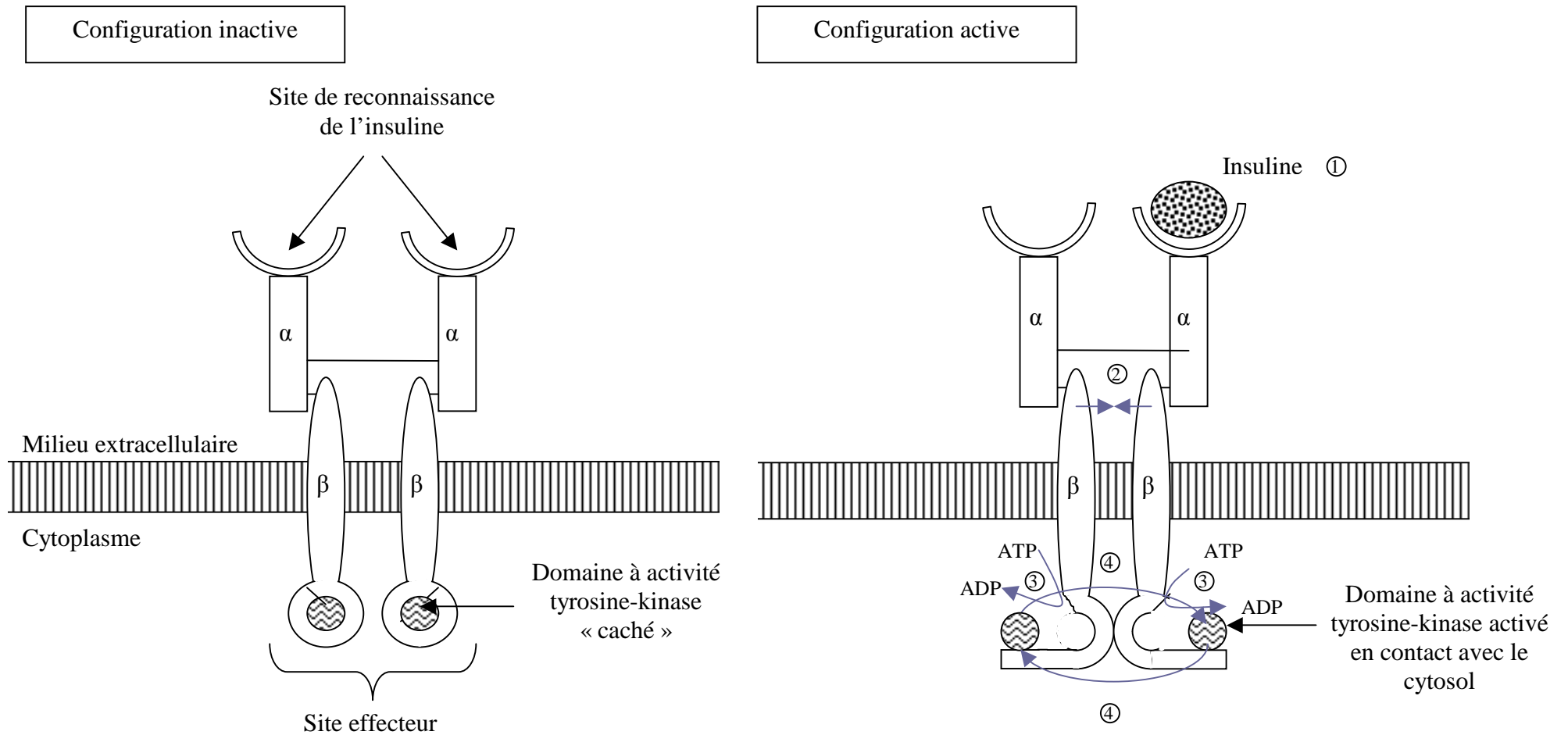


Figure 13: Schéma du récepteur de l'insuline

- 1 : Fixation de l'insuline au récepteur - 2 : Rapprochement des sous-unités β - 3 : Dépliage de la boucle par liaison à l'ATP sur la lysine 1030 - 4 : Transphosphorylation d'une sous-unité par l'autre permettant l'activation des tyrosines kinases en position 1146, 1150, 1151.

- **Voie de la PI3 kinase** (Figure 14)

La PI3 kinase activée par l'IRS1⁽³¹⁾, 2⁽²⁰⁾ ou 3⁽¹²¹⁾, agit ensuite sur les PDK1 voire la PDK2 (3-phosphoinositide-dependent protein kinase) et la PKB (encore nommée Akt). Cette dernière va à son tour phosphoryler et activer d'autres protéines relais impliquées principalement dans les effets métaboliques de l'hormone, en stimulant le catabolisme du glucose au détriment de son anabolisme. Ainsi, la phosphorylation de la GSK3- β (glycogène synthase 3 kinase- β) favorise la glycogénogenèse ; la kinase p70^{s6k} (ribosomal 70 kDa protein S6 kinase⁽¹⁵⁴⁾) et la kinase mTor (mammalian target of rapamycin) qui active spécifiquement le facteur 4E-BP1 (4E binding protein 1), participent à l'activation des synthèses protéiques en augmentant le niveau général de la traduction des ARNm ; la phosphorylation des facteurs de transcription de la famille des Forhead, tels que FKHR (agent activateur de la transcription du gène de la phosphoénolpyruvate carboxykinase, enzymes clés de la néoglucogénèse), entraîne leur rétention dans le cytosol et indirectement prévient la transcription des gènes spécifiques de la néoglucogénèse ; l'activation de la PDE-3B⁽⁸¹⁾ (phosphodiesterase 3B) a un effet anti-lipolytique ; la phosphorylation du facteur pro-apoptotique Bad désactive ce dernier, inhibant ainsi l'apoptose. ⁽²⁰⁾

L'effet principal de l'insuline sur les cellules insulino-sensibles est une augmentation en quelques secondes de la perméabilité cellulaire au glucose, permise par la migration des transporteurs du glucose de type GLUT-4 (présents dans les cellules musculaires et les adipocytes) du cytoplasme vers la membrane plasmique. Lors de l'action de l'hormone, les transporteurs GLUT-4, stockés dans les vésicules intracellulaires migrent très rapidement vers la membrane plasmique et favorisent la pénétration intracellulaire du glucose. Une voie dépendante de la PI3 kinase et passant par l'activation de protéines kinases dont la protéine kinase B (PKB), permet, par un mécanisme encore inconnu, vraisemblablement par l'intermédiaire de la protéine PKC ξ ⁽²⁰⁾, la levée du signal de rétention qui maintenait les vésicules contenant les transporteurs du glucose GLUT-4 au niveau du réseau trans-golgien. Ainsi, cette voie entraîne la polymérisation des microfilaments d'actine F, et l'activation d'un système de reconnaissance vésicule/membrane plasmique permettant ainsi la fusion des vésicules de GLUT-4 à la membrane⁽²⁰⁾. L'expression

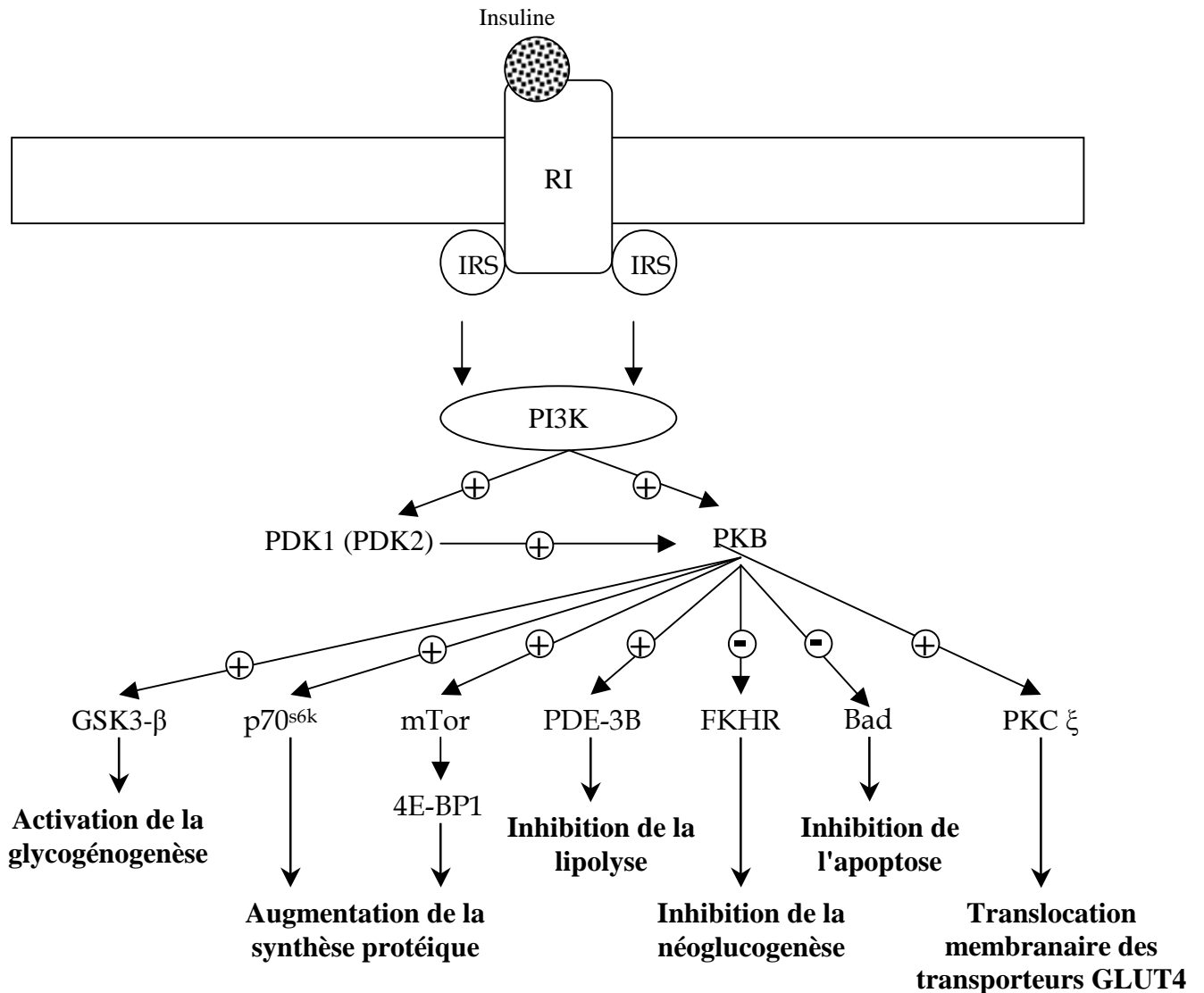


Figure 14 : Transduction et effets du signal insulinique par la voie de la PI3 kinase

(D'après Capeau J. ⁽²⁰⁾).

4E-BP1: 4E binding protein 1 - Bad: Bcl-xL/Bcl-2 associated death promoter - FKHR: forkhead related transcription factor⁽³⁵⁾ - GSK3-β: glycogenase synthase 3 kinase⁽⁶⁷⁾ - IRS: Isulin receptor substrate - mTor: mammalian target of rapamycin - p70^{s6k}: ribosomal 70 kDa protein S6 kinase - PDE-3B: phosphodiesterase 3B - PDK1 et 2: 3-phosphoinositide-dependent protein kinase 1 et 2 - PI3K: phosphatidylinositol 3-kinase - PKB: protéine kinase B - PKC ξ: protéine kinase C ξ - RI: Récepteur à l'insuline

des transporteurs GLUT-4 est augmentée par la leptine, ce qui accroît la sensibilité des cellules musculaires à l'insuline⁽¹⁶⁾. Lorsque la quantité d'insuline circulante diminue, les GLUT-4 retournent dans le cytosol⁽⁹⁵⁾.

- **Voie des MAP kinases** (Figure 15)

La liaison de la protéine adaptatrice Grb₂ à l'IRS permet d'activer la voie des MAP kinases. La Grb₂ phosphorylée active le facteur d'échange nucléotidique SOS (son of sevenless) qui à son tour agit sur la Ras (rat sarcoma viral oncogene homolog⁽¹²¹⁾), petite protéine G de 21 kD de la membrane plasmique, en stimulant l'échange du GDP contre le GTP. Ras active la kinase Raf qui active à son tour la MEK (MAP kinase kinase), protéine responsable de l'activation par phosphorylation des MAP kinases ERK1 et ERK2 (extracellular signal-regulated kinase). ERK1 et 2 activent alors la kinase p90^{rsk} impliquée dans la synthèse protéique ainsi que la p62^{TCF} stimulant ainsi la prolifération et la différenciation cellulaire. ^(20, 121)

L'IRS n'est pas le seul impliquée dans la phosphorylation des facteurs généraux de régulation de la transcription : la phosphorylation de Shc (src homology and collagen protein) par le RI en est aussi capable. ^(20, 121)

Par des mécanismes non élucidés à l'heure actuelle, l'insuline active, vraisemblablement par une voie faisant intervenir une PKC ⁽²⁷⁾, la pompe Na⁺/K⁺-ATPase, forçant ainsi une entrée du potassium dans les cellules (2 K⁺ entrent dans la cellule, 3 Na⁺ en sortent) ⁽¹¹²⁾.

De nombreuses études, dont celle de Guidotti *et al.* ⁽⁵⁵⁾, ont mis en évidence les effets de l'insuline sur l'entrée des acides α-aminés dans les cellules. En effet, l'insuline favorise la pénétration intracellulaire de nombreux acides α-aminés à l'exception de la leucine, la phenyl-alanine et la lysine. Grâce à d'autres mécanismes qui ne seront pas développés ici, l'insuline peut aussi faciliter l'entrée dans la cellule du phosphate et du magnésium.

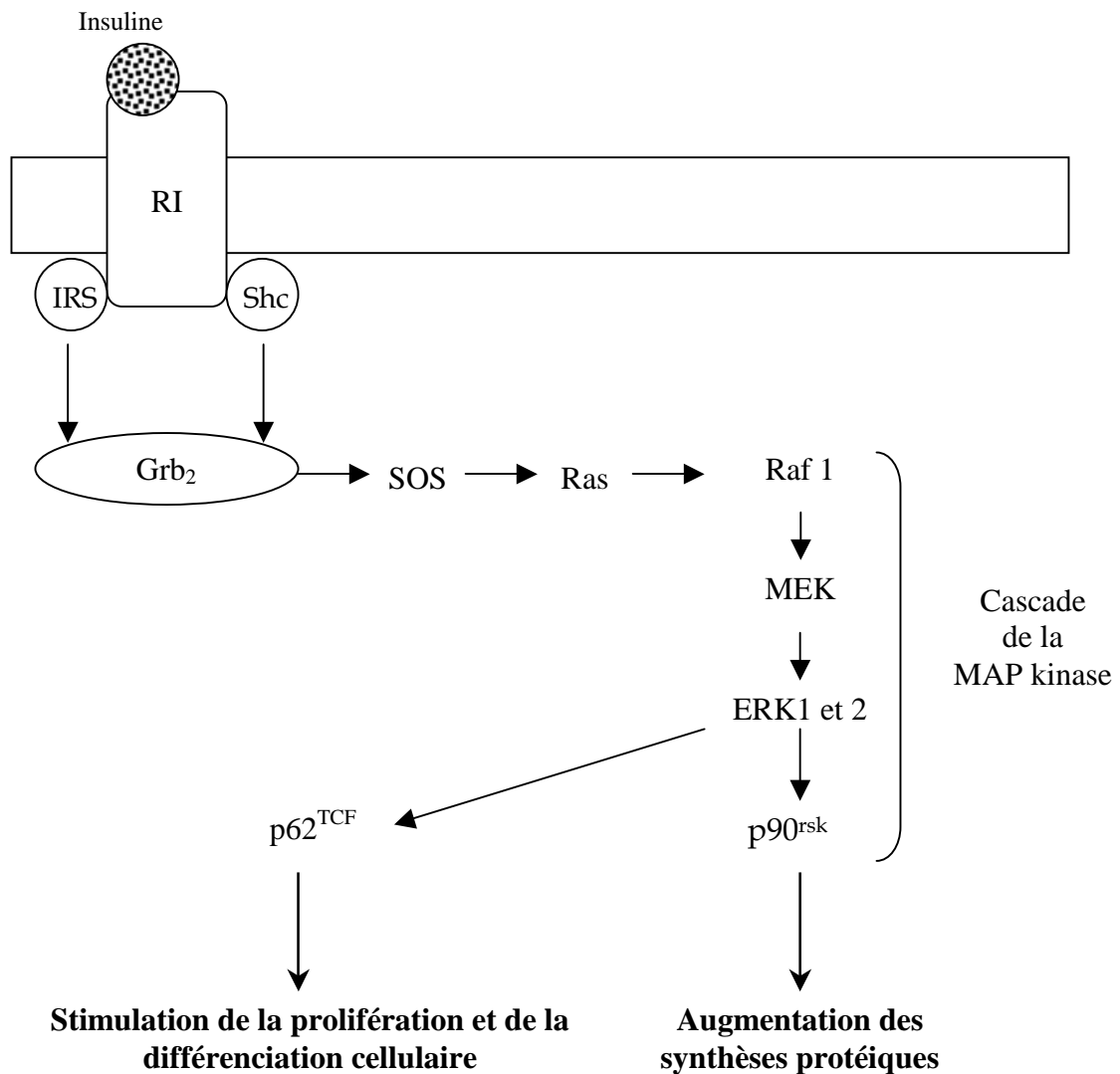


Figure 15 : Transduction et effets du signal insulinique par la voie des MAP kinases

(D'après Capeau J. ⁽²⁰⁾).

ERK 1 et 2: extracellular signal-regulated kinase 1 et 2 - Grb₂: growth factor receptor bound protein 2 - IRS: insulin receptor substrate - MEK: MAP kinase kinase - p62^{TCF}: kinase p62^{TCF} - p90^{rsk}: kinase p90^{rsk} - Raf 1: - Ras: rat sarcoma viral oncogene homolog - RI: récepteur à l'insuline - SOS: son of sevenless

5.1.3. Fin du signal insulinique.

La fin du signal insulinique implique la dégradation de l'hormone après internalisation des complexes insuline/RI dans des endosomes. La majorité des récepteurs sont recyclés, alors que les récepteur dégradés sont remplacés par des récepteurs nouvellement synthétisés afin que leur nombre, à la surface de la cellule, soit maintenu constant ⁽⁹⁵⁾. Le recyclage des RI consistent en la déphosphorylation des résidus tyrosyles du récepteur et des protéines IRS grâce à des tyrosines phosphatases (PTP) telles que la PTP_{1B} cytosolique ancrée sur le RE ⁽⁷⁰⁾ et la LAR (leukocyte common antigen-related molecule) membranaire ⁽⁹⁵⁾. D'autres protéines comme la protéine adaptatrice Grb₁₄, inhibent, sans déphosphoryler le RI, l'ancrage de Shc et des IRS sur ce dernier ⁽⁷⁰⁾.

De plus, l'IDE serait capable de se complexer avec certains organites cytoplasmiques, en particulier les protéasomes, les récepteurs des androgènes et ceux des glucocorticoïdes et possiblement les peroxisomes. L'IDE, activé par l'insuline, stimulerait ainsi les protéasomes en augmentant leur capacité protéolytique et favoriserait la liaison des récepteurs des stéroïdes à l'ADN. L'action de l'IDE sur les peroxisomes n'est pas connue. En revanche, l'insuline induit une diminution de la dégradation des protéines, une inhibition de la β oxydation des acides gras et régule négativement les effets géniques des récepteurs des hormones stéroïdes (*cf supra*) et s'oppose donc aux effets de l'IDE. Ainsi, la formation d'un complexe IDE/organites, secondaire à la dégradation de l'insuline, permettrait de stopper le signal insulinique.

(36)

5.2. Effets spécifiques de l'insuline sur les principaux tissus cibles.

5.2.1. Effets sur le foie.

Les effets hépatiques de l'insuline sont principalement observés pendant la première phase de la sécrétion hormonale et ne sont que faiblement induits durant la deuxième phase, pourtant plus prolongée ^(24, 32).

Un des effets les plus importants de l'insuline sur le foie, est la stimulation de la glycogénogenèse dans les cellules hépatiques. Les enzymes clés qui sont activées et stimulées par l'insuline sont les glucokinases, qui phosphorylent le glucose en glucose-6-phosphate, et la glycogène-synthétase pour former le glycogène. En même temps, l'insuline inhibe les enzymes responsables de la néoglucogenèse (Glucose-6-phosphatase, fructose 1.6 diphosphate phosphatase, pyruvate carboxylase et phospho-énolpyruvate carboxykinase) et de la glycogénolyse (glycogène phosphorylase). En activant la phospho-fructo-kinase et la pyruvate-kinase, l'insuline stimule la glycolyse d'une infime partie du glucose en excès dans la cellule. Simultanément, l'insuline diminue les concentrations intra-hépatocytaires d'acides α -aminés et inhibe les enzymes responsables de la gluconéogenèse afin de limiter la concentration cellulaire en glucose. ⁽⁹⁵⁾

Quand la quantité de glucose excède les besoins métaboliques et la capacité de stockage, l'insuline stimule la conversion du glucose excédentaire en acides gras et triglycérides (lipogénèse), en inhibant la carnitine acyl-transférase (enzyme clé du catabolisme intramitochondrial des acides gras permettant leur transfert dans la mitochondrie). ⁽⁹⁵⁾

5.2.2. Effets sur les muscles striés ⁽⁹⁵⁾

Quantitativement, la masse musculaire est le plus grand tissu cible de l'insuline et le site majeur de dépôts des nutriments en excès. L'insuline stimule la consommation par le muscle d'une grande quantité du glucose circulant et, dans une moindre mesure, des acides α -aminés. Une grande partie du glucose entrant dans les myocytes, est stocké sous forme de glycogène grâce à l'activation par l'insuline de la glycogène synthase. Le reste du glucose est catabolisé au cours de la glycolyse, du cycle de Krebs, etc..., ce qui participe entre autre à la formation de la créatine phosphate, forme de réserve d'énergie rapidement utilisable par le muscle.

Lorsque la concentration sanguine en acides α -aminés est élevée, le muscle devient le site majeur de leur stockage. L'insuline stimule le transport actif des acides α -aminés circulants à travers la membrane cellulaire des myocytes et promeut les synthèses protéiques dans les myocytes et les autres cellules. L'insuline est aussi un inhibiteur potentiel de la protéolyse. Les mécanismes d'action de l'insuline sur les acides α -aminés restent néanmoins peu connus.

Cette capacité de l'insuline à stimuler les synthèses protéiques la rend autant indispensable à la croissance de l'organisme que l'hormone de croissance. En effet, un défaut de sécrétion d'insuline et d'hormone de croissance pendant la croissance, entraîne un arrêt de cette dernière. Si l'hormono-thérapie n'est réalisée qu'avec l'une des deux hormones défaillantes, l'effet sur la croissance reste très faible, mais si ces deux hormones sont administrées simultanément, la croissance reprend. L'insuline et l'hormone de croissance agissent donc en synergie.

5.2.3. Effets sur le tissu adipeux

Un autre site d'action majeur de l'insuline est le tissu adipeux, dans lequel elle stimule la formation et le stockage des graisses sous forme de triglycérides.

Elle permet la capture du glucose sanguin par l'adipocyte, son utilisation dans la glycolyse, conduisant à l'obtention d'acétyl-coA par décarboxylation oxydative du pyruvate et l'oxydation de ce dernier dans le cycle de Krebs. Ainsi, les concentrations des intermédiaires métaboliques, dont le citrate, augmentent, rendant ainsi possible des transferts de substrats entre les différents compartiments cellulaires. Le citrate mitochondrial en excès est, en effet, échangé contre du L-malate d'origine cytosolique grâce à la présence d'un antiport membranaire citrate/malate. Dans le cytosol, le citrate subit une scission oxydative catalysée par la citrate lyase qui libère de l'oxaloacétate et de l'acétylcoA. Cette dernière molécule est le précurseur de la lipogénèse (formation d'acides gras non estérifiés (AGNE)). De plus, l'insuline stimule de nombreuses enzymes impliquées dans cette voie métabolique (pyruvate déshydrogénase⁽¹⁰⁴⁾, acétyl-coA carboxylase⁽¹⁴⁹⁾ et acide gras synthase⁽¹⁴⁸⁾). Elle favorise ensuite l'estérification des acides gras (issu de la synthèse *de novo* et du sang) sur le glycérol-3-phosphate et la formation de triacylglycérols (Figure 16). ^(17, 114)

Bien entendu, comme dans toutes les autres cellules de l'organisme sensibles à l'insuline, cette dernière y a un effet inhibiteur de la lipolyse.

5.3. Conséquences sur la composition biochimique du sang.

Grâce à l'action de l'insuline en particulier sur le foie, les muscles striés et le tissu adipeux, l'insuline permet le maintien de la glycémie chez le chien sain en dessous d'une valeur seuil de 5,6 mmol/l⁽⁸⁸⁾ à 7,28 mmol/l^(16, 103) selon les auteurs. Parallèlement, elle limite, dans une moindre mesure, les concentrations sanguines en acides α -aminés, acides gras, et corps cétoniques, et elle exerce aussi une action hypokaliémiante.

Les principaux effets de l'insuline sur les tissus cibles sont résumés dans le tableau III.

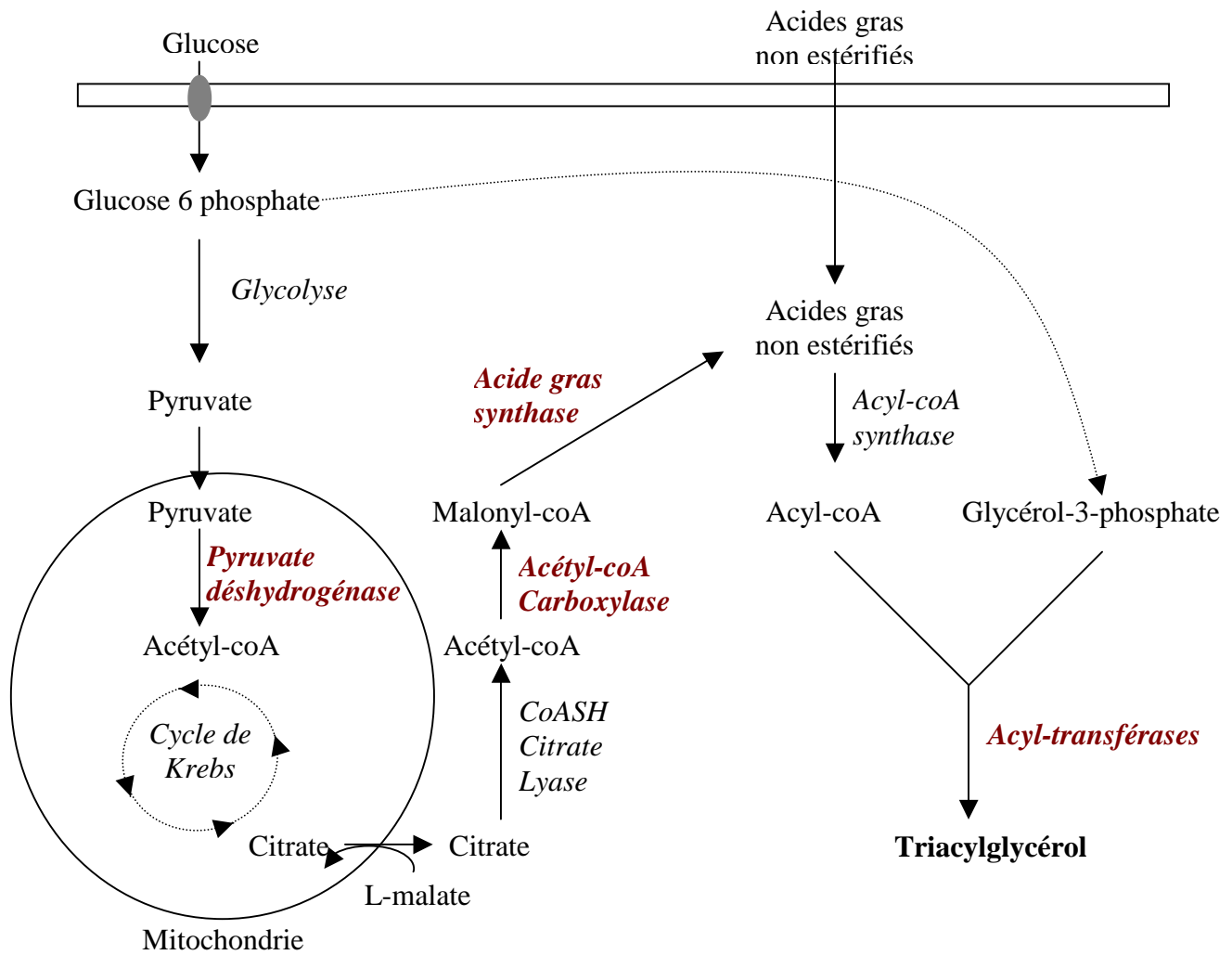


Figure 16 : Mécanisme de stimulation de la lipogenèse par l'insuline.

Les enzymes stimulées par l'insuline sont en rouge.

	Principaux effets de l'insuline		
Tissu cible	Métabolisme glucidique	Métabolisme lipidique	Métabolisme protéique
Foie	-stimulation de la glycolyse -stimulation de la glycogénogenèse -inhibition de la néoglucogenèse -inhibition de la glycogenolyse	-stimulation de la lipogenèse -diminution de la synthèse des corps cétoniques	-stimulation des synthèses protéiques
Tissu musculaire	-stimulation de la glycolyse -stimulation de la glycogénogenèse	-augmentation de la consommation des corps cétoniques -diminution de la consommation des acides gras	-augmentation du catabolisme des acides α -aminés -augmentation des synthèses protéiques
augmentation de la consommation de K^+			
Tissu adipeux	-augmentation de la consommation de glucose: stimulation de glycolyse, stimulation de la synthèse de glycérol-phosphate	-stimulation de la synthèse d'acide gras -stimulation de la lipogenèse -inhibition de la lipase hormono-sensible	
augmentation de la consommation de K^+			
Concentration sanguine	baisse de la glycémie des concentrations en acides α -aminés des concentrations en acides gras des concentrations en corps cétoniques de la kaliémie		

Tableau III : Hiérarchisation des principaux effets de l'insuline sur les tissu cibles en fonction de la disponibilité en substrat ⁽⁹⁵⁾.

6. Conclusion sur les principaux acteurs de la variation de l'insulinémie (figure 17).

Il existe une relation très étroite entre la concentration circulante des nutriments et des substrats énergétiques, et notamment le glucose, et la sécrétion d'insuline, selon une boucle de régulation élémentaire : les substrats circulants (glucose en chef de file, acides aminés, acides gras non estérifiés, corps cétoniques) stimulent la sécrétion d'insuline qui en retour abaisse leurs concentrations plasmatique.

L'insulinémie dépend donc :

de la *glycémie* qui induit directement la *synthèse* et la *sécrétion* de l'insuline,

de la *réponse cellulaire au stimulus insuline* qui exerce un rétrocontrôle négatif sur la sécrétion de l'insuline en diminuant la *glycémie*,

et de la *dégradation* de l'insuline.

Toute modification de l'un de des 5 facteurs (glycémie, synthèse, sécrétion, réponse cellulaire, dégradation de l'insuline) est susceptible d'induire une insulinémie anormale.

Nous allons maintenant étudier l'influence de l'obésité sur ces cinq axes et ces conséquences sur l'insulinémie.

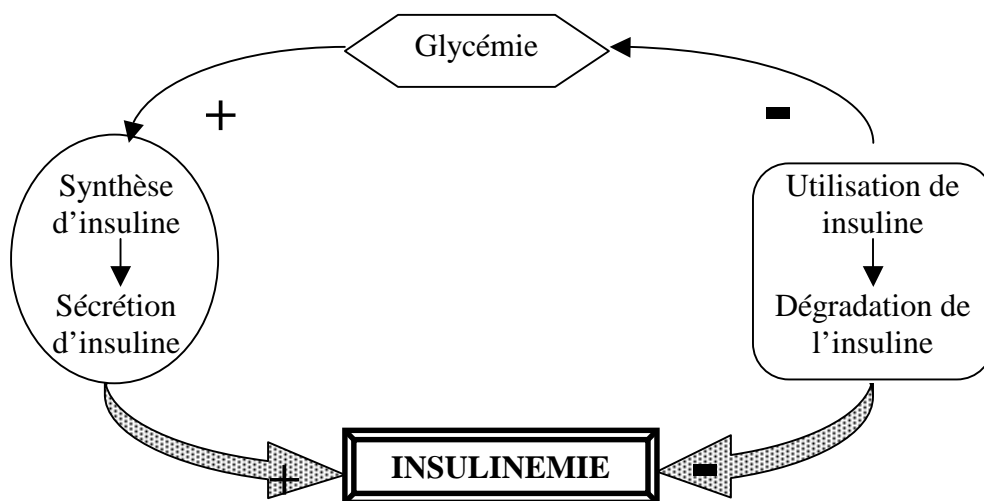


Figure 17 : Les principaux acteurs de la variation de l'insulinémie

B. Influence de l'obésité sur l'insulinémie.

1. Modifications biochimiques et physiologiques associées à l'obésité.

1.1. L'obésité : un état inflammatoire chronique.

Le tissu adipeux blanc est un organe endocrine qui joue un rôle majeur dans la physiologie de l'immunité et la physiopathologie de l'inflammation grâce à sa capacité à synthétiser et à sécréter des hormones pro-inflammatoires appelées adipokines, hormones responsables d'une induction de marqueurs plasmatiques de l'inflammation. Plusieurs faits suggèrent l'existence d'une inflammation à bas bruit au cours de l'obésité, en particulier l'élévation des concentrations plasmatiques de CRP (C-Reactive Protein), de TNF- α (Tumor Necrosis Factor-alpha), d'IL-6 (InterLeukine-6) ainsi que d'autres marqueurs de l'inflammation. Ainsi, chez les animaux obèses, ces hormones sont responsables d'un état inflammatoire chronique de faible intensité ; à l'inverse, une réduction pondérale est associée à une normalisation de ces marqueurs. ⁽⁴²⁾

En effet, le tissu adipeux est composé de différents types cellulaires incluant les adipocytes, les cellules stromales vasculaires, les macrophages, les cellules endothéliales et les fibroblastes ⁽¹³⁶⁾. Ces divers types cellulaires sont, certes, impliqués dans le métabolisme lipidique, mais aussi dans le phénomène inflammatoire associé à l'obésité. Ainsi, plusieurs adipokines pro-inflammatoires sécrétées par les adipocytes sont susceptibles d'interférer avec le métabolisme insulinaire. Citons entre autres :

- le TNF- α , principalement produit par les macrophages et les lymphocytes, mais aussi, dans une proportion plus réduite par les adipocytes ou les cellules endothéliales, généralement en réponse à un dommage cellulaire, tel que celui créé,

par exemple, par une surcharge lipidique. Sa libération est stimulée par plusieurs autres médiateurs, comme l'interleukine 1 ou les endotoxines bactériennes ⁽¹⁾. Chez le chien, contrairement à l'homme, le TNF- α surexprimé dans le tissu adipeux lors d'obésité, est responsable d'une augmentation sensible de la concentration circulante de TNF- α ^(42, 46). De plus, le TNF- α inhibe la protéine G_i α (en particulier l'isoforme G_{i1} α) dont le rôle principal est de limiter la lipolyse adipocytaire basale en inhibant l'adénylate-cyclase ⁽⁴⁵⁾. Ainsi, le TNF- α est un agent stimulateur de la lipolyse adipocytaire dont en résulte, en particulier, une augmentation des AGNE intracellulaires ^(45, 128).

- l'**Interleukine-6** (IL-6), est une cytokine produite par de nombreuses cellules dont les monocytes et macrophages, les fibroblastes, et les cellules endothéliales⁽⁴⁴⁾. Il a été démontré chez l'homme qu'en l'absence de processus inflammatoire aiguë, 15 à 30% de la concentration circulante en IL-6 pouvait être attribués au tissu adipeux et en particulier au tissu adipeux viscéral ⁽⁴²⁾. En l'absence de données chez le chien, nous pouvons toutefois supposer que la concentration circulante d'IL-6 chez cette espèce est elle aussi augmenté lors d'obésité.

- l'**Adiponectine**^{*}, est une protéine fortement exprimée dans le tissu adipeux en particulier sous-cutané. L'adiponectémie est toutefois inversement proportionnelle au degré d'obésité; sa synthèse est induite entre autre par la leptine et est inhibée par le TNF- α , IL-6 et IL-1, les catécholamines et la testostérone. Elle aurait des propriétés anti-inflammatoires résultant d'effets anti-TNF- α . En effet, des études réalisées *in vitro* ont montré qu'en présence d'adiponectine, la production de TNF- α par les macrophages était nettement diminuée. ⁽⁴²⁾

- le **MCP-1** (Monocyte Chemottractant Protein-1), est un facteur de recrutement des monocytes circulants ^(23, 42). L'expression de MCP-1 dans le tissu adipeux est augmentée, 1 semaine après un régime riche en graisse⁽²³⁾.

* L'adiponectine est aussi nommée ACRP30 (Adipocyte Complement-Related Protein of 30kDa) ou adipoQ chez la souris, et APM1 (AdiPose Most abundant gene transcript 1) chez l'homme ⁽⁷⁾.

- la **Résistine**, est une molécule exclusivement sécrétée par les adipocytes, en particulier lors d'obésité ⁽¹⁴¹⁾. Toutefois, plusieurs équipes ont observé une chute de l'expression du gène de la résistine dans plusieurs modèles d'animaux obèses ⁽⁴²⁾. Cette molécule a été découverte récemment au cours d'une étude sur un médicament anti-diabétique (Stepan et al., 2001) ⁽¹⁴¹⁾, et outre son rôle sur la résistance à l'insuline ⁽¹⁴¹⁾ sur lequel nous reviendrons plus tard, la résistine inhibe la différenciation adipocytaire ⁽⁷⁸⁾.

- l'**Adipsine**, encore appelée **Protéine D du complément**, est une enzyme de type serine protéase responsable du clivage du facteur B du complément lorsque celui-ci est complexé au facteur C₃. Le facteur C_{3a} ainsi obtenu devient après action d'une carboxypeptidase plasmatique de l'**ASP** (Acylation-Stimulating Protein) ⁽¹⁴⁶⁾. Cette dernière stimule la synthèse des triglycérides dans les adipocytes en favorisant l'entrée du glucose grâce à une activation de la translocation des transporteurs GLUT 4 vers la membrane cytoplasmique, ainsi qu'en activant la diacylglycérol transférase, enzyme impliquée dans la synthèse des triglycérides ^(77, 99, 146). Chez les animaux obèses une diminution du nombre de sites de liaison pour l'ASP et une diminution de l'affinité pour les récepteurs de l'ASP ont été observées ⁽¹³⁰⁾.

Bien d'autres adipokines, inflammatoires ou non, sont sécrétées par les adipocytes (Figure 18), mais comme elles n'interviennent pas de manière significative dans le métabolisme insulinaire, elles ne seront pas abordées ici.

L'étude des modèles murins a permis la mise en évidence de variations de l'expression de différentes protéines dues essentiellement à une infiltration macrophagique accrue du tissu adipeux blanc. Au cours de l'obésité, ces macrophages paraissent responsables d'une grande partie de la synthèse du TNF α présent dans le tissu adipeux, ainsi qu'une partie significative de celle des IL-6 et de l'iNOS (inductible azote monoxyde synthase). La présence d'un excès de macrophages pourrait correspondre à la cause et/ou à la conséquence de l'état d'inflammation chronique associé à l'obésité. ⁽⁴²⁾

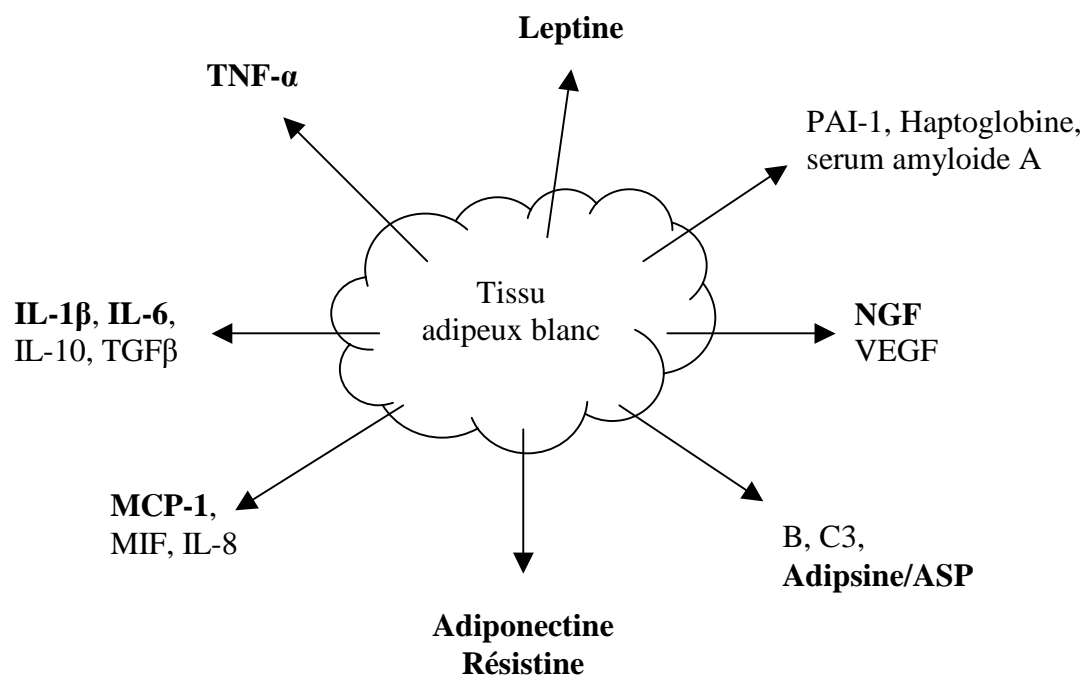


Figure 18 : Cytokines sécrétées par les adipocytes (D'après Trayhurn P. *et al* ⁽¹⁴⁴⁾).

En gras, les cytokines intervenant dans le métabolisme insulinique.

1.2. Obésité et hyperleptinémie.

Les concentrations plasmatiques en leptine, hormone sécrétée presque exclusivement par les adipocytes, ainsi que l'expression de son ARNm dans le tissu adipeux, sont très étroitement associées au degré d'obésité et en particulier à la masse graisseuse sous-cutanée.⁽⁴²⁾

La leptine permet la communication entre les tissus périphériques et le système nerveux central, notamment les centres de la faim et de la satiété, en vue d'une régulation coordonnée de la prise alimentaire et des dépenses énergétiques. Grâce à l'existence de transporteurs de la leptine au niveau de la barrière hémato-méningée, la leptine est prélevée de la circulation sanguine générale et se retrouve dans le liquide cérébro-spinal d'où elle peut agir directement sur l'hypothalamus ; ainsi la leptine inhibe, en agissant sur l'hypothalamus, la prise alimentaire, et stimule les dépenses énergétiques en agissant sur les tissus périphériques. Lors d'obésité, le nombre de transporteurs fonctionnels à la leptine est considérablement diminué (l'obésité en est la conséquence par manque de satiété), augmentant ainsi la concentration circulante de leptine.⁽¹¹⁾

Le nombre de transporteurs de la leptine est variable au cours de la vie. Ainsi, chez le jeune en croissance dont les besoins métaboliques sont énormes, on observe beaucoup moins de transporteurs que chez les animaux plus âgés.⁽¹⁰⁵⁾

Outre son effet sur le système nerveux central (hormone de la satiété) et sur le pancréas (*cf infra*), la leptine est capable de contrôler la production du TNF- α et l'activation des macrophages et en particulier leur diapédèse; ainsi, plusieurs auteurs ont rapporté une augmentation de la réponse pro-inflammatoire dans les situations d'hyperleptinémie.⁽⁴²⁾

1.3. Obésité et hyperlipidémie.

Le terme d'hyperlipidémie désigne une augmentation de la concentration plasmatique en cholestérol et/ou en triacylglycérols, anciennement appelés triglycérides. L'incidence des hyperlipidémies, primaire (idiopathique) ou secondaire (à une maladie) (Tableau IV), sur la population canine semble assez importante, puisqu'elle atteindrait 14% (Barrie *et al.*, 1992).⁽⁷²⁾

Chikamune *et al.*⁽²⁵⁾ ont étudié les modifications sériques en lipides et lipoprotéines associées à l'obésité chez le chien sain. Ils ont mis en évidence une augmentation significative importante de la concentration plasmatique de triglycérides chez les chiens gros ou obèses ($100,2 \pm 44,3$ g/l contre $35,0 \pm 10,7$ g/l chez les chiens non obèses, $p < 0,01$), alors que la cholestérolémie et la concentration en AGNE n'étaient pas reliées au poids. Toutefois, deux autres études réalisées sur des chiens ayant reçu un régime hypercalorique sur plusieurs mois, montrent une augmentation des concentrations circulantes de cholestérol lié aux VLDLs (Very Low Density Lipoproteins) et aux HDLs (High Density Lipoproteins)⁽¹⁰⁾, ainsi qu'une augmentation des acides gras non estérifié (augmentation de 0,66 mmol/l en moyenne, $p < 0,05$)⁽⁴⁶⁾. Une modification de la composition des fractions pré- β , β et α_1 des lipoprotéines totales après électrophorèse a également été observée chez les chiens obèses : les triglycérides sont significativement plus nombreux dans la fraction β , ainsi que les phospholipides dans la fraction pré- β , au détriment de la fraction α_1 dans laquelle les phospholipides sont deux fois moins nombreux chez les chiens obèses par rapport aux chiens de conformation normale^(10, 25).

De plus, de nombreuses études dont celle de Romsos *et al.*⁽⁷²⁾, ont mis en évidence une augmentation notable de la cholestérolémie à jeun chez les chiens recevant des régimes riches en graisse (76% de matières grasses).

Les IL-6 produites par le tissu graisseux viscéral contribueraient à l'hypertriglycéridémie associée à l'obésité. En effet, les IL-6 issues du tissu graisseux viscéral sont drainées par la veine porte et agissent ainsi directement sur le foie où elles stimulent la lipolyse ainsi que la sécrétion de triglycérides sous forme de

	Hypercholestérolémie	Hypertriglycéridémie
Primaire	Spécifique au Briard et au Collie (très rare)	Hyperlipémie idiopathique du Schnauzer nain Hyperlipémie idiopathique
Secondaire	Hypothyroïdie Diabète sucré Syndrome néphrotique Obésité Cholestase hépatique Alimentation riche en cholestérol ou en graisse saturée Variation hormonale au cours du cycle oestral Iatrogène (oestrogènes, progestagènes, corticoïdes...)	Hypothyroïdie Diabète sucré Syndrome néphrotique Obésité Hyperadrénocorticisme Variation hormonale au cours du cycle oestral Iatrogène (oestrogènes, progestagènes, corticoïdes...)

Tableau IV : Etiologie des hyperlipidémies chez le chien.⁽⁷²⁾

triglycérides-VLDL.⁽¹⁰⁸⁾

Le TNF- α est, quant à lui, responsable d'une augmentation de la lipolyse et de la libération des acides gras libres ⁽¹²⁸⁾. De plus, la diminution de l'activité de l'Adipsine/ASP, évoquée plus haut, pourrait contribuer à une diminution du rendement de stockage des triglycérides et donc à une augmentation du flux des acides gras libres circulants.

Les acides gras et les lipopolysaccharides sont reconnus par des récepteurs transmembranaires, les TLRs (Toll-like receptors), récepteurs qui participent à la reconnaissance des signaux inflammatoires par les adipocytes, plus particulièrement ceux des animaux obèses. Les TLRs stimulent le NF κ B par un chemin dépendant des facteurs MyD88 et IRAK, qui sont des sérine-thréonine kinases. Or, le NF κ B est un activateur de la synthèse des cytokines inflammatoires, en particulier du TNF- α . Ainsi, l'hyperlipidémie associée à l'obésité, participe à la mise en place de l'état inflammatoire, qui, lui-même, aggrave l'hyperlipidémie. ⁽¹³⁶⁾

1.4. Obésité et hypertension artérielle.

Si chez l'homme, l'obésité est souvent responsable d'hypertension artérielle ⁽⁸⁵⁾, la relation entre l'obésité et l'hypertension est controversée chez le chien.

En effet, de nombreuses études réalisées sur des chiens rendus artificiellement obèses par des régimes hypercaloriques riches en graisse, mettent en évidence une augmentation de la pression artérielle systolique et diastolique ^(96, 147). Toutefois, une étude réalisée par Rocchini *et al.* ⁽¹²⁴⁾ montre certes une augmentation de la pression artérielle au cours d'un régime hypercalorique et hyperlipidique, mais une normalisation de cette dernière lors du retour à une alimentation normale sans toutefois de perte de poids associée. Ainsi, l'hypertension serait plutôt secondaire au régime, en particulier lors de régimes riches en acides gras insaturés ⁽¹⁴⁵⁾, plutôt qu'à l'état d'obésité lui-même.

De plus, d'après une étude épidémiologique réalisé par Diez *et al.* ⁽³³⁾, il existerait plutôt une relation entre l'âge et l'hypertension plutôt qu'entre l'obésité et l'hypertension dans l'espèce canine.

2. Influence de l'obésité sur la glycémie.

2.1. L'obésité, une cause possible d'insulino-résistance.

L'insulino-résistance est un état pathologique caractérisé par une réponse cellulaire diminuée au signal insulinique (qui permet l'entrée du glucose dans les cellules) pour des concentrations hormonales physiologiques. Lors d'obésité, cet état résulte plus particulièrement d'un défaut de transmission du signal, soit entre le RI et les IRS, soit entre les IRS et la PI3K. Les défauts d'initiation du signal, résultant en particulier d'une mutation du récepteur, restent exceptionnels et ne sont pas particulièrement associés à l'obésité.

2.1.1. Rôles des phosphorylations des sérines et des thréonines des IRS dans la mise en place de l'insulino-résistance.⁽²⁰⁾

Comme nous l'avons vu précédemment, le signal insulinique débute par la phosphorylation des résidus tyrosyles des IRS par le domaine tyrosine kinase du RI activé par l'insuline. Des études récentes se sont intéressées à la phosphorylation du site sérine/thréonine des protéines IRS, en particulier de la sérine 307, et ont montré que cette dernière empêchait la phosphorylation des résidus tyrosyles de l'IRS par le domaine tyrosine kinase du RI et inhibait donc la transduction du signal insulinique. De nombreux signaux sont capables d'induire cette phosphorylation : les acides gras libres, le diacylglycérol, les acyl-CoA, le glucose, les cytokines inflammatoires (TNF- α , IL-6, IL-1 β) ainsi que l'insuline elle-même.

2.1.2. Les voies du signallement pro-inflammatoire responsable de l'insulino-résistance liée à l'obésité.

De nombreuses voies de l'inflammation, activées par les cytokines et les acides gras libres, affectent l'action de l'insuline en interférant avec la transduction du signal insulinique notamment au niveau des phosphorylations du RI et des IRS. ⁽²³⁾

La kinase **IKK β** catalyse la phosphorylation d'une protéine inhibitrice notée I, qui sous forme non phosphorylée, s'associe de façon stable au dimère NF- κ B (facteur nucléaire enhancer du gène codant pour la chaîne κ des lymphocytes B (L_B)) et piège le facteur transcriptionnel dans le cytoplasme. Lorsque I est phosphorylée, elle s'en dissocie, ce qui permet la translocation nucléaire de NF- κ B qui stimule la production de nombreuses cytokines inflammatoires, dont le TNF- α et l'IL-6. En outre, la reconnaissance du TNF- α par des récepteurs membranaires spécifiques de types I et II largement exprimés par les adipocytes ⁽⁵⁹⁾, conduit au recrutement de la kinase IKK β , ce qui a pour conséquence (Figure 19) de générer une boucle d'amplification de la sécrétion paracrine du TNF- α aggravant l'état inflammatoire déjà présent, et de conduire à la phosphorylation des résidus sérine des IRS stoppant ainsi le signal insulinique. ⁽²³⁾

La **JNK1** (c-Jun NH₂-terminal Kinase 1), aussi appelée SAPK1 (Stress-Activated Protein Kinase), est souvent impliquée dans la transduction des signaux inflammatoires (TNF α , IL-1)⁽¹²⁷⁾ ou d'un stress environnemental (choc osmotique, hyperthermie)⁽¹⁰⁶⁾ de la cellule. L'activité de JNK1 est particulièrement élevée dans le foie, les muscles et le tissu adipeux des animaux obèses. La synthèse de JNK1 est stimulée par les acides gras libres et le TNF- α . En phosphorylant la sérine 307 de l'IRS-1, le JNK1 inhibe la transduction du signal insulinique. ⁽²³⁾ (Figure 19)

Une augmentation massive de l'activité de la **PKC- θ** , observée en particulier lors de l'augmentation des concentrations cellulaires en acyles-coA et en DAG induites dans les situations d'hyperlipidémie, est également responsable d'une

phosphorylation des sérines des l'IRS. Ce fait est responsable d'une diminution de l'activation de la PI3 kinase par l'IRS-1. ⁽²³⁾ (Figure 19)

Les acyl-coA sont aussi responsables d'une inhibition de la synthèse des transporteurs GLUT4, aggravant ainsi l'état d'insulino-résistance secondaire au défaut de transduction du signal insulinique. ⁽⁵⁹⁾

Les protéines **SOCS** (Suppressors Of Cytokine Signaling) dont l'expression est stimulée par le TNF- α et la résistine, bloquent le signal insulinique en interférant avec la phosphorylation de la tyrosine des IRS-1 et 2, ou en les dégradant par ubiquitinylation, phénomène protéolytique faisant intervenir l'ubiquitine⁽¹⁴³⁾. SOCS-3 est sur-exprimée en particulier dans le tissu adipeux des animaux obèses. Dans le foie, les SOCS-1 et 3 entraînent l'activation de la transcription du facteur nucléaire SCREBP-1, dont l'effet principal est la stimulation de la synthèse hépatique des lipides, ce qui constitue une boucle d'entretien de l'état d'hyperlipidémie. ⁽²³⁾ (Figure 19)

Les cytokines pro-inflammatoires (TNF- α , IL-1, interféron- γ) et les endotoxines agissent en synergie dans l'augmentation de la production des oxydes nitriques en induisant une sur-expression de l'iNOS (inducible Nitric Oxide Synthase) des cellules musculaires et des adipocytes. Des études menées chez les rats *ob/ob* (rats obèses) ont montré que la sensibilité à l'insuline était normale à augmentée chez les animaux déficients en iNOS. De plus, des traitements à base d'inhibiteur de l'iNOS (aminoguanine, l-nitroarginine methyl ester)⁽²⁶⁾ préservent de l'hyperinsulinémie et de l'hyperglycémie induite par les graisses et augmentent la sensibilité cellulaire à l'insuline. L'inhibition de iNOS permet aussi l'augmentation de l'expression des IRS-1 et IRS-2.⁽²³⁾

Des études réalisées chez des hommes diabétiques (diabète sucré de type II ou diabète non-insulino-dépendant) ont montré que l'**adiponectine** aurait un rôle protecteur contre l'insulino-résistance. Le mode d'action de l'adiponectine sur

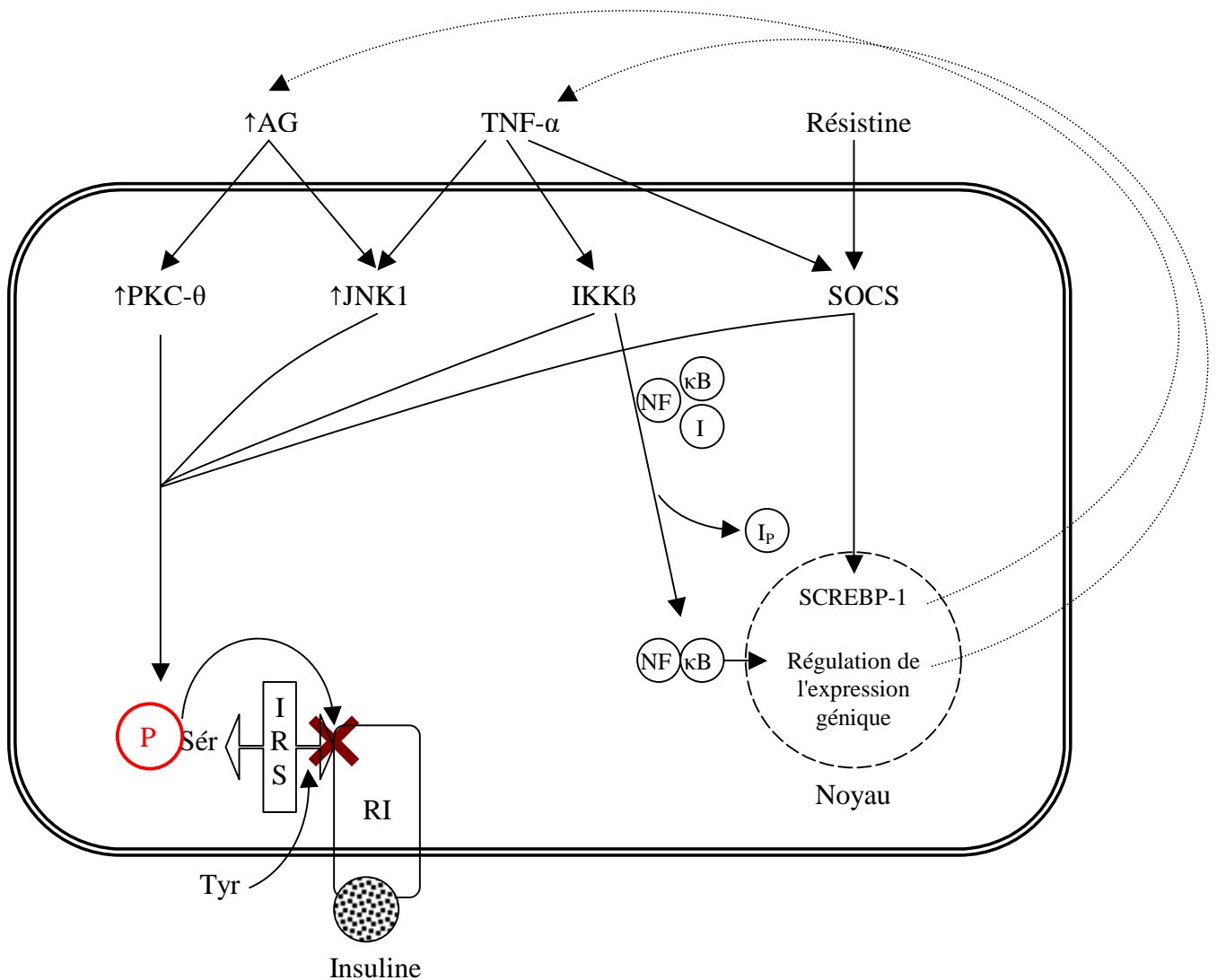


Figure 19 : Voies du signallement pro-inflammatoire associées à l'insulino-résistance dépendante de l'obésité.

AG : Acides gras- IKK β : Nuclear factor NF κ B inhibitor kinase beta - IRS : Insulin receptor substrate - JNK1 : c-Jun NH₂-terminal Kinase 1 - P : Phosphore - PI3K : phosphatidylinositol 3-kinase - PKC- θ : Protéine kinase C θ - RI : Récepteur de l'insuline - SCREBP-1 : Sterol regulatory binding transcription factor 1 - SOCS : Suppressors Of Cytokine Signaling

l'amélioration de la réponse au signal insulinique se ferait grâce à l'activation de l'AMPK (AMP activated protein Kinase), dont en résulterait, d'une part, une augmentation de la capture musculaire du glucose et une diminution de la néoglucogenèse hépatique, et d'autre part, une augmentation de l'oxydation hépatique des acides gras et une diminution de la synthèse de triacylglycérol ^(59, 151). En effet, l'AMPK diminue les concentrations cytoplasmiques en malonyl-coA en inhibant l'acétyl-coA carboxylase, limitant ainsi l'action inhibitrice du malonyl-coA sur l'entrée des acyl-coA dans la mitochondrie, lieu de la β oxydation. La PKC- θ n'est alors plus activée de façon excessive, limitant ainsi l'insulino-résistance associée aux AG. Or lors d'obésité, la sécrétion d'adiponectine étant diminuée, en partie à cause du TNF- α et de l'hyperlipidémie qui inhibent sa synthèse ⁽¹²⁸⁾, l'organisme ne bénéficie plus de ce bouclier anti-insulino-résistance. ⁽⁴²⁾

La **résistine** semble elle aussi jouer un rôle dans la mise en place de l'insulino-résistance. En effet, dans une étude réalisée par Stepan *et al.* ⁽¹⁴¹⁾, l'administration d'anti-corps anti-résistine améliore la sensibilité à l'insuline chez les animaux obèses. Réciproquement, une autre étude a montré que l'administration de résistine à des animaux normaux provoquait une insulino-résistance ⁽¹⁴¹⁾, et les souris knockout pour le gène de la résistine ont une glycémie à jeun diminuée même lorsque celles-ci sont rendues obèses ⁽⁴²⁾. Ce fait serait dû à une réduction de la production hépatique en glucose ⁽⁴²⁾.

Le **MCP-1** quant à lui est responsable d'une diminution notable de la phosphorylation du RI dans le tissu adipeux ⁽¹³⁹⁾.

2.2. Modification du métabolisme hépatique associé à l'obésité.

La place du foie est très importante dans la régulation de la glycémie post-prandiale, d'une part grâce à sa situation anatomique qui lui permet le drainage immédiat du glucose issu de l'alimentation, et d'autre part grâce à ses capacités de stockage exceptionnelle du glucose sous forme de glycogène. Ainsi, un défaut du

métabolisme hépatique du glucose a des répercussions majeures, dont en particulier une augmentation et un retard de régulation de l'hyperglycémie post-prandiale.

Les **acides gras libres**, présents en quantité anormalement élevée lors d'obésité, sont responsables d'une altération du métabolisme hépatique du glucose. En effet, l'augmentation de la concentration intrahépatique en acides gras entraîne une augmentation massive des cofacteurs de la néoglucogenèse (ATP, NADH, Acétyl-coA) issus de la β -oxydation. En plus de favoriser l'anabolisme glucidique, les résidus d'acétyl-coA en grand nombre diminuent l'oxydation glucidique en particulier en inhibant la phosphofructokinase et l'héxokinase, et en activant la glucose 6 phosphatase ⁽⁵⁹⁾. De ce fait, les acides gras entraînent indirectement une pseudo insulino-résistance hépatique se traduisant par une augmentation de la gluconéogenèse ⁽¹⁵³⁾, et une absence d'inhibition de la glycogénolyse ⁽³²⁾. Le foie des chiens est particulièrement sensible aux variations des concentrations circulantes en acides gras libres qui y jouent un rôle majeur dans la régulation des flux glucidiques ⁽³²⁾.

En revanche, l'**adiponectine** diminue les capacités de stockage du glucose par le foie, en inhibant l'expression des ARNm de deux enzymes de la néoglucogenèse, la glucose-6-phosphatase et la phosphoénolpyruvate carboxykinase ⁽⁴²⁾.

D'autre part, lors d'insulino-résistance périphérique, telle que celle associée à l'obésité, la première phase de sécrétion de l'insuline est défaillante. Or le foie est particulièrement sensible à cette première phase, dont les effets principaux (activation de la glycogénogenèse, inhibition de la néoglucogenèse, stimulation de la glycolyse et de la lipogenèse) ont pour but de supprimer la libération de glucose par le foie et de favoriser la lipogenèse. En 1989, Luzi et DeFronzo ⁽⁹⁰⁾ suppriment la première phase de sécrétion de l'insuline avec de la somatostatine, et observent une production continue de glucose par le foie bien que le cobaye soit déjà hyperglycémique et hyperinsulinémique; lorsque qu'ils restaurent la première phase de sécrétion, la glycémie normale est rétablie. Il ressort de cette étude que la diminution de la première phase de sécrétion de l'insuline, telle que celle observée

lors d'insulino-résistance périphérique, ne permet pas la suppression de la production hépatique post-prandiale de glucose aggravant ainsi l'hyperglycémie déjà présente.

2.3. Hyperglycémie et hyperinsulinisme chronique.

L'insulinémie et la glycémie sont étroitement liées : une augmentation de la glycémie entraîne une augmentation de l'insulinémie qui à son tour induit une diminution de la glycémie. Or, lors d'états d'insulino-résistance, comme les cellules ne répondent plus correctement au signal insulinique, la glycémie ne diminue pas de façon suffisante, provoquant ainsi une augmentation secondaire de la sécrétion d'insuline. On aboutit alors à des états chroniques d'hyperglycémie et d'hyperinsulinémie pouvant être aggravés par un dysfonctionnement hépatique.

L'hyperinsulinisme est responsable d'une hypertrophie et d'une hyperplasie du tissu adipeux, aggravant ainsi l'hyperlipidémie déjà présente lors d'obésité et qui contribue à l'insulino-résistance ⁽⁵⁴⁾. Il s'établit alors un cercle vicieux auto-aggravant (Figure 20).

3. Influence de l'obésité sur la synthèse et la sécrétion de l'insuline.

3.1. Rôles des TNF- α .

Le TNF- α est responsable d'une diminution de la synthèse des ARNm codant pour le transporteur GLUT-2⁽⁵²⁾ et la glucokinase, ce qui entraîne une réponse moins adaptée de la synthèse et de la sécrétion d'insuline au glucose circulant, d'une part à cause d'une diminution du nombre de récepteurs au glucose sur la cellule β et d'autre part à cause d'une diminution du signal glucidique dont la phosphorylation par la glucokinase en G6P est déjà l'étape limitante. Une diminution de la synthèse des ARNm de la PEPCK (phosphoenolpyruvate carboxykinase) induite par le TNF- α

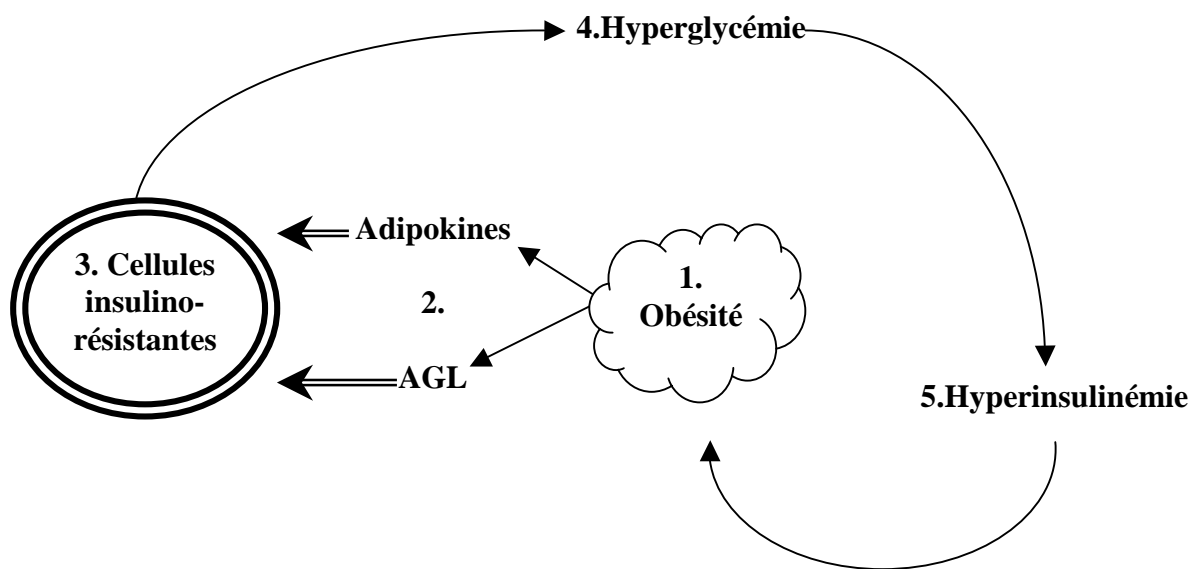


Figure 20 : Effets auto-aggravants de l'insulino-résistance associée à l'obésité.

AGL: Acides gras libres

a aussi était mise en évidence ⁽⁵²⁾.

Toutefois, le TNF- α stimule l'activité du promoteur du gène de PDX1, et en ce sens, compense, dans une moindre mesure, la diminution de la synthèse d'insuline liée à la baisse du signal glucidique. ⁽¹³¹⁾

3.2. Effet inhibiteur de la leptine sur la sécrétion d'insuline.

Une exposition chronique à des concentrations élevées de leptine, comme celles observées lors d'obésité, est responsable d'une diminution de la transcription du gène de l'insuline, ainsi qu'une inhibition de sa sécrétion gluco-induite par les cellules β pancréatiques.⁽¹¹¹⁾

Des études menées chez le rat ont permis de mettre en évidence une inhibition significative de la sécrétion d'insuline par la leptine en réponse à des concentrations plasmatiques en glucose supérieures à 16 mmol/l. Après l'arrêt de la perfusion pancréatique de leptine, l'inhibition est levée, ce qui suggère que la leptine n'exerce pas une action de type toxique ou irréversible sur les cellules β pancréatiques.⁽¹¹¹⁾

En 1997, Pallett *et al.*⁽¹¹¹⁾ observent une diminution importante de la synthèse d'insuline par les cellules β pancréatiques exposées chroniquement à des concentrations de leptine élevées.

Il ressort donc de ces études, que des concentrations anormalement élevées en leptine pourrait aggraver un état d'insulino-résistance déjà présent et favoriser l'apparition de diabète sucré de type II.

Muzumdar *et al.*⁽¹⁰⁵⁾ mettent en évidence une certaine résistance du pancréas à la leptine chez les rats âgés. Toutefois, lorsque ces mêmes animaux reçoivent des perfusions de leptine directement dans la circulation pancréatique, l'effet inhibiteur de la leptine sur le pancréas est alors beaucoup plus important que chez les animaux plus jeunes. Cette pseudo résistance pancréatique à la leptine serait donc due à un plus grand nombre de récepteurs à la leptine sur la barrière hémato-méningée, qui

permet de diminuer la quantité de leptine circulante et donc de diminuer ces effets sur le pancréas.

Ainsi, la diminution de l'insulinémie résultant de l'inhibition de l'activité des cellules β par la leptine est plus importante chez les animaux jeunes, et chez les animaux obèses âgés.

3.3. Dualité d'action des acides gras libres sur la cellule β pancréatique.

Les acides gras sont les substrats énergétiques majeurs de la cellule β pancréatique, et bien qu'ils soient capables d'induire la sécrétion d'insuline, ils interviennent avant tout dans le métabolisme oxydatif. La cellule β pancréatique est capable d'utiliser les acides gras libres circulants, les acides gras liés au LDL (Low Density Lipoproteins), ainsi que ceux contenus dans les triacylglycérols de stockage de la cellule.⁽⁴⁹⁾

Des expériences récentes ont montré une dualité d'action des acides gras sur les cellules β pancréatiques : l'exposition pendant un bref délai (quelques heures) aux acides gras libres potentialisent la sécrétion d'insuline gluco-induite alors qu'une exposition chronique à des concentrations élevées d'acides gras l'inhibe, en particulier dans sa sécrétion tardive (phase B de la sécrétion)⁽¹⁴⁰⁾. Plusieurs hypothèses ont été émises dans le but d'expliquer l'effet d'une exposition prolongée aux acides gras.

L'activation des pompes K^+ ATP-dépendantes par les acyles-coA en excès lors d'exposition chronique, entraînerait un défaut de dépolarisation membranaire de la cellule β et donc, une diminution de la réponse de la cellule au stimulus "glucose"⁽⁴⁹⁾ (Figure 21). D'autre part, les acides gras en excès dans la cellule β pancréatique induiraient une modification de l'expression génétique de GLUT-2^(53, 153), et de l'insuline en inhibant le facteur de transcription PDX-1^(49, 53, 153) (*cf supra*). L'accumulation des acides gras serait alors responsable à la fois d'une moins bonne réponse à des concentrations élevées en glucose résultant de l'inhibition de

l'expression de GLUT-2, et d'une diminution de la synthèse de l'insuline par inhibition de PDX-1 qui intervient directement dans le complexe de transcription du gène de l'insuline (Figure 21). Les acides gras inhibent l'expression de la glucokinase^(49, 59) et de l'acétyl-coA carboxylase et stimulent l'expression de la carnitine palmitoyltransférase 1 (CPT-1), enzyme contrôlant l'entrée des acides gras à longue chaîne dans la mitochondrie ⁽⁴⁹⁾. Cela aboutit à une diminution du métabolisme du glucose dans les îlots β pancréatiques et à une augmentation de la β oxydation des acyles-CoA, dont en résulte une augmentation massive des acétyl-coA intra-mitochondriaux et du NADPH, tout deux responsables d'une inhibition du métabolisme glucidique.

De plus, il semblerait que l'exposition chronique aux acides gras serait responsable d'une diminution de la traduction des ARNm du gène de l'insuline ⁽⁵¹⁾.

Enfin, la modulation de la réponse insulínique par les acides gras résulterait de leurs effets découplants sur la mitochondrie. Ainsi, de nombreuses études ont montré que l'exposition prolongée de la mitochondrie aux acides gras libres était responsable de l'apparition des signes classiques du découplage entre la respiration oxydative et la phosphorylation : augmentation de la respiration, diminution du potentiel membranaire et de la synthèse d'ATP, gonflement de la mitochondrie. L'ATP alors produit en quantité insuffisante ne permet plus la fermeture des pompes K^+ ATP-dépendante nécessaire à la dépolarisation membranaire et aux flux de Ca^+ .
⁽⁴⁹⁾

Une lipidémie augmentée de façon chronique peut être aussi responsable d'un phénomène de toxicité pancréatique. En effet, dans un premier temps, devant l'apport important d'acides gras et de glucose, les cellules β se multiplient et permettent donc une sécrétion globale d'insuline plus importante ⁽⁵⁹⁾. Mais, dans un deuxième temps, les acides gras libres circulants s'accumulent dans les cellules endocrines sous forme de triglycérides et entraînent une surcharge lipidique. Outre les effets évoqués plus haut sur l'inhibition de la sécrétion d'insuline, l'accumulation des triglycérides est responsable de la formation de monoxyde d'azote (NO). La

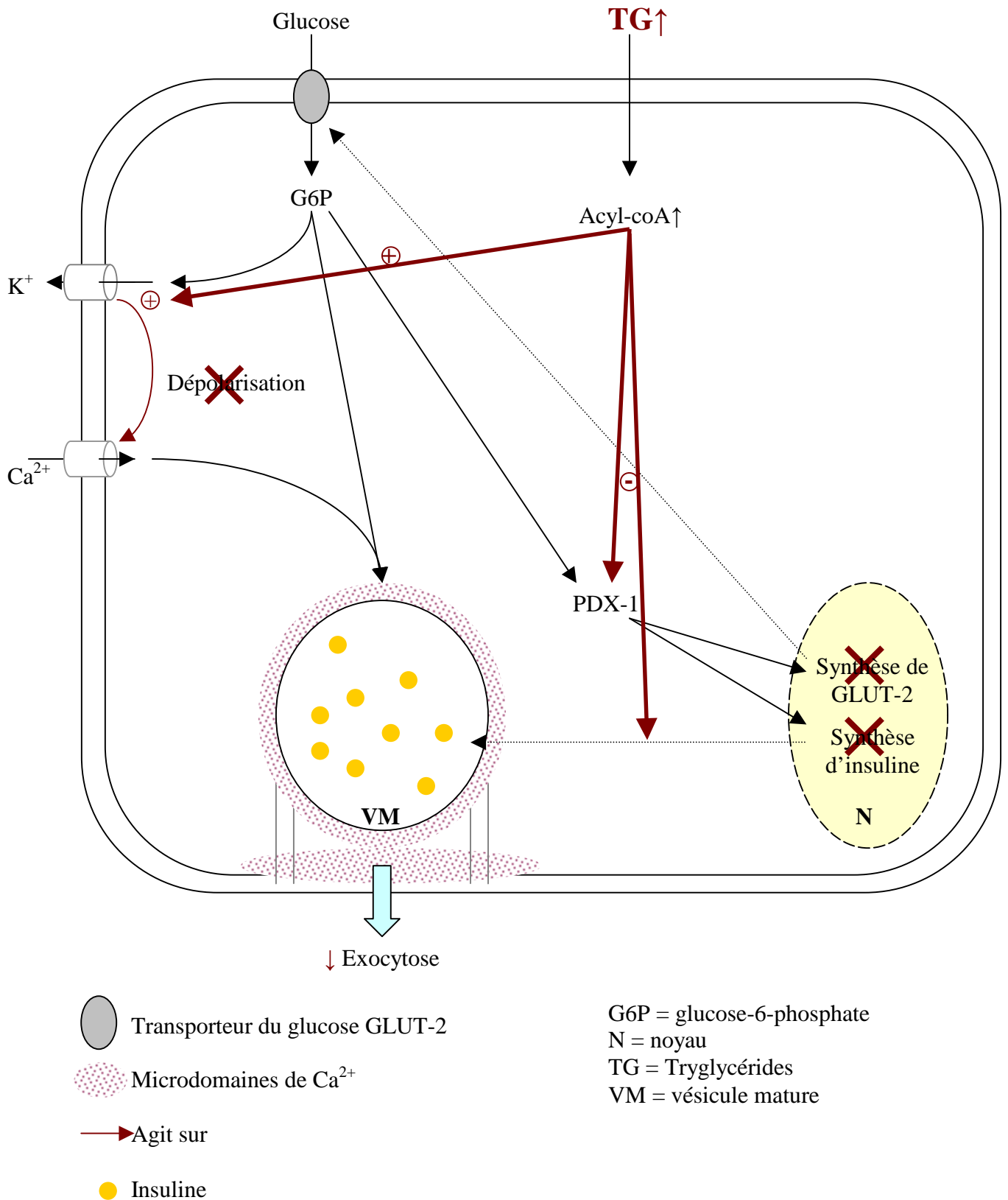


Figure 21 : Mécanisme d'action des acides gras libres sur la sécrétion d'insuline par les cellules β pancréatiques.

condensation de la sérine sur le palmitoyl-coA en excès conduit à la formation de sphingosine puis de céramide qui stimule par allostérie l'iNOS (inductible nitrate oxyd synthase). Le NO, en se fixant sur la cytochrome c oxydase, inhibe la chaîne respiratoire. Il s'ensuit l'ouverture des pores de perméabilité de transition (MTP), entraînant une fuite de protons et l'hydrolyse de l'ATP. La mitochondrie gonfle et libère le cytochrome c qui active des protéases cytoplasmiques (caspases) responsables d'une stimulation de la protéolyse et de la destruction par apoptose des cellules. Chez le rat, il a été montré qu'une accumulation d'acyles-coA dans les cellules β pancréatiques se traduisait par la disparition de 50% de ces cellules par apoptose. La surproduction de NO serait alors responsable d'une diminution globale de la synthèse pancréatique d'insuline. ⁽⁴⁹⁾ (Figure 22)

3.4. Hyperinsuliémie chronique et amyloïdose pancréatique.

L'amyline, encore appelée IAPP (islet amyloid polypeptide), est un peptide de 37 acides α -aminés, sécrété et stocké avec l'insuline par la cellule β , et dont la régulation de synthèse et de sécrétion répond aux mêmes stimuli que cette dernière⁽²⁸⁾. Lors d'augmentation chronique de la sécrétion d'insuline, présente en particulier lors d'hyperglycémie chronique, une sécrétion importante d'amyline est observée, et on note même une augmentation du rapport amyline sur insuline. Ce fait est modulé par l'hyperleptinémie associée à l'obésité. En effet, Karlsson *et al.* ⁽⁷⁵⁾, ont montré que la leptine avait un effet inhibiteur sur la sécrétion d'amyline gluco-induite plus important que celui qu'elle exerce sur la sécrétion d'insuline.

Chez certaines espèces, notamment chez l'homme, le singe et le chat ⁽²⁸⁾, l'IAPP se polymérise avec des glycosaminoglycannes et l'Apolipoprotéine E (ApoE), lipoprotéine circulante contenue dans les VLDL, HDL et chylomicrons ⁽⁷²⁾, pour former des fibrilles qui se déposent autour des cellules pancréatiques (amyloïdose) à la manière d'un tissu cicatriciel⁽⁶⁹⁾. En produisant une barrière de diffusion ^(28, 69, 117), ces défauts compromettent la réactivité des cellules β aux différents stimuli et réduisent leur aptitude à sécréter l'insuline de façon adéquate. Ce sont les acides α -aminés en position 25 à 28 (-ala-ile-leu-ser- chez l'homme et le chat) formant la

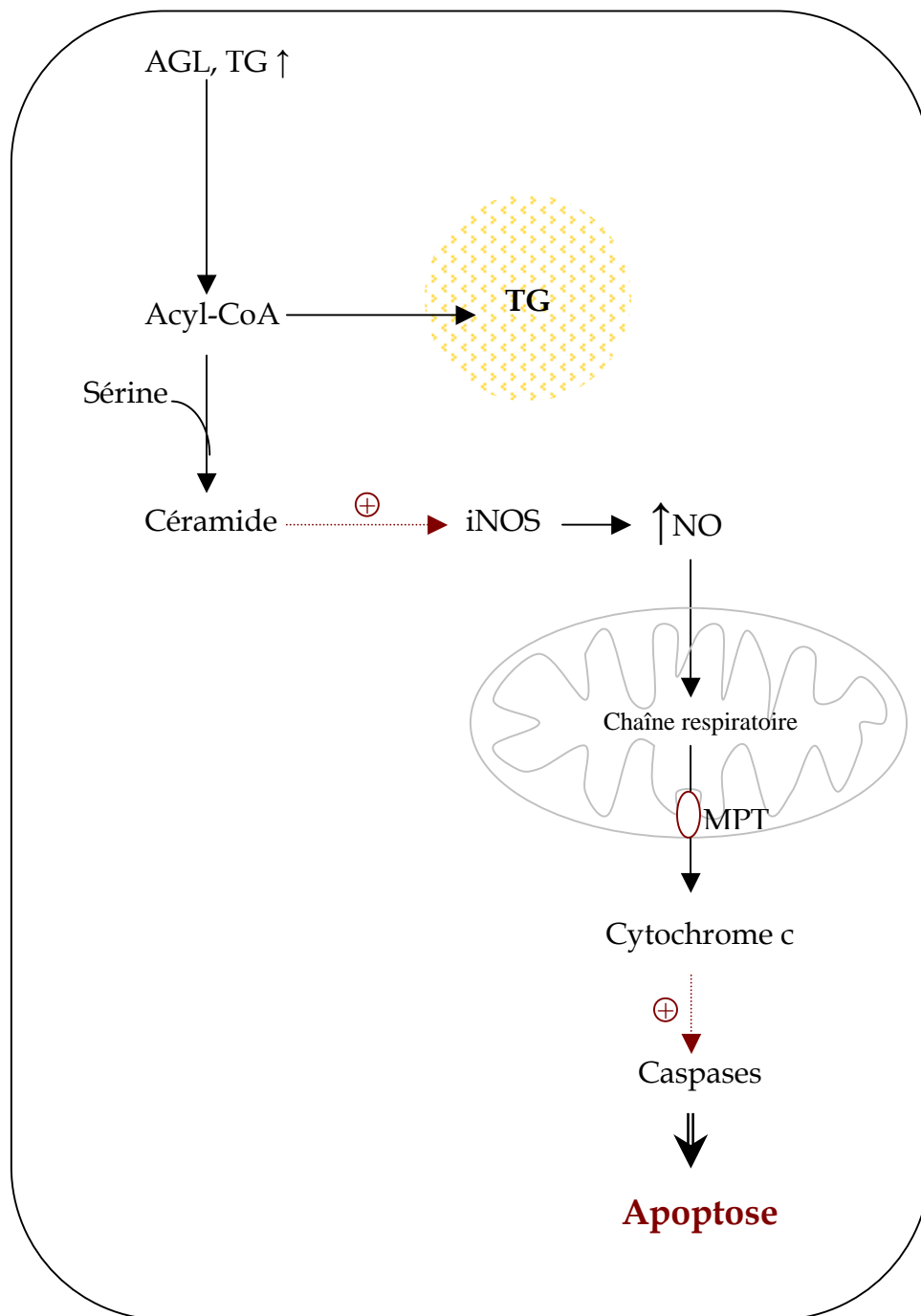


Figure 22 : Mécanisme d'induction de l'apoptose des cellules β pancréatiques par les triacylglycérols.

AGL : acides gras libres - iNOS : inductible nitrate oxyd synthase - MPT : pore de perméabilité de transition - NO : monoxyde d'azote - TG : triacylglycérol

séquence fibrilligène qui sont responsables de l'induction de la formation de ces fibrilles. Bien que cette séquence soit identique chez le chien, l'amyloïdose pancréatique d'origine non néoplasique ne semble pas décrite dans cette espèce, alors qu'elle est observée chez environ 50% des chats âgés * ⁽¹⁵²⁾. Chez ces derniers, O'Brien *et al.* (1985) ont montré que l'amylose pancréatique était responsable d'une diminution de la première phase de sécrétion de l'insuline en réponse au glucose ; toutefois, la sévérité du dépôt ne semblait pas être proportionnelle au dysfonctionnement sécrétoire de l'insuline ⁽⁶³⁾.

L'IAPP peut aussi précipiter à l'intérieur même des cellules β pancréatiques et y provoquer alors une dégénérescence hyaline ⁽⁵⁹⁾, responsable d'une diminution de l'insulinémie basale.

3.5. Hyperglycémie chronique et glucotoxicité

Bien que l'hyperglycémie aiguë postprandiale stimule la sécrétion d'insuline, il n'en est pas de même lors d'hyperglycémie chronique. Cette dernière est responsable d'un phénomène de glucotoxicité ce traduisant par l'apoptose des cellules β pancréatiques. ⁽⁵⁴⁾

3.5.1. Glucotoxicité dépendante des IL-1. ⁽⁹³⁾

Lors d'augmentation chronique de la glycémie (comme celle observée lors d'insulino-résistance), l'apoptose des cellules β est associée à une augmentation massive de la synthèse autocrine d'IL-1- β (interleukine 1 β).

L'IL-1, après liaison au récepteur IL-1R1, recrute les facteurs MyD88 et IL-1-RAcP, responsables de l'activation allostérique de la kinase IRAK-1. Cette enzyme phosphoryle le facteur TRAF6, qui active à son tour la voie de l'IKK/NF κ B et des SAP et MAP kinases. Une autre voie, indépendante de l'activation de l'IRAK, permet

* Dans l'espèce humaine, les dépôts amyloïdes se rencontrent chez 95% des patients diabétiques et chez 18% des sujets normaux présentant un état prédiabétique ⁽²⁸⁾

l'activation de la phospholipase C conduisant à l'activation de la PKC δ . Le NF κ B et la PKC δ sont responsables de l'activation du gène de l'iNOS dont en découle la formation du NO, stimulus majeur de l'apoptose chez les cellules β pancréatiques ⁽²¹⁾. (Figure 23)

De plus, une étude *in vitro* sur des cellules β pancréatiques de rat ⁽³⁾, a montré que les effets apoptotiques de l'IL-1- β étaient potentialisés par l'augmentation intracellulaire du D-glucose, ce dernier étant responsable d'une levée des mécanismes inhibiteurs de l'action de l'IL-1- β .

Cette grande sensibilité aux effets apoptogènes de l'IL-1 est spécifique aux cellules β pancréatiques et serait une conséquence de leur haute spécialisation. En effet, une étude menée sur des cellules β , a montré que plus les cellules étaient différenciées, plus leur sensibilité aux cytokines, dont l'IL-1- β , était importante ⁽¹⁰⁷⁾. Ce phénomène serait lié entre-autre à la surproduction de PDX-1, surproduction spécifique aux cellules β pancréatiques différenciées.

L'IL-1 est aussi à l'origine d'une modification de la formation des micro-domaines de Ca²⁺ dont les changements de répartition intracellulaire seraient impliqués dans le développement de la nécrose ^(29, 115). Néanmoins, les modalités d'action de l'IL-1 sur ce phénomène ne sont actuellement pas identifiées.

La toxicité de l'IL-1 est potentialisée par l'hyperglycémie chronique. En effet, l'augmentation de la glycémie est associée à une augmentation du métabolisme oxydatif intracellulaire du glucose. Or, la cellule β pancréatique possède un système de régulation très efficace pour lutter contre les effets nocifs de ce phénomène, en particulier en augmentant la production de NO. Comme l'IL-1 entraîne simultanément la formation de NO, l'excès de ce médiateur provoque la levée de l'inhibition de la MAP kinase p38 impliquée dans l'apoptose.

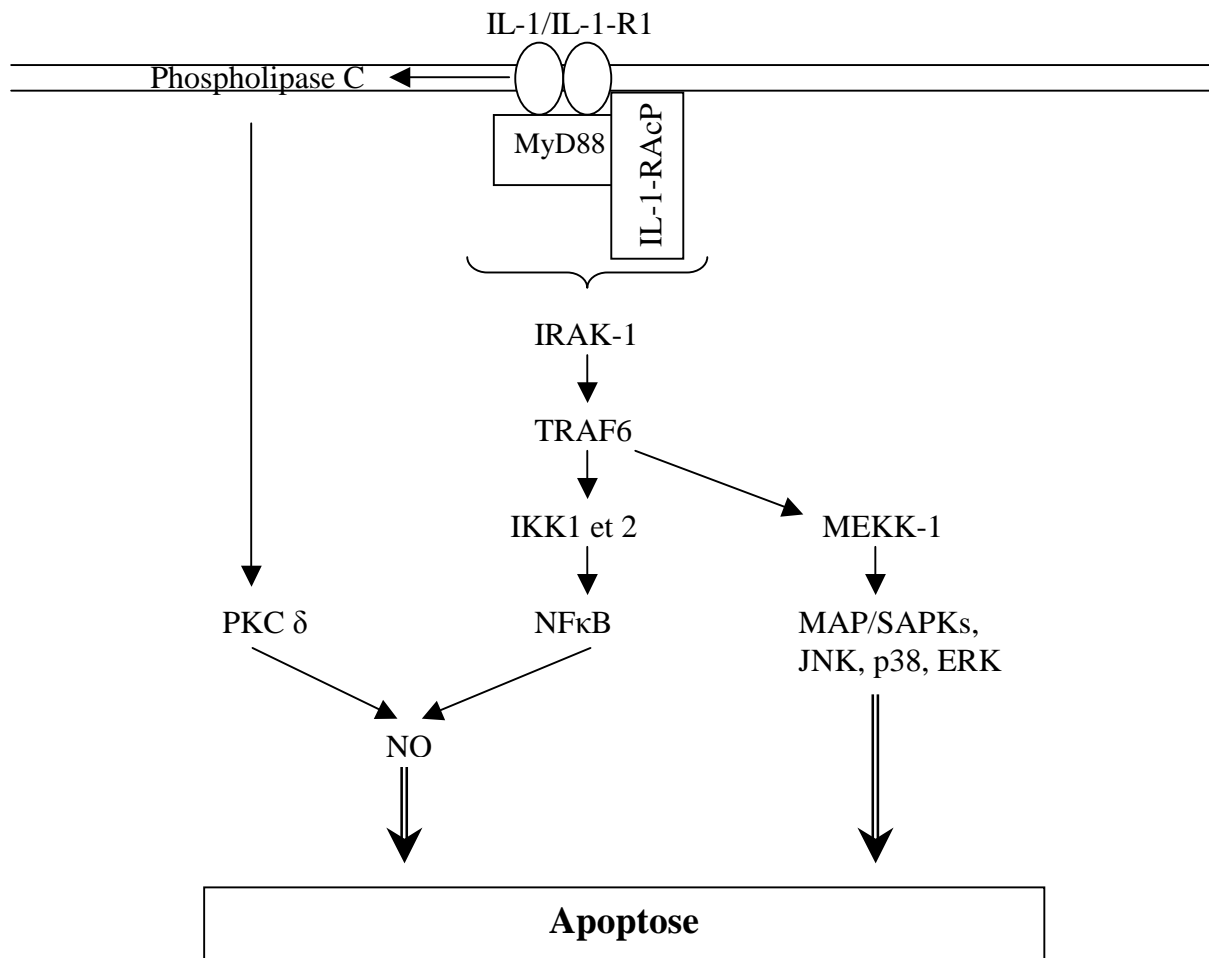


Figure 23 : Voies de l'apoptose des cellules β pancréatiques dépendante de l'IL-1 ^(21, 93).

ERK : extracellular signal-regulated kinase - IKK1 et 2 : Inhibitor of nuclear factor kappa-B kinase 1 et 2 - IL-1 : interleukine 1 - IL-1-R1 : récepteur R1 de l'interleukine 1 - IL-1-RAcP : IL-1 receptor accessory protein - IRAK-1 : IL-1 receptor-associated kinase 1 - JNK : c-JUN NH₂-terminal kinase - MAP/SAPKs : Stress Activated Protein Kinase/Jun N-terminal Kinase - MEKK-1 : MAP kinase kinase 1 - NFκB : Nuclear factor kappa-B - PKC δ : protéine kinase C δ - TRAF6 : TNF receptor-associated factor 6

3.5.2. Glucotoxicité dépendante des récepteurs Fas.

Les interactions Fas/Fas-ligand seraient également impliquées dans le phénomène de glucotoxicité des cellules β pancréatiques. En effet, le glucose serait capable de promouvoir l'expression membranaire de Fas et leur association avec les Fas-ligands des cellules β voisines constituant ainsi un signal apoptogène chez ces dernières. ^(83, 93)

Des travaux récents ont mis en évidence que Fas possédait la capacité de s'assembler en trimères indépendamment de l'engagement du ligand, mais que ce pré-assemblage des monomères en trimères était un pré-requis à la liaison au Fas-ligand. Le glucose induirait ce ré-assemblage, provoquant secondairement la liaison au Fas-ligand ⁽⁸³⁾. L'activation du récepteur Fas par son ligand entraîne le recrutement d'une protéine adaptatrice FADD/MORT1 (Fas associated death domain), protéine possédant un domaine effecteur de mort cellulaire (DED), responsable du recrutement direct des caspases (caspase 8) et du déclenchement de l'apoptose ^(83, 123).

3.6. Modification du dynamisme de la sécrétion d'insuline associé à l'obésité.

Lors d'obésité, les oscillations de sécrétion de l'insuline semblent préservées⁽¹¹⁶⁾. Toutefois, chez l'homme, il a été démontré que les sujets souffrant de diabète sucré non insulino-dépendant associé à l'obésité, présentent une modification du dynamisme de la sécrétion d'insuline. La première phase de sécrétion de l'insuline est soit raccourcie, soit sujette à une diminution de l'amplitude de ses oscillations. La deuxième phase, quant à elle, est souvent accrue afin de compenser la perte occasionnée lors de la première phase. ⁽³²⁾

A l'heure actuelle, il est difficile de déterminer si ce défaut de dynamisme de la sécrétion est une cause ou une conséquence du diabète sucré non insulino-dépendant par exemple associé à une amyloïdose. Néanmoins, l'apparition d'une insulino-

résistance périphérique serait à l'origine d'une modification du rythme de sécrétion de l'insuline qui secondairement aggraverait l'état d'insulino-résistance.⁽⁴⁸⁾

4. Influence de l'obésité sur le catabolisme insulinique.

L'obésité et l'hyperinsulinémie qui peut lui être associée sont responsables d'une diminution du catabolisme de l'insuline, d'une part, à cause d'une saturation des RI et d'autre part, à cause d'une modification intracellulaire de son catabolisme, secondairement à l'existence d'une accumulation intracellulaire de cette hormone.

Backer *et al.* ⁽⁸⁾ ont étudié le phénomène d'internalisation de l'insuline en utilisant de l'insuline marquée (^[125I]insuline) ainsi que des cellules possédant soit des RI fonctionnels, soit des RI défaillants pour l'auto-phosphorylation et/ou la capacité d'internalisation. Il est ressorti de cette étude que la capacité d'internalisation de l'insuline pour des concentrations physiologiques d'insuline était bien supérieure lorsque le RI était fonctionnel (55% d'insuline internalisée pour une concentration en insuline de 0.1 nM), alors que le pourcentage d'insuline internalisée diminuait fortement pour des concentrations en insuline plus élevées (environ 25% pour des concentrations de 10 nM). Pour les récepteurs défaillants, le taux d'insuline absorbée était sensiblement le même quelque soit la concentration (entre 15 et 25% en fonction du type de défaillance).

Benzi *et al.* ⁽¹³⁾ ont étudié l'influence de l'obésité sur la concentration intracellulaire en insuline chez l'homme. Il a été mis en évidence une augmentation significative de l'insuline intracellulaire non liée au RI chez les patients obèses et que la concentration cytosolique de cette dernière tardait à recouvrer son état basal après retrait de l'insuline du milieu. Toutefois, l'insuline intracellulaire garderait ses propriétés sur le métabolisme cellulaire et en particulier sur l'entrée du glucose dans la cellule. Dans l'expérience de Benzi, la proportion d'insuline liée au RI est diminuée lors d'obésité et il en découle une diminution de l'internalisation de l'insuline même pour des concentrations hormonales physiologiques en insuline. Ce fait est sans doute secondaire à la baisse importante de la dissociation insuline/récepteur lors d'obésité,

baisse associée à une diminution du recyclage des RI. La persistance de cette liaison permet cependant une activation prolongée du RI permettant de compenser légèrement la diminution du nombre de RI à la surface cellulaire.

5. Synthèse des effets de l'obésité sur la boucle de régulation de l'insuline.

5.1. Obésité et insulino-résistance.

L'obésité est responsable d'un état d'insulino-résistance lié à la surproduction d'adipokines pro-inflammatoires et à la libération d'acides gras non estérifiés (AGNE) par les adipocytes, surproduction aggravée par l'existence de boucles d'amplification. Les Adipokines et les AGNE sont responsables de la phosphorylation des IRS empêchant ainsi la mise en place de la cascade transductionnelle du signal insulinique.

Cette insulino-résistance entraîne d'une part, un dysfonctionnement du métabolisme glucidique secondaire à une diminution de la capture du glucose par les cellules normalement insulino-sensibles, à une augmentation de la glycogénolyse et de la néoglucogenèse hépatique, et d'autre part, un dysfonctionnement du métabolisme lipidique secondaire à l'inhibition de la lipogenèse et à l'augmentation de la lipolyse intracellulaire et de la lipomobilisation. Ces perturbations métaboliques conduisent à une baisse de l'utilisation intracellulaire du glucose compensée par une augmentation de l'utilisation des acides gras. S'installent donc une hyperglycémie et une hyperlipidémie chronique qui constituent des facteurs d'aggravation de l'insulino-résistance, l'hyperlipidémie chronique provoquant de plus une hypertrophie et une hyperplasie du tissu adipeux qui entretiennent et aggravent ce phénomène. (Figure 24)

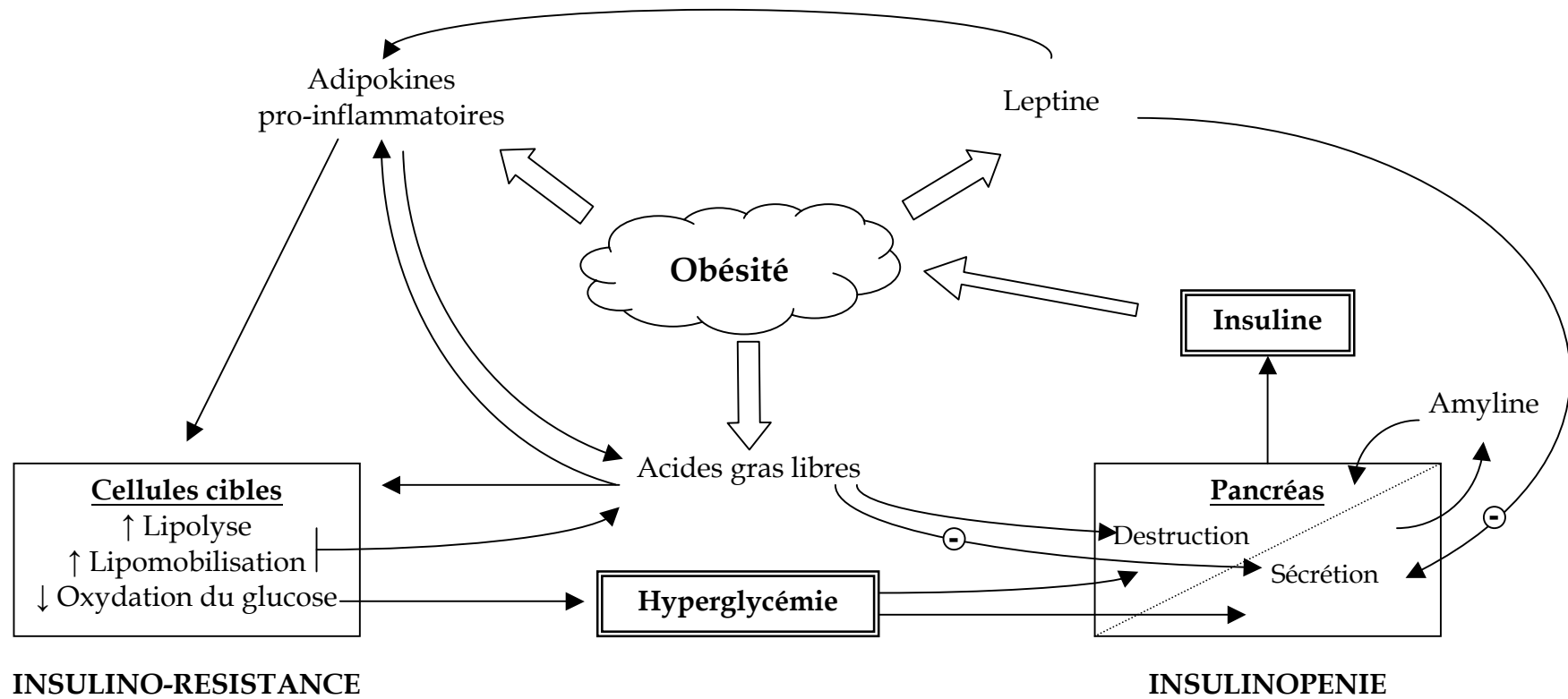


Figure 24 : Synthèse des effets de l'obésité sur le métabolisme insuliniq.ue.

5.2. Obésité et insulinopénie.

La leptine, le TNF- α et les acides gras libres sont responsables d'une inhibition de la sécrétion insulinaire par les îlots β pancréatiques, tandis que les dépôts d'amyloïde, liés à une stimulation chronique des cellules β , diminuent la capacité réactionnelle de ces dernières face à une hyperglycémie. Ainsi, dans une situation d'obésité, les îlots endocriniens sont progressivement détruits pas la mise en place de phénomènes apoptotiques résultant de la lipotoxicité, de la glucotoxicité potentialisée par les IL-1 et médiée par les Fas, et de l'amyloïdose intracellulaire (Figure 24).

5.3. Chronologie des effets de l'obésité sur la régulation de l'insulinémie.

De nombreuses études ^(10, 147) se sont intéressées à l'influence de la prise de poids sur la production d'insuline, par suivi de l'insulinémie lors de régime hypercalorique et hyperlipidique : pour chacune d'entre elle, une augmentation de l'insulino-résistance périphérique à été mise en évidence.

Fleeman L. ⁽⁴³⁾, en collaboration avec le Centre for Companion Animal Health at the University of Queensland et le GI Laboratory at Texas A&M University, a étudié les composantes pathogéniques du diabète sucré chez 12 chiens atteints de cette maladie. Un dosage de l'insulinémie chez ces chiens a montré qu'aucun d'entre eux n'était capable de synthétiser l'insuline en quantité suffisante et chez seulement 17% de ces derniers une activité résiduelle des cellules β a été observée.

Les résultats de ces études tendent à montrer que les effets insulino-résistants de l'obésité, soit une augmentation de l'insulinémie, seraient les premiers à se mettre en place (phase 1), puis secondairement, l'inhibition de la sécrétion d'insuline par le pancréas (phase 2) provoquerait la survenue du diabète sucré (Figure 25).

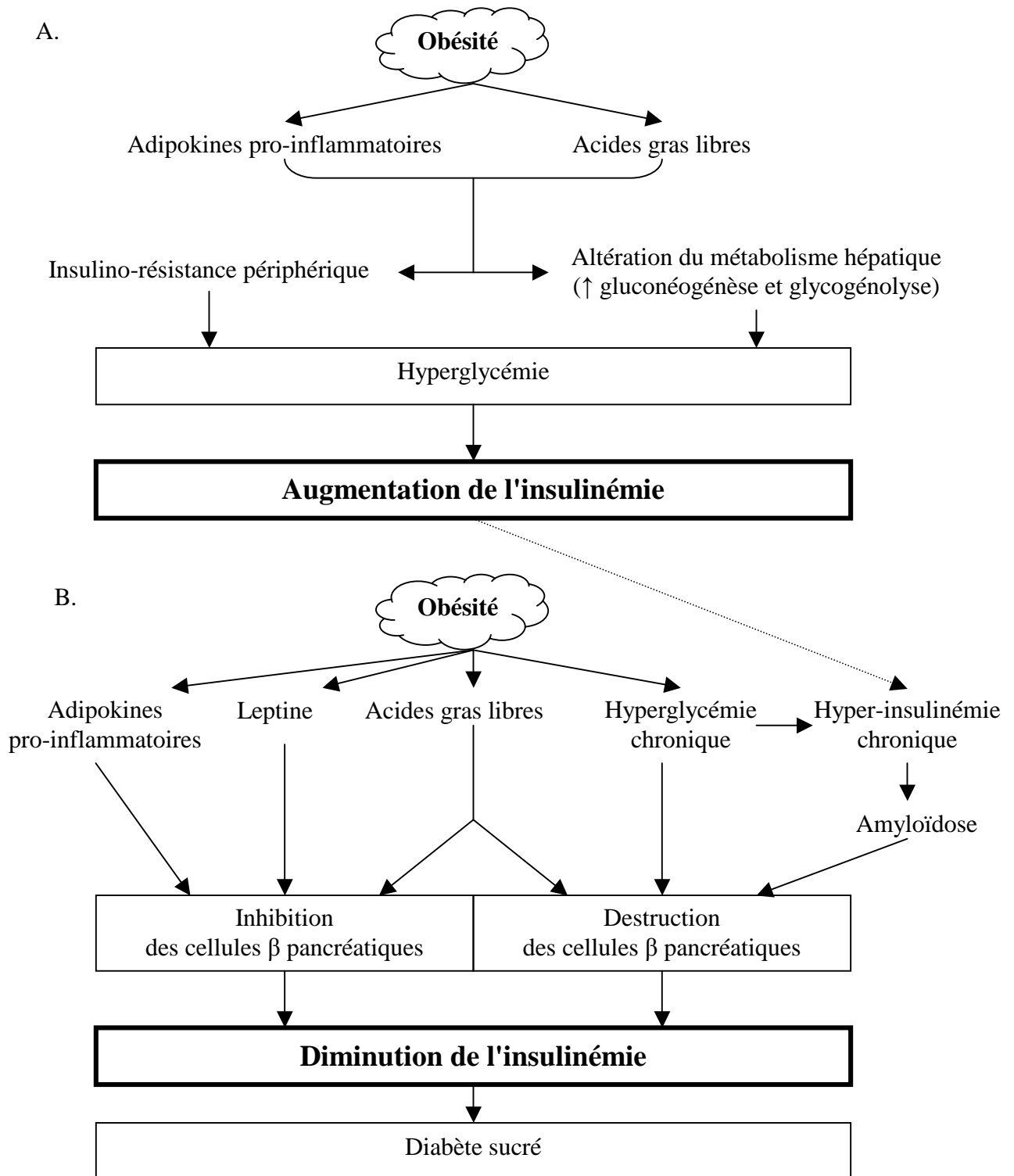


Figure 25 : Chronologie des effets prédominants de l'obésité sur l'insulinémie.

A : Phase 1 - B : Phase 2

Partie II :

Etude expérimentale de l'insulinémie
chez les chiens adultes, cliniquement
sains, en fonction de leur état
d'engraissement.

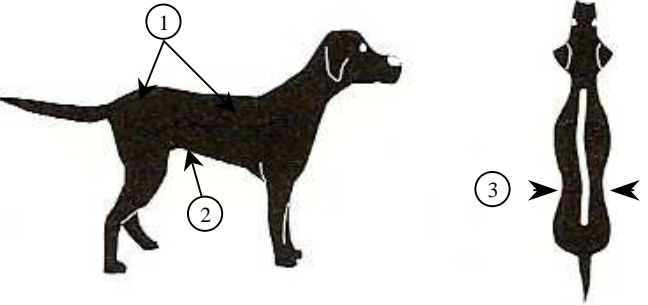
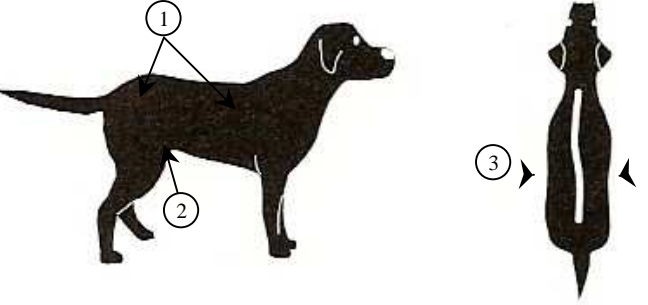
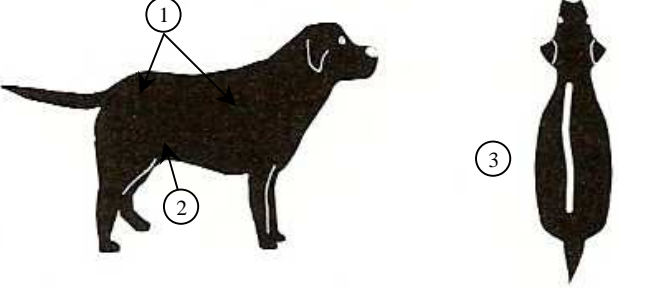
Lot	Caractéristiques	Aspect visuel
"maigre"	1- côtes et saillies osseuses visibles et/ou très facilement palpables 2- creux abdominal prononcé à l'examen de profil 3- taille marquée : contour corporel en sablier vu du dessus	
"correct"	1- côtes et saillies osseuses palpables sous une mince couche de graisse 2- léger creux abdominal 3- taille discrète	
"gros"	1- côtes et saillies osseuses difficilement palpables 2- absence de creux abdominal 3- absence de taille	

Tableau V : Critère de détermination de l'état d'engraissement du chien (d'après Case *et al.*(22)).

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'influence de l'état d'engraissement sur l'insulinémie basale (à jeun) chez des chiens adultes, cliniquement sains.

A. Matériel et méthodes

1. Animaux.

Les chiens utilisés pour cette étude appartenaient à des particuliers et 25% d'entre eux faisaient partie de meutes de chasse à courre. Les chiens étaient âgés de 4 à 14 ans, cliniquement sains (un examen clinique complet a été effectué le jour du prélèvement) et à jeun depuis au moins 12 heures. Ils ont ensuite été répartis en 3 lots selon leur état d'embonpoint ("maigre", "correct", "gros"). La qualification de "maigre", "correct" ou "gros" est déterminée selon les règles décrites dans le tableau V.

Pour chaque animal, les informations suivantes ont systématiquement été recueillies (annexe 1):

- l'âge
- le poids
- la race ou le cas échéant le type racial
- le sexe, la stérilisation et l'âge de stérilisation
- l'état d'embonpoint (maigre, correct, gros)
- les conditions de vie (appartement, maison avec jardin, chenil...)
- l'activité physique (sédentaire, chien de travail saisonnier ou non)
- l'alimentation (croquettes, boîtes, ration ménagère...)

Au total, 76 chiens ont été prélevés dont 15 ont été exclus parce qu'ils étaient soit malades, soit trop jeunes. Parmi les 61 chiens retenus pour l'étude, la majorité

présentait un état d'embonpoint correct (36/61 soit 59,0%) alors que 34,4% (21/61) étaient en surpoids et 6,6% (4/61) étaient, au contraire, trop maigres.

Ils appartenait à 24 races différentes et ont été classés en fonction du format correspondant. Les races de moyen format (Anglos-français de petite veinerie, Cocker Anglais, Fox terrier, Labrit, Petit bleu de Gascogne) et de grand format (Beauceron, Berger Belge Gronendael, Border Collie, Boxer, Epagneul Breton, Golden retriever, Labrador retriever, Pointer, Setter Anglais, Setter Gordon) ont été les plus souvent rencontrées (36,1% et 44,3% respectivement). Onze chiens (18,0%) étaient de petite taille (Bichon frisé, Caniche nain, Coton de Tuléar, Welsh Corgy) et seulement un chien (Terre-Neuve) a été considéré comme ayant un format "géant". La population de chiens considérée était composée de 24 mâles (39,3%) dont 8,3% (3/24) étaient castrés, et de 37 femelles (60,7%) dont 32,4% étaient stérilisées. L'âge moyen des chiens était de 7 ans et demi (cette donnée n'a pas pu être précisée chez 1 des chiens), et 85% d'entre eux avaient moins de 10 ans (Tableau VI).

La plupart des chiens vivaient en extérieur (77,0% en maison avec jardin) ou en chenil (21,3% en enclos de quelques m²), mais ils demeuraient majoritairement sédentaires. Seulement 42,6% d'entre eux présentaient une activité régulière (chiens de troupeau, chiens courants) ou saisonnière (chien de chasse). Huit (13,1%) chiens recevaient une alimentation de type vétérinaire (Hill's®, Royal Canin®, Eukanuba®, Virbac®, ProPlan®), 34 (55,7%) une alimentation du commerce (Frolic®, Canaillou®, Flatazor®, Pedigree Pal®, Optima®), et 7 (11,5%) une ration ménagère. Il est à noter que 98% des propriétaires nourrissant leur chien avec des croquettes ont avoué donner des friandises (Tableau VI).

2. Analyse des prélèvements.

Les prélèvements sanguins ont été effectués par ponction des veines jugulaires ou céphaliques et le sang total a été recueilli dans des tubes stériles contenant de

Paramètres	Effectif
Lot	
Maigre	4
Correct	36
Gros	21
Format	
Petit (taille Yorkshire terrier)	11
Moyen (taille Cocker anglais)	22
Grand (taille Golden retriever)	27
Géant (taille Terre-neuve)	1
Sexe	
Mâle	21
Mâle castré	3
Femelle	25
Femelle stérilisée	12
Age	
4-7 ans	26
7-10 ans	25
10-14 ans	9
Inconnu	1
Alimentation	
Ration ménagère	7
Viande crue seule	12
Aliments du commerce	34
Aliments vétérinaires	8
Activité	
Sédentaire	35
Actif saisonnier	11
Actif permanent	15
Mode de vie	
Appartement	1
Extérieur	47
Chenil	13

Tableau VI : Effectifs pour chaque paramètre étudié.

l'héparinate de Lithium. Le prélèvement a été ensuite placé le plus rapidement possible au frais (4 - 7°C) et centrifugé (1500g, 10 minutes, 4°C) dans les 4 heures suivant la prise de sang. Les plasmas ainsi obtenus ont été conservés à -20°C avant analyses.

2.1. Mesure de la glycémie

La glycémie a été mesurée sur sang total immédiatement après la réalisation du prélèvement sanguin par réflectométrie à l'aide d'un kit de dosage rapide (lecteur Optium™Xceed et bandellettes Optium™Plus de MediSense®) lorsque le sang total ne pouvait pas être réfrigéré immédiatement (n = 32). Le résultat était donné en mg/dl converti en mmol/l (Glycémie en mg/dl x 5,6). Ultérieurement, la glycémie a été déterminée sur les plasmas par une méthode enzymatique utilisant la glucose oxydase (Glucose RTU™, Biomérieux®) (Figure 26). Brièvement, 10 µl de plasma ou d'étalon (solution de 5.6 mmol/l de glucose) sont incubés dans 1 ml de réactif (tampon phosphate de pH 6.6, amino-4-antipyrine, Phénol, EDTA, Peroxydase, Glucose oxydase) pendant 1 heure à 20°C, puis l'absorbance de la solution est mesurée à 505 nm (S.500, Sécoman®).

La concentration minimale de glucose détectable est de 0.7 µmol/l. Le coefficient de variation intra-série (répétabilité) varie de 7 à 8.7% en fonction de la concentration de la série (Tableau VII).

La densité optique ou absorbance (DO) de l'étalon est déterminé entre chaque dosage d'échantillon et chaque échantillon est dosé deux fois. Lorsque l'écart entre les deux mesures est supérieur au coefficient de variation, deux nouvelles mesures sont effectuées. On retient pour la détermination de la glycémie la moyenne des mesures en excluant toutefois les valeurs aberrantes.

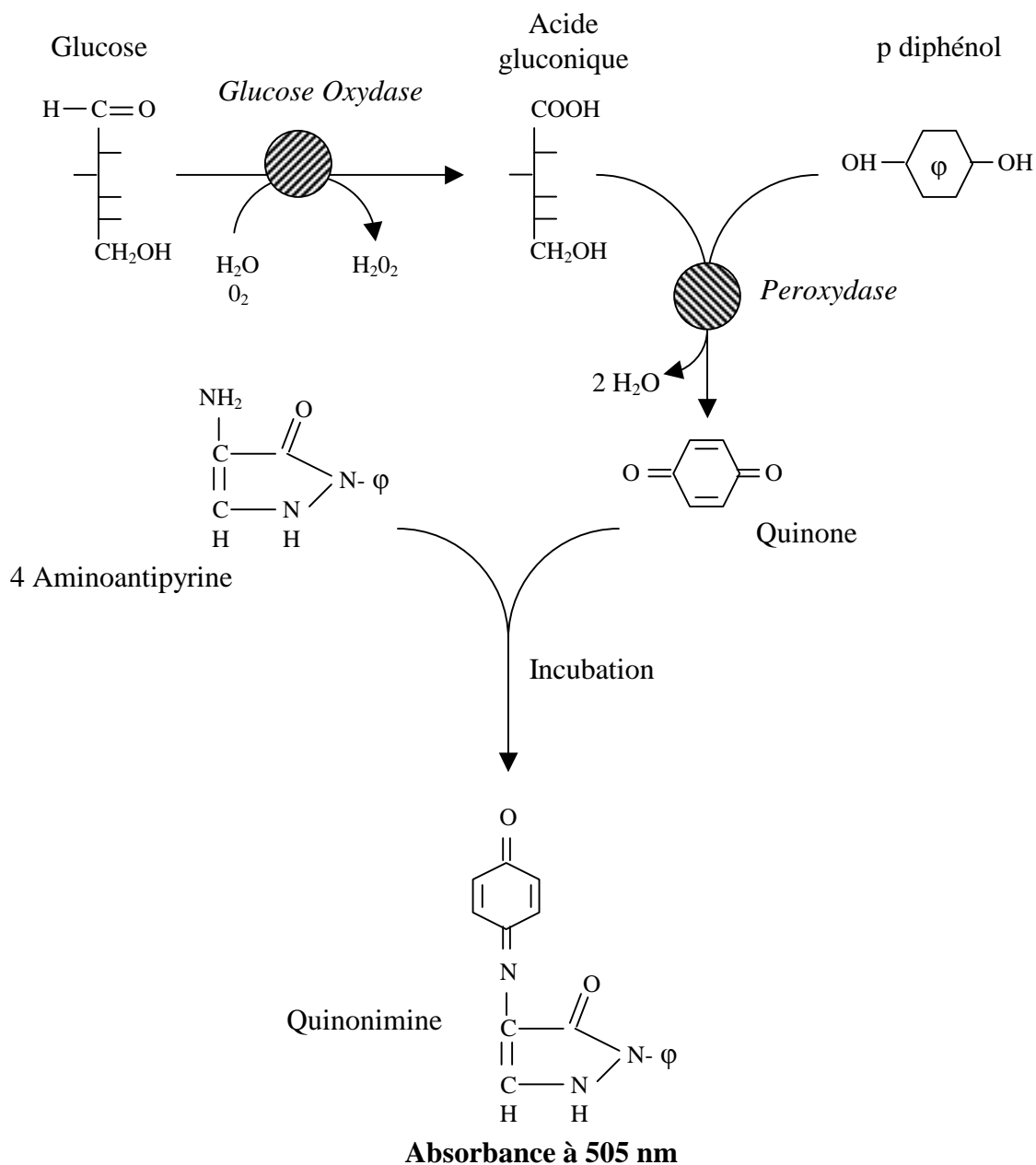


Figure 26 : Réactions mise en jeu lors du dosage de la glycémie par une méthode enzymatique utilisant la glucose oxydase.

Série	3.36 - 3.92 mmol/l	4.48 - 5.04 mmol/l	6.16 - 11.2 mmol/l
Coefficient de variation	8.7	7.0	7.8

Tableau VII : Coefficients de variation intra-essais de la glycémie.

2.2. Mesure de l'insulinémie

L'insuline est dosée par une méthode ELISA à l'aide du kit Canine Insulin ELISA (Mercodia®, Pays-Bas).

Dans chaque puits dans lesquels est absorbé un anticorps de souris anti-insuline de chien en excès (Ac_1), 25 μ l de plasma ou de standards (dont les concentrations connues en insuline varient de 0 à 1.5 μ g/l soit de 0 à 258,15 pmol/l) sont déposés. Après addition d'anticorps de souris anti-insuline de chien conjugués à une peroxydase (Ac_2) (100 μ l) et incubation sous agitation 2 heures à température ambiante (18-25°C), les puits sont lavés à 6 reprises et le surnageant est éliminé par décantation. La formation des complexes immuns (Ac_1 -Insuline- Ac_2) est révélée par ajout de TMB (3,2',5,5' tétraméthylbenzidine) (200 μ l) et incubation pendant 15 minutes à température ambiante. Enfin, le développement de la coloration est stoppé par addition de solution stop (50 μ l, H_2SO_4 , 0.5 M) sous agitation pendant environ 5 secondes. L'absorbance des puits à 450 nm est mesurée par un lecteur de plaque.

Toutes les mesures ont été effectuées en double. Les concentrations en insuline des plasmas sont obtenues par régression linéaire ($A_{450nm} = a \times \text{Insulinémie} + b$) dont les paramètres a et b sont déterminés en considérant les absorbances données pas les standards. La moyenne des deux absorbances de chaque échantillon est retenue pour le dosage. Lorsque les deux mesures étaient trop éloignées, l'échantillon a été redosé une deuxième fois. Pour des raison technique, le plasma du chien 52bis appartenant au lot "gros" n'a pu être dosé.

La concentration minimale en insuline détectable est de 1.73 pmol/l. Le coefficient de variation intra-série (répétabilité) varie de 2.7% à 5.7% en fonction de la concentration de la série.

L'étude de la boucle de régulation insuline-glucose est réalisée à l'aide du calcul de différents index établis sur la base de la mesure de l'insulinémie basale (I_0) et de la glycémie basale (G_0) :

- l'index $SI_{1m} = I_0/G_0$ ⁽⁶⁾

- l'**index de Bennett** $(m) = 1/[\log G_0 \times \log I_0]$ ^(5, 6)
- l'**HOMA_m** (homeostasis model assessment) = $[I_0 \times G_0] / 22,5$ ^(6, 97)
- le **QUICKI_m** (quantitative insulin sensitivity check index) = $1/[\log I_0 + \log G_0]$ ^(6, 76)

Le "m" suivant la dénomination des index signifie que ces derniers ont été modifiés. En effet, ils ont été ici calculés sur la base du système international : l'insulinémie est en pmol/l et la glycémie en mmol/l.

2.3. Traitement statistique.

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel R⁽¹¹⁹⁾. Les pourcentages ont été comparés à l'aide du test du Chi² (χ^2) associé si nécessaire à la correction de Yates ou du test de Fisher exact (F) (cas des effectifs corrigés inférieurs à 5). L'étude de la corrélation a été réalisée avec le test de corrélation de Pearson et celle de la normalité avec le test de Shapiro-Wilk. L'influence des données épidémiologiques a été analysée par une ANOVA multiparamétrique (test de Fisher). Les tests ont été considérés comme positifs pour des valeurs de p inférieures à 0.05 (et supérieure à 0.05 pour le test de Shapiro-Wilk).

B. Résultats.

L'ensemble des résultats individuel est reporté dans l'annexe 2.

1. Variations de l'état d'engraissement en fonction des données épidémiologiques.

Les proportions respectives de chaque catégorie de chiens (mâle/femelle, stérilisé ou non, sédentaire/actif, etc...) au sein des 3 lots considérés ("maigre", "correct", "gros") sont reportées dans le tableau VIII et ont été comparées à l'aide d'un test du Chi² (χ^2) et de Fisher exact.

La fréquence de l'obésité est significativement plus élevée chez les animaux stérilisés (66.7%) que chez les animaux entiers (23.9%) ($p < 0.01$), sans influence du sexe. La répartition des chiens en fonction de leur âge, de leur alimentation, de leur activité ou de leur habitat est comparable entre les animaux en surpoids et les autres, toutefois, les chiens de petit format semblent moins souvent obèses (9.1%) que ceux de format moyen (45.5%) ou grand (35.7%) ($p < 0.1$).

2. Variations de la glycémie en fonction des critères de classification des chiens.

La glycémie a été déterminée par spectrophotométrie (méthode de référence) et par réflectométrie sur 32 chiens (les chiens ne correspondant pas aux critères de l'étude sont ici inclus). La glycémie moyenne obtenue par spectrophotométrie sur ces 32 plasmas, était de 5.39 ± 2.92 mmol/l alors qu'elle était légèrement plus faible lors du dosage immédiat réalisé par réflectométrie (4.38 ± 1.36 mmol/l). Néanmoins, les valeurs déterminées par ces deux méthodes de dosage ont été très fortement corrélées ($r = 0.860$, $p < 0.0001$), et l'écart moyen entre les deux types de mesures a été

Critère	Effectif	Maigre	Correct	Gros	p [*]
Total	61	6.6% (4)	59.0% (36)	34,4% (21)	
Sexe					
mâles	24	8.3% (2)	66.7% (16)	25.0% (6)	NS
femelles	37	5.4% (2)	54.1% (20)	40.5% (15)	
Stérilisation					
stérilisés	15	0.0% (0)	33.3% (5)	66.7% (10)	<0,01 (χ ²)
non stérilisé	46	8.7% (4)	67.4% (31)	23.9% (11)	
Format					
Petit	11	9.1% (1)	81.8% (9)	9.1% (1)	<0.1 ^{**} (F)
Moyen	22	9.0% (2)	45.5% (10)	45.5% (10)	
Grand & Géant	28	3.6% (1)	60.7% (17)	35.7% (10)	
Age^{***}					
4 – 7 ans	26	0.0% (0)	69.2% (18)	30.8% (8)	NS
7 – 10ans	25	12.0% (3)	48.0% (12)	40.0% (10)	
10 – 14ans	9	11.1% (1)	66.7% (6)	22.2% (2)	
Alimentation					
Ration ménagère	7	0.0% (0)	57.1% (4)	42.9% (3)	NS
Viande crue seule	12	16.7% (2)	58.3% (7)	25.0% (3)	
Aliments du commerce	34	5.9% (2)	52.9% (18)	41.2% (14)	
Aliments vétérinaires	8	0.0% (0)	87.5% (7)	12.5% (1)	
Activité					
Sédentaire	34	5.9% (2)	55.9% (19)	38.2% (13)	NS
Actif saisonnier	11	0.0% (0)	63.6% (7)	36.4% (4)	
Actif permanent	16	12.5% (2)	62.5% (10)	25.0% (4)	
Mode de vie					
Appartement	1	0.0% (0)	100.0% (1)	0.0% (0)	NS
Extérieur	47	4.3% (2)	57.4% (27)	38.3% (18)	
Chenil	13	15.4% (2)	61.5% (8)	23.1% (3)	

Tableau VIII : Variation de l'état d'engraissement en fonction des données épidémiologiques.

Les effectifs sont indiqués entre parenthèses – NS : Non significatif

* Réalisation d'un test du Chi² ou de Fisher exact pour les lots "Gros" et "Correct+Maigre" en raison du faible effectif du lot "Maigre".

** Comparaison des effectifs du format "petit" à "moyen+grand".

*** Age non déterminé chez un des chiens.

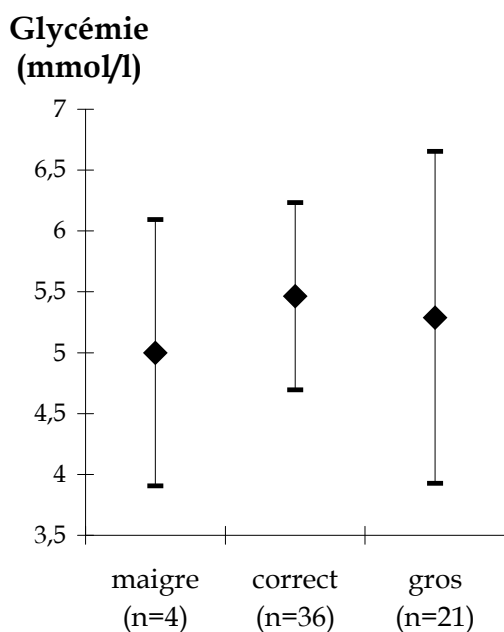
de 1.01 ± 1.63 mmol/l (Tableau IX).

Sur l'ensemble des chiens retenus pour étudier l'influence de l'état d'engraissement sur la glycémie (n=61), la valeur moyenne de la glycémie mesurée par spectrophotométrie a été de 5.37 ± 1.00 mmol/l. Les chiens de conformation normale (lot "Correct") ont présenté une glycémie moyenne légèrement supérieure aux animaux trop "maigres" ou trop "gros" (Tableau X, Figure 27). Cependant, l'appartenance au lot "maigre", "correct" ou "gros" n'influe pas de manière significative sur la glycémie ($p > 0.05$). La glycémie a été considérée comme normale lorsqu'elle était comprise entre 4.37 et 6.37 mmol/l (moyenne \pm écart-type) ; ainsi, les valeurs de glycémie inférieures au seuil de 4.37 mmol/l sont considérées comme basses et les valeurs d'insulinémie supérieures à 6.37 mmol/l comme hautes. Ainsi, 14 chiens sur 61 (23%), dont 7 du lot "Gros" et 6 du lot "Correct", ont présenté une glycémie anormale, la proportion de faibles valeurs de glycémie (< 4.37 mmol/l) étant significativement plus élevée dans le lot "Gros" (5/7) que dans le lot "Correct" (1/6) ($p < 0.05$ (F)).

Les valeurs de la glycémie en fonction des différents critères épidémiologiques sont reportées dans le tableau XI. Aucune influence des critères Sexe, Stérilisation, Format, Alimentation, Mode de vie, et Activité sur la glycémie moyenne n'a été mise en évidence. Toutefois, les valeurs anormales de la glycémie (< 4.37 mmol/l et > 6.37 mmol/l) sont significativement plus fréquentes chez les animaux stérilisés (53.3% contre 13.0%, $p < 0.005$ (F)), et cela pour les valeurs hautes (26.6% contre 6.5%, $p < 0.05$ (F)) comme pour les valeurs basses (26.6% contre 6.5%, $p < 0.05$ (F)). De plus, les chiens nourris avec une alimentation du commerce ont eu plus fréquemment tendance à présenter une glycémie anormale (32.4%) que ceux nourris avec des aliments vétérinaires (0%) ($p < 0.1$ (F)).

	Glycémie en mmol/l	
	Spectrophotométrie	Rélectométrie
Nombre de mesures conjointes	32	32
Moyenne ± écartype	5.39 ± 2.92	4.38 ± 1.36
Valeurs extrêmes	2.97 - 20.60	2.91 - 13.34
Biais	1.01 ± 1.63	

Tableau IX : Comparaison de la glycémie mesurée par spectrophotométrie et par réflectométrie sur 32 mesures.



Lot	Glycémie (mmol/l)		
	Maigre (n = 4)	Correct (n = 36)	Gros (n = 21)
Moyenne ± écart-type	5.00 ± 1.09	5.47 ± 0.76	5.29 ± 1.36
Valeurs extrêmes	3.64 - 5.99	3.47 - 7.17	2.97 - 9.63
Nombre d'échantillons < 4.37 mmol/l	1	1	5
Nombre d'échantillons > 6.37 mmol/l	0	5	2

Figure 27 et Tableau X : Variations de la glycémie mesurée par spectrophotométrie en fonction de l'état d'engraissement des chiens (n = 61).

Critère	N	Glycémie moyenne (mmol/l)	Nombre de valeurs anormales	
			< 4.37 mmol/l	> 6.37 mmol/l
Total	61	5.37 ± 1.00	7	7
Sexe				
mâles	24	5.20 ± 0.71	3	1
femelles	37	5.49 ± 1.14	4	6
Stérilisation				
stérilisés	15	5.80 ± 1.50	4	4
non stérilisé	46	5.24 ± 0.74	3	3
Format				
Petit	11	5.76 ± 0.78	0	2
Moyen	22	5.50 ± 1.21	2	3
Grand & Géant	28	5.13 ± 0.84	5	2
Age*				
4 – 7 ans	26	5.80 ± 1.50	2	4
7 – 10 ans	25	5.24 ± 0.74	3	2
10 – 14 ans	9	5.76 ± 0.78	1	1
Alimentation				
Ration ménagère	7	5.46 ± 1.13	1	0
Viande crue seule	12	5.12 ± 0.75	1	1
Aliments du commerce	34	5.48 ± 1.20	5	6
Aliments vétérinaires	8	5.26 ± 0.37	0	0
Activité				
Sédentaire	34	5.40 ± 1.14	5	3
Actif saisonnier	11	5.53 ± 0.91	2	3
Actif permanent	16	5.21 ± 0.72	5	2
Mode de vie				
Extérieur	48	5.45 ± 1.05	6	6
Chenil	13	5.00 ± 0.74	1	1

Tableau XI : Variation de la glycémie (spectrophotométrie) observées chez les chiens en fonction des différents critères épidémiologiques étudiés.

* Age non déterminé chez un des chiens.

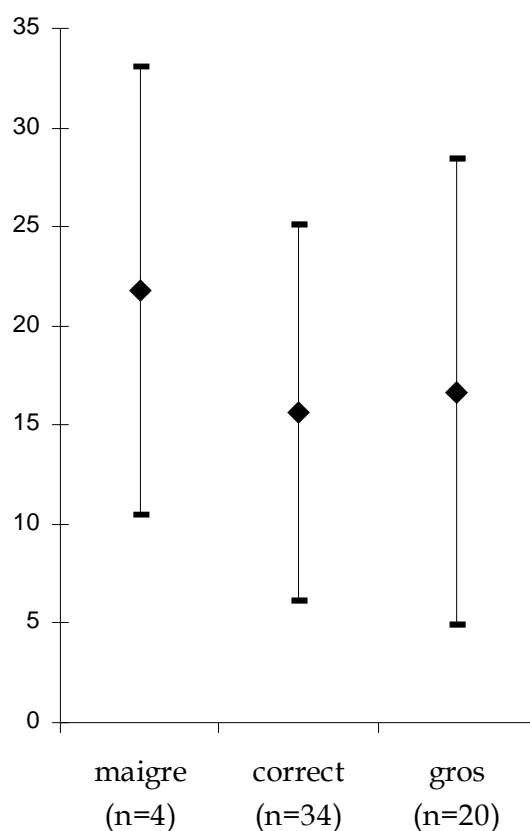
3. Variations de l'insulinémie en fonction des critères de classification des chiens.

Sur l'ensemble des chiens inclus dans l'étude, l'insulinémie a été dosée chez 60 d'entre eux (4 du lot "maigre", 36 du lot "correct" et 20 du lot "gros"). Cependant, deux des chiens appartenant au lot "correct" (n°20 et n°39) présentaient une insulinémie inférieure au seuil de détection. Ainsi, la valeur moyenne de l'insulinémie (n = 58) obtenue a été de $15,64 \pm 9,50$ pmol/l. Afin de normaliser la distribution des valeurs, la variable insulinémie a été transformée en $\sqrt{(\text{insulinémie})}$ (W = 0.98, p>0.05). La valeur moyenne de l'insulinémie corrigée était de 15.75 ± 9.35 pmol/l et l'intervalle de confiance à 95% (IC_{95%}) de l'insulinémie obtenue était de 1.74 - 38.40 pmol/l. L'insulinémie a été considérée comme normale lorsqu'elle était comprise entre 6.32 et 25.02 pmol/l, bornes correspondant à l'IC_{68%} calculé sur la base de la moyenne corrigée \pm écart-type; ainsi, les valeurs d'insulinémie inférieures au seuil de 6.32 pmol/l ont été considérées comme basses (insulinopénie relative) et les valeurs d'insulinémie supérieures à 25.02 pmol/l comme hautes (hyperinsulinémie relative).

Les valeurs de l'insulinémie observées dans les 3 lots d'animaux sont représentées dans le tableau XII et le figure 28. En raison de la dispersion des valeurs, les moyennes des l'insulinémie ne diffèrent pas significativement d'un lot à l'autre. Néanmoins, la valeur moyenne la plus haute de l'insulinémie a été obtenue dans le lot "maigre" par rapport au lot "correct" et "gros". Par ailleurs, les chiens appartenant au lot "gros" ont plus fréquemment présenté une insulinémie en dehors des valeurs seuils par rapport aux chiens appartenant au lot normal (60% contre 27.8%, p<0.05 (χ^2)), et en particulier des valeurs hautes (30% contre 8.3%, p<0.05 (F)).

L'ANOVA multiparamétrique réalisée sur les paramètres Lot, Age et Sexe, n'a pas permis de mettre en évidence un effet significatif sur l'insulinémie corrigée de l'un de ces critères épidémiologiques associé ou non à l'appartenance à un lot. Cependant, la

Insulinémie (pmol/l)



Lot	Insulinémie (pmol/l)		
	Maigre (n = 4)	Correct (n = 36)	Gros (n = 20)
Moyenne ± écart-type	21.77 ± 11.30	14.31 ± 7.62*	16.69 ± 11.73
Insulinémie corrigée**	22.22 ± 12.11	14.34 ± 7.83*	16.79 ± 11.31
Valeurs extrêmes	7.40 - 34.08	1.89 - 33.56	2.41 - 38.90
Nombre d'échantillons < 6.32 pmol/l	0	7	6
Nombre d'échantillons > 25.02 pmol/l	2	3	6

Figure 28 et Tableau XII : Valeurs de l'insulinémie basale (moyenne, écart-type) en fonction du lot.

* Les 2 valeurs inférieurs au seuil de détection sont exclus du calcul de la moyenne.

** La moyenne et l'écart-type de l'insulinémie corrigée sont calculés sur la base de la transformation $\sqrt{(\text{insulinémie})}$.

proportion de valeurs anormales de l'insulinémie a été plus importante chez les femelles (52.8%) que chez les mâles (20.8%) ($p < 0.05$ (χ^2)), et notamment les valeurs supérieures à 25.02 pmol/l, dont la fréquence tendrait à être plus élevée chez ces dernières (25.0% contre 8.3%, $p < 0.1$ (F)). Aucun effet des autres critères (Stérilisation, Age, Format, Alimentation, Activité, Lieu de vie) n'a été observée sur la distribution de l'insulinémie (Tableau XIII).

4. Evaluation de boucle de régulation insulinémie/glycémie.

Sur les 58* chiens pour lesquelles la glycémie et l'insulinémie ont été dosées conjointement et évaluées quantitativement, aucune corrélation significative entre ces deux paramètres n'a été mise en évidence ($r = 0.006$). En conséquence, les index (SI_{1m} , $HOMA_m$, Index de Bennett_(m) et $QUICKI_m$) reliant la glycémie à jeun et l'insulinémie basale ont été calculés et analysés (Tableau XIV). Les répartitions des index SI_{1m} et $HOMA_m$, transformés en $\sqrt{SI_{1m}}$ et $\sqrt{HOMA_m}$ suivent une loi normale (respectivement, $W = 0.90$, et $W = 0.98$, avec $p > 0.05$). Les valeurs moyennes, les écart-types, les $IC_{95\%}$, les valeurs extrêmes et les valeurs seuils déterminées en prenant arbitrairement la valeur moyenne $\pm 0.674 \times$ écart-type (50% des valeurs devant se répartir en dehors des limites ainsi définies dans l'hypothèse d'une dispersion suivant une loi normale) en fonction des différents critères épidémiologiques, sont reportés dans les tableaux A, B, C et D de l'annexe 3.

L' $HOMA_m$ est corrélé positivement et fortement à la glycémie ($r = 0.37$, $p < 0.01$), et le SI_{1m} est corrélée négativement et plus faiblement à cette dernière ($r = - 0.35$, $p < 0.05$). En revanche, les index de Bennett_(m) et $QUICKI_m$ sont corrélés négativement et très faiblement avec la glycémie (respectivement $r = - 0.22$ et $r = - 0.23$, $p < 0.1$). Les quatre index sont très fortement corrélés à l'insulinémie ($p < 0.00001$), positivement

* Les index n'ont pas pu être calculés chez les 2 chiens ayant une insulinémie inférieure au seuil de détection (< 1.73 pmol/l)

Critère	N	Insulinémie moyenne (pmol/l)	Insulinémie moyenne corrigée* (pmol/l)	Nombre de valeurs anormales	
				<6.32 pmol/l	>25.02 pmol/l
Total	60	15.64 ± 9.50	15.68 ± 9.32	13	11
Sexe					
mâles	24	14.03 ± 7.20	14.07 ± 7.52	3	2
femelles	36	16.79 ± 10.80	16.84 ± 10.62	10	9
Stérilisation					
stérilisés	15	16.07 ± 10.56	16.20 ± 10.24	4	4
non stérilisé	45	15.49 ± 9.24	15.53 ± 9.15	9	7
Format					
Petit	11	16.98 ± 9.47	17.10 ± 9.21	1	3
Moyen	22	16.11 ± 10.93	16.19 ± 10.46	4	6
Grand & Géant	27	14.65 ± 8.39	14.71 ± 8.62	8	2
Age**					
4 – 7 ans	25	14.61 ± 10.29	14.69 ± 9.90	7	6
7 – 10ans	25	14.86 ± 8.21	14.91 ± 7.91	5	2
10 – 14ans	9	17.97 ± 8.33	18.11 ± 9.20	1	2
Alimentation					
Ration ménagère	7	16.32 ± 10.08	16.56 ± 9.87	1	2
Viande crue seule	12	13.04 ± 9.19	13.16 ± 8.43	2	1
Aliments du commerce	33	16.89 ± 10.27	16.94 ± 10.37	8	8
Aliments vétérinaires	8	13.74 ± 5.60	13.85 ± 6.25	2	0
Activité					
Sédentaire	33	17.43 ± 9.31	17.48 ± 9.49	5	8
Actif saisonnier	11	12.62 ± 9.52	12.82 ± 8.83	5	1
Actif permanent	16	13.65 ± 9.66	13.75 ± 8.88	3	2
Mode de vie					
Extérieur	47	16.32 ± 9.56	16.36 ± 9.58	11	9
Chenil	13	13.19 ± 8.82	13.29 ± 8.20	2	2

Tableau XIII : Variations de l'insulinémie en fonction des critères épidémiologiques étudiés (Sexe, Stérilisation, Format, Age, Alimentation, Activité, Mode de vie).

Les 2 valeurs inférieurs au seuil de détection sont exclus du calcul des moyennes et des écart-types.

* La moyenne et l'écartype de l'insulinémie corrigée sont calculés sur la base de la transformation $\sqrt{(\text{insulinémie})}$.

** Age inconnu chez l'un des chiens.

Index	SI _{1m}	HOMA _m	Index de Bennett _(m)	QUICKI _m
moyenne ± écart-type	3.02 ± 2.16	3.75 ± 2.47	1.47 ± 0.77	0.57 ± 0.13
m _c ± σ	3.03 ± 1.91	3.76 ± 2.33	-	-
IC _{95%} *	0.25 - 7.75	0.35 - 9.46	-	-
valeurs extrêmes	0.29 - 12.93	0.45 - 11.27	0.72 - 4.42	0.48 - 0.66
valeurs seuils inférieures	1.55	1.97	0.95	0.45
IC _{50%} ** supérieures	4.13	5.11	1.99	0.75
Nombre de valeurs en dessous de la limite inférieure	16 (27.6%)	15 (25.9%)	8 (13.8%)	10 (17.2%)
Nombre de valeurs au dessus de la limite supérieure	13 (22.4%)	13 (22.4%)	7 (12.1%)	11 (19.0%)

Tableau XIV : Statistiques descriptives des index SI_{1m}, HOMA_m, Index de Bennett_(m) et QUICKI_m obtenues à partir des 58 chiens de l'étude.

IC_{95%} : intervalle de confiance à 95% – IC_{50%} : intervalle de confiance à 50% – m_c ± σ : moyenne ± écartype obtenue sur la base de la transformation $\sqrt{(\text{index})}$

* L'index de Bennett_(m) et le QUICKI_m n'ayant pas une répartition suivant une loi normale, l'IC_{95%} n'a pas pu être établi pour ces 2 index.

** L'IC_{50%} n'a pu être calculé que pour le SI_{1m} et l'HOMA_m sur la base de la moyenne corrigée. Pour l'index de Bennett_(m) et le QUICKI_m, la valeur moyenne ± 0.674 x écart-type a été prise arbitrairement.

pour le SI_{1m} ($r = 0.90$) et l' $HOMA_m$ ($r = 0.91$) et négativement pour l'index de $Bennett_{(m)}$ ($r = -0.67$) et le $QUICKI_m$ ($r = -0.90$). Enfin, les index sont tous fortement corrélés entre eux, positivement entre l' $HOMA_m$ et le SI_{1m} ainsi qu'entre l'index de $Bennett_{(m)}$ et le $QUICKI_m$, et négativement pour les autres associations.

Le tableau XV représente la contingence de chacun de ces index dans le cadre d'une hyperinsulinémie (>25.02 pmol/l) ou d'une hypoinsulinémie (<6.32 pmol/l).

Ainsi, lors d'hyperinsulinémie, la spécificité (proportion de vrais négatifs) et la sensibilité (proportion de vrais positifs) des index SI_{1m} et $HOMA_m$ sont conjointement élevées alors que la sensibilité des deux autres index demeure relativement faible (72.7% pour l'index de $Bennett_{(m)}$ et 81.8% pour le $QUICKI_m$). En revanche, une diminution de l'index de $Bennett$ ne peut être observée que lorsque l'insulinémie est anormalement augmentée (spécificité de 100%). La détermination des valeurs prédictives positives et négatives montrent respectivement que le calcul de ces index conduit à un gain diagnostique important (>0.500) dans la mise en évidence d'une situation d'hyperinsulinisme et que la probabilité d'exclusion d'une telle situation augmente légèrement en l'absence d'une élévation du SI_{1m} ou de l' $HOMA_m$ ou en l'absence d'une diminution de l'index de $Bennett_{(m)}$ ou du $QUICKI_m$. L'augmentation des index de $Bennett_{(m)}$ et du $QUICKI_m$ apparaît plus spécifique d'une hypoinsulinémie que l'affaissement des index SI_{1m} ou $HOMA_m$. Par contre, les sensibilités de SI_{1m} et de l' $HOMA_m$ restent nettement supérieures à celles des deux autres index. Ainsi, la probabilité de déclarer un sujet exempt d'insulinopénie (valeur prédictive négative) devient forte en l'absence d'une diminution du SI_{1m} ou de l' $HOMA_m$ alors que les valeurs prédictives positives et les gains diagnostiques positifs demeurent plus modérés. A l'inverse, la probabilité de déclarer un sujet atteint d'hypoinsulinisme (valeur prédictive positive) lorsque l'index de $Bennett_{(m)}$ est supérieur à 1.99 est forte, permettant ainsi d'accroître le gain diagnostique. *A contrario*, on ne peut pas écarter avec certitude une situation d'insulinopénie lorsque ces deux index restent stables.

	Hypoinsulinisme $I_0 \leq 6.32$ pmol/l			Euinsulinisme $6.32 < I_0 < 25.02$	Hyperinsulinisme $I_0 \geq 25.02$ pmol/l				
	n=11	Se Sp	VPP VPN	GDP GDN	n=36	n=11	Se Sp	VPP VPN	GDP GDN
SI_{1m}									
≤1.55	11				5	0			
]1.55;4.13[0	100%	0.69	0.46	28	1	90.9%	0.77	0.58
≥4.13	0	89.4%	1.00	0.19	3	10	93.6%	0.98	0.17
HOMA_m									
≤1.97	11				4	0			
]1.97;5.11 [0	100%	0.73	0.54	29	1	90.9%	0.77	0.58
≥5.11	0	91.5%	1.00	0.19	3	10	93.6%	0.98	0.17
Bennett_(m)									
≤0.95	0				0	8			
]0.95;1.99[4	63.6%	1.00	0.81	36	3	72.7%	1.00	0.81
≥1.99	7	100%	0.92	0.11	0	0	100%	0.94	0.13
QUICKI_m									
≤0.45	0				1	9			
]0.45;0.75[2	81.8%	0.82	0.63	33	2	81.8%	0.90	0.71
≥0.75	9	95.7%	0.96	-0.15	2	0	97.8%	0.96	0.15

Tableau XV : Tableau de contingence, valeurs prédictives et gains diagnostic des différents index dans le cadre d'un hypo et d'un hyperinsulinisme.

I_0 : Insulinémie basale - GDN : gain diagnostique négatif - GDP : gain diagnostique positif - n : effectif - Se : sensibilité - Sp : spécificité - VPN : valeur prédictive négative - VPP : valeur prédictive positive

Bien qu'il n'y est pas de différence significative entre les lots sur les valeurs moyennes des quatre index (Figure 29), il ressort toutefois que la répartition des valeurs individuelles en valeurs faibles, intermédiaires et fortes, analysées par la méthode du χ^2 ou de Fisher exact est significativement influencée par :

- l'appartenance au lot : les chiens appartenant au lot "gros" ont tendance à présenter plus souvent que les chiens du lot "correct" un index SI_{1m} en dehors des bornes définies (65.0% contre 35.3%, $p < 0.1$ (F)) et présentent en particulier une augmentation significative de la fréquence des valeurs fortes du SI_{1m} (35.0% contre 8.8%, $p < 0.05$ (F)). De plus, tous les animaux du lot "maigre" ($n = 4$) présentent un SI_{1m} anormal (Figure 30).

- le sexe : chez les femelles, la fréquence des valeurs anormales de l' $HOMA_m$ et du $QUICKI_m$ ont tendance à être plus élevée que chez les mâles (respectivement 58.8% contre 33.3% et 47.1% contre 20.8%, $p < 0.10$ (χ^2)). De plus, chez ces dernières, on observe une augmentation significative de la proportion de faibles valeurs du $QUICKI_m$ (26.5% contre 4.2% chez les mâles, $p < 0.05$ (F)) (Figure 31).

- l'âge : les animaux ayant entre 4 et 7 ans ont tendance à présenter une plus forte proportion de valeurs anormales de l'index de $Bennett_{(m)}$ (37.5% contre 12.5%, $p < 0.1$ (χ^2)) et en particulier des valeurs faibles (20.8% contre 4.1%, $p < 0.1$ (F)) par rapport aux chiens âgés de 7 à 10 ans (Figure 32).

- le format : les animaux de grand format ont tendance à présenter moins souvent que les chiens de moyen format des valeurs anormales de SI_{1m} (36.0% contre 63.6%, $p < 0.1$ (χ^2)), les animaux de petit format présentant une proportion intermédiaire de valeurs anormales (54.5%). De plus, on observe une diminution significative de la proportion des faibles valeurs du $QUICKI_m$ chez les chiens de grand format par rapport à ceux de moyen format (4.0% contre 27.3%, $p < 0.05$ (F)).(Figure 33)

- l'activité : des valeurs anormales basses de l' $HOMA_m$ ont tendance à être obtenues plus fréquemment chez les chiens actifs saisonniers (44.4%) que chez les chiens sédentaires (15.1%, $p < 0.1$ (F)); le pourcentage des actifs permanents ayant des faibles valeurs est intermédiaire (37.5%) (Figure 34).

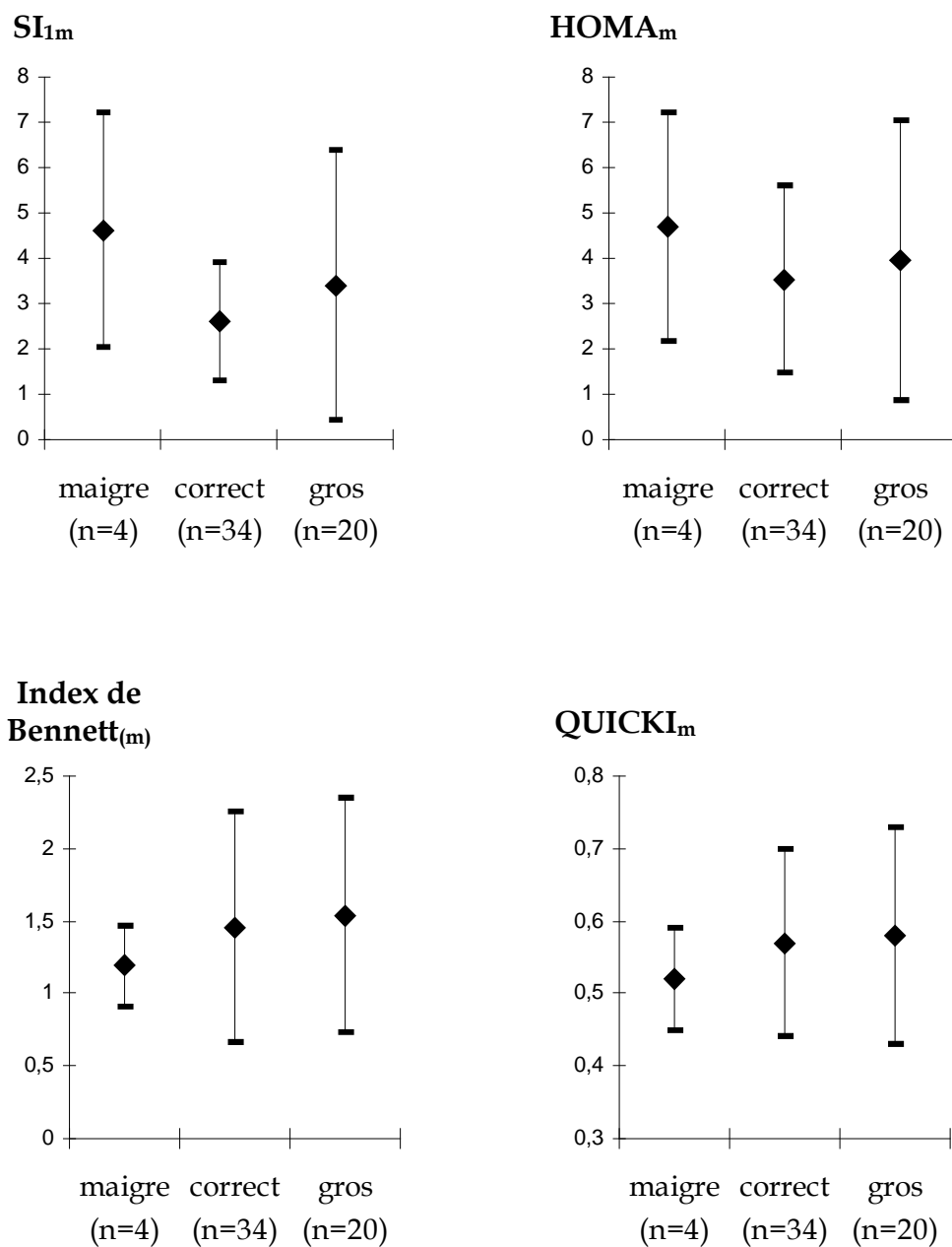


Figure 29 : Valeurs moyennes et écartypes des index SI_{1m} , de l' $HOMA_m$, de Bennett_(m) et du QUICKI_m dans les différents lots ("maigre", "correct", "gros").

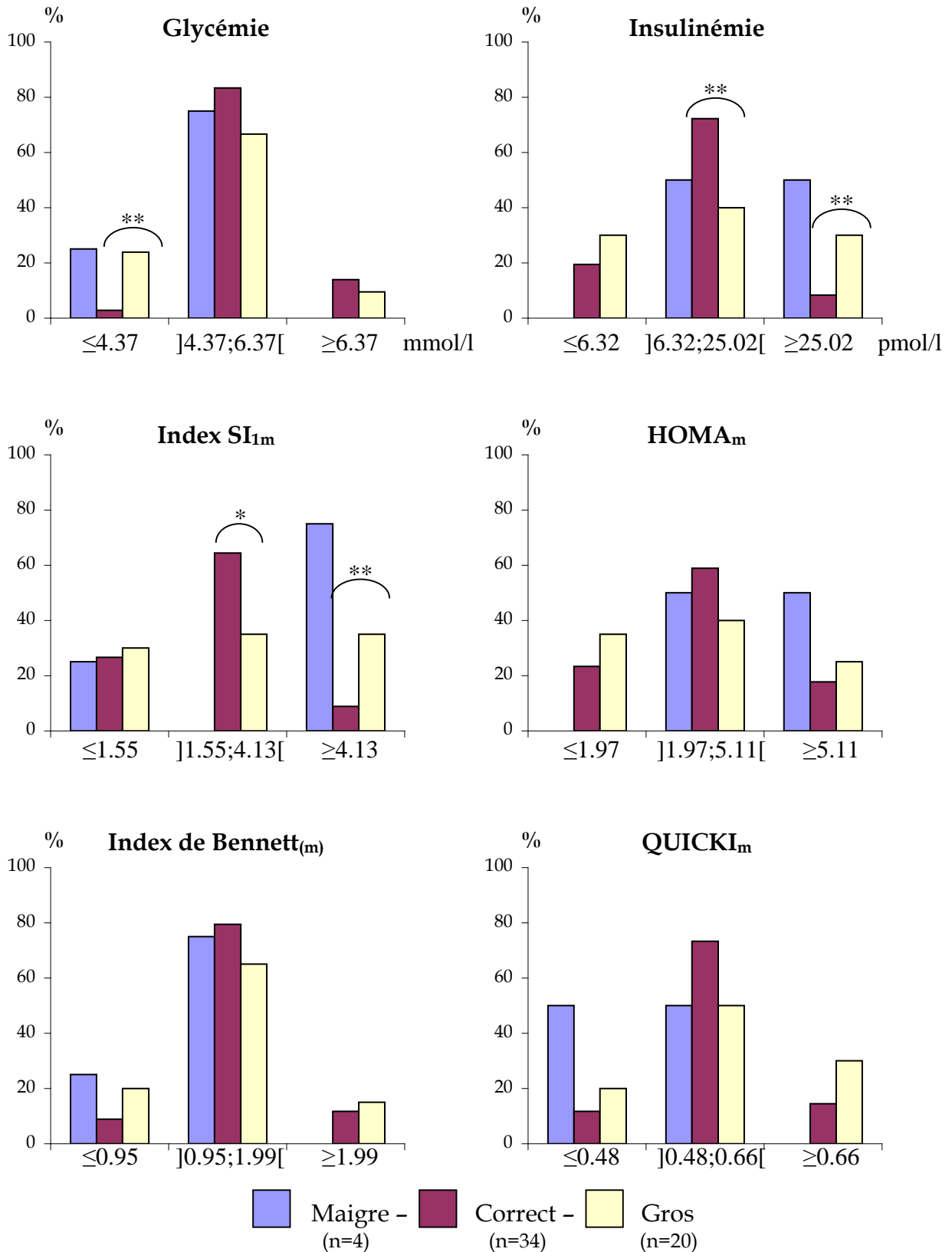


Figure 30 : Comparaison de la distribution des valeurs faibles, intermédiaires et fortes de la glycémie, de l'insulinémie et des différents index en fonction de l'appartenance à un lot.

* : p<0.1 - ** : p<0.05

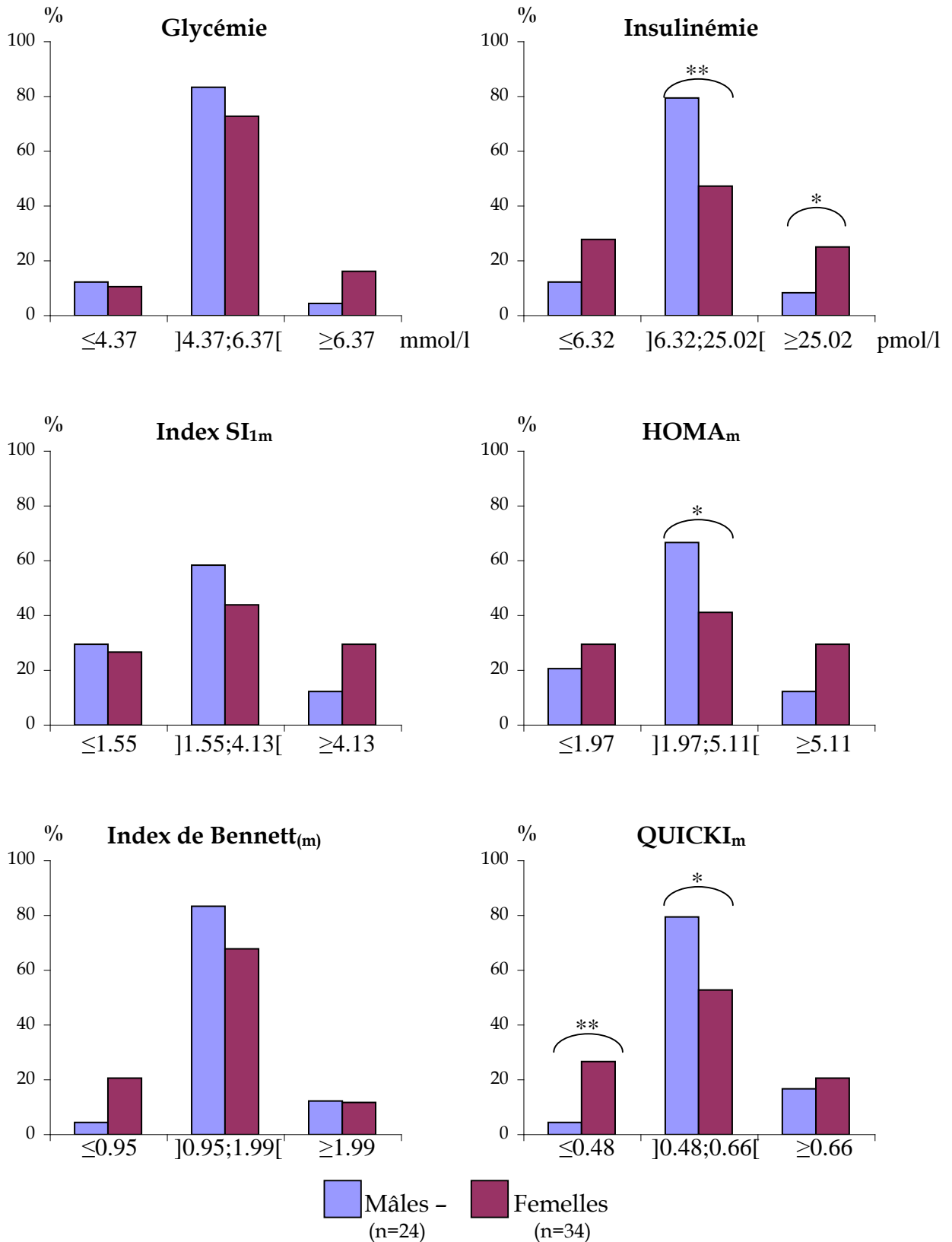


Figure 31 : Comparaison de la distribution des valeurs faibles, intermédiaires et fortes de la glycémie, de l'insulinémie et des différents index en fonction du sexe.

* : p<0.1 - ** : p<0.05

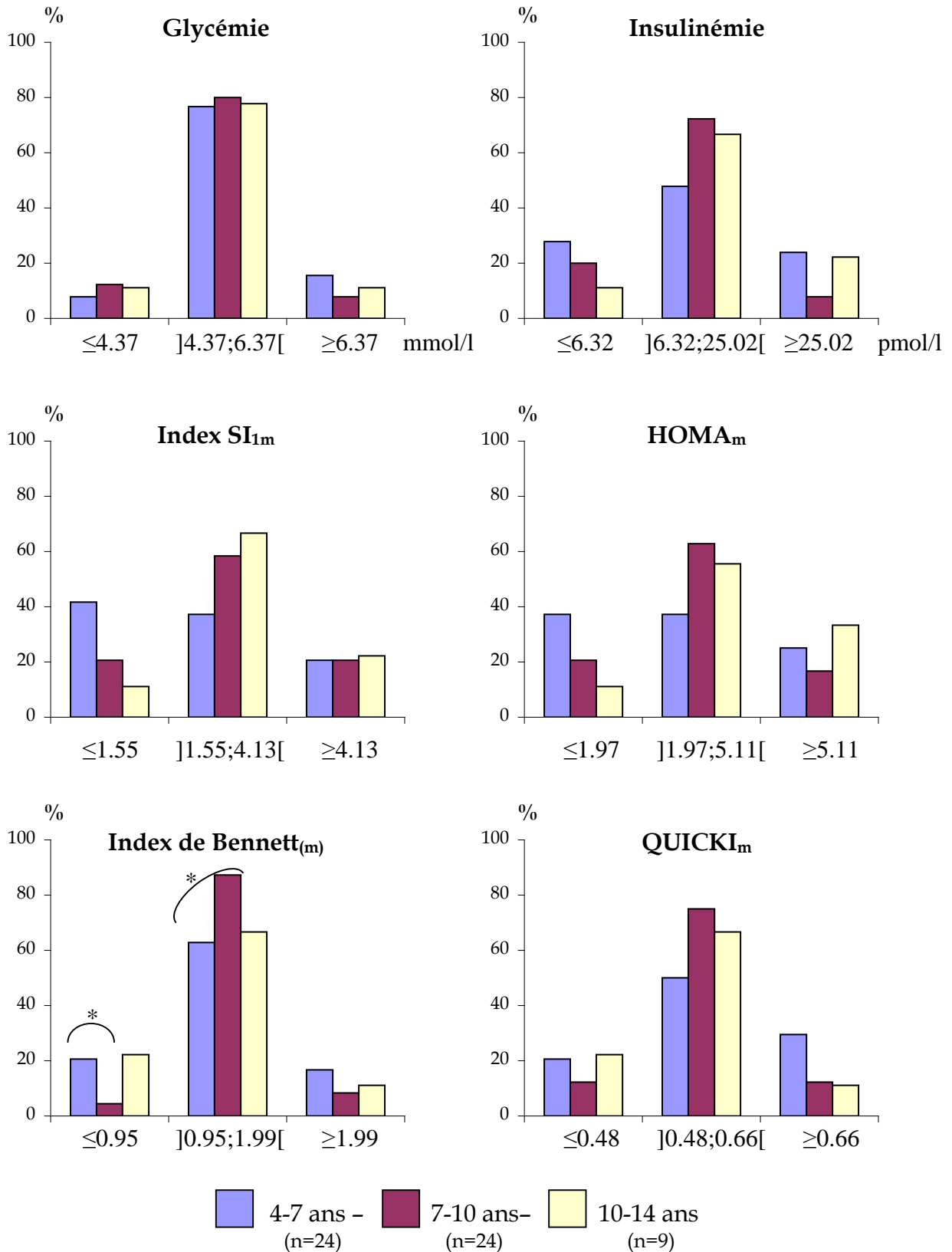


Figure 32 : Comparaison de la distribution des valeurs faibles, intermédiaires et fortes de la glycémie, de l'insulinémie et des différents index en fonction de l'âge.

* : $p < 0.1$ - ** : $p < 0.05$

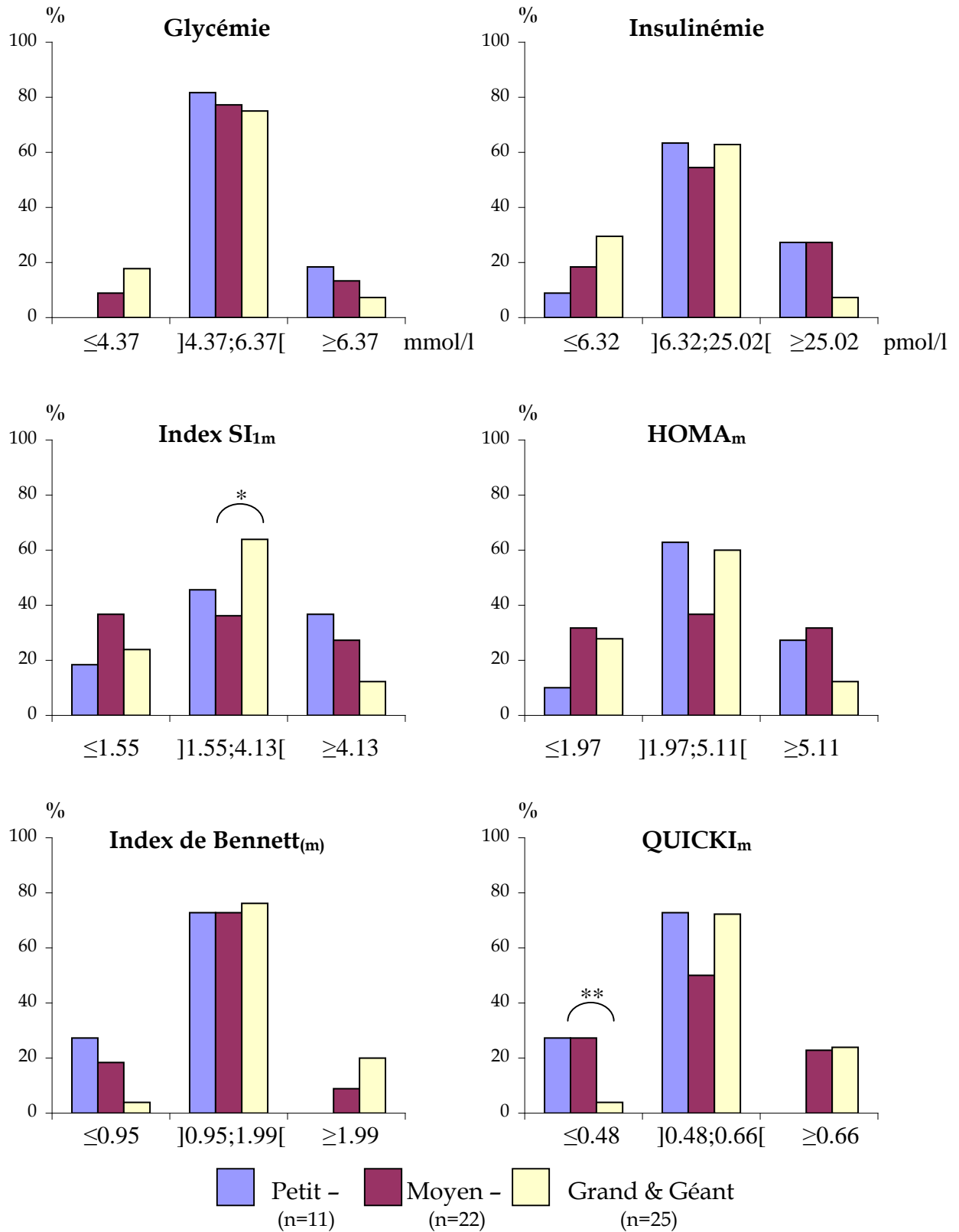


Figure 33 : Comparaison de la distribution des valeurs faibles, intermédiaires et fortes de la glycémie, de l'insulinémie et des différents index en fonction du format.

* : $p < 0.1$ - ** : $p < 0.05$

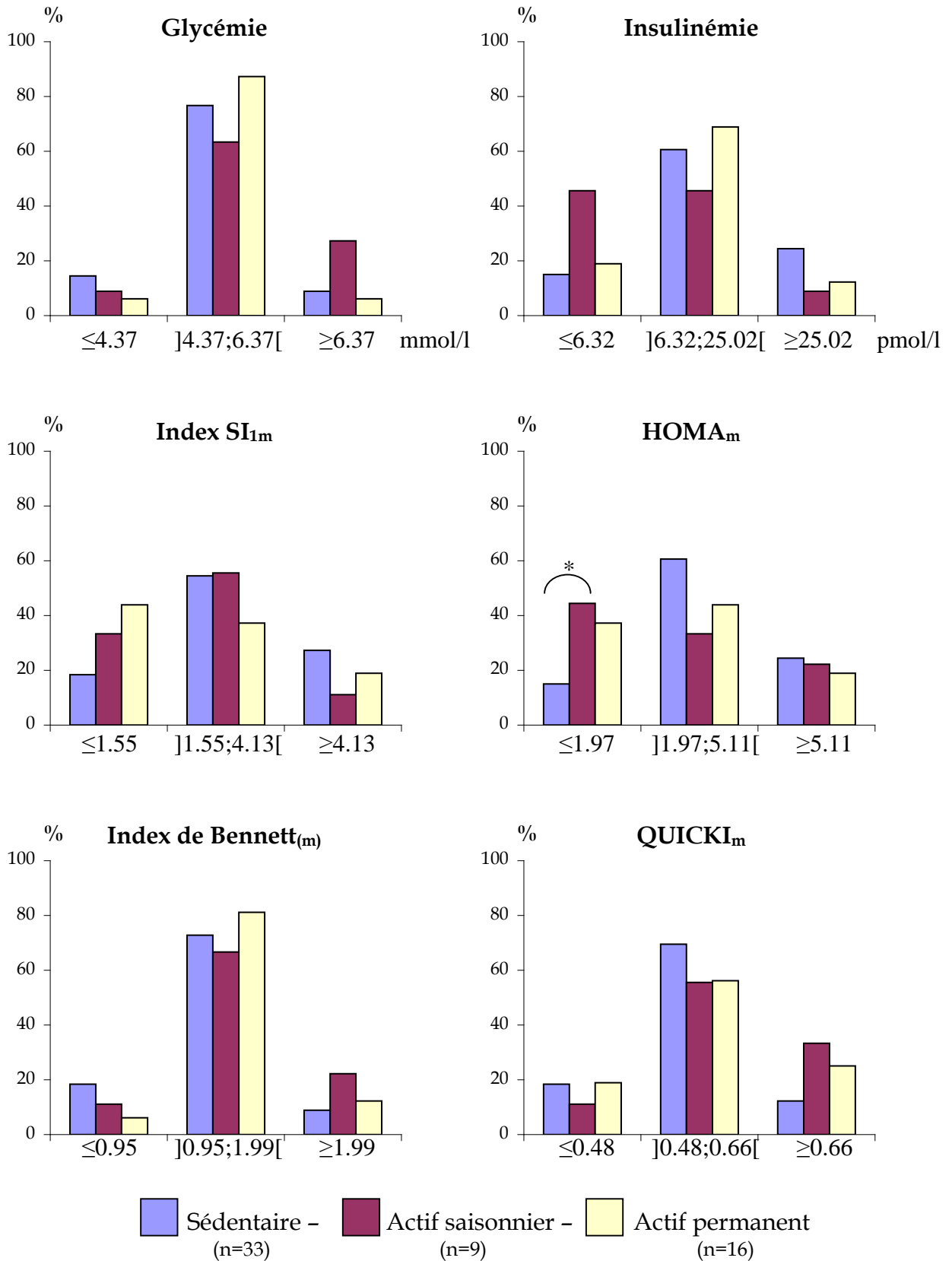


Figure 34 : Comparaison de la distribution des valeurs faibles, intermédiaires et fortes de la glycémie, de l'insulinémie et des différents index en fonction de l'activité.

* : p<0.1 - ** : p<0.05

- l'alimentation : les chiens recevant une alimentation vétérinaire ont tendance à moins souvent présenter des valeurs anormales du SI_{1m} (14.3%) par rapport aux chiens nourris avec des aliments du commerce (53.1%) ou de la viande crue seule (66.7%) ($p < 0.1$ (F)) (Figure 35).

- en revanche, la stérilisation (Figure 36), et le lieu de vie (Figure 37) n'apparaissent pas avoir d'incidence sur la répartition des valeurs des différents index.

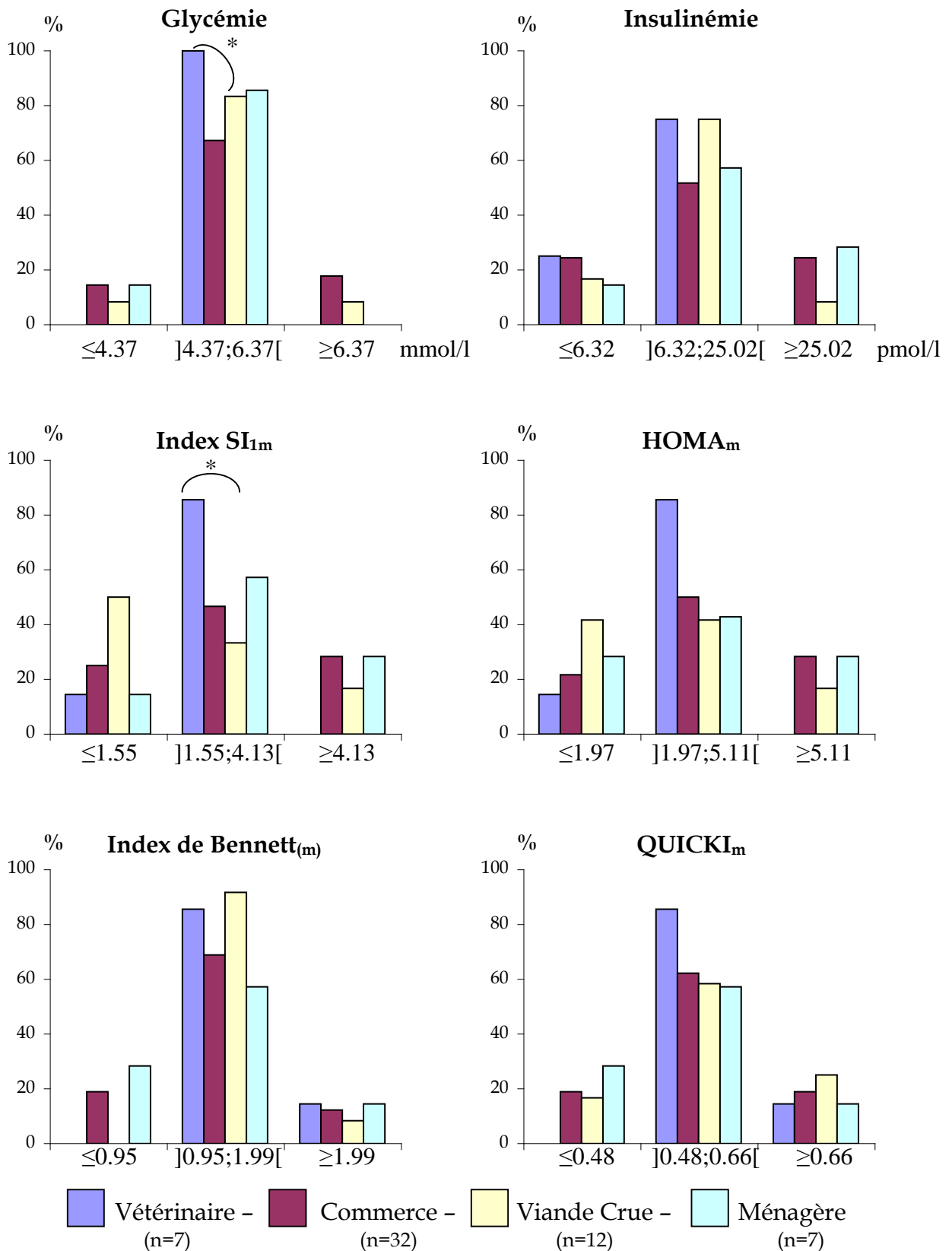


Figure 35 : Comparaison de la distribution des valeurs faibles, intermédiaires et fortes de la glycémie, de l'insulinémie et des différents index en fonction de l'alimentation.

* : p<0.1 - ** : p<0.05

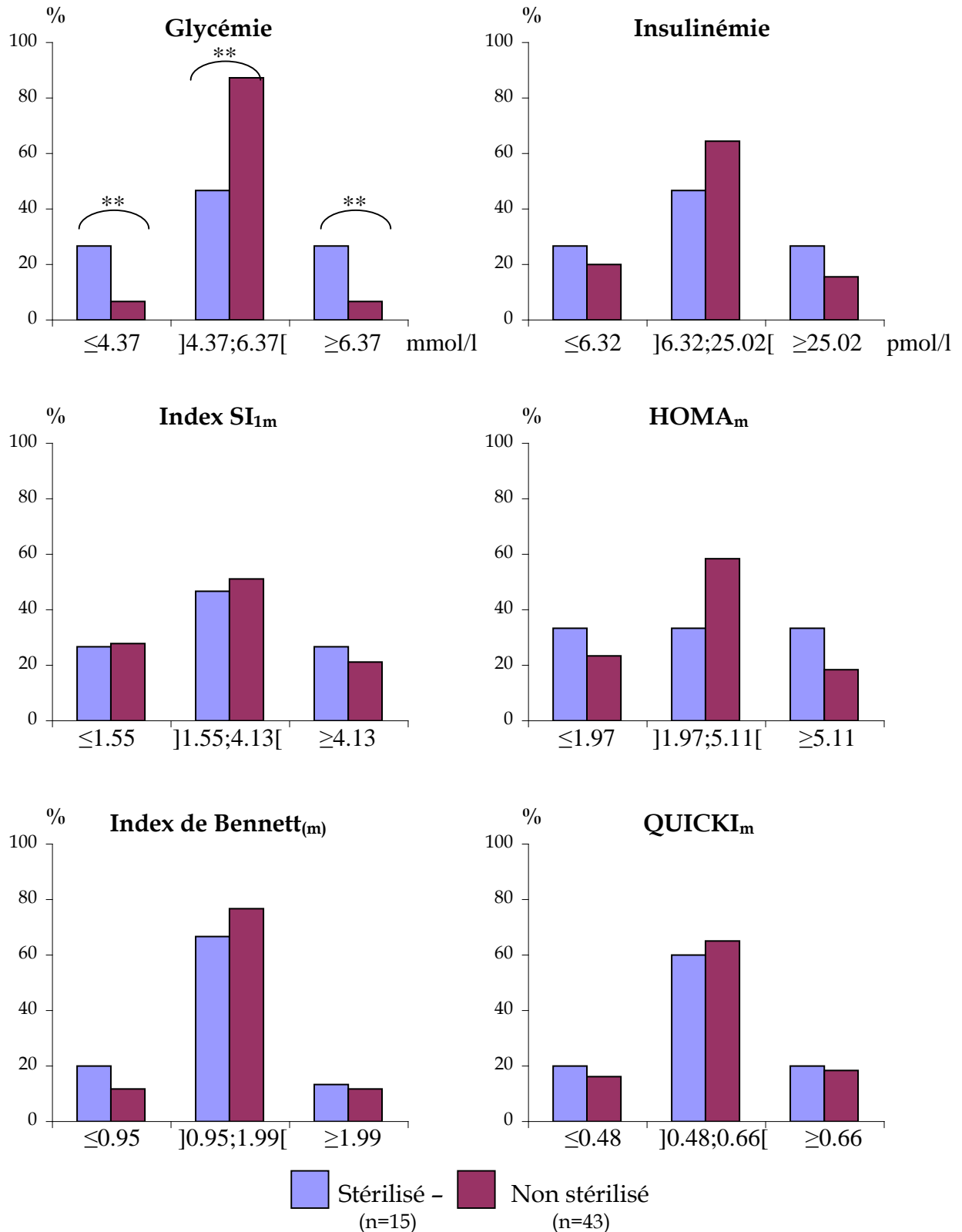


Figure 36 : Comparaison de la distribution des valeurs faibles, intermédiaires et fortes de la glycémie, de l'insulinémie et des différents index en fonction de la stérilisation.

* : p<0.1 - ** : p<0.05

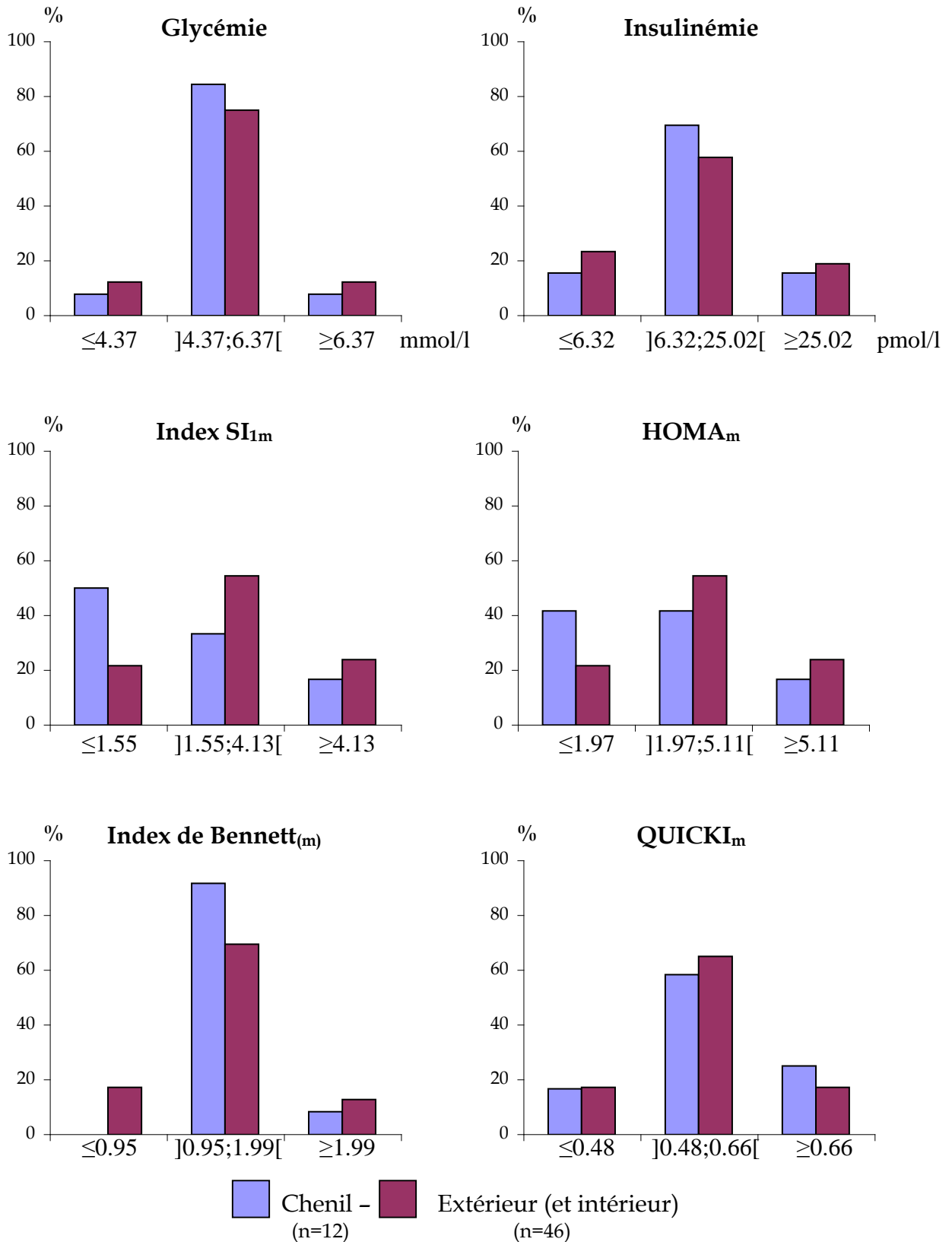


Figure 37 : Comparaison de la distribution des valeurs faibles, intermédiaires et fortes de la glycémie, de l'insulinémie et des différents index en fonction du lieu de vie.

* : $p < 0.1$ - ** : $p < 0.05$

Sur les 58 chiens étudiés, 34 ont présenté au moins une altération de la régulation de l'insulinémie (glycémie, insulinémie ou l'un des index situés au delà des valeurs seuil retenues). Les caractéristiques épidémiologiques de ce groupe de chiens sont reportées dans le tableau XVI. Il en ressort après comparaison par la méthode du χ^2 et de Fisher exact, que parmi les chiens présentant une ou plusieurs altérations de la sensibilité à l'insuline, on rencontre plus fréquemment des chiens appartenant au lot "gros" (75.0%, $p \approx 0.05$ (χ^2)) ainsi que des chiens recevant une alimentation du commerce ($p < 0.05$ (F)).

Parmi ce groupe de 34 chiens, la majorité (73.5%) ont présenté une altération conjointe d'au moins 3 paramètres. En fonction de la nature des altérations du profil insuliniq, 3 sous-groupes ont été constitués :

- Le premier sous-groupe (SG₁) comprend 14 chiens pour lesquels l'HOMA_m et/ou le SI_{1m} relativement élevés (> 5.11 et 4.13 respectivement) sont associés à une glycémie normale à augmentée et une insulinémie assez élevée ou supérieure au seuil de 25.02 pmol/l (Tableau XVII).
- Les 13 chiens du deuxième sous-groupe (SG₂) ont montré un index SI_{1m} et/ou un HOMA_m diminués (< 1.55 et 1.97 respectivement) associés à une glycémie normale à augmentée, et une insulinémie assez faible ou inférieure à la valeur seuil fixée (< 6.32 pmol/l) (Tableau XVIII).
- Le troisième sous-groupe (SG₃) est constitué par 7 chiens dont la glycémie faible (< 4.4 mmol/l) est associée soit à une insulinémie normale (2 chiens), soit à une insulinémie diminuée (3 chiens) soit à une insulinémie augmentée (2 chiens) (Tableau XIX).

Critères	Chiens présentant une altération du profil insulinaire	Chiens ne présentant pas d'altération	p
Effectif (n=58)	34	24	
Lot			
Maigre (n=4)	100% (4)	0.0 % (0)	≈ 0.05* (χ²)
Correct (n=34)	44.1% (15)	55.9% (19)	
Gros (n=20)	75.0% (15)	25.0% (5)	
Sexe			
Mâles (n=24)	45.8% (11)	54.2% (13)	NS
Femelles (n=34)	67.6% (23)	32.4% (11)	
Stérilisation			
Stérilisés (n=15)	73.3% (11)	36.7% (4)	NS
non stérilisé (n=43)	53.5% (23)	46.5% (20)	
Format			
Petit (n=11)	54.5% (6)	45.5% (5)	NS
Moyen (n=22)	72.7% (16)	27.3% (12)	
Grand & Géant (n=25)	48.0% (12)	52.0% (13)	
Age*			
4 – 7 ans (n=24)	66.7% (16)	33.3% (8)	NS
7 – 10ans (n=24)	54.2% (13)	45.8% (11)	
10 – 14ans (n=9)	44.4% (4)	55.6% (5)	
Alimentation			
Vétérinaire (n=7)	14.3% (1)	85.7% (6)	< 0.05*** (F)
Commerce (n=32)	62.5% (20)	37.5% (12)	
Ménagère (n=7)	57.1% (4)	42.9% (3)	
Viande crue (n=12)	75.0% (9)	25.0% (3)	
Activité			
Sédentaire (n=33)	51.5% (17)	48.5% (16)	NS
Actif saisonnier (n=9)	66.7% (6)	33.3% (3)	
Actif permanent (n=16)	68.7% (11)	31.3% (5)	
Mode de vie			
Chenil (n=12)	75.0% (9)	25.0% (3)	NS
Autres**** (n=46)	54.3% (25)	45.7% (21)	

Tableau XVI : Répartition des chiens présentant ou non une altération du profil insulinaire (glycémie, insulïnémie ou valeurs des index SI₁, HOMA, QUICKI ou de Bennet en dehors des valeurs seuils fixées) en fonction des critères épidémiologiques étudiés.

Les effectifs sont indiqués entre parenthèses – NS : non significatif

* p de la comparaison entre les pourcentages des animaux du lot "Correct" et ceux du lot "Gros".

** Age non déterminé chez un des chiens.

*** p de la comparaison entre les animaux recevant une alimentation vétérinaire et ceux recevant une alimentation du commerce. Les autres comparaisons ne sont pas significatives.

**** Extérieur et intérieur.

N°	Glycémie (mmol/l)	Insulinémie (pmol/l)	SI _{1m}	HOMA _m	Index de Bennett _(m)	QUICKI _m
7	4.48	22.55	5.03	4.49	1.14	0.50
28	4.48	19.79	4.42	3.74	1.18	0.51
30	5,32	21,86	4,11	5,17	1,03	0,48
60	5,49	22,20	4,05	5,42	1,00	0,48
75	6,72	17,38	2,59	5,19	0,97	0,48
13	5,43	27,19	5,01	6,56	0,95	0,46
9	5,77	26,33	4,57	6,75	0,93	0,46
34	5,60	27,36	4,89	6,81	0,93	0,46
61	4,59	34,08	7,42	6,95	0,99	0,46
15	5,94	26,85	4,52	7,08	0,90	0,45
68	5,10	32,70	6,42	7,41	0,93	0,45
5	6,10	38,89	6,37	10,55	0,80	0,42
10	6,89	33,56	4,87	10,27	0,78	0,42
41	9,63	26,33	2,73	11,27	0,72	0,42

Tableau XVII : Altération du profil insulémique des chiens constituant le sous-groupe 1 (n = 14).

Les valeurs en gras sont supérieures aux valeurs seuils définies au préalable, les valeurs en italiques gras sont inférieures aux seuils définies au préalable.

N°	Glycémie (mmol/l)	Insulinémie (pmol/l)	SI _{1m}	HOMA _m	Index de Bennett _(m)	QUICKI _m
59	5,21	2,41	0,46	0,56	3,65	0,91
72	6,05	3,61	0,60	0,97	2,29	0,75
22	4,82	3,79	0,79	0,81	2,53	0,79
40	5,21	5,51	1,06	1,27	1,88	0,69
62	5,10	5,85	1,15	1,33	1,84	0,68
74	6,55	1,89	0,29	0,55	4,42	0,91
42	7,06	4,65	0,66	1,46	1,77	0,66
43	7,17	5,68	0,79	1,81	1,55	0,62
65	6,78	6,88	1,02	2,07	1,44	0,60
55	5,54	6,37	1,15	1,57	1,67	0,65
2	5,99	7,40	1,24	1,97	1,48	0,61
64	5,04	6,54	1,30	1,46	1,75	0,66
56	4,48	6,88	1,54	1,37	1,83	0,67

Tableau XVIII : Altération du profil insulémique des chiens constituant le sous-groupe 2 (n = 13).

Les valeurs en gras sont supérieures aux valeurs seuils définies au préalable, les valeurs en italiques gras sont inférieures aux seuils définies au préalable.

N°	Glycémie (mmol/l)	Insulinémie (pmol/l)	SI _{1m}	HOMA _m	Index de Bennett _(m)	QUICKI _m
49	3,47	2,93	<i>0,84</i>	<i>0,45</i>	3,97	0,99
48	4,14	2,75	<i>0,66</i>	<i>0,51</i>	3,68	0,95
51	4,31	6,02	<i>1,40</i>	<i>1,15</i>	2,02	0,71
17	4,14	9,64	2,33	1,78	1,65	0,62
58	3,64	19,28	5,30	3,12	1,39	0,54
47	2,97	38,38	12,93	5,06	1,34	0,49
23	4,31	26,85	6,23	5,15	1,10	0,48

Tableau XIX : Altération du profil insulémique des chiens constituant le sous-groupe 3
(n = 7).

Les valeurs en gras sont supérieures aux valeurs seuils définies au préalable, les valeurs en italiques gras sont inférieures aux seuils définies au préalable.

On constate que la composition des 3 sous-groupes a tendu à varier ou a varié significativement (Fisher exact) en fonction du format ($p < 0.1$), de l'âge ($p < 0.1$), du type d'alimentation ($p < 0.1$), l'activité ($p < 0.05$) et le mode de vie ($p < 0.05$).

Bien que non significative, la fréquence d'appartenance que SG₃ chez les chiens de conformation correcte était très faible (6.7%) par rapport aux deux autres sous-groupes. En revanche, les chiens du lot "Gros" sont apparus équitablement répartis dans l'ensemble des 3 sous-groupes. De plus, les chiens de grand format semblaient appartenir plus fréquemment au SG₃ (45.4%) contrairement aux chiens de moyen (12.5%) et petit (0.0%) formats, et les chiens recevant une alimentation ménagère ou du commerce étaient plus souvent dans le SG₁. Cependant, les chiens jeunes adultes (4 à 7 ans), nourris avec de la viande crue, actifs et vivant en chenil ont plus souvent montré un profil insulémique anormal caractérisé par un HOMA_m diminué (sous-groupe 2) (Tableau XX).

Critères	SG₁	SG₂	SG₃	p(F)
Effectif (n=34)	14	13	7	
Lot				
Maigre (n=4)	50.0% (2)	25.0% (1)	25.0% (1)	NS
Correct (n=15)	40.0% (6)	53.3% (8)	6.7% (1)	
Gros (n=15)	40.0% (6)	26.7% (4)	33.3% (5)	
Sexe				
Mâles (n=11)	27.3% (3)	45.4% (5)	27.3% (3)	NS
Femelles (n=23)	47.9% (11)	34.7% (8)	17.4% (4)	
Stérilisation				
Stérilisés (n=11)	45.5% (5)	18.2% (2)	36.4% (4)	NS
Non stérilisé (n=23)	39.1% (9)	47.8% (11)	13.1% (3)	
Format				
Petit (n=6)	66.7% (4)	33.3% (2)	0.0% (0)	<0.1
Moyen (n=16)	37.5% (6)	50.0% (8)	12.5% (2)	
Grand (n=12)	33.3% (4)	25.0% (3)	41.7% (5)	
Age				
4 – 7 ans (n=16)	31.3% (5)	56.3% (9)	12.5% (2)	<0.1
7 – 10ans (n=13)	46.1% (6)	30.8% (4)	23.1% (3)	
10 – 14ans (n=4)	75.0% (3)	0.0% (0)	25.0% (1)	
Alimentation				
Vétérinaire (n=1)	0.0% (0)	100% (1)	0.0% (0)	<0.1
Commerce (n=20)	50.0% (10)	25.0% (5)	25.0% (5)	
Ménagère (n=4)	50.0% (2)	25.5% (1)	25.5% (1)	
Viande crue (n=9)	22.2% (2)	66.7% (6)	11.1% (1)	
Activité				
Sédentaire (n=17)	52.9% (9)	17.7% (3)	29.4% (5)	<0.05
Actif saisonnier (n=6)	33.3% (2)	50.0% (3)	16.7% (1)	
Actif permanent (n=11)	27.3% (3)	63.6% (7)	9.1% (1)	
Mode de vie				
Chenil (n=9)	22.2% (2)	66.7% (6)	11.1% (1)	<0.05
Extérieur (n=25)	48.0% (12)	28.0% (7)	24.0% (6)	

Tableau XX : Répartition (en pourcentage et en nombre) des 33 chiens présentant une altération du profil insulinaire en fonction des différents critères épidémiologiques.

Les effectifs sont indiqués entre parenthèses – NS : non significatif

* Age non déterminé chez un des chiens.

C. Discussion.

De nombreuses études (40, 46, 125, 126, 147) se sont intéressées aux effets de l'obésité sur l'insulinémie et sa régulation, et ont toutes mis en évidence l'existence d'une résistance cellulaire à l'insuline associée à une augmentation significative de l'insulinémie basale. Cependant, toutes ces études ont été effectuées sur des obésités induites par des régimes riches en graisse, et dont l'installation était relativement rapide (quelques mois). Le fait inédit de notre étude, est que nous nous sommes intéressés aux effets de l'obésité spontanée (qui met souvent plusieurs années à s'installer) sur la régulation de l'insulinémie. De plus, de nombreuses races étaient représentées, et les chiens ne recevaient pas tous la même alimentation ni ne vivaient dans des conditions similaires, contrairement aux études précédentes.

1. Surpoids et critères épidémiologiques.

Dans notre étude, la prévalence des chiens en surpoids s'est élevée à 34%, alors qu'elle était de 42% en 2005 sur le continent australien (98).

En accord avec de nombreuses autres études (38, 65, 71, 94, 98, 137), la proportion d'animaux stérilisés obèses a été significativement plus élevée que celle observée dans le groupe des non obèses. Houpt *et al.*(65) se sont intéressés aux fluctuations de l'appétit au cours du cycle oestral chez la chienne : la prise alimentaire est apparue minimale en période d'oestrus (concentrations élevées en oestrogènes et progestérone), moyenne en di-oestrus (imprégnation progestéronémique) et maximale en anoestrus (sécrétion minimale d'oestrogènes et progestérone). Ainsi la stérilisation, similaire à un anoestrus permanent, serait responsable d'une hausse de l'appétit. Chez le mâle, la stérilisation est responsable d'une modification notable du comportement sexuel et en particulier d'une baisse de l'activité physique.

La prise de poids a aussi significativement affecté moins souvent les chiens de petit format ($p < 0.01$) sans raison apparente. Le caractère généralement agité chez ce type de chien peut éventuellement être mis en cause.

Bien que les chiens en surpoids aient été majoritairement âgés de 7 à 10 ans (40%), la répartition des chiens de l'étude en fonction de l'âge n'a pas été significativement différente entre les chiens en excès pondéral et les autres. Toutefois, McGreevy *et al.*⁽⁹⁸⁾, ont reporté une incidence notable de l'âge sur l'obésité (Figure 38), la prévalence de cette affection métabolique évoluant de façon non linéaire et étant maximale (16% de la population canine) chez les animaux âgés de 8 à 9 ans.

2. Glycémie et insulïnémie basales.

La glycémie et l'insulïnémie ont été déterminées chez respectivement 61 et 60 chiens, cliniquement sains, à jeun depuis au moins 12h.

Les valeurs de la glycémie mesurée par spectrophotométrie ont variée de 2.99 mmol/l à 9.63 mmol/l et la glycémie moyenne (\pm écart-type) a été de 5.37 ± 1.00 mmol/l. Ces résultats sont comparables aux valeurs usuelles données dans la littérature (Tableau XXI). Bien que légèrement sous-évaluée (1 mmol/l en moyenne), la glycémie immédiate dosée par réflectométrie a été corrélée positivement avec la glycémie différée dosée par spectrophotométrie en dépit d'une hétérogénéité de traitement et de conservation des sangs totaux prélevés (quelques prélèvements n'ayant pu être réfrigérés et/ou centrifugés que 3 à 4 heures après la prise de sang).

L'insulïnémie basale a été déterminée par une méthode ELISA de type sandwich et les valeurs observées se sont étalées de < 1.73 à 38.90 pmol/l, l'insulïnémie moyenne (\pm écart-type) étant de 15.64 ± 9.50 pmol/l et l'intervalle de confiance à 95% étant de 1.74-38.40 pmol/l. Bien qu'assez faibles, ces valeurs sont comprises dans l'intervalle de confiance à 85% (8.06-86.05 pmol/l) déterminé par MercodiaND, lors de

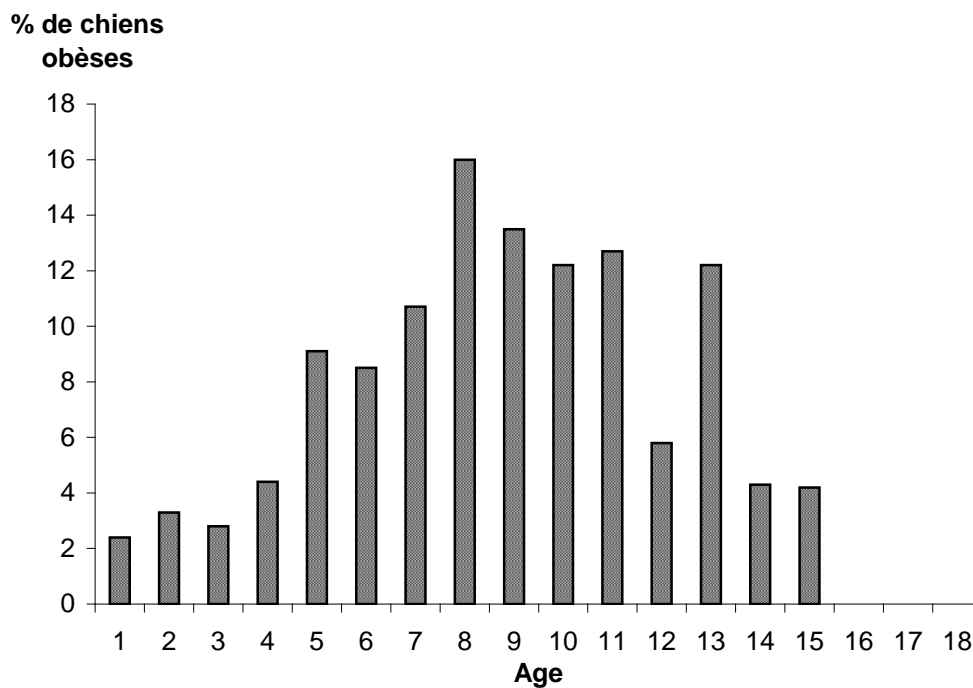


Figure 38 : Prévalence de l'obésité en fonction de l'âge chez le chien (D'après McGreevy *et al.* ⁽⁹⁸⁾).

Valeurs usuelles de la glycémie en mmol/l	Références
3.02 - 5.60	(88)
3.92 - 6.16	(103)

Tableau XXI : Valeurs usuelles de la glycémie établies dans la population canine.

l'élaboration du kit de dosage Canine Insulin ELISA (n=42) ⁽¹¹⁸⁾. Néanmoins, une hémolyse, même discrète (0.5 g/l d'hémoglobine) des échantillons, secondaire à la méthode de prélèvement associée à une absence de réfrigération rapide, peut être à l'origine d'un effondrement de l'insulinémie mesurée, l'insuline étant dégradée par les insulinasés érythrocytaires ^(133, 134). Cet artéfact technique associé à l'utilisation d'une trousse de dosage spécifique de l'insulinémie canine par ELISA peuvent rendre compte des valeurs globalement faibles obtenues dans cette étude.

Comme le montre le tableau XXII, ces résultats sont très inférieurs aux données disponibles dans la littérature. Les valeurs qui y sont présentées ont été établies par dosage radio-immunologique de type RIA (quantité limitée d'anticorps monoclonaux). Bien que la méthode RIA reste encore chez le chien la méthode de référence, il est probable que l'insulinémie ainsi mesurée soit légèrement surévaluée en raison de l'existence de réactions croisées non négligeables avec la pro-insuline comme dans les situations de diabète sucré de type II chez l'homme ⁽¹³²⁾. De plus, lors de RIA avec incubation à température ambiante, la dégradation du traceur induit une surestimation de l'insulinémie si l'incubation est longue ⁽¹³⁴⁾. Par ailleurs, les qualités intrinsèques de spécificité et d'activité des anticorps utilisés dans les différentes trousse de dosage sont également grandement responsables de l'hétérogénéité des valeurs obtenues. Notons aussi que dans les études (9), (113) et (147) les effectifs étaient réduits (respectivement 7, 38 et 10) et ne concernaient qu'une seule race pour les études (9) et (147) et que des mâles pour l'étude (9) .

3. Intérêts des index SI₁, HOMA, de Bennett et QUICKI dans l'évaluation de la sensibilité périphérique à l'insuline.

Grâce à la détermination conjointe de la glycémie et de l'insulinémie basales, les index SI_{1m}, HOMA_m, l'index de Bennett_(m) et le QUICKI_m ont pu être calculés.

Valeurs de l'insulinémie en pmol/l obtenue par RIA	Référence	Effectif	Races
69,45 ± 6,95	(9)	7	Beagles
86.57 ± 26.57	(74)	nc	nc
98.62 ± 6.25	(147)	20	Beagles
142.37 ± 79.87	(88)	nc	nc
173.63 ± 104.18	(84)	nc	nc
763.95 ± 347.25	(113)	38	Multiple

Tableau XXII : Valeurs moyenne de l'insulinémie dans l'espèce canine.

nc : non connu

L'**index SI_{1m}** ($I_{0(\text{pmol/l})}/G_{0(\text{mmol/l})}$) explore un dysfonctionnement de la boucle de régulation insuline/glucose. La valeur de cet index devient élevée lorsque l'insulinémie et/ou la glycémie diminue. A l'inverse, cet index baisse lorsque l'insulinémie devient faible et/ou la glycémie s'accroît. Dans notre étude, le SI_{1m} était fortement et positivement corrélé à l'insulinémie alors qu'une corrélation négative et nettement plus faible a été obtenue avec la glycémie. Ainsi, au sein de l'échantillon des 58 chiens, les variations du SI_{1m} résultent essentiellement des variations de l'insulinémie. Dans les situations d'insulino-résistance avérée et compensée, caractérisée par une forte insulinémie associée à une glycémie normale (cas de 7 chiens du sous-groupe 1) (Tableau XVII), ou celles d'une insulinosensibilité correcte associée à un hyperinsulinisme ou d'insulinome débutant (chiens n°7 et 28 du SG₁ et n°23, 47 et 58 du SG₃) (Tableau XIX), le SI_{1m} augmente. Lors d'une insulinopénie débutante, compensée par une bonne insulinosensibilité ou décompensée par une insulino-résistance, cet index est effondré (cas des 13 chiens du sous-groupe 2) (Tableau XVIII). Néanmoins, il existe des situations limites pour lesquelles le SI_{1m} apparaît normal à augmenté : lors d'insulino-résistance décompensée caractérisée par une augmentation parallèle de l'insulinémie et de la glycémie (chiens n°10 et 41 du SG₁) (Tableau XVII), et lors d'insulinosensibilité forte, couplée ou non à un hyperinsulinisme (cas du chien n°17 du SG₃) (Tableau XIX). De plus, le SI_{1m} peut être normal à diminuée dans le cas d'une insulinosensibilité forte couplée à un hypoinsulinisme (chiens n°48, 49, 51 du SG₃). Enfin, l'index SI_{1m} peut apparaître normal lorsque la glycémie est relativement faible par rapport à l'insulinémie (cas d'une situation normale ou d'un début d'insulino-résistance (chiens n° 30 et 60 du SG₁) (Tableau XVII)), ou lors d'une insulino-résistance décompensée couplée à une insulinopénie débutante (chien n°75 du SG₁) (Tableau XVII).

L'**HOMA_m** ($I_{0(\text{pmol/l})} \times G_{0(\text{mmol/l})} / 22.5$) ^(6, 97) est proportionnel à l'insulino-résistance : lors d'insulino-résistance débutante (insulinémie assez élevée mais restant normale), avérée, compensée ou non (chiens du SG₁), l'HOMA augmente (Tableau XVII). A l'inverse, lors d'insulinopénie primaire avérée ou débutante (12 chiens sur 13 du SG₂ et 4 chiens sur 7 du SG₃), l'HOMA diminue (Tableau XVIII et Tableau XIX). Ainsi, les

variations de l'insuline sont en général parallèles à celles de l'HOMA_m (forte corrélation positive entre ces deux paramètres). Dans cette optique, une corrélation positive modérée a été effectivement obtenue dans notre étude entre l'HOMA_m et la glycémie. Néanmoins, on peut observer un HOMA_m normal voire augmenté lorsque l'insulinémie tend à diminuer alors que la glycémie augmente (chien n°75 du SG₁), ou lors d'une hyper-insulinémie couplée à une hypoglycémie traduisant une sensibilité périphérique à l'insuline correcte (chien n°23 du SG₃).

Bien que dans la plupart des cas d'insulino-résistance (SG₁) et d'insulinopénie (SG₂) les index SI_{1m} et HOMA_m varient dans le même sens, il est apparu des cas où un seul index a fluctué :

- une augmentation seule du SI_{1m} lors d'hypoglycémie associée ou non à un hyperinsulinisme (respectivement les chiens n°47 et 58 du SG₃) ou lors d'une insulinémie relativement élevée associée à une glycémie normale (chiens n°7 et 28 du SG₁) ;
- une augmentation seule de l'HOMA_m lors d'insulino-résistance fortement décompensé (chien n°41 du SG₁), en début d'installation (chiens n°30 et 60 du SG₁) ou lors d'une insulinopénie débutante secondaire à une insulino-résistance (chien n°75 du SG₁) ;
- une diminution seule du SI_{1m} associée à une insulinémie relativement faible et une glycémie augmentée (respectivement chez les chiens n°2 et 65 du SG₂) ;
- une diminution seule de l'HOMA_m (chien n°17 du SG₃) traduisant une insulinosensibilité correcte associée à une discrète diminution de l'insulinémie.

L'**index de Bennett**_(m) ($1/[\log G_{0(\text{mmol/l})} \times \log I_{0(\text{pmol/l})}]$)^(5, 6) est reconnu pour être directement proportionnel à la sensibilité de l'organisme à l'insuline. Ainsi, lors d'insulinosensibilité accrue, cet index augmente de façon d'autant plus importante qu'apparaît une hypoinsulinémie (chiens n°48, 49 et 51 du SG₃). De même, lors d'insulinopénie (8 chiens sur 13 du SG₂), l'index de Bennett_(m) est normal à élevé (Tableau XVIII). En revanche, lors d'insulino-résistance, cet index est le plus souvent

diminué (8 chiens sur 13 du SG₁) sauf lors d'insulino-résistance fortement compensée (chien n°61 du SG₁) ou débutante (chiens n°7, 28, 30 et 60 du SG₁) (Tableau XVII).

Le dernier index utilisé, le **QUICKI_m** ($1/[\log I_{0(\text{pmol/l})} + \log G_{0(\text{mmol/l})}]$)^(6, 76), reflète également directement la sensibilité périphérique à l'insuline : lorsque cette dernière est importante, le QUICKI_m s'en trouve augmenté. Ainsi, dans les cas d'insulinopénie avérée, de fortes valeurs de cet index peuvent être observées dans la mesure où l'activité hormonale est conservée (6 chiens sur 13 du SG₂, et 3 chiens sur 7 du SG₃), sinon ce paramètre reste stable (cas des insulinopénies débutantes primaires ou secondaires à une insulino-résistance (chiens n°2, 55, 56, 64 du SG₂) et cas des insulinopénies décompensées (chiens n° 42, 43, 65 du SG₂)) (Tableau XVIII). En outre, dans notre étude, 2 chiens du SG₃ (chiens n°17 et 58) ont présenté une hypoglycémie associée à une insulinémie normale alors que le QUICKI_m est resté stable. Inversement, lors d'insulino-résistance compensée ou non (insulinémie augmentée associée à une glycémie normale à augmentée), le QUICKI_m diminue (cas de 9 chiens sur 13 du SG₁) (Tableau XVII).

L'index de Bennett_(m) et le QUICKI_m ne varient donc nettement que lors de situations avérées d'insulino-résistance ou d'insulinopénie (forte spécificité) alors que l'index SI_{1m} et l'HOMA_m semblent plus sensibles (sensibilité pour l'insulinopénie de 100%, et pour l'hyperinsulinisme de 90.9%), ce qui explique l'obtention de corrélation négative obtenues entre le QUICKI_m d'une part et l'HOMA_m ou le SI_{1m} ou l'index de Bennett_(m) ou l'insulinémie d'autre part.

L'index SI₁, l'HOMA, l'index de Bennet et le QUICKI, sont des index qui ont été établis chez l'homme. Appleton *et al.*⁽⁶⁾ a comparé ces 4 index à l'index de sensibilité à l'insuline déterminé par la méthode de Bergman⁽¹⁴⁾ (méthode de référence) chez le chat et a mis en évidence que l'HOMA était le meilleur index de mesure simple de la sensibilité périphérique à l'insuline dans cette espèce.

La répartition des valeurs de l'index de SI_{1m} et de l' $HOMA_m$, après transformation, a suivi une loi normale permettant ainsi le calcul d'un $IC_{95\%}$ de 0.25-7.75 pour le SI_{1m} et de 0.35-9.46 pour l' $HOMA_m$. Les unités de l'insulinémie et de la glycémie utilisées pour le calcul de ces index varie d'une étude à l'autre rendant toute comparaison impossible.

Au bilan, les chiens du SG_1 , sont caractérisés par une insulinémie élevée qui peut correspondre à (Tableau XXIII) :

- une insulino-résistance débutante chez 4 chiens (n°7, 28, 30 et 60) caractérisée par une insulinémie relativement élevée mais restant inférieure à la limite supérieure, et une glycémie normale associées le plus souvent à un $HOMA_m$ augmenté, un SI_{1m} normal à augmenté, un index de $Bennett_{(m)}$ normal, ainsi qu'un $QUICKI_m$ relativement faible mais restant supérieur ou égal à la limite inférieure.
- une insulino-résistance avérée et compensée chez 7 chiens (n°5, 9, 13, 15, 34, 61, 68), caractérisée par un hyperinsulinisme associé à une glycémie normale. Les index SI_{1m} et $HOMA_m$ sont augmentés alors que le $QUICKI_m$ est diminué et l'index de $Bennett$ normal mais faible.
- une insulino-résistance avérée et décompensée chez 2 chiens (n°10 et 41), caractérisée par une hyperinsulinémie associée à une hyperglycémie ainsi qu'à des index de $Bennett_{(m)}$ et $QUICKI_m$ diminués, un $HOMA_m$ augmenté et un SI_{1m} normal à augmenté.
- une insulino-résistance décompensée par une diminution de l'hyperinsulinémie compensatoire chez 1 chien (n°75), caractérisée par une insulinémie normale et une hyperglycémie. Les index de $Bennett_{(m)}$ et $QUICKI_m$ sont normaux mais faibles, l' $HOMA_m$ est élevé et l'index SI_{1m} est normal.

SG	Altération du profil insulémique				
	Nature	Insulinémie (pmol/l)	Glycémie (mmol/l)	Index	Nombre de chien
1	<i>Insulino-résistance débutante</i>	élevée <25.02	normale	SI _{1m} normal ou >4.13 HOMA _m >5.11 Index de Bennett normal QUICKI _m faible	4 (n°7, 28, 30, 60)
	<i>Insulino-résistance avérée et compensée</i>	>25.02	normale	SI _{1m} >4.13 HOMA _m >5.11 Index de Bennett ≤ 0.95 QUICKI _m <0.48	7 (n°5, 9, 13, 15, 34, 61, 68)
	<i>Insulino-résistance avérée et décompensée</i>	>25.02	>6.37	SI _{1m} normal HOMA _m >5.11 Index de Bennett <0.95 QUICKI _m <0.48	2 (n°10, 41)
	<i>Insulino-résistance non compensée par une hyperinsulinémie</i>	normale	>6.37	SI _{1m} normal HOMA _m >5.11 Index de Bennett faible QUICKI _m faible	1 (n°75)
2	<i>Insulinopénie débutante</i>	Faible >6.22	normale	SI _{1m} <1.55 HOMA _m faible Index de Bennett normal QUICKI _m élevée	4 (n°2, 55, 56, 64)
	<i>Insulinopénie avérée compensée par une bonne insulinosensibilité</i>	<6.22	normale	SI _{1m} <1.55 HOMA _m <1.97 Index de Bennett élevé QUICKI _m >0.66	5 (n°22, 40, 59, 62, 72)
	<i>Insulinopénie avérée décompensée</i>	<6.22	>6.37	SI _{1m} <1.55 HOMA _m <1.97 Index de Bennett élevé QUICKI _m élevé	3 (n°42, 43, 74)
	<i>Insulinopénie débutante secondaire à une insulino-résistance</i>	faible	>6.37	SI _{1m} <1.55 HOMA _m faible Index de Bennett normal QUICKI _m normal	1 (n°65)
3	<i>Insulinosensibilité forte</i>	normale	<4.37	SI _{1m} normal à >1.55 HOMA _m normal à <1.97 Index de Bennett normal QUICKI _m normal	2 (n°17, 58)
	<i>Insulinosensibilité forte couplée à une insulinopénie</i>	<6.22	<4.37	SI _{1m} <1.55 HOMA _m <1.97 Index de Bennett >1.99 QUICKI _m >0.66	3 (n°48, 49, 51)
	<i>Insulinosensibilité forte couplée à un hyperinsulinisme</i>	>25.02	<4.37	SI _{1m} >1.55 HOMA _m élevé Index de Bennett normal QUICKI _m faible	2 (n° 23, 47)

Tableau XXIII : Nature et caractéristiques des différents profils d'altération de la boucle de régulation insuline/ glucose observée chez 32 chiens.

Parmi les chiens du SG₂, caractérisés par une insulïnémie faible, on peut considérer plusieurs cas de figures (Tableau XXIII):

- une insulïnopénie primaire débutante sur 4 chiens (n°2, 55, 56, 64), caractérisée par une insulïnémie normale mais faible associée à une glycémie normale, des index SI_m et HOMA_m diminués, un index de Bennett_(m) normal et un QUICKI_m relativement élevé.
- une insulïnopénie primaire avérée et compensée par une bonne sensibilité périphérique à l'insuline chez 5 chiens (n°22, 40, 59, 62, 72), caractérisée par une hypoinsulïnémie associée à une glycémie normale, se traduisant par des index SI_m et HOMA_m diminués, un QUICKI_m relativement élevé et un index de Bennett_(m) normal à augmenté.
- une insulïnopénie avérée décompensée chez 3 chiens (n°42, 43, 74), caractérisée par une diminution de l'insulïnémie couplée à une hyperglycémie, qui entraîne une chute du SI_{1m} et de l'HOMA_m, et des index de Bennett_(m) et QUICKI_m relativement élevés.
- une insulïnopénie débutante probablement secondaire à une insulino-résistance chez 1 chien (n°65), la glycémie étant anormalement élevée alors que l'insulïnémie est certes faible, mais normale. Dans ce cas, l'index SI_{1m} était diminué.

Les chiens du SG₃ caractérisés par une hypoglycémie, présentent une très bonne sensibilité périphérique à l'insuline isolée (chiens n°17 et 58), ou associée à un hyperinsulinisme (chiens n° 23 et 47). Cette dernière situation peut correspondre à une stimulation excessive de la sécrétion d'insuline par un stimulus insulino-sécréteur autre que le glucose, et en particulier les acides gras libres. En effet, les deux chiens présentant cette caractéristique étaient des chiens en surpoids, or le jeûne provoque, entre autre, un relargage d'acides gras libres dans le sang. On peut également envisager l'installation d'un insulïnome débutant ou d'une hyperplasie des îlots β pancréatiques, qui seraient responsables d'une production hormonale exagérée. Pour les chiens du SG₃ présentant un hypoinsulinisme couplé à une hypoglycémie (chiens n°48, 49, 51), la centrifugation des prélèvements sanguins n'a

pu être faite qu'entre 3 et 5 heures après le prélèvement. Bien que l'hypothèse d'une dégradation du glucose ne peut être retenue puisque la glycémie mesurée par réflectométrie était également diminuée, une sous-évaluation de l'insulinémie est à envisager (Tableau XXIII).

4. Profils insuliniques et critères épidémiologiques.

Au vue de l'ensemble des résultats présentés, il apparaît que plusieurs critères épidémiologiques sont significativement reliés à une ou plusieurs altérations de la boucle de régulation insuline/glucose.

Tous les chiens maigres ($n = 4$) ont présenté une altération de leur profil insulinique, 2 présentant une insulino-résistance compensée (chiens n°9 et 61), 1 une insulino-pénie débutante (chien n°2) et le quatrième (chien n°58) une insulinosensibilité forte isolée, leur déficit pondéral étant sans doute la conséquence d'un désordre métabolique. Les chiens en surpoids ont montré plus fréquemment que les chiens de conformation correcte, une insulinémie anormale ($p < 0.05$) et en particulier une augmentation de cette dernière ($p < 0.05$), associée à une augmentation du SI_{1m} ($p < 0.05$). De plus, ils ont tendance à présenter plus souvent que les autres une insulinémie ($p < 0.1$) et une glycémie ($p < 0.05$) diminuées. Ainsi, 75.0% des chiens en surpoids ont présenté une altération de leur profil insulinique ($p = 0.05$). Toutefois l'embonpoint ne semble pas affecter l'appartenance à un sous-groupe particulier, les chiens y étant répartis équitablement.

Cependant, l'augmentation de la fréquence des valeurs fortes du SI_{1m} chez ces chiens traduit l'existence d'un hyperinsulinisme secondaire à une insulino-résistance (15.0%) ou à une stimulation des îlots β pancréatiques indépendantes de la glycémie (10.0%). En effet, en raison des effets des adipokines et des acides gras libres sur la régulation de l'insulinémie (cf Partie I), la probabilité d'apparition d'un état d'insulino-résistance augmente lors d'obésité avérée ou en cours d'installation (surpoids). Néanmoins, plusieurs autres facteurs épidémiologiques (sexe,

alimentation, format, âge), qui, par ailleurs, concourent à l'instauration de cet état pathologique, affectent également la réponse périphérique à l'insuline probablement par les mêmes mécanismes moléculaires; il est donc possible qu'une insulino-résistance s'installe avant l'apparition d'une obésité patente. D'autre part, une obésité avérée peut également interférer avec la boucle de régulation glycémie/insuline en permettant l'installation d'une insulino-pénie de par les effets inhibiteurs de la leptine et des acides gras sur la sécrétion insulinaire et de par la destruction progressive des îlots endocriniens due en particulier à des phénomènes de lipotoxicité et de glucotoxicité. Cette dualité d'action de l'obésité sur la production insulinaire (développement d'une insulino-résistance suivie d'une décompensation par induction d'une insulino-pénie) peut expliquer l'absence de variations significatives de la glycémie moyenne ⁽¹¹³⁾ et ou de l'insulinémie moyenne chez les animaux obèses.

De même, dans la comparaison des travaux relatifs à l'influence de l'obésité sur la régulation insulinaire, il convient de prendre en considération les critères de définition des animaux obèses ainsi que la méthode statistique d'analyse. Dans la présente étude, le troisième lot constitué regroupait des chiens en surpoids et obèses dont la conformation générale analysée par inspection visuelle s'éloignait de celle d'animaux dont l'état d'embonpoint était réduit. Il existe d'autres méthodes d'appréciation de l'obésité (mesures morphométriques⁽¹⁸⁾, poids corporel relatif⁽¹⁸⁾, indice d'état corporel à cinq points⁽²²⁾, mesure échographique de la graisse sous-cutanée⁽⁴⁾) qui conduisent à une classification plus stricte des animaux (élimination d'une proportion relative d'animaux seulement en surpoids) et probablement une sous-estimation des cas d'insulino-résistance. Etant donné que le profil de production et de réponse insulinaire peut être altéré de deux manières opposées, et que la décompensation de l'insulino-résistance semble plus rapide chez le chien que chez l'homme⁽¹⁸⁾, il apparaît plus adapté de comparer la distribution des valeurs de la glycémie, de l'insulinémie et des différents index que de comparer les moyennes obtenues chez les individus obèses et normaux. Dans cette optique, le choix des seuils d'interprétation de la glycémie, de l'insulinémie, et des différents index influence grandement les possibilités d'interprétation, l'utilisation de seuils hautement discriminants compromettant une analyse de la répartition des valeurs

observées en diminuant le nombre de valeurs anormales. En revanche, la définition de valeurs limites moins sélectives, permet de mettre en évidence des différences significatives dans la distribution des données anormales en fonction des groupes d'animaux mais n'apporte pas de conclusion absolue en raison d'une plus grande fréquence de faux positifs ou de faux négatifs.

Les femelles présentent plus souvent des valeurs élevées d'insulinémie ($p < 0.1$) et des valeurs faibles du QUICKI_m ($p < 0.05$) alors que les mâles présentent moins souvent une altération de l'insulinémie ($p < 0.05$), de l'HOMA ($p < 0.1$) ou du QUICKI ($p < 0.1$). Bien que la répartition des femelles présentant au moins une anomalie ne soit pas significativement différente au sein des 3 sous-groupes constitués, on constate néanmoins que 55.9% (19/34) des femelles de l'étude présentent un profil susceptible d'évoluer vers un diabète sucré (SG₁ et SG₂) contre seulement 33.3% (8/24) des mâles. De plus, ces dernières présentent plus particulièrement un profil de type insulino-résistance (47.9% contre 27.3% des mâles) ou une insulinopénie avérée (7/8) alors que les mâles présentent plutôt une insulinémie faible associée à une glycémie normale (3/4). Cette analyse est en accord avec une étude de Guptill *et al.*⁽⁵⁶⁾ qui avait mis en évidence une augmentation nette de la prévalence du diabète sucré chez les femelles ($p < 0.001$). Etant donné les possibles interactions entre les stéroïdes sexuels et l'insuline, il aurait été intéressant de déterminer la période du cycle sexuel chez les femelles non stérilisées. En effet, Renauld A. *et al.*⁽¹²²⁾ ont montré que les oestrogènes étaient responsables, d'une part, d'une augmentation significative de la concentration en acides gras libres circulant, et d'autre part, d'une augmentation de l'insulino-résistance se traduisant par un retard de normalisation de la glycémie et une activité sécrétoire accrue des cellules β pancréatiques. L'insulino-résistance en période d'imprégnation oestrogénique (correspondant au pro-oestrus et à l'oestrus chez la chienne) serait donc secondaire à l'action inhibitrice des acides gras sur le signal insulinique des cellules périphériques (*cf* Partie I). De plus, en di-oestrus, la progestérone stimule la synthèse de l'hormone de croissance (GH)⁽⁷⁹⁾ qui inhibe la sécrétion d'insuline par le pancréas⁽⁹⁵⁾.

Bien que la stérilisation est influencée de manière significative les valeurs anormales de glycémie faibles comme fortes ($p < 0.05$), cette dernière n'a eu d'influence ni sur les autres composants du profil insulinaire, ni sur l'appartenance à un des sous-groupes. Ce fait est expliqué entre autre par la faible corrélation existante entre la glycémie et les index SI_{1m} , $HOMA_m$, de $Bennett_{(m)}$ et $QUICKI_m$, ces derniers étant beaucoup plus sensibles aux variations de l'insulinémie.

La fréquence des valeurs anormales et en particulier des valeurs faibles de l'index de $Bennett_{(m)}$, caractérisant une insulino-résistance avérée, est apparue augmentée chez les jeunes adultes (4 à 7 ans) ($p < 0.1$) alors que curieusement ces derniers sont principalement rencontrés dans le SG_2 ($p < 0.1$) caractérisé par une insulinopénie.

Le format et, de façon indirecte, la race, semblent associées à l'existence d'un profil altéré, les anomalies biochimiques étant plus fréquentes chez les petits et moyens formats. En effet, les pourcentages de petits et moyens formats ont tendance à présenter plus souvent que les grands des valeurs anormales de l'index SI_{1m} ($p < 0.1$), ainsi que des faibles valeurs de $QUICKI_m$ ($p < 0.05$). De plus, les chiens de grand format semblent avoir une meilleure sensibilité périphérique à l'insuline puisque 20.0% (5/25) d'entre eux appartiennent au SG_3 contre seulement 9.1% (2/22) des chiens de moyen format et 0.0% (0/11) des chiens de petit format ($p < 0.1$). Bien que le faible nombre de représentants dans chaque race ne permette pas de conclure en l'existence d'une éventuelle prédisposition génétique à une sensibilité cellulaire accrue à l'insuline, il est à noter que 3 chiens sur 7 de la famille des Retriever (Golden et Labrador) ayant participé à cette étude, appartiennent au SG_3 . Ce fait est en accord avec une étude rétrospective portant sur l'épidémiologie du diabète sucré ⁽⁵⁶⁾, au cours de laquelle, l'existence de races "résistantes" au diabète sucré a été mise en évidence et dont le Labrador et le Golden Retriever font partie.

Les chiens nourris avec des aliments du commerce ont présenté bien plus souvent une altération du profil insulinaire (20/32 soit 62.5%) que les chiens nourris avec un aliment vétérinaire (1/7 soit 14.3%) ($p < 0.05$), associée à des valeurs anormales de

glycémie et d'index SI_{1m} ($p < 0.1$). De même, les chiens nourris avec de la viande crue ont présenté plus souvent une altération du SI_{1m} que ceux alimentés avec un produit vétérinaire ($p < 0.1$) et appartiennent majoritairement au SG_2 (66.7%) ($p < 0.1$). Comme, les chiens recevant de la viande crue ne sont nourris qu'une seule fois par semaine, ceci peut expliquer la faible insulïnémie. Toutefois, ces derniers vivaient tous en chenil et ont été qualifiés d'actifs permanents (chiens de chasse à courre). Ainsi, il est difficile de dissocier l'influence d'un critère épidémiologique particulier pour ce type de chien. Bien qu'aucun effet significatif n'ait été mis en évidence, la distribution des aliments du commerce semble favoriser l'émergence d'un profil de type insulino-résistance (28.1% des chiens recevant ce type d'alimentation appartiennent au SG_1). Ce phénomène ne peut s'expliquer par la composition moyenne en matières grasses des aliments qui est similaire d'un aliment à l'autre (en général entre 11 et 14% de la matière sèche), mais sans doute par la nature même des acides gras présents.

Les animaux actifs ont présenté plus souvent que les animaux sédentaires des fréquences faibles de l'HOMA ($p < 0.1$), traduisant une meilleure sensibilité à l'insuline chez ces derniers. De plus, la composition des sous-groupes en fonction de l'activité des chiens s'est avérée significativement différente, les chiens actifs (saisonniers ou permanent) étant majoritairement (58.8%) dans le SG_2 ($p < 0.05$) et les chiens sédentaires (52.9%) dans le SG_1 . Il apparaît par conséquent que l'absence d'exercice favoriserait la mise en place d'une insulino-résistance comme chez l'homme ^(60, 100). La réduction de l'activité musculaire conduit à une plus faible utilisation périphérique du glucose à des fins énergétiques et donc à un stockage de ce dernier sous forme de triacylglycérol, favorisant ainsi la mise en place d'une hyperlipidémie responsable d'une insulino-résistance (*cf* Partie I). Il est également probable que l'absence de différence nette entre les animaux sédentaires et les autres résulte du fait que l'activité physique quotidienne tel que les jeux, promenades, etc., n'a pas été prise en compte. De plus, les animaux qualifiés d'actifs saisonniers ont été pour la plupart prélevés en période de repos, s'apparentant d'avantage à la sédentarité.

Bien que les chiens présentant une anomalie du profil insulinique vivant en chenil appartiennent majoritairement (66.7%) au SG₂ ($p < 0.1$), aucune altération significative de l'un des paramètres biochimiques n'a été mise en évidence chez ces derniers. L'appartenance à ce sous-groupe est très certainement liée au fait que tous les chiens de l'étude vivant en chenil pratiquaient une activité physique (chiens de chasse) et étaient nourris avec de la viande crue, il est donc difficile de dissocier l'habitat de l'influence de l'activité physique ou de celle de l'alimentation pour cette catégorie.

Conclusion

La régulation de l'insulinémie, ainsi que ses effets sur les cellules périphériques, sont intimement liés au métabolisme énergétique, en particulier à celui du glucose, et au métabolisme lipidique. L'obésité chez le chien est responsable de nombreux bouleversements métaboliques et physiologiques influençant de manière non négligeable sur la régulation de l'insulinémie. En effet, l'état inflammatoire chronique qui s'installe lors de sur-abondance du tissu graisseux, ainsi que l'hyperlipidémie et l'hyperleptinémie qui lui sont associées, sont responsables du développement à la fois d'une insulino-résistance périphérique à l'insuline, et d'une diminution de la synthèse et de la sécrétion d'insuline par le pancréas, modifications responsables à terme de la mise en place du diabète sucré.

Les altérations du profil insulinique établies sur la base de la détermination conjointes de la glycémie et de l'insulinémie basales et le calcul des index SI_{1m} , $HOMA_m$, de $Bennett_{(m)}$ et $QUICKI_m$ chez 58 chiens, apparaissent plus fréquentes chez les chiens en surpoids que chez ceux de conformation normale. Les situations d'insulino-résistance (caractérisées par une insulinémie modérément ou nettement élevée associée à une glycémie normale ou augmentée, et/ou des index SI_{1m} et $HOMA_m$ augmentés et/ou des index de $Bennett_{(m)}$ et $QUICKI_m$ faibles mais plus rarement) seraient majoritairement observées dans cette catégorie de chiens et sont associées à d'autres facteurs épidémiologiques tels que le sexe (femelle), le format (moyen et petit), l'alimentation (aliment du commerce), l'activité (sédentarité). Cependant, une insulino-pénie primaire ou secondaire à une insulino-résistance peut aussi être mise en évidence (diminution de l'insulinémie alors que la glycémie reste normale ou augmente, et/ou diminution des index SI_{1m} et $HOMA_m$ et/ou augmentation possible des index de $Bennett_{(m)}$ et $QUICKI_m$) chez les animaux en surpoids. Ce deuxième type d'altération majeure ainsi que les cas d'insulino-sensibilité accrue sont néanmoins plutôt observés chez des animaux de conformation normale, de grand format, et actifs.

La coexistence des deux profils anormaux majeurs chez les chiens en surpoids résulte probablement des effets biphasiques d'une obésité débutante ou avérée sur la boucle de régulation insulinoémie/glycémie conduisant initialement à une insulino-résistance due à une utilisation privilégiée des acides gras libres au détriment du glucose et à la réorientation des métabolismes hépatiques et musculaires vers la production endogène de l'hexose, et secondairement à une inhibition de la production insulinaire par les adipokines, la leptine et les acides gras ainsi que la mise en place de phénomènes de glucotoxicité et lipotoxicité. Toutefois, la difficulté d'établir nettement dans les différentes études la présence d'une insulino-résistance chez les chiens diabétiques en surpoids ou non suggère que cet état se compliquerait plus rapidement que chez l'homme par une insulinopénie plutôt que l'émergence directe d'un diabète sucré de type II.

AGREMENT ADMINISTRATIF

Je soussigné, A. MILON, Directeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, certifie que

Mlle PONS Emmanuelle, Anne

a été admis(e) sur concours en : 2002

a obtenu son certificat de fin de scolarité le : 14 Juin 2007

n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

Je soussignée, Lydie BRET-BENNIS, Maître de Conférences de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,

autorise la soutenance de la thèse de :

Mlle PONS Emmanuelle, Anne


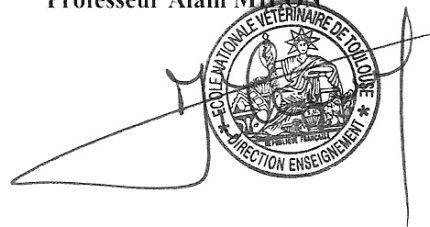
intitulée :

« Influence de l'obésité sur l'insulinémie chez le chien sain. Etude expérimentale »

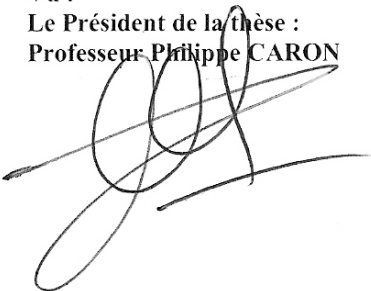
**Le Professeur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Docteur Lydie BRET-BENNIS**



**Vu :
Le Directeur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Professeur Alain MILON**



**Vu :
Le Président de la thèse :
Professeur Philippe CARON**



**Vu le : 10 DEC. 2008
Le Président
de l'Université Paul Sabatier
Professeur Gilles FOURTANIER**



Bibliographie

1. **ALAIN P.** : Médicaments et messagers. In: Les médicaments : CdM Editions, 2000, p. 53-262.
2. **ALLAIN P.** : Hormones d'origine digestive.(Page consultée le 1 août 2007). Site de Pharmacorama- Connaissance des médicaments, [en ligne]. Adresse URL : http://www.pharmacorama.com/Rubriques/Output/Glycemia5_1.php
3. **ANDERSEN H.U., MAURICIO D., KARLSEN A.E., MANDRUP-POULSEN T., NIELSEN J.H., NERUP J.** : Interleukin-1 beta-induced nitric oxide production from isolated rat islets is modulated by D-glucose and 3-isobutyl-1-methyl xanthine, *Eur.J. Endocrinol.*, 1996, **134**: 251-259.
4. **ANDERSON J.W., CORBIN JE.** : Estimation of body fat in mature beagles bitches, *Leb. Anim. Sci.*, 1982, **32**: 367-370.
5. **ANDERSON R.L., HAMMAN R.F., SAVAGE P.J., SAAD M.F., LAWS A., KADES W.W., SANDS R.E., CEFALU W.** : A brief original contribution : Exploration of simple insulin sensitivity measures derived from frequently sampled intravenous glucose tolerance (FSIGT) tests • The insulin resistance atherosclerosis study, *Am. J. Epidemiol.*, 1995, **142**: 724-732.
6. **APPLETON D.J., RAND J.S., SUNVOLD G.D.** : Basal plasma insulin and homeostasis model assessment (HOMA) are indicators of insulin sensitivity in cats, *J. Fel. Med. Surg.*, 2005, **7**: 183-193.
7. **AUBERT R.** : Adipokines : rôle dans l'obésité et l'insulinorésistance, *Oléagineux, Corps gras, Lipides*, 2003, **10**: 131-134.
8. **BACKER J.M., SHOELSON S.E., HARING E., WHITE M.F.** : Insulin receptors internalize by a rapid, saturable pathway requiring receptor autophosphorylation and an intact juxtamembrane region, *J. Cell. Biol.*, 1991, **115**: 1535-1545.
9. **BAILHACHE E., OUGUERRAM K., GAYET C., KREMPF M., SILIART B., MAGOT T., NGUYEN P.** : An insulin-resistant hypertriglyceridaemic normotensive obese dog model : assessment of insulin resistance by the euglycaemic hyperinsulinaemic clamp in combinaison with the stable isotope technique, *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, 2003, **87**: 86-95.
10. **BAILHACHE E., NGUYEN P., KREMPF M., SILIART B., MAGOT T., OUGUERRAM K.** : Lipoproteins abnormalities in obese insulin-resistant dogs, *Metabolism*, 2003, **52**: 559-564.
11. **BANKS W.A., NIEHOFF M.L., MARTIN D., FARRELL C.L.** : Leptin transport across the blood-brain barrier of the Koletsky rat is not mediated by a product of the leptin receptor gene, *Brain Res.*, 2002, **950**: 130-136
12. **BARONE R.** : Anatomie comparée des mammifères domestiques, tome 3. Splanchnologie 1 : appareil digestif et appareil respiratoire. Paris : Vigot Frère, 1996, 879 p.

13. **BENZI L., CICCARONE A.M., CECCHETTI P., DICIANNI G., CARICATO F., TRINCAVELLI L., VOLPE L., NAVALESI R.** : Intracellular hyperinsulinism: a metabolic characteristic of obesity with and without type 2 diabetes Intracellular insulin in obesity and Type 2 diabetes, *Diab. Res. Clin. Pract.*,1999, **46**: 231-237.
14. **BERGMAN R.N., IDER Y.Z., BOWDEN C.R., COBELLI C.** : Quantitative estimation of insulin sensitivity, *Am. J. Physiol.*, 1979, **236**: E667-E677.
15. **BETTY A., GOLDFINE I.D.** : Evidence that insulin plus atATP may induce a conformational change in the beta subunit of the insulin receptor without inducing receptor autophosphorylation. *J. Biol. Chem.*, 1991, **266**: 6731-673.
16. **BRAUN J.P.** : Biochimie des glucides. 2^{ème} édition. Toulouse: ENVT, Département des Sciences Biologiques et Fonctionnelles, UP Physique et Chimie Biologiques et Médicales, 2002, 205 p.
17. **BRET-BENNIS L.** : Les lipides. 2002-2003. Toulouse: ENVT, Département des Sciences Biologiques et Fonctionnelles, UP Physique et Chimie Biologiques et Médicales, 2002.
18. **CAILLOUX G.** : Influence de l'obésité dans l'évolution du diabète sucré chez le chien : étude bibliographique. Th. D. Med. vet. : Toulouse, ENVT: 2005-TOU 3, 4078, p. 168.
19. **CAMPBELL S.C., MACFARLANE W.M.** : Regulation of the pdx1 gene promoteur in pancreatic β -cells, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*,2002, **299**: 277-284
20. **CAPEAU J.** : Voies de signalisation de l'insuline: mécanismes affectés dans l'insulino-résistance, *Med. Sci.*, 2003, **19**: 834-839.
21. **CARPENTER L., CORDERY D., BIDEN T.J.** : protein kinase cd activation by interleukin-1b stabilizes inducible nitric-oxide synthase mrna in pancreatic β -cells, *J. Biol. Chem.*, 2001, **276**: 5368-5374.
22. **CASE L.P., CAREY D.P., HIRAKAWA D.A., DARISTOTLE L.** : Chapter 26 : Obesity, In: Canine and Feline Nutrition, A Resource for Companion Animal Professionals. 2nd édition. Missouri : Mosby, Inc., 2000, p. 303-344.
23. **CHEN H.** : Cellular inflammatory responses : Novel insights for obesity and insulin resistance, *Pharmacol. Res.*, 2006, **53**: 469-477.
24. **CHERRINGTON A.D., SINDELAR D., EDGERTON D., STEINER K., MCGUINNESS O.P.** : Physiological consequences of phasic insulin release in the normal animal, *Diabetes*, 2002, S103-108.
25. **CHIKAMUNE T., KATAMOTO H., OHASHI F., SHIMADA Y.** : Serum Lipid and Lipoprotein Concentrations in Obese Dogs, *J. Vet. Med. Sci.*, 1995, **57**: 595-598
26. **CIFTCI I., DILSIZ A., AKTAN T.M., GÜRBILEK M., DUMAN S.** : Effects of nitric oxide synthase inhibition on intestinal damage in rats with experimental necrotizing enterocolitis, *Eur. J. Pediat. Surg.*, 2004, **14**: 398-403.
27. **CIVAN M.M., PETERSON-YANTORNO K., ÓBRIEN T.G.** : Insulin and phorbol ester stimulate conductive Na⁺ transport through a common pathway, *Physiol. Sci.*, 1988, **85**: 963-967;

28. **CORTIE C.** : L'IAPP (Islet Amyloid Poly Peptide) et les fibres amyloïdes.(page consulté le 4 octobre 2007).[pdf]. Connaître - Découvrir - Créer, Le site du Dr Raynal R, scientifique, professeur, Dr de l'université de Toulouse. Adresse URL : <http://www.exobiologie.info/diabete/16IAPP.pdf>.
29. **CRIDDLE D.N., GERASIMENKO J.V., BAUMGARTNER H.K., JAFFAR M., VORONINA S., SUTTON R., PETERSEN O.H., GERASIMENKO O.V.** : Calcium signalling and pancreatic cell death: apoptosis or necrosis ? *Cell. Death Different.*, 2007, **14**: 1285-1294
30. **DAVISON L.J., RISTIC J.M.E., HERRTAGE M.E., RAMSEY I.K., CATCHPOLE B.** : Anti-insulin antibodies in dogs with naturally occurring diabetes mellitus, *Vet. Immunol. Immunopath.*, 2003, **91**: 53-60
31. **DE MEYTS P.** : Le récepteur à l'insuline : Structure et fonction, *Rev. Med. Liege* 60: 286-290, 2005.
32. **DICOSTANZO C.A., MOORE M.C., LAUTZ M., SCOTT M., FARMER B., EVERETT C.A., STILL J.G., HIGGINS A., CHERRINGTON A.D.** : Simulated first-phase insuline release using Humulin, or insulin analog HIM2 is associated with prolonged improvement in postprandial glycemia, *Am. J. Physiol. - Endocrinol. Metab.*, 2005, **289**: 46-52.
33. **DIEZ M., ISTASSE L.** : Fibres alimentaires chez le chien : Intérêt dans le traitement diététique de l'animal obèse, *Ann. Méd. Vét.*, 1997, **141**: 437-436
34. **DIEZ M., NGUYEN P.** : Obésité : épidémiologie, physiologie et prise en charge du chien obèse, *In: Encyclopedie de la nutrition clinique canine*. Aimargues: Royal Canin, 2006, p. 2-57.
35. **DIJKERS P.F., MEDEMA R.H., PALS C., BANERJI L., THOMAS N.S.B., LAM E.W.F., BURGERING B.M.T., RAAIJMAKERS J.A.M., LAMMERS J.W.J., KOENDERMAN L., COFFER P.J.** : Forkhead transcription factor FKHR-L1 modulates cytokine-dependent transcriptional regulation of p27^{KIP1}, *Mol. Cell. Biol.*, 2000, **20**: 9138-9148.
36. **DUCKWORTH W.C., BENNETT R.G., HAMEL F.G.** : Insulin Degradation : Progress and Potential, *End. Rev.*, 1998, **19**: 608-624.
37. **EBINA Y., ARAKI E., TAIRA M., SHIMADA F., MORI M., CRAIK C.S., SIDDLE K., PIERCE S.B., ROTH R.A., RUTTER W.J.** : Replacement of lysine residue 1030 in the putative ATP-binding region of the insulin receptor abolishes insulin- and antibody-stimulated glucose uptake and receptor kinase activity, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1987, **84**: 704-708.
38. **EDNEY A.T., SMITH P.M.** : Study of obesity in dogs visiting veterinary practices in the United Kingdom, *Vet. Rec.*, 1986, **118**: 391-396.
39. **EL-TAYEB K.M., BRUBAKER P.L., LICKLEY H.L.A., COOK E., VRANIC M.** : Effect of opiate-receptor blockade on normoglycemic and hypoglycemic glucoregulation, *Am. J. Physiol.*, 1986, **250**: E236-242.
40. **ELLMERER M., HAMILTON-WESSLER M., KIM S.P., HUECKING K., KIRKMAN E., CHIU J., RICHEY J., BERGMAN R.N.** : Reduced access to insulin-

sensitive tissues in dogs with obesity secondary to increased fat intake, *Diabetes*, 2006, **55**: 1769-1775.

41. **ELSASSER TH, KLASING KC, FILIPOV N, THOMPSON F.** : The Metabolic Consequences of Stress: Targets for Stress and Priorities of Nutrient Use, In: **MOBERG G., MENCH J.**, The Biology of animal stress: Basic principles and implications for animal welfare, New York: CAB International, 2000, 77-110.

42. **FEVE B., BASTARD J.P., VIDAL H.** : Les relations entre obésité, inflammation et insulino-résistance : acquisitions récentes, *Comp. Rend. Biol.*, 2006, **329**: 587-597

43. **FLEEMAN L.** : What causes diabetes in dogs ? In: Cour de T1 pro2006, Toulouse, France, Septembre 2006, Toulouse : ENVT, 2006

44. **GAILLARD O.** : Profils immunoanalytiques en biologie clinique. Interleukine 6 (IL-6), *Immuno. Biol. Spe.*, 2002, **17**: 140-142

45. **GASIC S., BING T., GREEN A.** : Tumor necrosis factor alpha stimulates lipolysis in adipocytes by decreasing gi protein concentrations, *J. Biol. Chem.*, 1999, **274**: 6770-6775.

46. **GAYET C., BAILHACHE E., DUMON H.** : Insuline resistance and changes in plasma concentration of TNF α , IGF1 and NEFA in dogs during weight gain and obesity, *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, 2004, **88**: 157-165

47. **GAYRARD M.** : Le pancréas endocrine. In: Cours de physiologie, France, décembre 2003, Toulouse : ENVT, 2003.

48. **GILON P., RAVIER M.A., JONAS J.C., HENQUIN J.C.**: Control mechanisms of oscillations of insulin secretion *in vitro* and *in vivo*, *Diabetes*, 2002, **51**: 144-151.

49. **GIRARD J.** : Rôle des acides gras libres dans la sécrétion et l'action de l'insuline : mécanismes de la lipotoxicité, *Med. Sci.*, 2003, **19**: 827-833

50. **GIROG C.** : Le pancréas endocrine. In: Introduction à l'étude des glandes endocrines, Lyon: Simep, 1980, p. 301-356

51. **GOODGE KA, HUTTON JC.** : Translational regulation of proinsulin biosynthesis and proinsulin conversion in the pancreatic β -cell. In: Seminars in Cell and Developmental Biology, Volume 11, Nombre 4, Août 2000, Academic Press, 2000, p. 235-242.

52. **GOTO M., YOSHIOKA T., BATTELINO T., RAVINDRANATH T., ZELLER W.P.** : TNF α decreases gluconeogenesis in hepatocytes isolated from 10-day-old rats, *Pedi. Res.*, 2001, **49**: 552-557.

53. **GREMLICH S., BONNY C., WAEBER G., THORENS B.** : Fatty acids decrease IDX-1 expression in rat pancreatic islets and reduce GLUT2, Glucokinase, Insulin, and Somatostatin levels, *J. Biol. Chem.*, 1997, **272**: 30261-30269.

54. **GRILLASCA J.P.** : SPOT14, clonage, séquençage et localisation du gène humain, expression et implications physiopathologiques. Etude des régulations nutritionnelles chez le rongeur. Elaboration de Little Kevin et de SPAC, deux programmes capables d'identifier des protéines à partir de leur composition en

acides aminés. Th. : Université d'Aix-Marseille III, Faculté des sciences et techniques de Saint-Jérôme, 1997, p. 130.

55. **GUIDOTTI G.G., BORGHETTI A.F., GAZZOLA G.C., TRAMACERE M., DALL'ASTA V.** : Insulin Regulation of Amino Acid Transport in Mesenchymal Cells from Avian and Mammalian Tissues, *Biochem. J.*, 1976, **160**: 281-286

56. **GUPTILL L., GLICKMAN L., GLICKMAN N.** : Time Trends and Risk Factor for Diabetes Mellitus in Dogs: Analysis of Veterinary Medical Data Base Records (1970-1999), *Vet. J.*, 2003, **165**: 240-247.

57. **HAMILTON-WESSLER M.H., ADER M., DEA M.K., MOORE D., LOFTAGER M., MARKUSSEN J., BERGMAN R.N.** : Mode of transcapillary transport of insulin and insulin analog NN304 in dog hindlimb : Evidence for passive diffusion, *Diabetes*, 2002, **52**: 582-574.

58. **HANSEN K.** : Oscillations in the blood sugar of fasting normal persons, *Acta. Med. Stand.*, 1923, **Suppl 4**: 27-58

59. **HAULOT J.P.** : Physiopathologie du diabète de type II. (page visité le 4 avril 2007). [ppt]. In: Journée de l'APRHOC, Tulle, France, 2006. Adresse URL : <http://adiph.org/aprhoc/Tulle2006/diabetedetypeII/PhysiopathologieduDIIPpt>.

60. **HAYS N., GALASSETTI P., COKER R.** : Prevention and treatment of type 2 diabetes: Current role of lifestyle, natural product, and pharmacological interventions, *Pharmacol. Ther.*, 2008, **118**: 181-191.

61. **HERRERO RODRÌGUEZ L.** : Implication of long-chain fatty acids in glucose-induced insulin secretion in the pancreatic β -cell. Th : Biomedecine : Barcelone, Université de Barcelone, Faculté de Pharmacie : 2004 ; B.4348-2005 / 84-689-0297-7

62. **HIRIART M., VIDALTAMAYO R., SANCHEZ-SOTO C., et al.** : Autocrine regulation of Insuline Secretion by NGF, *Diabetes Res. Clin. Pract.*, 2000, **50**: 152

63. **HOENIG M.** : Comparative aspects of diabetes mellitus in dogs and cats, *Mol. Cell. Endocrinol.*, 2002, **197**: 221-229.

64. **HOFFMAN R., VALENCIA A.**: A gene network for navigating the literature. *Nat. Genet.*, 2004, **36**: 664-664

65. **HOUPPT K.A., COREN B., HINTZ H.F., HILDERBRANT J.E.** : Effect of sex and reproductive status on sucrose preference, food intake, and body weight of dogs, *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1979, **174**: 1083-1085.

66. **HØY M., MAECHILER P., EFANOV A.M., WOLLHEIM C.B., BERGGREN P., GROMADA J.** : Increase in cellular glutamate levels stimulates exocytosis in pancreatic β -cells, *FEBS lett.*, 2002, **531**: 199-203.

67. **HSU S.Y., KAIPIA A., ZHU L., HSUEH A. J. W.** : Interference of BAD (Bcl-xL/Bcl-2-associated death promoter)-induced apoptosis in mammalian cells by 14-3-3 isoforms and P11, *Mol. Endocrinol.*, 1997, **11**: 1858-1867.

68. **IDELMAN S., VERDETTI J.** : Chapitre 7 : Le pancréas endocrine, In: IDELMAN S., VERDETTI J., *Endocrinologie et communications cellulaires*, Les Ulis: EDP science, 2000, 277-327.

69. **INTERVET SANTE ANIMALE.**(page consulté le 15 juillet 2007). [en ligne]. Le premier site vétérinaire dédié à l'insulinothérapie du chien et du chat. Adresse URL: <http://www.caninsulin.fr/>.
70. **ISSAB GT.** : Le récepteur de l'insuline et sa régulation (Groupe Tarik Issad). (page consultée le 15 août 2007). Site de l'Institut Cochin, Unité mixte de recherche de l'INSERM (Unité 567), du CNRS (UMR 8104) et de l'université Paris 5 René Descartes (UM3). [en ligne]. Adresse URL : http://institut.cochin.inserm.fr/rubric_recherche/I18NFolder.2004-06-14.2029605042/biologie_cellulaire/copy2_of_copy_of_copy_of_I18NFolder.2004-07-01.7394078607/i18nfolder.2007-05-16.9981324013/i18nfolder.2007-05-163118242054/plonearticle.2007-05-16.9566513646/fr.
71. **JEUSETTE I.** : Contribution à l'étude de l'obésité et du métabolisme lipidique chez le chien : relations entre les traitements nutritionnels, la perte de poids et les paramètres sanguins. Th. : Médecine vétérinaire : Liège, Faculté de Médecine vétérinaire, Université de Liège : 2004 .
72. **JEUSETTE I., ISTASSE L., DIEZ M.** : Métabolisme lipidique et hyperlipémie chez le chien, *Ann. Méd. Vét.*, 2004, **148**: 79-89.
73. **JUHL K., EFANOV A.M., OLSEN H.L., GROMADA J.** : Secretory phospholipase A₂ is released from pancreatic β -cells and stimulates insulin secretion via inhibition of ATP-dependent K⁺ channels, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 2003, **310**: 274-279.
74. **KANEKO J.J.** : Carbohydrate metabolism and its diseases, *In*: Clinical biochemistry of domestic animals, San Diego : Academic, 1989, p. 44-85.
75. **KARLSSON E., STRIDSBERG M., SANDLERS S.** : Leptin regulation of islet amyloid polypeptide secretion from mouse pancreatic islets, *Biochem. Pharmacol.*, 1998, **56**: 1339-1346.
76. **KATZ A., NAMBI S.S., MATHER K., BARON A.D., FOLLMANN D.A., SULLIVAN G., QUON M.J.** : Quantitative insulin sensitivity check index : a simple accurate method for assessing insulin sensitivity in humans, *J. Clin. Endocrinol. Metabol.*, 2000, **85**: 2402-2410.
77. **KILDGAARD J., ZSIGMOND E., CHAN L., WETSEL R.** : A critical evaluation of the putative role of C3adesArg (ASP) in lipid metabolism and hyperapobetalipoproteinemia, *Mol. Immunol.*, 1999, **36**: 869-876.
78. **KIM K.H., LEE K., MOON Y.S., SUL H.S.** : A Cysteine Rich Adipose Tissue Specific Secretory Factor Inhibits Adipocyte Differentiation, *J. Bioll. Chem.*, 2001, **276**: 11252-11256.
79. **KOOISTRA H.A., OKKENS A.C.** : Secretion of prolactin and growth hormone in relation to ovarian activity in the dog, *Reprod. Domest. Anim.*, 2001, **36**: 115-119.
80. **KWOK S.C.M., CHAN S.J., STEINER D.F.** : Cloning and nucleotide sequence analysis of the dog insulin gene. Coded amino acid sequence of canine preproinsulin predicts an additional C- peptide fragment, *J. Biol. Chem.*, 1983, **258**: 2357-2363.
81. **LANGIN D.** : Nouvelles pistes dans l'étude de la lipolyse adipocytaire chez l'homme. *In* : Journées Annuelles de Diabétologie de l'Hôtel-Dieu, Paris, France, 2001. Adresse URL : <http://journes.hotel-dieu.com/medias/Chap12.pdf>.

82. **LARDINOIS C.K.** : The role of omega 3 fatty acids on insulin secretion and insulin sensitivity, *Medi. Hypoth.*, 1987, **24**: 243-248.
83. **LAUTRETTE C.** : Etude du récepteur pro-apoptotique Fas dans des cellules neuronales et lymphocytaires T humaines, Th. : Science de la Vie et de la Santé : Limoges, Faculté de Science : 2003 ; n°8-2003.
84. **LDH, LABORATOIRE DES DOSAGES HORMONAUX** : Valeurs usuelles utilisées pour les interprétations.(page consultée le 6 juillet 2007). Site de l'Ecole nationale Vétérinaire de Nantes, Endocrinologie-Maldigestion, [en ligne]. Adresse URL : http://www.vet-nantes.fr/crap/html/ldh/valeurs_usuelles5.php
85. **LEE C., HUXLEY R.R., WILDMAN R.P., WOODWARD M.** : Indices of abdominal obesity are better discriminators of cardiovascular risk factors than BMI : a meta-analysis, *J. Clin. Epidemiol.*, 2008, **61**: 646-653.
86. **LEIBIGER I., LEIBIGER B., BERGGREN P.O.** : Insulin feedback action on pancreatic β -cell function, *FEBS Lett.*, 2002, **532**: 1-6.
87. **LEMAIGRE F., DURVIAUX S.M., TRUONG O., LANNOY V.J., HSUAN J.J., ROUSSEAU G.G.** : Hepatocyte nuclear factor 6, a transcription factor that contains a novel type of homeodomain and a single cut domain, *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)*, 1996, **93**: 9460-9464.
88. **LEROUX G, GUETTA F, TUAL-VAURS C.** : Guide des analyses vétérinaires, France : Vet-France, 2005, 231 p.
89. **LODISH H., BERK A., MATSUDAIRA P., KAISER C.A., KRIEGER M., SCOTT M.P., DARNELL J., MASSON P.L., ZIPURSKY S.L.** : Chapitre 16 : Transfert des protéines dans les membranes et les organites. In: Biologie moléculaire de la cellule, De Boeck Université, 2005, p. 657-700.
90. **LUZI L., DEFRONZO R.A.** : Effect of loss of first-phase insulin secretion on hepatic glucose production and tissue glucose disposal in humans, *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 1989, **257**: E241-E246.
91. **MAGNAN C., KTORZA A.** : Production et sécrétion de l'insuline par la cellule β pancréatique, *EMC-Endocrinol.*, 2005, **2**: 241-264.
92. **MALAISSÉ W.J.** : Metabolic factors Influencing Synthesis and secretion of Pancreatic Islet Hormone. In: SAMOLS E., The Endocrine Pancreas, New York: Raven Press Ltd, 1991, p. 73-92
93. **MANDRUP-POULSEN T.** : Apoptotic signal transduction pathways in diabetes, *Biochem. Pharmacol.*, 2003, **66**: 1433-1440.
94. **MARTIN L.J., SILIART B., DUMON H.J., NGUYEN P.G.** : Hormonal disturbances associated with obesity in dogs, *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, 2006, **90**: 355-360.
95. **MARTIN P.A., CRUMP M.H.** : The Endocrine Pancreas. In: PINEDA M., DOOLEY M.P., McDonald's Veterinary endocrinology and reproduction , 5^{ème} édition, Iowa : Iowa State University Press, 2003, 141-163.

96. MASSABUAU P., VERWAERDE P., GALINIER M., FOURCADE J., ROUGÉ P., GALITZKY J., SENARD J.M., BERLAN M., BOUNHOURE J.P., MONTASTRUC J.L. : Left ventricular repercussion of obesity-induced arterial hypertension in the dog, *Arch. Mal. Coeur Vaiss.*, 1997, **90**: 1033-1035.
97. MATTHEWS D.R., HOSKER J.P., RUDENSKI A.S., NAYLOR B.A., TREACHER D.F., TURNER R.C. : Homeostasis model assessment : insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man, *Diabetologia*, 1985, **28**: 412-419.
98. MCGREEVY PD, THOMSON PC, PRIDE C, FAWCETT A., GRASSI T, JONES B. : Prevalence of obesity in dogs examined by Australian veterinary practices and the risk factors involved, *Vet. Rec.*, 2005, **156**: 695-702.
99. MILLAR C., MEERLOO T., MARTIN S., HICKSON G., SHIMWELL N., WAKELAM M., JAMES D., GOULD G. : Adipsin and the glucose transporter GLUT4 traffic to the cell surface via independent pathways in adipocytes, *Traffic*, 2000, **1**: 141-151.
100. MOLLET E. : Activité physique, diabète et autres facteurs de risque cardiovasculaire. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), *Traité de Médecine Akos*, 6-0628, 2006, *Kinésithérapie-Médecine physique-Réadaptation*, 2007, 26-203-A-210.
101. MONNEREAU L. : Partie 3: Pancréas. In: Les glandes annexes de l'intestin des mammifères domestiques : le foie et le pancréas, Toulouse : ENVT, 2002, p. 23-27.
102. MORA M.E.V., SCARFONE A., CALVANI M., GRECO A.V., MINGRONE G. : Insulin clearance in obesity, *J. Am. Coll. Nutri.*, 2003, **22**: 487-493.
103. MORAILLON R., LEGEAY Y. : Dictionnaire Pratique de Thérapeutique Canine et Féline, 5^{ème} édition., Paris: Masson, 2004, 628 p.
104. MUKHERJEE C., JUNGAS R.L. : Activation of pyruvate deshydrogenase in adipose tissue by insulin. Evidence for an effect of insulin on pyruvate deshydrogenase phosphate phosphatase, *Biochem. J.*, 1975, **148**: 229-235.
105. MUZUMDAR R.H., MA X., YANG X., ATZMON G., BARZILAI N. : Central resistance to the inhibitory effects of leptin on stimulated insulin secretion with aging, *Neurobiol. Aging*, 2005, **27**: 1308-1314.
106. NAGATA Y., TODOKORO K. : Requirement of activation of JNK and p38 for environmental stress-induced erythroid differentiation and apoptosis and of inhibition of ERK for apoptosis, *Blood*, 1999, **94**: 853-863.
107. NIELSEN K., KARLSEN A.E., DECKERT M., MADSEN O.D., SERUP P., MANDRUP-POULSEN T., NERUP J. : β -Cell maturation leads to *in vitro* sensitivity to cytotoxins, *Diabetes*, 1999, **48**: 2324-2332
108. NONOGAKI K., FULLER G.M., FUENTES N.L., MOSER A.H., STAPRANS I., GRUNFELD C., FEINGOLD K.R. : Interleukine-6 stimulates hepatic triglyceride secretion in rats, *Endocrinol.*, 1995, **136**: 2143-2149.
109. OHNEDA K., EE H., GERMAN M. : Regulation of insulin gene transcription., *Seminar Cell Develop Biol*, 2000, **11**: 227-233

110. **OPARA E.C., BURCH W.M., HUBBARD V.S., AKWARI O.E.** : Enhancement of endocrine pancreatic secretions by essential fatty acids, *J. Surg. Res.*, 1990, **48**: 329-332.
111. **PALLET A.L., MORTON N., CAWTHORNE M.A., EMILSSON V.** : Leptin inhibits insulin secretion and reduces insulin mRNA levels in rat isolated pancreatic islets, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 1997, **238**: 267-270.
112. **PASCH A.** : La régulation de l'équilibre potassique, *Forum. Med. Suisse*, 2006, **6**: 468-473.
113. **PECHERREAU D., LEGROS D., GARNIER F.** : The intravenous insulin tolerance test in the dog : experimental study, *Rev. Méd. Vét.*, 2001, **152**: 479-484.
114. **PENTKI M., CORLEY B.** : Are the signaling molecules malonyl-CoA and cytosolic long-chain acyl-coA implicated in the multiple tissue defects of obesity and NIDDM ? *Diabetes*, 1996, **45**: 273-283.
115. **PETERSEN O.H., SUTTON R., CRIDDLE D.N.** : Failure of calcium microdomain generation and pathological consequences, *Cell. Calcium*, 2006, **40**: 593-600.
116. **PØRKSEN N., HOLLINGDAL M., JUHL C., BUTLER P., VELDHUIS J.D., SCHMITZ O.** : Pulsatile insulin secretion: detection, regulation, and role in diabetes, *Diabetes*, 2002, **51**: 245-254
117. **POWELL DS, MAKSOUH H, CHARGE SBP, MOFFITT J.H., DESAI M., DA SILVA FIDLO R.L., HATTERSLEY A.T., STRATTON I.M., MATTHEWS D.R., LEVY J.C., CLARK A.** : Apolipoprotein E genotype, islet amyloid deposition and severity of Type 2 diabetes, *Diabetes Res. Clin. Pract.*, 2002, **60**: 105-110
118. **PROVO N., OLANDER S., ROGNER M., LUDVIGSEN E., JOHANSSON H., LINDSTEDT P.** : A novel sandwich ELISA for the measurement of insulin in canine serum and plasma, *AAVLD*, 2007.
119. **R DEVELOPMENT CORE TEAM** : R: A Language and Environment for Statistical Computing, R Foundation for Statistical Computing, 2007.
120. **RADOSEVICH P.M., WILLIAMS P.E., MCRAE J.R., LACY W.W., ORTH D.N., ABUMRAD N.N.**: β -Endorphin inhibits glucose production in the conscious dog, *J. Clin. Invest.*, 1984, **73**: 1237-1241.
121. **RAYNAL R.** : Le récepteur à l'insuline. (page consulté le 1^{er} aout 2007) [pdf] . Connaître - Découvrir - Créer, Le site du Dr Raynal R, scientifique, professeur, Dr de l'université de Toulouse; Adresse URL : <http://www.exobiologie.info/diabete/10%20recepteur.pdf>
122. **RENAULD A., VON LAWZEWITSCH I., PÉREZ R.L., SVERDLIK R., AGÜERO A., FOGLIA G., RODRIGUEZ R.R.** : Effect of estrogens on blood sugar, serum insulin and serum free fatty acids, and pancreas cytology in female dogs., *Acta Diabetol. Lat.*, 1983, **20**: 47-56.
123. **RICCI J.E.** : Les mécanismes moléculaires de l'apoptose. (page consultée le 10 juillet 2008). Site de 123bio.net, Biologie et Recherche. [on line]. Adresse URL : <http://www.123bio.net/revues/jericci/iapoptose.html>.

124. **ROCCHINI A., MOOREHEAD C., WENTZ E., DEREMER S.** : Obesity-induced hypertension in the dog. *Hypertension*, 1987, **9**: (III) 64-68;
125. **ROCCHINI A.P., JOHN Q., GOKEE A.** : Hypertension and insulin resistance are not directly related in obese dogs, *Hypertension*, 2004, **43**: 1011-1016
126. **ROCCHINI A.P., MARKER P., CERVENKA T.** : Time course of insulin resistance associated with feeding dogs a high-fat diet, *Am. J. Physiol.*, 1997, **272**: E147-E154.
127. **ROY P.K., RASHID F., BRAGG J., IBDAH J.A.** : Role of the JNK signal transduction pathway in inflammatory bowel disease, *World J. Gastroenterol.*, 2008, **14**: 200-202.
128. **RUAN H., LODISH H.F.** : Insulin resistance in adipose tissue: direct and indirect effects of tumor necrosis factor- α , *Cytok. Growth. Fact. Rev.*, 2003, **14**: 447-455.
129. **RUTTER G.A., TSUBOI T., RAVIER M.A.** : Ca²⁺ microdomains and the control of insulin secretion, *Cell. calcium*, 2006, **40**: 539-551.
130. **SALEH J., CHRISTOU N., CIANFLONE K.** : Regional specificity of ASP binding in human adipose tissue, *Am. J. Physiol.*, 1999, **276**: E815-E821.
131. **SAMOLS E., STAGNER J.** : Intra-islet and Islet-acinar Portal Systems and Their Significance. In : SAMOLS E., *The Endocrine Pancreas*, New York : Raven Press Ltd, 1991.
132. **SAPIN R., DEMANGEAT C.** : Aspects analytiques des dosages d'insuline, peptide-C, proinsulines et glucagon, *Méd. Nucl. Imag. Fonct. Métabol.*, 2001, **25**: 73-79.
133. **SAPIN R.** : Interférence de l'hémolyse et de l'hémoglobine : exemple du dosage de l'insuline, *Ann. Biol. Clin.*, 2001, **59**: 113-114.
134. **SAPIN R., GASSER F., GRUCKER D.** : Prévention des effets de l'hémolyse sur le dosage d'insuline, *Immuno anal. Biol. Spéc.*, 1997, **12**: 206-208
135. **SCHNELL S., SCHAEFER M., SHÖFL C.** : Free fatty acids increase cytosolic free calcium and stimulate insulin secretion from β -cells through activation of GPR40, *Mol. Cell. Endocrinol.*, 2007, **263**: 173-180.
136. **SONG M.J., KIM K.H., YOON J.M., KIM J.B.** : Activation of Toll-like receptor 4 is associated with insulin resistance in adipocytes, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 2006, **346**: 739-745.
137. **SPAIN C.V., SCARLETT J.M., HOUP T.K.A.** : Long-term risks and benefits of early-age gonadectomy in dogs, *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 2004, **224**: 380-387.
138. **SQUIRES E.J.** : Hormone and Receptor : Structure and Function. In : *Applied Animal Endocrinology*, Guelph : CAB International, 2003, 1-34.
139. **STARTIPY P., LOSKUTOFF D.J.** : Monocyte chemoattractant protein 1 in obesity and insulin resistance, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2003, **100**: 7265-7270.
140. **STEIN D., ESSER V., STEVENSON B.E., LANE K.E., WHITESIDE J.H., DANIELS M.B., CHEN S., MCGARRY J.D.** : Essentiality of circulating fatty acids

for glucose-stimulated insulin secretion in the fasted rat, *J. clin. Invest.*, 1996, **97**: 2728-2735.

141. STEPPAN C.M., BAILEY S.T., BHAT S., BROWN E.J., BANERJEE R.R., WRIGHT C.M., PATEL H.R., AHIMA R.S., LAZAR M.A. : The hormone resistin links obesity to diabetes, *Nature*, 2001, **409**: 307-312

142. STRETTON A. : The first sequence: fred sanger and insulin, *Genetics*, 2002, **162**: 527-532.

143. TANAKA T, SUZUKI T, HATTORI N, MIZUNO Y. : Ubiquitin, proteasome and parkin, *Biochim. Biophys. Acta.*, 2004, **1695**: 235-247.

144. TRAYHURN P., WOOD I.S. : Signalling role of adipose tissue: adipokines and inflammation in obesity, *Biochem. Soc. Transact.*, 2005, **33**: 1078-1081.

145. TRUETT A., BORNE A.T., MONTEIRO M.P., WEST D.B. : Composition of dietary fat affects blood pressure and insulin responses to dietary obesity in the dog, *Obes. Res.*, 1998, **6**: 137-146.

146. VERNON R.G., BARBER M.C., TRAVERS M.T. : Développements récents dans les études de la lipogenèse chez l'Homme et chez les animaux, *INRA Prod. Anim.*, 1999, **12**: 319-327.

147. VERWAERDE P, GALINIER M, FOURCADE J, MASSABUAU P., GALITZKY J., SENARD J.-M., TRAN M.A., BERLAN M., MONTASTRUC J.L. : Anomalies du système nerveux autonome à la phase initiale du syndrome d'insulinorésistance: Apport de l'étude de la variabilité de la fréquence cardiaque et de la pression artérielle sur un modèle d'obésité nutritionnelle., *Arch. Mal. Cœur. Vaiss.*, 1997, **90**: 1151-1154.

148. VOET D., VOET J.G. : Partie IV : Le métabolisme. In: *Biochimie*, De Boeck Université, 2005, p. 547-1104.

149. WITERS LA, KEMP BE. : Insulin activation of acetyl-CoA carboxylase accompanied by inhibition of the 5'-AMP-activated protein kinase, *J. Biol. Chem.*, 1992, **267**: 2864-2867.

150. WORLD HEALTH ORGANIZATION : Obesity preventing and managing the global epidemic : Report of a WHO Consultation on Obesity, *In* : WHO technical report series **894**, Genève, 2000.

151. YAMAUCHI T., KAMON J., MINOKOSHI Y., ITO Y., WAKI H., UCHIDA S., YAMASHITA S., NODA M., KITA S., UEKI K., ETO K., AKANUMA Y., FROGUEL P., FOUFELLE F., FERRE P., CARLING D., KIMURA S., NAGAI R., KAHN B.B., KADOWAKI T. : Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase, *Nat. Med.*, 2002, **8**: 1288-1295.

152. YANO B.L., HAYDEN D.W., JOHNSON K.H. : Feline insular amyloid: association with diabetes mellitus, *Vet. Pathol.*, 1981, **18**: 621-627.

153. YOSHIKAWA H, TAJIRI Y, SAKO Y, HASHIMOTO T., UMEDA F., NAWATA H. : Effects of free fatty acids on β -cell functions: a possible involvement

of peroxisome proliferator-activated receptors α or pancreatic/duodenal homeobox, *Metabolism*, 2001, **50**: 613-618

154. ZHENQI L., YANGSONG W., NICKLAS E., JAHN L.A., PRICE W.J., BARRETT E.J. : Unlike insulin, amino acids stimulate p70^{S6K} but not GSK-3 or glycogen synthase in human skeletal muscle, *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2004, **286**: E523-E528.

Annexe 1 : Fiche de recueil des commémoratifs.

N° :

Thèse insulïnémie et obésité

Chien **SAIN**, **A JEUN** depuis 12h,
âgé de **4 à 14 ans**

Nom, Prénom :
Nom chien :
N° de tel :
Adresse :
.....
.....

Fiche clinique

Motif de consultation :

- vaccination
 ACCA
 Autre

Sexe :

- Mâle
 Femelle
 Stérilisé(e) : âge de stérilisation :

Conditions de vie :

- Appartement
 Maison avec jardin
 Autre (préciser) :

Alimentation :

- croquettes (préciser la marque) :
 ration ménagère (préciser) :
 autre (préciser) :

Autres :
.....
.....
.....

Age :

Race (ou type racial, format) :

Etat d'engraissement (voir au verso) :

- Poids :
 Maigre
 Correct
 Gros

Activités :

- chien de compagnie
 chien de travail (préciser) :
 autre (préciser) :

Prélèvement

Date :/...../.....

Difficulté de prélèvement : oui non

Heure du prélèvement :

Heure de centrifugation :

Date d'analyse :

Heure d'analyse :

Remarque:

Glycémie :

Insulïnémie :

Annexe 2 : Tableau de données individuelles

	0	1	2	3	4
Lot	-	maigre	correct	gros	-
Age	-	4-7 ans	7-10 ans	10-14ans	-
Sexe	-	mâle	femelle	-	-
Stérilisation	non	oui	-	-	-
Format	-	petit	moyen	grand	géant
Alim. (alimentation)	-	vétérinaire	commerce	ménagère	viande cru
Activité	-	sédentaire	actif saisonnier	actif permanent	-
Condition de vie	-	extérieur	intérieur	chenil	-

N°	Lot	Age	Sexe	Stérilisation	Format	Alim.	Activité	Condition de vie	Glycémie (mmol/l)	Insulinémie (pmol/l)
9	1	3	1	0	3	2	1	1	5.77	26.33
2	1	2	1	0	1	2	1	1	5.99	7.40
58	1	2	2	0	2	4	3	3	3.64	19.28
61	1	2	2	0	2	4	3	3	4.59	34.08
49	2	1	1	0	3	2	1	1	3.47	2.93
56	2	1	1	0	2	4	3	3	4.48	6.88
32	2	1	1	0	2	3	3	1	4.82	12.56
26	2	2	1	0	3	1	1	1	4.87	19.62
1	2	3	1	0	3	2	1	1	4.98	17.04
36	2	1	1	0	3	2	2	1	5.04	13.60
54	2	1	1	0	2	4	3	3	5.15	16.35
16	2	1	1	0	1	2	1	1	5.21	19.45
11	2	2	1	0	3	2	2	1	5.32	12.39
30	2	2	1	0	3	2	1	1	5.32	21.86
4	2	1	1	0	3	2	1	1	5.38	21.34
55	2	1	1	0	2	4	3	3	5.54	6.37
44	2	3	1	0	3	1	1	1	5.60	13.77
31	2	3	1	0	3	2	1	1	5.71	19.62
72	2	1	1	0	2	3	3	1	6.05	3.61
65	2	1	1	0	2	4	3	3	6.78	6.88
20	2	2	2	0	3	2	2	3	4.70	<1.73
22	2	1	2	0	3	1	2	1	4.82	3.79
39	2	1	2	0	3	2	1	1	4.82	<1.73
57	2	2	2	0	2	4	3	3	4.87	17.90
37	2	3	2	0	3	1	1	1	4.93	14.11
64	2	1	2	0	2	4	3	3	5.04	6.54
14	2	2	2	0	1	1	1	1	5.15	9.98
12	2	2	2	1	1	2	1	1	5.26	8.95
13	2	1	2	0	1	2	1	1	5.43	27.19
60	2	2	2	0	2	4	3	3	5.49	22.20
8	2	1	2	0	3	1	1	1	5.66	19.96
6	2	2	2	0	1	1	1	2	5.71	14.97
46	2	3	2	1	3	2	1	1	5.77	18.07
15	2	1	2	0	1	3	1	1	5.94	26.85
67	2	1	2	0	2	3	3	1	5.99	13.08
35	2	2	2	1	1	2	1	1	6.10	10.15

N°	Lot	Age	Sexe	Stérilisation	Format	Alim.	Activité	Condition de vie	Glycémie (mmol/l)	Insulinémie (pmol/l)
74	2	1	2	0	3	2	2	1	6.55	1.89
75	2	3	2	1	3	2	2	1	6.72	17.38
10	2	2	2	0	1	2	2	1	6.89	33.56
43	2	2	2	1	1	2	1	1	7.17	5.68
48	3	3	1	1	3	2	1	1	4.14	2.75
23	3	1	1	1	2	2	1	1	4.31	26.85
7	3	2	1	1	1	2	1	1	4.48	22.55
19	3	2	1	0	2	2	1	1	4.93	11.87
3	3	2	1	0	3	2	1	1	5.60	13.60
52a	3	2	1	0	3	2	1	1	5.77	11.01
47	3	Ic	2	0	3	2	1	1	2.97	38.38
17	3	2	2	1	3	3	2	1	4.14	9.64
51	3	2	2	1	3	2	1	1	4.31	6.02
28	3	2	2	0	4	2	1	1	4.48	19.79
62	3	2	2	0	2	4	3	3	5.10	5.85
68	3	3	2	0	2	3	3	1	5.10	32.70
40	3	1	2	0	3	2	2	1	5.21	5.51
59	3	2	2	0	2	4	3	3	5.21	2.41
52b	3	1	2	0	3	1	2	1	5.32	ND
63	3	1	2	0	2	4	3	3	5.49	11.70
34	3	1	2	1	2	2	1	1	5.60	27.36
5	3	1	2	1	2	2	1	1	6.10	38.89
33	3	2	2	1	3	3	2	1	6.16	15.83
42	3	1	2	1	2	2	1	1	7.06	4.65
41	3	1	2	1	2	2	1	1	9.63	26.33

Ic : Non connu - ND : Non dosé

Annexe 3 : Tableaux de variation des différents index de sensibilité à l'insuline.

Critère	N	SI _{1m} moyen	SI _{1m} moyen corrigé*	Nombre de valeurs anormales	
				< 1.55	> 4.13
Total	58**	3.02 ± 2.16	3.03 ± 1.91	16	13
Sexe					
mâles	24	2.73 ± 1.49	2.74 ± 1.49	7	3
femelles	34	3.08 ± 2.25	3.23 ± 2.20	9	10
Stérilisation					
stérilisés	15	2.85 ± 1.93	2.87 ± 1.82	4	4
non stérilisé	43	3.08 ± 2.25	3.09 ± 1.96	12	9
Format					
Petit	11	3.01 ± 1.65	3.03 ± 1.67	2	4
Moyen	22	3.07 ± 2.17	3.08 ± 2.07	8	6
Grand & Géant	25	2.99 ± 2.41	3.00 ± 1.94	6	3
Age ***					
4 – 7 ans	24	2.63 ± 1.82	2.64 ± 1.75	10	5
7 – 10ans	24	2.91 ± 1.70	2.92 ± 1.63	5	5
10 – 14ans	9	4.25 ± 3.39	4.30 ± 2.82	1	2
Alimentation					
Aliments vétérinaire	7	2.60 ± 1.06	2.62 ± 1.15	1	0
Aliments du commerce	32	3.23 ± 2.44	3.25 ± 2.14	8	9
Ration ménagère	7	3.03 ± 1.88	3.08 ± 1.84	1	2
Viande crue seule	12	2.70 ± 2.10	2.73 ± 1.88	6	2
Activité					
Sédentaire	33	3.38 ± 2.32	3.39 ± 2.02	6	9
Actif saisonnier	9	2.17 ± 1.35	2.20 ± 1.39	3	1
Actif permanent	16	2.76 ± 2.11	2.78 ± 1.91	7	3
Mode de vie					
Extérieur	46	3.11 ± 2.19	3.11 ± 1.93	10	11
Chenil	12	2.70 ± 2.10	2.73 ± 1.88	6	2

Tableau A : Variations de l'index SI_{1m} (moyenne et valeurs fortes et basses) en fonction des différents critères épidémiologiques.

* La moyenne et l'écart-type de l'index SI_{1m} corrigé sont calculés sur la base de la transformation $\sqrt{SI_{1m}}$.

** Cet index n'a pas pu être déterminé chez 3 chiens (n°20, 39 et 52b) présentant une insulïnémie inférieure au seuil de détection.

*** Age inconnu chez l'un des chiens.

Critère	N	HOMA _m moyenne	HOMA _m moyenne corrigé*	Nombre de valeurs anormales	
				<1.97	>5.11
Total	58**	3.75 ± 2.47	3.76 ± 2.33	15	13
Sexe					
mâles	24	3.24 ± 1.64	3.25 ± 1.75	5	3
femelles	34	4.12 ± 2.89	4.13 ± 2.71	10	10
Stérilisation					
stérilisés	15	4.27 ± 3.25	4.30 ± 2.97	5	5
non stérilisé	43	3.58 ± 2.16	3.58 ± 2.11	10	8
Format					
Petit	11	4.33 ± 2.68	4.36 ± 2.43	1	3
Moyen	22	3.94 ± 3.02	3.97 ± 2.69	7	7
Grand & Géant	25	3.34 ± 1.79	3.35 ± 1.97	7	3
Age ***					
4 – 7 ans	24	3.74 ± 3.00	3.77 ± 2.70	9	6
7 – 10ans	24	3.46 ± 2.08	3.47 ± 1.89	5	4
10 – 14ans	9	4.48 ± 1.95	4.51 ± 2.89	1	3
Alimentation					
Aliment vétérinaire	7	3.24 ± 1.38	3.27 ± 1.55	1	0
Aliment du commerce	32	4.16 ± 2.80	4.17 ± 2.67	7	9
Ration ménagère	7	3.96 ± 2.49	4.02 ± 2.46	2	2
Viande crue	12	2.86 ± 1.89	2.89 ± 1.76	5	2
Activité					
Sédentaire	33	4.20 ± 2.47	4.21 ± 2.40	5	8
Actif saisonnier	9	3.35 ± 3.03	3.42 ± 2.59	4	2
Actif permanent	16	3.05 ± 2.05	3.08 ± 2.90	6	3
Mode de vie					
Extérieur	46	3.99 ± 2.57	4.00 ± 2.45	10	11
Chenil	12	2.86 ± 1.89	2.89 ± 1.76	5	2

Tableau B : Variations de l'index HOMA_m (moyenne et valeurs fortes et basses) en fonction des différents critères épidémiologiques.

* La moyenne et l'écart-type de l'insulinémie corrigée sont calculés sur la base de la transformation $\sqrt{(\text{HOMA}_m)}$.

** Cet index n'a pas pu être déterminé chez 3 chiens (n°20, 39 et 52b) présentant une insulinémie inférieure au seuil de détection.

*** Age inconnu chez l'un des chiens.

Critère	N	Index de Bennett _(m) moyenne	Nombre de valeurs anormales	
			< 0.95	> 1.99
Total	58*	1.47 ± 0.77	8	7
Sexe				
mâles	24	1.50 ± 0.78	1	3
femelles	34	1.45 ± 0.78	7	4
Stérilisation				
stérilisés	15	1.41 ± 0.73	3	2
non stérilisé	43	1.49 ± 0.79	5	5
Format				
Petit	11	1.19 ± 0.26	3	0
Moyen	22	1.43 ± 0.63	4	2
Grand & Géant	25	1.62 ± 0.98	1	5
Age**				
4 – 7 ans	24	1.59 ± 0.93	5	4
7 – 10ans	24	1.39 ± 0.56	1	2
10 – 14ans	9	1.35 ± 0.83	2	1
Alimentation				
Aliments vétérinaire	7	1.38 ± 0.52	0	1
Aliments du commerce	32	1.47 ± 0.89	6	4
Ration ménagère	7	1.33 ± 0.50	2	1
Viande crue	12	1.60 ± 0.72	0	1
Activité				
Sédentaire	33	1.35 ± 0.69	6	3
Actif saisonnier	9	1.76 ± 1.13	1	2
Actif permanent	16	1.55 ± 0.67	1	2
Mode de vie				
Extérieur	46	1.43 ± 0.79	8	6
Chenil	12	1.60 ± 0.72	0	1

Tableau C : Variations de l'index de Bennett_(m) (moyenne et valeurs fortes et basses) en fonction des différents critères épidémiologiques.

* Cet index n'a pas pu être déterminé chez 3 chiens (n°20, 39 et 52b) présentant une insulinémie inférieure au seuil de détection.

** Age non déterminé chez un des chiens.

Critère	N	QUICKI _m moyenne	Nombre de valeurs anormales	
			< 0.45	> 0.66
Total	58*	0.57 ± 0.77	10	11
Sexe				
mâles	24	0.58 ± 0.14	1	4
femelles	34	0.56 ± 0.13	9	7
Stérilisation				
stérilisés	15	0.56 ± 0.14	3	3
non stérilisé	43	0.57 ± 0.13	7	8
Format				
Petit	11	0.53 ± 0.07	3	0
Moyen	22	0.57 ± 0.12	6	5
Grand & Géant	25	0.59 ± 0.16	1	6
Age**				
4 – 7 ans	24	0.59 ± 0.15	5	7
7 – 10ans	24	0.56 ± 0.10	3	3
10 – 14ans	9	0.54 ± 0.15	2	1
Alimentation				
Aliments vétérinaires	7	0.57 ± 0.10	0	1
Aliments du commerce	32	0.57 ± 0.15	6	6
Ration ménagère	7	0.55 ± 0.10	2	1
Viande crue	12	0.60 ± 0.12	2	3
Activité				
Sédentaire	33	0.55 ± 0.13	6	4
Actif saisonnier	9	0.61 ± 0.16	1	3
Actif permanent	16	0.59 ± 0.12	3	4
Mode de vie				
Extérieur	46	0.56 ± 0.13	8	8
Chenil	12	0.60 ± 0.12	2	3

Tableau D : Variations du QUICKI_m (moyenne et valeurs fortes et basses) en fonction des différents critères épidémiologiques.

* Cet index n'a pas pu être déterminé chez 3 chiens (n°20, 39 et 52b) présentant une insulinémie inférieure au seuil de détection.

** Age non déterminé chez un des chiens.

Toulouse, 2009

NOM : PONS

Prénom : Emmanuelle

TITRE : Influence de l'obésité sur l'insulinémie chez le chien sain. Etude expérimentale.

RESUME : La régulation de l'insulinémie, ainsi que ses effets sur les cellules périphériques, sont intimement liés au métabolisme énergétique, en particulier à celui du glucose, et des acides gras. L'état inflammatoire chronique qui s'installe lors d'obésité, ainsi que l'hyperlipidémie et l'hyperleptinémie qui lui sont associées, sont responsables d'une altération du profil insulinaire se traduisant par une insulino-résistance périphérique puis par une insulinopénie. Les dosages simultanés de l'insulinémie et de la glycémie ainsi que le calcul des index SI_1 , HOMA, de Bennett et QUICKI effectués chez 58 chiens, à jeun, cliniquement sains, ont permis de mettre en évidence la coexistence de ces deux profils anormaux majeurs chez les chiens en surpoids, ainsi que l'influence de facteurs épidémiologiques (sexe, format, alimentation, sédentarité) susceptibles de favoriser l'installation d'une surcharge pondérale.

MOTS-CLES : chien, obésité, insuline, glycémie, profil insulinaire, insulino-résistance, insulinopénie, diabète sucré, facteurs de risque.

ENGLISH TITLE : Effects of obesity on the insulinemia in the healthy dog. Experimental study.

ABSTRACT : The insulin regulation and the cellular hormone effects are strongly linked to the energy metabolism, particularly to the metabolisms of glucose and of fatty acids. The chronic inflammation due to obesity and the consequent increased blood leptin and lipid concentrations together induce some deep alterations of the insulin response pathway leading to insulin resistance then to insulinopenia. The concomitant determinations of glycaemia and plasma insulin concentrations on 58 fasting healthy dogs as well as calculations of SI_1 , HOMA, Bennett and QUICKI indices evidence the occurrence of the 2 major altered profiles (insulin resistance and insulinopenia) in obese dogs. Moreover, the effects of some epidemiological factors (sex, format, alimentation and settled life) which are susceptible to promote obesity are also identified.

KEYWORDS : dog, obesity, insulin, glycaemia, insulin profile, insulin resistance, insulinopenia, diabetes mellitus, risk factors.