



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 : 8643](http://oatao.univ-toulouse.fr/Eprints/ID/8643)

To cite this version :

Le Gal, Sandrine. *Surentraînement du cheval : quel peut être l'apport du suivi de la leptinémie ?* Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2012, 59 p.

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

SURENTRAINEMENT DU CHEVAL : QUEL PEUT-ÊTRE L'APPORT DU SUIVI DE LA LEPTINEMIE ?

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

LE GAL Sandrine

Née, le 19 Décembre 1986 à BROU SUR CHANTEREINE (77)

Directeur de thèse : Mme Nathalie PRIYMENKO

JURY

PRESIDENT :
M. Philippe CARON

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :
Mme Nathalie PRIYMENKO
Mme LACROUX

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE
Maître de Conférences 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. J. CHANTAL	M. BODIN ROZAT DE MENDRES NEGRE
M. C. LABIE	M. JF. GUELFY	M. DORCHIES
M. C. PAVAU	M. EECKHOUTTE	
M. F. LESCURE	M. D.GRIESS	
M. A. RICO	M. CABANIE	
M. A. CAZIEUX	M. DARRE	
Mme V. BURGAT	M. HENROTEAUX	

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

M. **AUTEFAGE André**, *Pathologie chirurgicale*
M. **BRAUN Jean-Pierre**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
M. **CORPET Denis**, *Science de l'Aliment et Technologies dans les Industries agro-alimentaires*
M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
M. **EUZEBY Jean**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
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. **TOUTAIN Pierre-Louis**, *Physiologie et Thérapeutique*

PROFESSEURS 1° CLASSE

M. **BERTHELOT Xavier**, *Pathologie de la Reproduction*
Mme **CLAUW Martine**, *Pharmacie-Toxicologie*
M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
M **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie Pathologique*
M. **SCHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

PROFESSEURS 2° CLASSE

Mme **BENARD Geneviève**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Physiologie et Thérapeutique*
Mme **CHASTANT-MAILLARD Sylvie**, *Pathologie de la Reproduction*
M. **DUCOS Alain**, *Zootchnie*
M. **DUCOS DE LAHITTE Jacques**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie des ruminants*
Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
Mme **HAGEN-PICARD Nicole**, *Pathologie de la Reproduction*
M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et Thérapeutique*
M. **LIGNEREUX Yves**, *Anatomie*
M. **PICAVET Dominique**, *Pathologie infectieuse*
M. **SANS Pierre**, *Productions animales*
Mme **TRUMEL Catherine**, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*

PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

Mme **MICHAUD Françoise**, *Professeur d'Anglais*
M **SEVERAC Benoît**, *Professeur d'Anglais*

MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE

M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*
Mlle **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*
Mlle **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
M. **JOUGLAR Jean-Yves**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*
M **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants.*
Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*

MAITRES DE CONFERENCES (classe normale)

M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*
Mme **BENNIS-BRET Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
Mlle **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
Mme **BOUCLAINVILLE-CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*
Mlle **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie*
M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*
M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
M. **CUEVAS RAMOS Gabriel**, *Chirurgie Equine*
M. **DOSSIN Olivier**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
Mlle **FERRAN Aude**, *Physiologie*
M. **GUERIN Jean-Luc**, *Elevage et Santé avicoles et cunicoles*
M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
Mlle **LACROUX Caroline**, *Anatomie Pathologique des animaux de rente*
M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et Mathématiques*
M. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des Ruminants*
M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie Chirurgicale*
M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*
M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction*
Mlle **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*
Mme **TROEGELER-MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation*
M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et Infectiologie (disponibilité à cpt du 01/09/10)*
M. **VERWAERDE Patrick**, *Anesthésie, Réanimation*

MAITRES DE CONFERENCES et AGENTS CONTRACTUELS

M. **BOURRET Vincent**, *Microbiologie et infectiologie*
M. **DASTE Thomas**, *Urgences-soins intensifs*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

Mlle **DEVIERS Alexandra**, *Anatomie-Imagerie*
M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophthalmologie*
Mlle **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*
Mlle **PASTOR Mélanie**, *Médecine Interne*
M. **RABOISSON Didier**, *Productions animales*
Mlle **TREVENNEC Karen**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles et porcins*
M **VERSET Michaël**, *Chirurgie des animaux de compagnie*

REMERCIEMENTS

A Monsieur le Professeur Philippe Caron

Chef de service au CHU Larrey

Service d'Endocrinologie, Maladies métaboliques et Nutrition, Pôle Cardio-Vasculaire et Métabolique

Qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence de ce jury de thèse

Hommages respectueux.

A Madame le Docteur Nathalie Priymenko

Maître de conférences de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Alimentation

Pour m'avoir encadrée tout au long de cette thèse et pour sa disponibilité

Qu'elle trouve ici l'expression de mes remerciements et de mon profond respect.

A Madame le Docteur Caroline Lacroux

Maître de conférences de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Anatomie pathologique des animaux de rente

Qui m'a fait l'honneur de participer à ce jury de thèse

Sincères remerciements.

Table des matières

<i>Table des illustrations</i>	8
<i>Liste des abréviations</i>	10
<i>Introduction</i>	12
I. Syndrome surentraînement.....	13
A. Définition.....	13
B. Signes cliniques	16
1. Diminution des performances	16
2. Perte de poids	18
3. Modifications du comportement	20
C. Modifications des paramètres sanguins	21
1. Modifications métaboliques.....	21
2. Modifications hématologiques.....	22
3. Modifications endocriniennes	23
II. La leptine est-elle une candidate de marqueur du surentraînement ?	27
A. Synthèse de la leptine	27
1. Le tissu adipeux : principal tissu producteur	27
2. Les autres tissus	27
3. Régulation de la synthèse de la leptine	28
B. Rôles physiologiques de la leptine	33
1. Régulation de la balance énergétique.....	33
2. Action sur la thermogénèse.....	34
3. Action sur les systèmes neuroendocriniens	34
4. Action sur les systèmes métaboliques.....	36
5. Action sur le système immunitaire.....	37
C. Dosage de la leptine.....	39
1. Dosage par radio-immunologie.....	39
2. Variations pré analytiques.....	39
D. Facteurs de variation de la leptinémie chez le cheval (hors entraînement).....	40
1. Masse grasse corporelle	40
2. Moment de la journée	41
3. Saison.....	41

4.	Sexe.....	42
5.	Age.....	42
6.	L'alimentation.....	43
E.	Leptine et exercice physique	44
1.	Effet de l'exercice physique.....	44
2.	Effet de l'entraînement.....	45
F.	Leptine et surentraînement	48
III.	Proposition d'étude expérimentale.....	50
A.	Objectif	50
B.	Matériel et méthodes	50
1.	Choix des chevaux	50
2.	Paramètres mesurés.....	50
	<i>Conclusion</i>	54
	<i>Bibliographie</i>	55

Table des illustrations

Liste des figures

Figure 1 : Schéma de l'adaptation à une stimulation exercée en phase de surcompensation..	14
Figure 2 : Installation de l'état de surentraînement en cas de stimulation lors de la phase de récupération.....	14
Figure 3 : Temps maximal de course lors d'un exercice standardisé.....	17
Figure 4 : Evolution de la moyenne du poids corporel durant 34 semaines d'entraînement...18	
Figure 5 : Evolution du pourcentage de matière grasse chez les chevaux « maladaptés » et chez les chevaux du groupe contrôle.....	19
Figure 6 : Evolution de l'hormone thyroïdienne T4 au cours des 90 jours d'entraînement pour le groupe de chevaux « maladaptés » à l'entraînement et pour le groupe contrôle.....	23
Figure 7 : Profil des moyennes nocturnes de la concentration plasmatique en GH des 5 chevaux surentraînés et des 5 chevaux du groupe contrôle.....	25
Figure 8 : Régulation transcriptionnelle du gène Obese par occupation d'un CRE.....	30
Figure 9 : Evolution de la concentration de la leptine chez des étalons traités 5 jours de suite avec de la dexaméthasone à la dose de 125 µg/kg ou de l'huile végétale (contrôle).....	31
Figure 10 : Principaux régulateurs de l'expression du gène de la leptine.....	32
Figure 11 : Rôles physiologiques de la leptine.....	38
Figure 12 : Relation entre la masse grasse et la concentration plasmatique de leptine.....	40
Figure 13 : Evolution des concentrations plasmatiques de leptine au cours de l'année et en fonction de l'âge, chez des juments lipizzans.....	41
Figure 14 : Concentration sérique de leptine en fonction de la classe d'âge.....	42
Figure 15 : Concentration plasmatique de leptine chez des chevaux nourris avec un repas de concentrés à 7 heures du matin, non nourris, ou ayant reçu une infusion d'insuline.....	43
Figure 16 : Evolution de la concentration plasmatique de leptine après un exercice intense chez le cheval.....	44
Figure 17 : Concentration plasmatique de la leptine (ng/ml) en réponse à un exercice intense chez les chevaux non entraînés.....	46

Figure 18 : Concentration plasmatique de la leptine (ng/ml) en réponse à un exercice intense chez les chevaux après 8 semaines d'entraînement.....47

Figure 19 : Récapitulatif des mesures corporelles nécessaires à l'estimation du poids du cheval.....51

Liste des tableaux

Tableau 1 : Différentes équations d'estimation du poids du cheval et leur précision.....52

Liste des abréviations

α -MSH : Melanocyte Stimulating Hormone

ACTH : Adrénocorticotropine Hormone

AGNE : Acides Gras Non Estérifiés

AgRP : Agouti Related transcript

AMP : Adenosine MonoPhosphate

AMPC : Adenosine MonoPhosphate cyclique

AMPK : 5'-AMP-activated protein Kinase

ARNm : Acide RiboNucléique messenger

AST : Aspartate Amino Transférase

ATP : Adenosine Triphosphate

CART : Cocain and Amphetamine-Related Transcript

C/EBP α : CCAAT/Enhancer-Binding Protein

CK : Créatine Kinase

CoA-SH : Thioéthanolamine

CRE : AMPC Response Element

CREBP : CRE Binding Protein

CREM α : CRE Modulator

GH : Growth Hormone

GnRH : Gonadotropin Releasing Hormone

FSH : Follicle Stimulating Hormone

HG : Hauteur au Garrot

IGF1 : Insulin-like Growth Factor 1

IL-1 : InterLeukine 1

LC : Longueur du Corps

LDH : Lactate DésHydrogénase

LH : Luteinizing Hormone

NPY : Neuropeptide Y

PA : Périmètre Abdominal

PAL : Phosphatase Alcaline

POMC : Pro-OpioMélanoCortine

PT : Périmètre Thoracique

T3 : Tri-iodothyronine

T4 : Thyroxine

TNF α : Tumor Necrosis Factor α

TSH : Thyroid Stimulating Hormone

Introduction

Quelle que soit la discipline pratiquée : courses de trot ou de galop, courses d'endurance, concours complet... les chevaux sont aujourd'hui considérés comme de véritables athlètes et sont entraînés, nourris et soignés comme tels. Ainsi, les chevaux sont mis à l'entraînement très tôt, de manière à sélectionner au plus vite les animaux ayant le meilleur potentiel. Dans le but de mener ces chevaux au meilleur niveau possible, l'entraînement suivi est généralement intensif.

De nombreux propriétaires et entraîneurs ont observé que certains de ces chevaux n'arrivaient pas à maintenir leurs performances malgré un entraînement raisonné et ce, sans cause pathologique apparente. Cette situation est également rencontrée chez le sportif humain et le syndrome de surentraînement a été défini et caractérisé dans les années 70 comme une « dégradation des performances malgré la poursuite de l'entraînement ». L'état de surentraînement est difficile à diagnostiquer aussi bien chez l'homme que chez le cheval, du fait de sa mise en place progressive et de l'apparition tardive des symptômes.

Lorsque l'état de surentraînement est atteint, diminuer la charge d'entraînement ne suffit pas et la récupération du cheval nécessite une mise au repos totale et longue. Aussi, il est nécessaire de trouver des marqueurs précoces du surentraînement pour le détecter au plus tôt afin de ne pas compromettre la carrière du cheval.

Les études étant beaucoup plus nombreuses chez l'athlète humain que chez le cheval, notre étude s'appuiera à plusieurs reprises sur les résultats obtenus en médecine sportive humaine. Notre but est d'identifier un marqueur précoce du surentraînement qui permettrait un diagnostic voire un pronostic sur les capacités de récupération du cheval.

Pour cela, nous verrons dans une première partie, les effets du surentraînement chez le cheval, ses principaux symptômes, ainsi que les modifications des paramètres sanguins observés.

Dans la seconde partie, nous étudierons la leptine comme marqueur potentiel du surentraînement en nous intéressant aux différents facteurs de variation de la leptinémie chez le cheval ainsi qu'aux effets de l'entraînement sur celle-ci.

L'étude expérimentale proposée dans la troisième partie permettrait de confirmer l'hypothèse de la leptinémie comme marqueur précoce et pronostic du surentraînement mais n'a, à ce jour, pas pu être réalisé faute de temps. Nous proposons néanmoins un protocole d'étude afin que ce travail bibliographique puisse être à l'origine d'une telle étude dans le futur.

I. Syndrome surentraînement

Nous allons voir dans cette première partie les effets du surentraînement chez le cheval. Pour cela, nous commencerons par définir le surentraînement. Puis, nous en verrons les signes cliniques et enfin les modifications des paramètres sanguins chez les chevaux surentraînés.

A. Définition

Le syndrome de surentraînement est connu chez l'homme comme chez le cheval : il consiste en une sensation de fatigue et une diminution de performances, accompagnées de modifications psychologiques et physiologiques.

Il est la conséquence d'une balance négative entre la fatigue induite par les charges d'entraînement et les capacités de récupération de l'organisme. Les signes révélateurs apparaissent progressivement et de manière diffuse : perte d'intérêt envers le milieu ambiant, perte de gaieté, d'appétit et amaigrissement ... Le processus menant des effets « bénéfiques » du stress de l'entraînement aux effets « rédhibitoires » du surentraînement est actuellement largement méconnu.

Le surentraînement (« overtraining » en anglais) doit être différencié de l'« overreaching » qui se traduit également par des contre-performances et de la fatigue, chez le sportif, mais qui n'est pas accompagnée de modifications physiologiques et psychologiques et qui disparaît après une ou deux semaines de repos.

Un déséquilibre entre l'entraînement et le repos semble être la cause primaire du surentraînement avec un échec de l'adaptation du corps au stress de l'entraînement.

L'entraînement permet une augmentation des capacités de performance grâce au phénomène de surcompensation. En effet, après un entraînement, le corps du cheval réagit de façon excessive à la fatigue et aux dommages musculaires. Ainsi, l'homéostasie physiologique est rétablie à un niveau légèrement supérieur à celui observé avant l'entraînement (Bomba, 1994), c'est l'adaptation (figure 1).

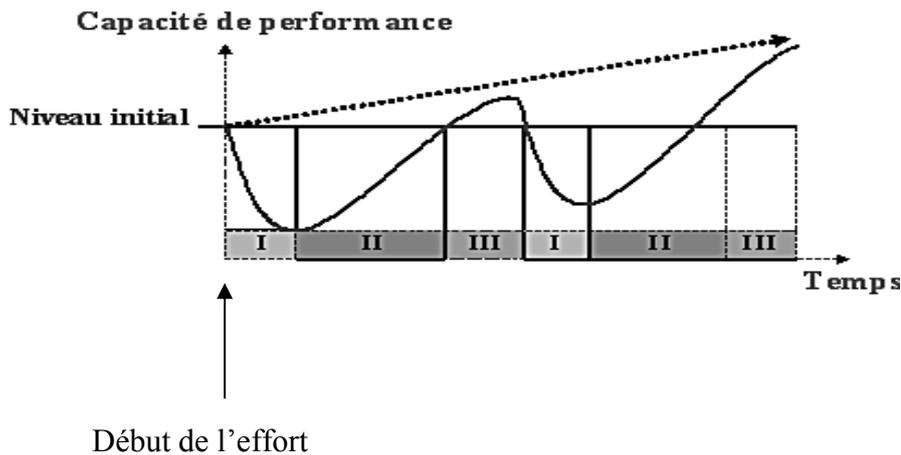


Figure 1 : Schéma de l'adaptation à une stimulation exercée en phase de surcompensation (I : phase de stimulation, II : phase de récupération, III : phase de surcompensation). C'est cet effet qui est recherché par la mise en place d'un entraînement (d'après Bomba, 1994).

Pour être efficace, l'entraînement doit intégrer l'application d'un stress au cheval tout en laissant un temps de repos suffisant à l'établissement du phénomène de surcompensation ou d'adaptation. Si le stress de l'entraînement est trop faible, l'adaptation n'est pas stimulée. Au contraire, si la stimulation est trop forte ou que les temps de repos sont insuffisants, l'état de maladaptation apparaît sous forme d'une diminution des performances et d'une apparition précoce de la fatigue (figure 2).

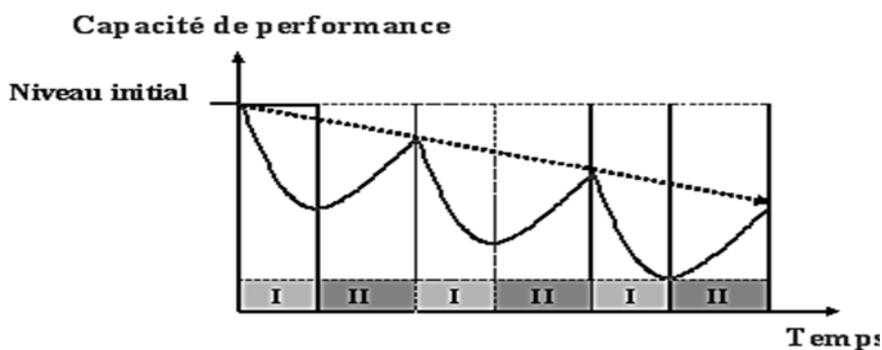


Figure 2 : Installation de l'état de surentraînement en cas de stimulation lors de la phase de récupération. I : phase de stimulation, II : phase de récupération (d'après Bomba, 1994).

Chez l'homme, si une période de repos ou de diminution de l'entraînement d'une ou deux semaines est alors observée, le corps répond par une surcompensation qui conduit à l'augmentation des performances. Par contre si l'athlète n'est pas mis au repos, l'état de surentraînement s'installe (Kenttä, 1998).

L'entraînement jouant sur les capacités de tous les ensembles fonctionnels : métaboliques, neurologiques, immunitaires, cellulaires et organiques, le surentraînement est donc susceptible d'affecter tous ces ensembles fonctionnels. Ainsi, l'état de fatigue chronique engendrée est systémique.

L'analyse du sang apparaît comme une source majeure d'information sur l'activité métabolique de l'organisme puisque le sang permet de véhiculer tout ce qui est nécessaire à l'organisme pour communiquer (hormones) et fonctionner (substrats nutritionnels).

B. Signes cliniques

Ne disposant pas de marqueurs biologiques spécifiques du surentraînement, sa détection repose actuellement sur un suivi attentif de paramètres mesurables tels que les performances ou encore le poids. Une modification du comportement est également fréquemment observée mais celle-ci est difficilement mesurable, chez le cheval.

1. Diminution des performances

Une étude réalisée en 1999 par Tyler *et al.*, sur 13 trotteurs américains, a montré que l'état de surentraînement se manifeste principalement par une diminution du temps pendant lequel le cheval arrive à maintenir son effort (figure 3).

Ces chevaux ont été soumis à un entraînement en 3 phases :

- Phase 1 : 7 semaines de travail d'endurance à 60% de leur consommation maximale en oxygène ($VO_2\text{max}$), 5 jours par semaine
- Phase 2 : 9 semaines de travail d'intensité modérée (80% de la $VO_2\text{max}$) 3 jours par semaine, associé à 2 jours par semaine d'entraînement intensif (100% de la $VO_2\text{max}$)
- Phase 3 : les chevaux sont séparés en 2 groupes.
 - Groupe surentraîné : travail maximal en augmentant les charges d'entraînement (distance et intensité) jusqu'à ce que les signes de surentraînement apparaissent
 - Groupe témoin : même entraînement que pendant la phase 2

Durant la phase 3, chaque semaine les chevaux ont été évalués avec un test standardisé qui consiste en 2 minutes d'exercice à $4 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ sur un tapis roulant incliné à 10%, suivi par une minute de course à vitesse croissante (6, 8, 11, 12 puis $13 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$) jusqu'à ce que les chevaux montrent des signes de fatigue. Le temps maximal de course est la durée totale de l'exercice, qui se termine lorsque les chevaux n'arrivent plus à maintenir leur position sur le tapis malgré les encouragements vocaux.

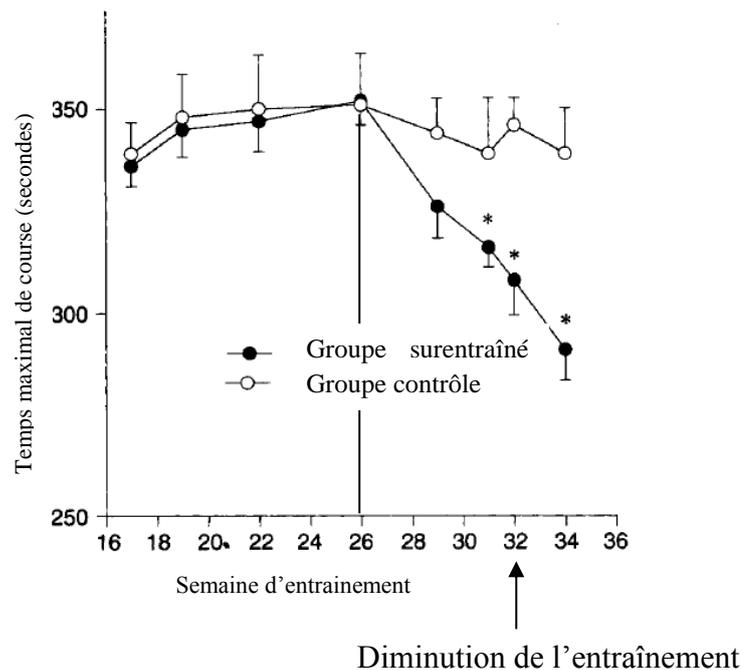


Figure 3 : Temps maximal de course lors d'un exercice standardisé (d'après Tyler et al, 1999) les « * » représentent les semaines où une différence significative ($P < 0,05$) a été observée entre les 2 lots.

L'état de surentraînement apparaît très progressivement puisque, dans cette étude, la réduction du temps pendant lequel le cheval est capable de soutenir son effort est observée à partir de la 26^{ème} semaine. Malgré la diminution de l'intensité et de la fréquence d'entraînement à partir de la trente deuxième semaine, les performances continuent de se dégrader.

Dans une autre étude portant sur 12 hongres trotteurs américains subissant le même entraînement et les mêmes tests que ceux vus précédemment, Golland *et al.* (2003) ont observé également l'installation d'un état de surentraînement par la diminution du temps pendant lequel le cheval est capable de soutenir son effort, à partir de la vingt neuvième semaine. De plus, ce temps continue de diminuer 11 jours après l'arrêt de l'entraînement intensif.

Selon Hamlin *et al.* (2002) dont l'étude a été menée sur 10 chevaux trotteurs américains, le surentraînement conduit à une diminution de 6.9% de la vitesse de pointe des chevaux ainsi qu'à une réduction de la vitesse atteinte pour un rythme cardiaque de 200 battements par minute (V_{200}).

Ainsi, le premier signe visible du surentraînement est une diminution des performances malgré le maintien du niveau d'entraînement. De plus, la mise au repos du cheval pendant 11 jours à 3 semaines ne permet pas une amélioration des performances, ce qui permet de différencier le surentraînement d'une maladaptation passagère.

2. Perte de poids

La perte de poids est un témoin relativement précoce du surentraînement puisque selon l'étude de Tyler *et al.* (1999), elle est survenue 3 semaines avant la diminution des performances, caractérisée par la réduction du temps pendant le cheval est capable de maintenir son rythme de course (figure 4). Selon cette étude, la perte de poids n'a pas été associée à une diminution de la prise alimentaire.

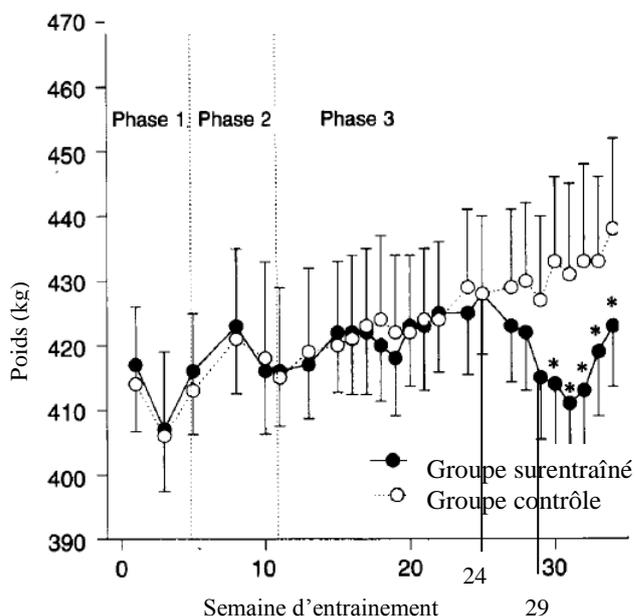


Figure 4 : Evolution de la moyenne du poids corporel durant 34 semaines d'entraînement, les « * » représentent les semaines où on observe une différence significative ($P < 0,05$) entre les 2 lots, (d'après Tyler *et al.*, 1999).

Dans l'étude de Golland *et al.* (2003), sur les 12 trotteurs américains soumis au protocole d'entraînement présenté précédemment, les chevaux surentraînés ont accusé une perte de poids à partir de la 29^{ème} semaine d'entraînement, c'est-à-dire simultanément à la réduction du temps de course. Par ailleurs, l'ensemble des chevaux ayant participé à l'entraînement intensif dans cette étude ont présenté des fluctuations de l'appétit. En effet, les chevaux présentant les signes de surentraînement mais aussi ceux du groupe contrôle ont eu tendance à ne pas consommer la totalité de leur ration.

L'étude de la composition corporelle montre que la perte de poids est due à une diminution du pourcentage de matière grasse (Leleu, 2010) (figure 5). Dans cette étude, Leleu a suivi 65 trotteurs américains de 2 ans durant leurs 3 premiers mois d'entraînement.

Afin de déterminer leur pourcentage de matière grasse, l'épaisseur du coussinet graisseux de la croupe a été mesurée par échographie. Pour cela la sonde de l'échographe a été placée à 5 cm latéralement à la ligne du milieu de la croupe, au centre de l'os pelvien, c'est-à-dire à mi-distance entre la base de la queue et la dernière vertèbre sacrée.

Le pourcentage de matière grasse a alors été estimé par l'équation suivante (Kane *et al.*, 1987):

$$\%MG = 2.47 + 5.47 * \text{épaisseur du coussinet adipeux (en cm)}$$

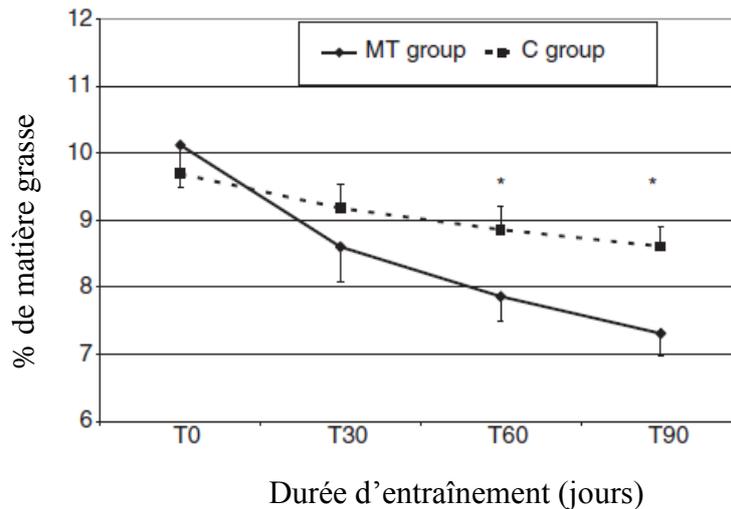


Figure 5 : Evolution du pourcentage de matière grasse chez les chevaux « maladaptés » (MT group) (n = 30) et chez les chevaux du groupe contrôle (C group) (n=40) (d'après Leleu, 2010)

Dans cette étude, la masse grasse des chevaux surentraînés a diminué de 2,8% avec une perte de poids de 13 kg en trois mois ($p < 0,05$) alors que les chevaux non surentraînés ont présenté une diminution de leur masse grasse de 1 % associée à un gain de 13 kg. Cette étude portait sur des chevaux de 2 ans encore en croissance et qui ne devraient donc pas perdre de poids.

Le déséquilibre énergétique à l'origine de cet amaigrissement serait dû à un excès de dépenses énergétiques plutôt qu'à l'insuffisance des apports. En effet, les chevaux surentraînés étaient issus de centres d'entraînement imposant une activité physique très importante, associée à une prise énergétique bien plus élevée que celle recommandée pour des jeunes chevaux. Au contraire, les 2 écuries proposant des programmes d'entraînement plus légers avec un apport énergétique moins important n'ont pas eu de chevaux présentant les signes du surentraînement.

3. Modifications du comportement

Le dernier signe constant de surentraînement, outre la perte de poids et la baisse des performances, est la modification du comportement (Tyler *et al.*, 1999). Les troubles les plus fréquemment observés sont de l'irritabilité et de la réticence au travail mais les signes de perturbations peuvent être divers et variés : morsure des harnais, coup de tête, désobéissances.... Ces troubles comportementaux, bien que fréquemment observés, sont difficilement quantifiables et qualifiables, chez le cheval.

C. Modifications des paramètres sanguins

1. Modifications métaboliques

Les concentrations musculaires en glycogène lors de l'entraînement et du surentraînement ont été étudiées par Mc Gowan *et al.*, (2002) sur 13 chevaux trotteurs américains. La concentration musculaire en glycogène au repos, avant l'exercice, a augmenté avec l'entraînement pour les chevaux du groupe « contrôle » de 526 ± 19 à 628 ± 18 mmol/kg de matière sèche de muscle, mais pas chez les chevaux surentraînés. Ainsi, les chevaux du groupe surentraîné ont une concentration musculaire de glycogène pré-exercice plus basse que celle des chevaux du groupe « contrôle ». Cela est en accord avec l'étude de Snow *et al.* (1991) qui a mis en évidence une déplétion progressive du glycogène musculaire à la suite d'entraînements intenses. Chez l'homme, il a été également montré que seuls les sujets incapables de maintenir leurs réserves glyco-géniques pouvaient présenter des signes de surentraînement (Costill, 1998).

Chez les athlètes humains, il a été montré que la déplétion en glycogène due au surentraînement provoque une diminution de la concentration plasmatique en lactate (Urhausen *et al.*, 1998). En revanche, les études réalisées chez le cheval apportent des résultats contradictoires. En effet, Mc Gowan *et al.* (2002) ont montré que les chevaux surentraînés présentaient une diminution des concentrations musculaires et plasmatiques en lactate, mesurées après l'exercice, comme c'est le cas également chez l'homme. A l'inverse, dans l'étude d'Hamlin *et al.* (2002), la concentration sanguine post-exercice de lactate a été augmentée chez les chevaux surentraînés.

Padalino *et al.* (2007) ont observé 40 trotteurs séparés en 2 groupes sur une période de 70 jours. Les chevaux du premier groupe (A) suivaient un entraînement classique : un entraînement de vitesse et un trotting de 5000 mètres par semaine ainsi qu'une course tous les 10 à 15 jours. Les chevaux du second groupe (B) avaient 2 entraînements de vitesse par semaine et une course tous les 7 à 10 jours. Les trotteurs de ce dernier groupe ont présenté des signes de surentraînement (diminution des performances) à la fin de la période d'étude. Les mesures, réalisées une semaine après la dernière course pour chaque groupe, ont révélé une élévation de l'aspartate amino transférase (AST) : 325.50 ± 41.22 UI/L pour le groupe A et 510.70 ± 41.22 UI/L pour le groupe B ($p < 0.01$) ; ainsi que de la créatine kinase (CK) (166.35 ± 18.24 UI/L pour le groupe A et 284.50 ± 18.24 UI/L pour le groupe B, $p < 0.05$) et de la lactate déshydrogénase (LDH) (380.05 ± 27.54 UI/L pour le groupe A et 531.20 ± 27.54 UI/L pour le groupe B, $p < 0.01$). L'élévation de ces enzymes chez les chevaux surentraînés témoigne d'un stress musculaire intense. En outre, cette étude a également mis en évidence une légère augmentation de l'urémie dans le groupe surentraîné qui est probablement due à un dépassement des capacités du catabolisme des acides aminés dans le foie. Une élévation de l'urémie a été également observée chez les athlètes humains surentraînés (Kindermann, 1986). Notons cependant que l'urée n'est pas un marqueur caractéristique du surentraînement puisqu'elle est également augmentée lors d'un exercice intense et long (Gleeson, 2002).

De plus, l'étude de Padalino *et al.* a également révélé une augmentation de la phosphatase alcaline (PAL) chez les trotteurs du groupe surentraîné ($293.12 \text{ UI/L} \pm 29.22$ pour le groupe A et $345.73 \text{ UI/L} \pm 27.64$ pour le groupe B). Cette élévation peut être le signe d'un stress du tissu osseux, à la suite d'un entraînement excessif, ou bien une réponse hépatique comme c'est le cas chez l'homme.

Enfin, Hamlin *et al.* (2003) ont réalisé une étude longitudinale de 34 semaines pendant lesquelles 10 trotteurs américains ont subi d'abord un entraînement classique (24 semaines) puis 8 semaines d'entraînement beaucoup plus intense, suivies de 2 semaines de repos. A la fin des 8 semaines d'entraînement plus intense, les chevaux ont montré des signes de surentraînement (augmentation de 40% du temps de course sur 1200 m et diminution de 6.9% du pic de vitesse). Entre la première et la huitième semaine de cette phase de surentraînement, les chevaux surentraînés ont présentés une diminution de 59 nmol/l ($p < 0.05$) de leur concentration plasmatique de cortisol au repos, par rapport aux chevaux témoins.

2. Modifications hématologiques

Le surentraînement modifie le profil hématologique des chevaux. Cependant, les résultats des différentes études divergent sur ce sujet.

L'étude de Leleu *et al.* (2010), qui ont observé 65 trotteurs américains de 2 ans pendant leur 3 premiers mois d'entraînement, a montré que le nombre des globules rouges était significativement plus bas ($p < 0.05$) chez les 14 chevaux présentant des signes de surentraînement que chez les autres chevaux. Cependant, ces 14 chevaux avaient un nombre de globules rouges plus faible dès le début de l'étude. Ainsi, un nombre faible de globules rouges pourrait être une prédisposition au surentraînement plutôt qu'une conséquence. Par ailleurs, selon Golland *et al.* (2003) qui ont étudié l'effet du surentraînement sur le plasma, le sang et le volume des globules rouges, la seule variable significativement modifiée par le surentraînement a été l'hématocrite mesurée après un exercice intensif (test standardisé décrit dans la partie I.B.1). En effet, chez les 6 chevaux surentraînés, l'hématocrite post-exercice était plus basse ($p < 0.05$) la 32^{ème} semaine ($0,57 \pm 0,003\% \text{ L/L}$) que la 8^{ème} semaine ($0,59 \pm 0,004\% \text{ L/L}$) alors qu'elle ne variait pas significativement chez les chevaux non surentraînés.

En revanche, Padalino *et al.* (2007) ont montré que les chevaux surentraînés présentaient une augmentation du nombre de globules rouges ainsi qu'une anisocytose marquée avec de nombreux érythrocytes de petite taille. Cela serait probablement le résultat d'une altération de l'hématopoïèse et de l'hémocatharcis chez ces chevaux.

Les modifications du profil hématologique en cas de surentraînement ne sont donc pas claires à ce jour.

3. Modifications endocriniennes

Les concentrations des hormones circulantes sont affectées par la fatigue et le surentraînement. Un dysfonctionnement de l'axe hypothalamo-hypophysaire est suggérée comme cause du surentraînement (De Graaf-Roelfsema *et al.*, 2007).

a) *Hormone thyroïdienne T4*

Dans son étude, Leleu *et al.* (2010) ont montré que la concentration plasmatique de T4 est significativement inférieure chez les chevaux surentraînés, et ce depuis le début de l'entraînement (figure 6).

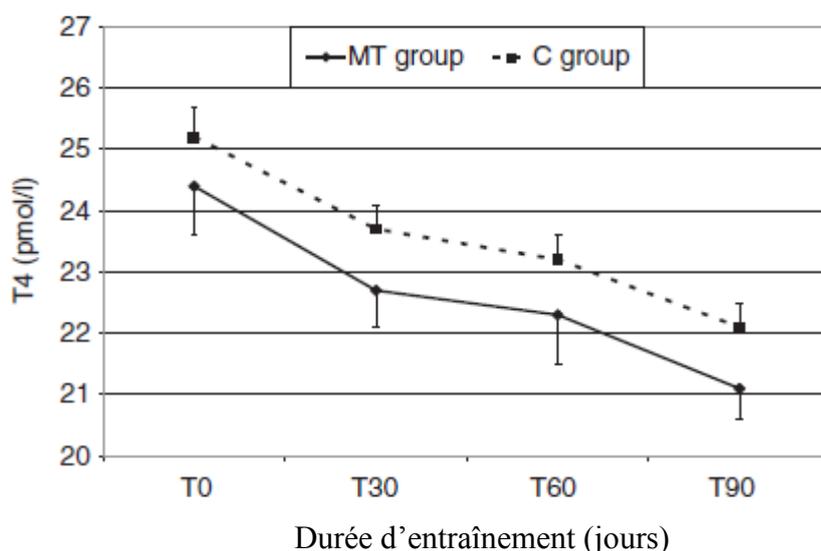


Figure 6 : Evolution de l'hormone thyroïdienne T4 totale au cours des 90 jours d'entraînement pour le groupe de chevaux « maladaptés » à l'entraînement (MT group) (n=30) et pour le groupe contrôle (C group) (n=40). L'entraînement commence à T0.

Chez tous les chevaux, l'entraînement provoque une diminution de la concentration plasmatique en T4. Cependant, les chevaux du groupe surentraîné ont une concentration en T4 inférieure dès le début de l'entraînement. Ainsi, une concentration basale basse de T4 pourrait être une prédisposition au surentraînement plutôt qu'une conséquence.

Chez les chevaux, la diminution de la concentration en T4 au cours de l'entraînement est probablement due à une combinaison de plusieurs facteurs. Dans ce travail, la température était plus élevée en fin d'étude ; hors, la concentration en T4 diminue lorsque la température

augmente. Des apports énergétiques insuffisants peuvent également entraîner une baisse de la concentration en T4. Chez l'homme, il a été montré que les jeunes marathoniens et les meilleurs performers ont des concentrations en T4 significativement plus élevées que les marathoniens plus âgés ou réalisant de mauvaises performances (Hesse, 1989). Ceci a été expliqué par la réduction de l'adaptation du métabolisme des hormones thyroïdiennes à l'exercice intense. Ainsi, chez l'homme comme chez le cheval, le surentraînement serait à l'origine d'une diminution de la concentration plasmatique de T4.

Par ailleurs, Baylor *et al.* (2003) ont montré que, sur 17 athlètes féminines suivant un entraînement intensif et prolongé, 10 d'entre elles présentaient une baisse des concentrations de leptine, de TSH (thyroid stimulating hormone) et de tri-iodothyronine totale (T3). Dans cette étude, la concentration de T4 n'a pas diminué. La diminution de la concentration de ces hormones a été plus importante durant la période où l'entraînement a été le plus intense et a persisté tout au long de la période d'entraînement intensif. Cette diminution des concentrations plasmatiques n'a pas été associée à des changements de composition corporelle. Selon cet auteur, la diminution des concentrations de TSH et T3 pourrait être attribuée à une diminution de l'activation de l'axe hypothalamo-hypophysaire qui serait liée à la baisse de la leptinémie et témoignerait d'une possible difficulté dans le maintien des réserves énergétiques, chez ces sportives.

b) Hormone de croissance (GH)

De Graaf-Roelfsema *et al.* (2009) ont démontré qu'il existait un dérèglement au niveau de la régulation de l'axe GH-IGF1, chez les chevaux surentraînés (figure 7). Dix hongres de race trotteur américain ont été entraînés sur tapis roulant pendant 32 semaines. Après 22 semaines d'entraînement, les chevaux ont été divisés en 2 groupes : un groupe contrôle et un groupe dont l'entraînement a été augmenté en intensité, en durée et en fréquence. Ce deuxième groupe a montré des signes de surentraînement (diminution des performances de 19% par rapport au groupe contrôle) à la fin des 6 semaines d'entraînement intensif (soit 28 semaines après le début de l'entraînement).

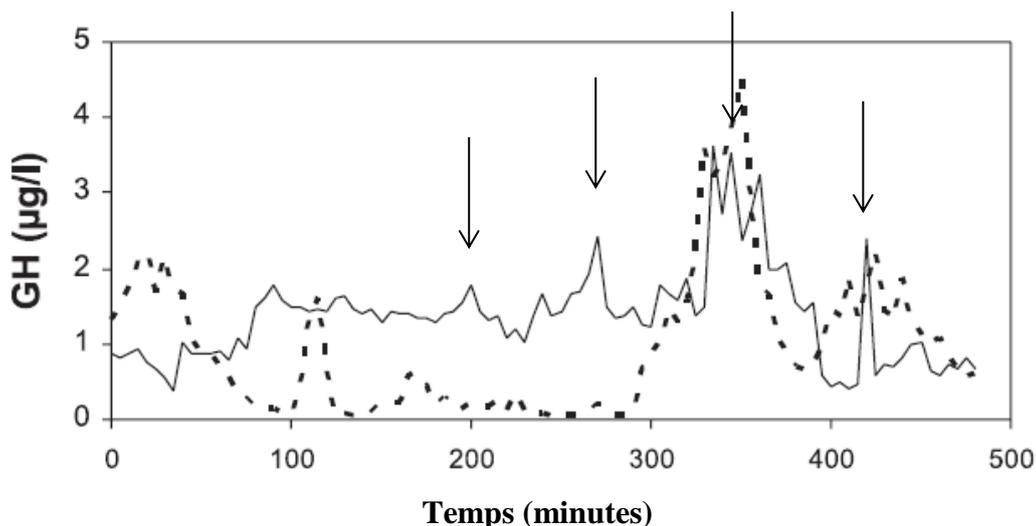


Figure 7 : Profil des moyennes nocturnes de la concentration plasmatique en GH (en µg/L) des 5 chevaux surentraînés (ligne pleine) et des 5 chevaux du groupe contrôle (trait pointillé). Les prélèvements ont été réalisés toutes les 5 minutes entre 22 h 00 et 8 h00 de matin à la fin de la phase de surentraînement.

Les chevaux surentraînés ont présenté une augmentation du nombre de pics de sécrétion (3,6 pour le groupe surentraîné contre 2 pour le groupe contrôle), des pics de sécrétion moins élevés avec un temps de demi-vie plus long (15,2 minutes pour le groupe surentraîné contre 7,3 minutes pour le groupe contrôle). La diminution de l'entraînement n'a pas conduit à un retour à la normale, chez les chevaux surentraînés. Selon De Graaf-Roelfsema *et al.* (2009), l'augmentation de la pulsativité de sécrétion de GH ainsi que l'augmentation de son temps de demi-vie mimerait une sécrétion continue de l'hormone, qui serait favorable au maintien de la balance homéostatique par son action sur le métabolisme des lipides et des carbohydrates.

c) *Autres hormones*

Hamlin *et al.* (2002), dans son étude présentée précédemment (I.C.1), a mis en évidence une diminution de la concentration plasmatique post-exercice (course de 2400 m) de cortisol de 68 nmol/l entre la première et la huitième semaine de la phase de surentraînement alors que physiologiquement, chez les sujets non surentraînés, la concentration plasmatique de cortisol augmente à la suite d'un effort musculaire (Bricout *et al.*, 2006). De même, chez l'homme, il a été montré que la concentration plasmatique de cortisol de cyclistes souffrant de surentraînement n'augmentait pas après l'exercice (Gleeson *et al.*, 2000).

En revanche, chez le cheval, les concentrations en testostérone et prolactine ne semblent pas influencées par le surentraînement (Leleu *et al.*, 2010).

Les concentrations en hormones circulantes sont donc modifiées en cas de surentraînement. En effet, une concentration basse de T4, une modification des modalités de la sécrétion de l'hormone de croissance ainsi qu'une diminution de la concentration plasmatique post-exercice du cortisol sont observées, chez les chevaux surentraînés.

La leptine étant une hormone circulante sécrétée par les adipocytes, sa concentration est dépendante de la masse grasse et donc est susceptible d'être modifiée lors de surentraînement, puisque la balance énergétique devient négative. C'est pourquoi nous allons voir dans la seconde partie si la leptinémie peut être un marqueur précoce du surentraînement, chez le cheval.

II. La leptine est-elle une candidate de marqueur du surentraînement ?

De nombreuses études en médecine humaine s'intéressent à la concentration circulante de la leptine comme marqueur précoce du surentraînement. Nous allons donc voir, dans la première partie, quelques éléments sur la synthèse de la leptine. Puis, la seconde partie sera consacrée aux différents rôles physiologiques de la leptine. Nous étudierons ensuite, dans la troisième partie, les facteurs de variations de la leptinémie. Nous nous intéresserons après aux effets de l'exercice physique et enfin du surentraînement sur la leptinémie.

A. Synthèse de la leptine

La leptine est une protéine de 167 acides aminés codée par le gène *ob*. La synthèse de la leptine est régulée par de nombreux facteurs agissant sur la transcription et la traduction du gène *ob*.

1. Le tissu adipeux : principal tissu producteur

Chez le cheval, comme dans toutes les espèces étudiées, la leptine est principalement produite par le tissu adipeux blanc sous cutané. Les modalités de cette synthèse ont été mises en évidence par Buff *et al.* en 2002 par PCR et Northern Blot sur l'ARNm. La leptine est synthétisée par les adipocytes mûrs. La concentration circulante en leptine est d'autant plus importante que la masse grasse de l'animal est importante.

Des études immunohistochimiques réalisées chez l'homme ont permis de montrer que la leptine se trouve fixée à l'extérieur des membranes cellulaires des adipocytes, dans le cytoplasme et dans des vésicules intracytoplasmiques de 40 à 80 nm de diamètre (Borstein *et al.*, 2000).

2. Les autres tissus

La leptine est également, bien qu'en moindre mesure, synthétisée dans l'estomac ; plus précisément dans la moitié inférieure des glandes fundiques : dans les cellules à pepsinogène et les cellules P (Cinti *et al.*, 2001).

3. Régulation de la synthèse de la leptine

La sécrétion de la leptine est déclenchée par une augmentation des apports énergétiques et est inhibée par une carence énergétique. L'augmentation de l'énergie disponible pour les cellules se traduit par une augmentation de la sécrétion de la leptine en agissant sur l'intensité de la transcription du gène et de la traduction de l'ARNm.

a) Régulation de la traduction

Tout d'abord, la présence de glucose et de précurseurs du glucose comme les acides aminés glucoformateurs, le glycogène, le glycérol, est essentielle au maintien de la sécrétion basale de leptine bien qu'une augmentation de la concentration intracellulaire de ces substrats ne provoque pas une augmentation de la sécrétion de leptine. La disponibilité en ces substrats est un facteur limitant de la sécrétion, probablement en induisant un déficit énergétique intracellulaire préjudiciable pour la synthèse protéique (Cammisotto *et al.*, 2005).

- Les acides aminés glucoformateurs

L'augmentation de la concentration cellulaire d'acides aminés glucoformateurs tels que l'aspartate, la valine, la méthionine ou la phenylalanine entraîne une augmentation de la sécrétion de leptine, alors que l'augmentation de la concentration d'alanine ou de glycine n'a aucun effet. Les mécanismes par lesquels ces acides α aminés agissent sur la sécrétion de leptine ne sont pas élucidés à ce jour mais il semble que leur action amplificatrice soit simplement due à l'effet limitant de la disponibilité des acides α aminés pour la synthèse protéique de la leptine.

Par ailleurs, la sécrétion basale de leptine est augmentée par l'ajout de glutamate en présence et en l'absence de substrat énergétique (Cammisotto *et al.*, 2006). Cet acide α aminé agit également sur la sécrétion d'insuline par les cellules β du pancréas et sur la régulation de la synthèse protéique. Il est donc possible que, comme dans le pancréas avec l'insuline, le glutamate joue un rôle important dans le métabolisme adipocytaire et la sécrétion de la leptine, mais les mécanismes ne sont pas connus.

La sécrétion de leptine par des adipocytes en culture est également significativement augmentée par l'ajout de leucine (Roh *et al.*, 2003). Le mécanisme est une amplification post-transcriptionnelle de la synthèse de leptine faisant intervenir la voie de signalisation mTOR, activée par l'abondance de nutriments dans la cellule. La richesse de la ration en leucine pourrait donc participer à l'augmentation post-prandiale de la leptinémie.

- L'insuline

L'insulinémie basale est corrélée à la masse adipeuse et les variations de la balance énergétique sont rapidement traduites en variation de l'insulinémie (Benoit *et al.*, 2004). De plus, chez le cheval, l'insuline engendre un pic de leptine 8 heures après son administration (Cartmill *et al.*, 2005). Dans cette étude, les chevaux ont reçu 0.4 mIU/kg de poids vif en bolus par voie intraveineuse puis 1.2 mIU/kgPV/min pendant 180 minutes en perfusion. Celle-ci a ensuite été progressivement diminuée jusqu'à 0 IU/kgPV à 240 minutes afin de mimer la sécrétion d'insuline suivant un repas.

Le pic de leptine observé environ 10 heures après un repas pourrait donc être lié aux effets de l'insuline (augmentation de l'insulinémie 4 heures après le repas). Au niveau cellulaire, l'insuline augmente la sécrétion de leptine sans augmenter la production d'ARNm du gène *ob*. L'insuline est donc un amplificateur post transcriptionnel.

b) Régulation de la transcription

Le promoteur du gène *ob* permet la liaison de nombreux facteurs de transcription.

- C/EBP α

Le C/EBP α est un facteur de transcription s'exprimant pendant la différenciation de l'adipocyte et maintenu dans l'adipocyte mature. Il amplifie considérablement la transcription du gène *Ob* (Miller *et al.*, 1996).

- CRE et dimère CREBP/CREM α

L'augmentation d'AMPc dans le cytosol a un effet inhibiteur sur la sécrétion de la leptine (Slikek *et al.*, 1996). En cas de carence énergétique, le rapport ATP/AMPc diminue et la sécrétion de leptine se trouve diminuée, par inhibition de la transcription. Ainsi, tous les facteurs agissant sur la concentration intracellulaire de l'AMPc jouent un rôle dans les variations de la leptinémie.

L'augmentation de la concentration intracellulaire d'AMPc entraîne l'activation allostérique de la protéine kinase AMPc dépendante (PKA). La PKA activée phosphoryle alors les facteurs de transcription CREBP (CRE-Binding Protein) et CREM (CRE-Modulator). Les facteurs CREB et CREM phosphorylés se dimérisent et se lient à l'ADN sur la séquence CRE du promoteur. Dans le cas de la leptine, l'occupation du CRE par le dimère CREB/CREM α a un effet inhibiteur sur la transcription du gène *Ob*, CREM α étant responsable d'une déstabilisation du complexe d'initiation de la transcription.

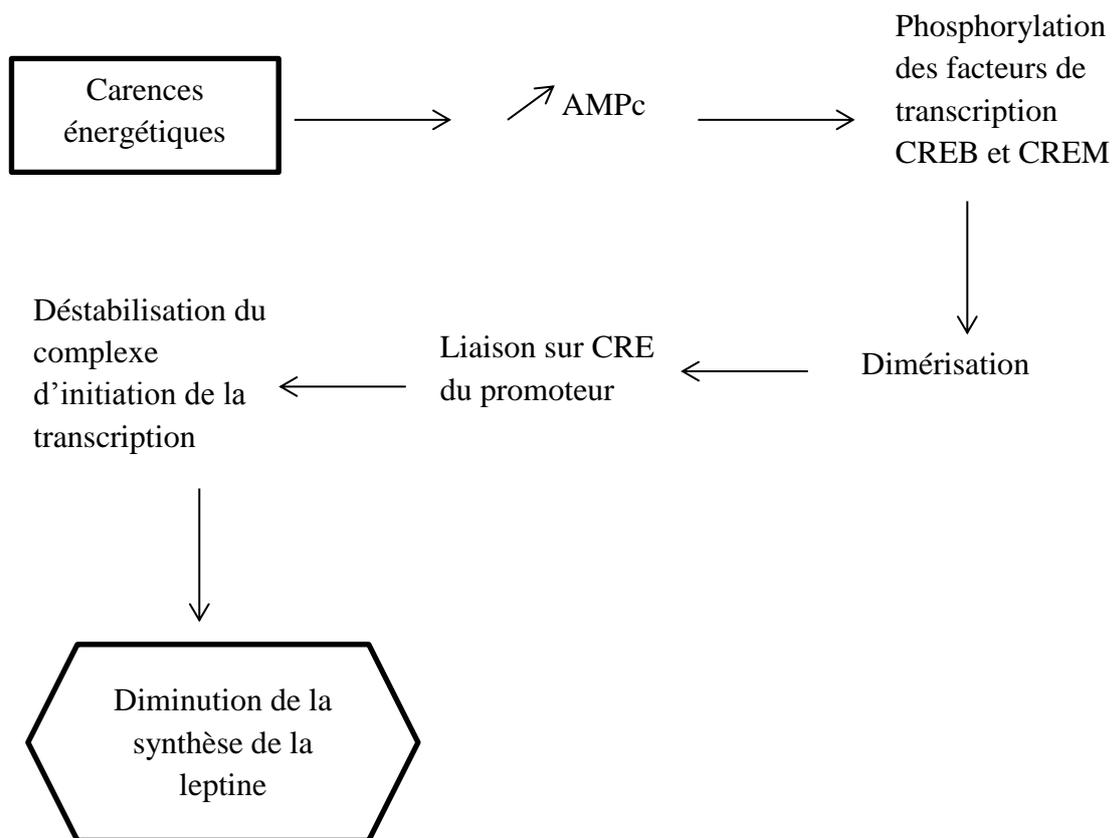


Figure 8 : Régulation transcriptionnelle du gène Obese par occupation d'un CRE. AMPc : Adenosine MonoPhosphate cyclique, CREB : CRE Binding Protein, CREM : CRE Modulator, CRE : AMPc Response Element.

Ainsi, les signaux chimiques exogènes conduisant à l'augmentation de l'AMPc sont responsables d'une diminution de la synthèse de leptine. C'est en particuliers le cas des β -agonistes (isoprostenol, agoniste non sélectif ; dobutamine, agoniste β sélectif ; fénoténol, agoniste β 2 sélectif, trecadrine, agoniste β 3 sélectif) qui, par combinaison avec les récepteurs adrénergiques de type β stimulent l'adénylate cyclase, donc engendrent une augmentation de l'AMPc (Donahoo *et al.*, 1997 ; Li *et al.*, 1997).

Les facteurs inhibant l'adénylate cyclase diminuent la concentration intracellulaire d'AMPc, ce qui augmente la synthèse de la leptine. C'est le cas de l'al-adénosine et des acides gras à courte chaîne. La MCH (Melanin-concentrating hormone), un peptide orexigène

sécrété dans l'hypothalamus latéral qui intervient dans la régulation de la satiété, amplifierait aussi la synthèse de leptine par l'intermédiaire de l'activation d'une voie inhibant l'adénylate cyclase (Bradley *et al.*, 2000).

- Glucocorticoïdes

De nombreuses études rapportent un effet amplificateur des glucocorticoïdes sur la sécrétion de leptine, chez toutes les espèces étudiées. Chez le cheval, un traitement de 125 µg/kg de dexaméthasone augmente fortement la concentration plasmatique de leptine durant 10 jours puis la diminue (Cartmill *et al.* 2005 et 2006) (figure 9).

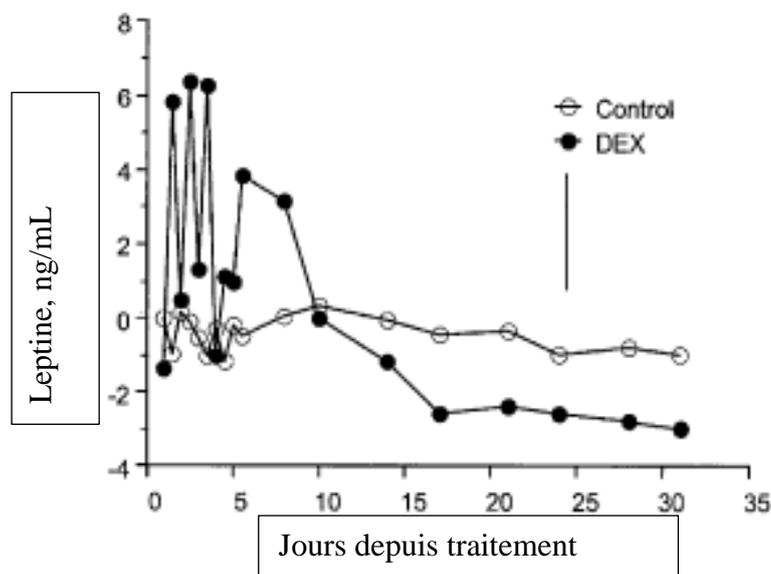


Figure 9 : Evolution de la concentration de la leptine chez des étalons traités 5 jours de suite avec de la dexaméthasone à la dose de 125 µg/kg ou de l'huile végétale (contrôle).

L'amplification de la transcription du gène *Ob* par les glucocorticoïdes résulte de l'activation de récepteurs intracellulaires qui jouent le rôle d'activateur de la transcription.

- Les cytokines

L'IL-1 et le TNF α entraînent une augmentation dose-dépendante de la quantité d'ARNm du gène *Ob* dans les adipocytes et de la leptinémie (Sarraf *et al.*, 1997). Ceci pourrait en partie expliquer l'anorexie induite par ces cytokines lors d'inflammation.

Bien que les modalités d'action des cytokines sur la régulation de la leptine ne soient pas à ce jour complètement élucidées, ces médiateurs de l'inflammation contribuent fortement aux variations de la leptinémie et instaurent une anorexie transitoire lors d'une affection d'origine infectieuse, *in vivo*.

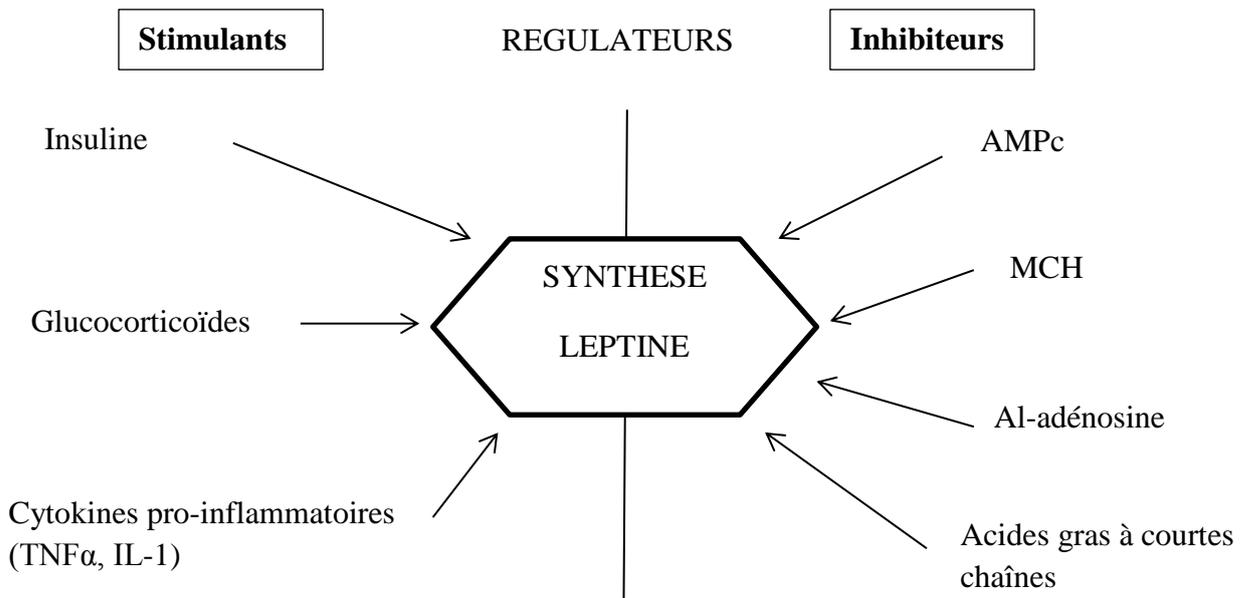


Figure 10 : Principaux régulateurs de l'expression du gène de la leptine.

B. Rôles physiologiques de la leptine

L'étude des souris déficientes en leptine a permis d'envisager les différents rôles de cette hormone. Ces souris présentent une augmentation de la prise alimentaire, une diminution des dépenses énergétiques ainsi qu'une hypothermie. La leptine joue donc un rôle dans la régulation de la balance énergétique, comme nous le verrons dans la première partie. La deuxième partie traitera de son action sur la thermogénèse. De plus, ces souris présentent des déséquilibres hormonaux, de l'infertilité ainsi qu'un système immunitaire défaillant. C'est pourquoi, nous verrons dans la troisième partie, le rôle de la leptine sur les systèmes neuroendocriniens, puis sur les systèmes métaboliques, et enfin, sur le système immunitaire dans la dernière partie.

1. Régulation de la balance énergétique

a) Les récepteurs de la leptine

La leptine circulante agit au niveau cellulaire en se liant à un récepteur (Ob-R). Le gène Ob-R est exprimé dans de nombreux tissus mais de multiples épissages alternatifs de ce gène conduisent à différentes formes de récepteurs selon les tissus.

Dans le système nerveux central, les récepteurs de la leptine se trouvent dans l'hypothalamus et les plexus choroïdes. Au niveau périphérique, ils sont présents dans le foie, le cœur, les poumons, les reins, le pancréas et la moelle hématopoïétique.

La forme longue du récepteur (Ob-Rb), présente au niveau de l'hypothalamus, est localisée essentiellement dans le noyau arqué (dans l'hypothalamus ventral médian) et dans les noyaux latéraux. Le récepteur Ob-Rb est localisé sur des corps neuronaux produisant des neuropeptides médiateurs de l'action centrale de la leptine comme le neuropeptide Y (NPY), le CART (« cocaine and amphetamine-related transcript »), la POMC (« pro-opiomélanocortine ») et l'AgRP (« agouti related transcript »).

b) Action centrale de la leptine

La leptine a plusieurs fonctions physiologiques dont la principale est la régulation du poids et de la balance énergétique en agissant sur l'hypothalamus, régulateur des centres de la satiété et de la faim, par un mécanisme de "rétrocontrôle". La leptine influence la prise alimentaire en modulant les taux de plusieurs neuropeptides hypothalamiques. Elle inhibe la sécrétion du neuropeptide Y (NPY) et de l'AgRP en hyperpolarisant les neurones qui les expriment. Le NPY, synthétisé dans les neurones du noyau arqué de l'hypothalamus, est le

plus puissant stimulateur de la prise alimentaire. Il diminue la thermogénèse et augmente l'insulinémie et la cortisolémie. L'AgRP, également synthétisé dans le noyau arqué de l'hypothalamus, agit comme antagoniste naturel de l' α -MSH (l'hormone activant les neurones anorexigène). L' α -MSH est formée par clivage de la POMC. Donc, la leptine, en réprimant les neurones exprimant AgRP, lève l'inhibition tonique exercée par l' α -MSH et diminue la prise alimentaire.

La leptine provoque donc une réduction de la prise alimentaire ainsi qu'une augmentation de la thermogénèse et du métabolisme basal.

La concentration basale de leptine correspond à une situation où les apports et les dépenses énergétiques sont moyens et équilibrés. Produite par les adipocytes en réponse à une augmentation des réserves de matière grasse, elle agit comme un agent "lipostatique" et informe le cerveau pour permettre l'arrêt de la prise de nourriture et l'augmentation de la dépense énergétique. A l'inverse, la diminution des réserves de matière grasse, qui a pour conséquence de réduire la sécrétion de leptine, commande donc une reprise de l'alimentation et une diminution des dépenses énergétiques.

Ainsi, la leptinémie peut être considérée comme un témoin de l'équilibre entre les apports et les dépenses énergétiques.

2. Action sur la thermogénèse

La leptine a pour effet d'augmenter l'expression des protéines découplantes dans les tissus adipeux bruns et blancs, dans le foie et dans les muscles. Ces protéines modifient les transferts d'électrons et de protons à travers la paroi des mitochondries. Elles participent à la dissipation, sous forme de chaleur, d'une partie des calories apportées par l'oxydation des nutriments. Cette production de chaleur conduit à un moindre stockage de l'énergie et à une augmentation des dépenses énergétiques, sous forme de chaleur.

3. Action sur les systèmes neuroendocriniens

Une chute de leptinémie agit sur l'hypothalamus pour modifier les fonctions neuroendocriniennes afin de favoriser les fonctions nécessaires à la survie.

La répartition ubiquitaire des récepteurs de la leptine, montre qu'elle agit sur différents axes neuroendocriniens.

a) *Hormone thyroïdienne*

La chute de la leptinémie provoquée par le jeûne entraîne un arrêt de l'expression de la TRH (thyrotropin releasing hormone) dans le noyau paraventriculaire de l'hypothalamus. La TRH contrôlant la sécrétion de TSH (Thyroid-stimulating hormone) par l'hypophyse, il y a également une chute de TSH provoquant la diminution des hormones thyroïdiennes T3 et T4 circulantes (Jeffrey *et al.*, 2000).

b) *Hormones gonadiques*

Les souris ob-/ob- dépourvues de gène de synthèse de la leptine sont infertiles et les mâles présentent une interruption de la spermatogenèse, due à une insuffisance hypothalamo-hypophysaire (Zang *et al.*, 1994). L'injection de leptine est capable de restaurer la fertilité dans les deux sexes (Chehab *et al.*, 1996). En revanche, la seule restriction calorique n'est pas capable de rétablir la fonction reproductive, ce qui suggère que l'obésité n'est pas la cause de l'infertilité, et que la leptine constitue un facteur nécessaire au contrôle de la reproduction.

Dans l'hypothalamus, la leptine module la sécrétion de la gonadolibérine (GnRH). Elle stimule ainsi la sécrétion de la LH, chez la femelle, et de la FSH, chez le mâle (Watanobe *et al.*, 2002). De plus, la leptine stimule la fonction des gonades puisque, chez des souris traitées avec de la leptine, les coupes histologiques d'ovaires montrent un grand nombre de follicules en développement et les coupes histologiques de testicules indiquent une augmentation de l'activité cellulaire dans les tubes séminifères. De plus, des modifications histologiques importantes sont observées lors du traitement de ces souris avec de la leptine, avec une augmentation du poids de l'utérus, des ovaires, des testicules, des vésicules séminales, du nombre de spermatozoïdes. En outre, en plus de son effet sur l'axe hypothalamo-hypophysaire, la leptine agit directement sur les gonades puisque les récepteurs Ob-R sont présents dans les ovaires et les testicules.

Ainsi, la leptine sert de signal métabolique à l'appareil reproducteur en l'informant que les réserves énergétiques sont suffisantes pour assurer les besoins de la reproduction. A l'inverse, des stress métaboliques tels qu'une réduction de l'apport alimentaire ou des exercices très intenses sont signalés à l'appareil reproducteur par un taux de leptine circulante très bas (Barash *et al.*, 1996).

c) *Hormones surrénaliennes*

Les souris ob-/ob- ne produisant pas de leptine ont une concentration de corticostérone circulante plus élevée que les souris produisant de la leptine, et cela, malgré une fonction surrénalienne normale. L'administration prolongée de leptine à ces souris provoque un retour dans les valeurs usuelles de leur corticostérone plasmatique. La leptine aurait donc un rôle inhibiteur sur l'axe corticotrope (Heiman *et al.*, 1997). De plus, chez la souris, le jeûne provoque une augmentation de la sécrétion d'ACTH et de corticostérone. Cette augmentation est supprimée par l'administration de leptine exogène (Chan *et al.*, 2003).

4. Action sur les systèmes métaboliques

La leptine agit sur les métabolismes glucidiques et lipidiques en favorisant la production d'énergie dans les muscles et l'établissement de réserves énergétiques dans le tissu adipeux.

Dans le tissu musculaire, la reconnaissance de la leptine par son récepteur conduit à une activation cytosolique, commune avec l'insuline, de la voie PI3K qui active des enzymes impliquées dans la glycolyse (PFK2) et la glycogénogénèse (Glycogène synthase) ainsi que la translocation membranaire du transporteur spécifique du glucose, GluT4. De plus, la leptine stimule la protéine kinase activant l'AMP (AMPK) qui agit sur la régulation du métabolisme lipidique. En effet, l'AMPK inhibe l'AcétylcoA carboxylase intervenant dans les premières étapes de la lipogénèse. Ainsi, la lipogénèse est inhibée au profit de la β -oxydation mitochondriale, ce qui limite l'accumulation des acides gras non estérifiés (AGNE) dans le cytoplasme et donc prévient l'acquisition des mécanismes d'insulinorésistance.

En effet, les AGNE en excès induisent l'augmentation des rapports AcylcoA/CoA-SH et NADH,H⁺/NAD⁺, ce qui inhibe la pyruvate déshydrogénase et la citrate synthase, donc diminuent la formation d'acétylcoA et son utilisation dans le cycle de Krebs, respectivement. En conséquence, l'oxaloacétate s'accumule, activant en parallèle les enzymes de la néoglucogénèse et inhibant celles de la glycolyse. La formation d'esters phosphoriques du glucose se retrouve privilégiée et leur accumulation bloque l'entrée du glucose exogène dans la cellule musculaire. Ainsi, l'accumulation d'AGNE génère un état d'insulinorésistance en favorisant l'accumulation cellulaire des esters phosphoriques du glucose, en inhibant la pénétration du glucose exogène et en limitant son utilisation périphérique (glycolyse, glycogénèse).

Dans le tissu adipeux, la leptine induit l'expression des protéines de la thermogénèse (UCP1 et 2) et des enzymes lipolytiques (lipoprotéine lipase, lipase hormonodépendante) et inhibe celle des enzymes de la lipogénèse (acétylcoA carboxylase, acylsynthase). Dans le tissu adipeux, elle interfère avec le signal insulinique en diminuant la liaison de l'insuline à

son récepteur, ce qui limite l'utilisation périphérique du glucose (capture du glucose, glycosylation des lipides) dans l'adipocyte.

Au niveau du foie, la leptine s'oppose à l'accumulation des graisses, principalement en inhibant la transcription de l'enzyme stéroyl CoA désaturase qui catalyse la biosynthèse des acides gras mono-insaturés et en favorisant l'oxydation des acides gras libres (Cohen, 2002).

La leptine participe à la régulation périphérique de l'homéostasie énergétique en favorisant les voies oxydatives du métabolisme énergétique dans les muscles et les adipocytes. De plus, elle réduit partiellement les risques d'insulinorésistance en s'opposant à l'accumulation cytosolique des AGNE dans les cellules musculaires.

5. Action sur le système immunitaire

La leptine joue un rôle régulateur dans l'immunité, l'inflammation et l'hématopoïèse. Les souris déficientes en leptine présentent des altérations des réponses immunitaires et inflammatoires accompagnées d'une atrophie des organes lymphoïdes.

Chez la souris normale, le jeûne, associé à des taux abaissés de leptine, induit une atrophie du thymus et diminue la réaction d'hypersensibilité retardée à des antigènes.

La leptine augmente la phagocytose et le chimiotactisme des macrophages. Elle augmente également la synthèse des porphyrines et des interleukines 2 (IL2) ce qui favorise la prolifération, la différenciation et l'activité des cellules natural killer (NK). De plus, la leptine apparaît comme un facteur nécessaire à la maturation et la survie des lymphocytes T. Par ailleurs, elle stimule la réponse immunitaire à médiation cellulaire en favorisant la production d'interférons et d'IL2.

Au vu de ces éléments, la leptine pourrait donc avoir un rôle dans l'immunodéficience observée chez les individus maigres. En effet, un faible taux de leptine entraîne une chute de la réponse cellulaire et une diminution de la lymphoprolifération.

Par ailleurs, il a été montré chez la souris (Faggioni *et al.*, 2000), qu'un déficit en leptine empêche l'apparition des maladies à médiation immune par inhibition de la réponse cellulaire et en favorisant la réponse humorale.

En outre, la leptine est une hormone proinflammatoire. En effet, elle diminue la transcription des cytokines anti inflammatoires.

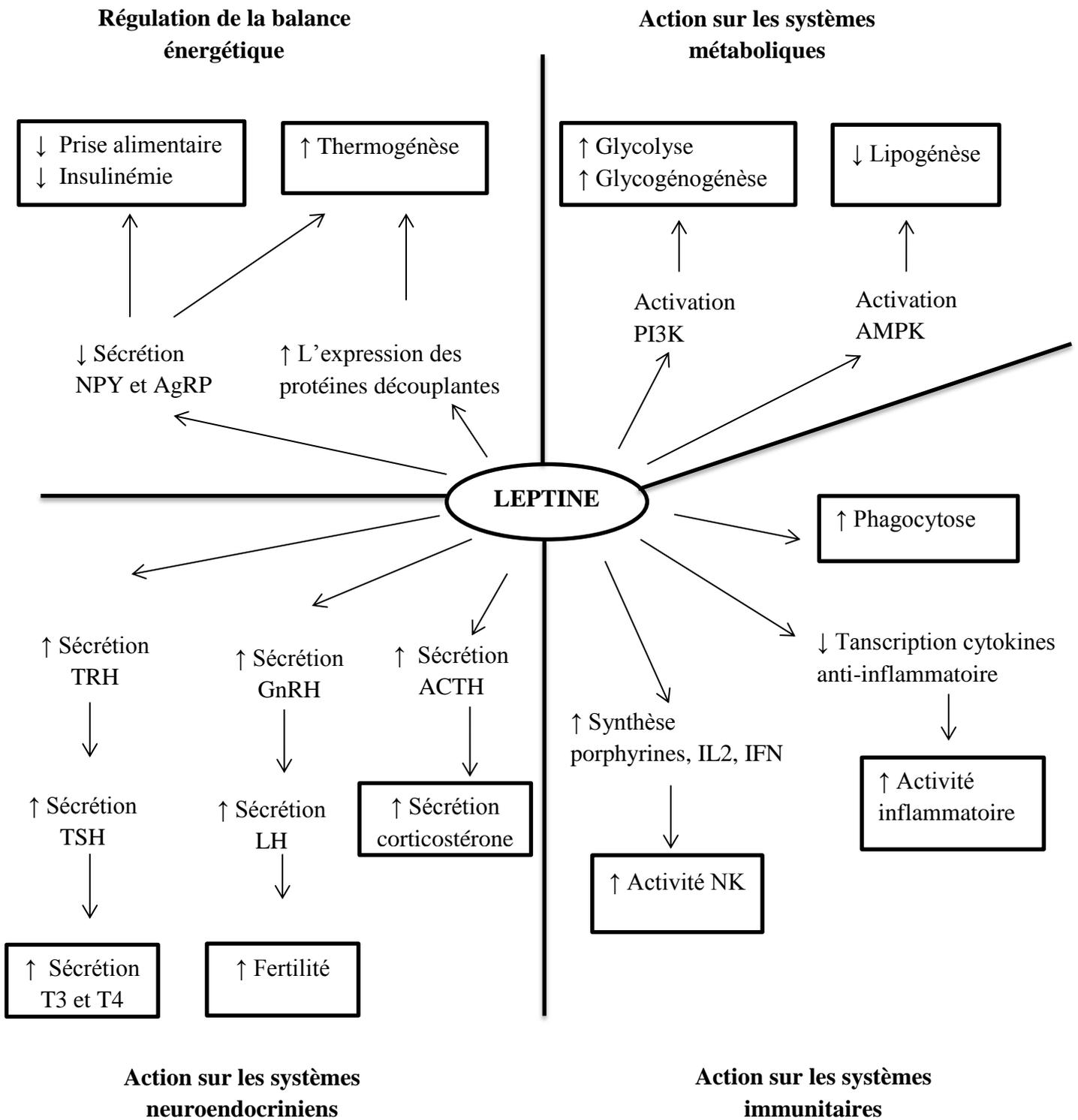


Figure 11 : Rôles physiologiques de la leptine

C. Dosage de la leptine

1. Dosage par radio-immunologie

Le dosage de la leptine se fait par radio-immunologie à l'aide du kit « Multi-Species RIA kit ». Cette méthode de dosage par radio-immunologie a été développée par Linco Research en 2000. « Multi-species RIA Kit » est utilisé pour le dosage de la leptine chez le porc, les bovins, le mouton, le cheval et le chat. Le dosage est basé sur l'utilisation d'anticorps de cobaye dirigés contre la leptine humaine mais ayant une bonne affinité pour les leptines des autres espèces. La limite de détection de la leptine par cette méthode est de 0,9 ng/ml. Le dosage de la leptinémie chez le cheval à l'aide de ce kit a été validé par Mc Manus et Fitzgerald (2000).

2. Variations pré analytiques

Le sang est prélevé dans la veine jugulaire à l'aide d'une aiguille 20 G montée sur un Vacutainer ®. Il est collecté dans des tubes EDTA et centrifugé et congelé à -20°C.

La leptine est stable 2 mois à 4°C, 2 ans à -20°C et tolère 5 cycles de congélation (Wallace, 2000). La stabilité de la leptine à température ambiante a été étudiée par Vallois (2007). Des prélèvements ont été réalisés sur 5 juments et immédiatement centrifugés. Les plasmas récupérés ont été séparés en 4 aliquots congelés (-20°C) à T0 (heure du prélèvement), T0 + 6 heures, T0 + 24 heures et T0 + 48 heures. Les tubes ont été maintenus à température ambiante en attendant la congélation. Les valeurs de la leptine sont les mêmes pour les 4 aliquots. La leptine est donc stable 48 heures à température ambiante.

Chez l'homme, les prélèvements de plasma réalisés dans des tubes EDTA ou de sérum réalisés dans des tubes secs produisent les mêmes résultats pour la mesure de la leptinémie (Radin *et al.*, 2009).

L'effet du temps écoulé entre le moment du prélèvement et celui de la centrifugation sur le dosage de la leptine n'a pas été étudié chez le cheval.

D. Facteurs de variation de la leptinémie chez le cheval (hors entraînement)

1. Masse grasse corporelle

La leptine étant principalement synthétisée par les adipocytes matures, la masse corporelle grasse est un facteur déterminant de la leptinémie. En effet, il existe une corrélation positive entre le score corporel et la leptinémie (Buff *et al.*, 2002) (figure 12). Or, le pourcentage de masse grasse d'un cheval peut être déterminé par une mesure échographique de l'épaisseur du coussinet adipeux de la croupe (Westervelt *et al.*, 1976) grâce à la formule suivante (Kane *et al.*, 1987) (cf I.B.2) :

$$\text{Pourcentage de masse grasse} = 2,47 + 5,47 \times (\text{épaisseur du coussinet adipeux en cm})$$

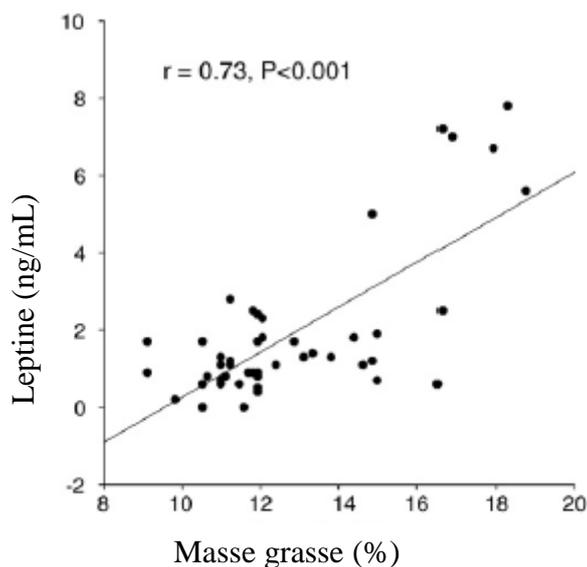


Figure 12 : Relation entre le pourcentage de matière grasse et la concentration plasmatique de leptine (d'après Buff, 2002).

Mais une variation de 2 points sur 9 en plus ou en moins du score corporel n'est pas suffisante pour observer une variation de la leptinémie. En effet, il n'a pas été noté de modification de la leptinémie chez des chevaux maigres suralimentés pendant 14 semaines ni sur des chevaux gros ayant reçu une alimentation réduite pendant la même période et donc ayant présenté une variation du score corporel de 2 sur 9 dans la période (Buff *et al.*, 2002).

2. Moment de la journée

A la différence de l'homme, la leptine n'est pas sécrétée de manière pulsatile, chez le cheval, mais selon un rythme circadien (Buff *et al.*, 2006 ; Manus *et al.*, 2000). Selon une étude réalisée sur 10 juments par Piccione *et al.* (2004), la leptinémie suit un rythme journalier avec un pic nocturne et un niveau bas pendant le jour. Ce rythme circadien disparaît en cas de restriction alimentaire brutale durant plus de 24 heures.

3. Saison

Une étude réalisée sur 6 juments a montré que la leptinémie est plus élevée en été ($2,5 \pm 0,2$ ng/mL) qu'en hiver ($0,7 \pm 0,2$ ng/L) (Buff *et al.*, 2006). Le poids et l'état corporel des juments n'avaient pas varié au cours de l'étude.

Une étude réalisée sur 107 juments Lippizzan (Cebulj Kadunc *et al.*, 2009) âgées de 1 à 4 ans a mis en évidence une augmentation de la concentration en leptine en été avec un pic au mois d'août et une diminution en automne. Les variations sont moins nettes, chez les pouliches de un et deux ans (figure 13).

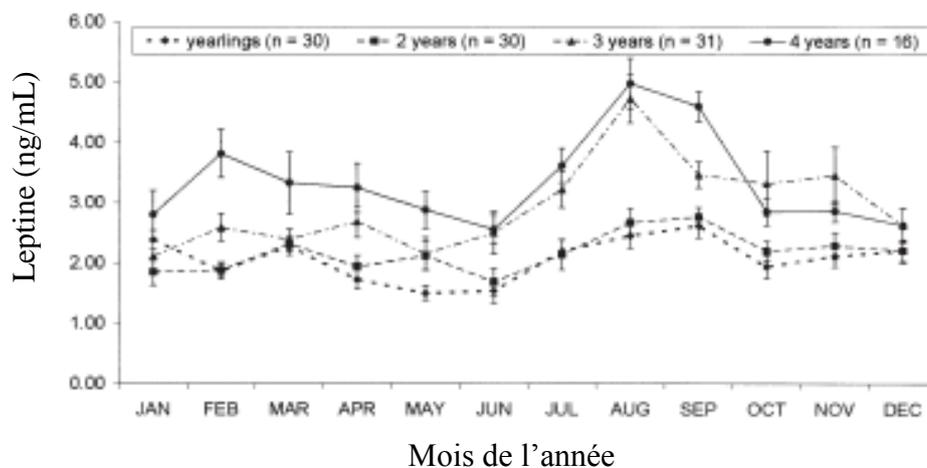


Figure 13 : Evolution des concentrations plasmatiques de leptine (en ng/ml) au cours de l'année et en fonction de l'âge, chez des juments lipizzans (d'après Cebulj Kadunc *et al.*, 2009).

Ces variations saisonnières joueraient un rôle dans la cyclicité des juments. En effet, l'anoestrus hivernal observé chez de nombreuses juments suit la chute de la leptinémie qui a lieu en automne. En outre, les juments ayant des réserves importantes de graisse corporelle et donc une leptinémie qui ne diminue pas restent cyclées en hiver.

4. Sexe

Concernant l'influence du sexe sur la leptinémie, les différentes études sont contradictoires. Selon Buff *et al.*, (2002), la leptinémie des étalons serait supérieure à celles des hongres et des juments, selon son étude portant sur 71 chevaux qui n'avaient ni le même âge ni le même pourcentage de masse grasse. Cartmill *et al.* (2003) ont comparé 10 juments, 10 hongres et 10 étalons ayant le même âge et le même score corporel et a conclu que la leptinémie était supérieure chez la jument, par rapport aux hongres et aux étalons.

Par ailleurs, Cartmill *et al.* (2003) ont montré également que la testostérone n'influe pas sur la leptinémie puisque la concentration en leptine des juments traitées avec de la testostérone à la dose de 175 µg/kg une fois par jour pendant cinq jours n'a pas été modifiée.

5. Age

Une étude réalisée par Buff *et al.*, (2002) sur 71 chevaux nourris de la même façon montre que les concentrations moyennes de leptine sérique augmentent avec l'âge (figure 14).

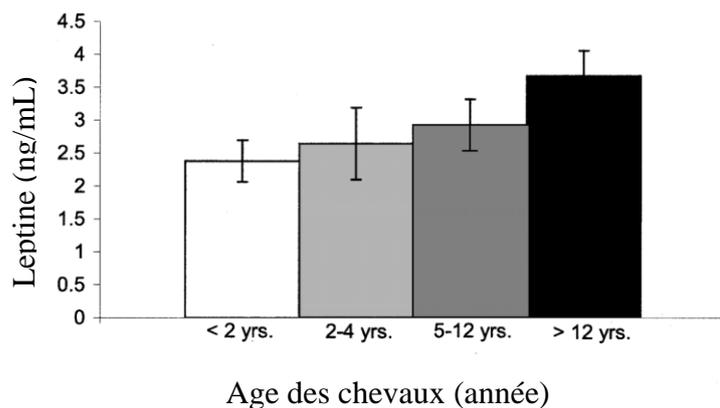


Figure 14 : Concentration sérique (en ng/ml) de leptine en fonction de la classe d'âge (d'après Buff *et al.*, 2002).

La concentration en leptine est plus faible chez les jeunes chevaux, en phase de croissance, qui ont de grands besoins énergétiques et une faible masse grasse. Les plus grandes concentrations de leptine sont observées sur des chevaux entre 5 et 12 ans, qui ont une masse grasse plus importante.

6. Alimentation

Chez le cheval comme dans toutes les espèces, la prise alimentaire entraîne une augmentation de la leptinémie. La distribution d'un repas de concentrés une seule fois par jour est suivie d'un pic de leptine dont la concentration maximale a lieu 10 heures plus tard (Cartmill *et al.*, 2005) (figure 15).

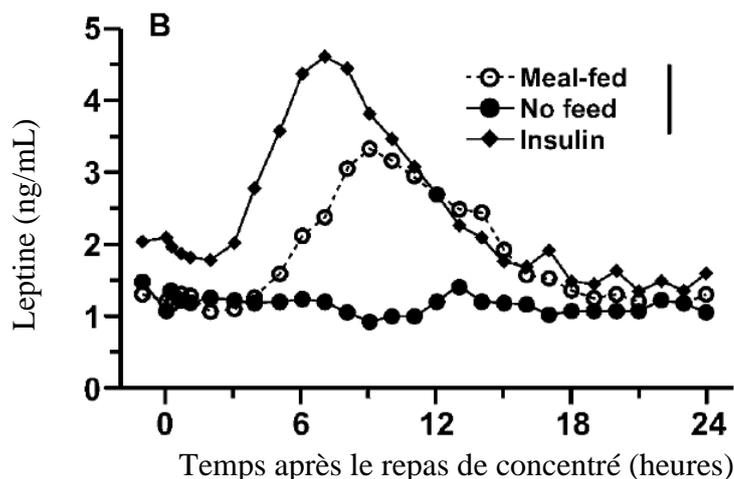


Figure 15 : Concentration plasmatique de leptine (en ng/ml) chez des chevaux nourris avec un repas de concentrés à 7 heures du matin, non nourris, ou ayant reçu de l'insuline (0.4 mIU/kg de poids vif en bolus par voie intraveineuse puis 1.2 mIU/kgPV/ min pendant 180 minutes en perfusion, progressivement diminuée jusqu'à 0 IU/kgPV à 240 minutes) (d'après Cartmill *et al.*, 2005)

Les variations de la leptinémie diffèrent selon le nombre de repas distribués (Steelman *et al.*, 2006). La leptinémie post-prandiale augmente chez les chevaux recevant 2 repas par jour mais ne varie pas chez ceux recevant 3 repas ou plus. De plus, il faut que la part de concentrés dans l'alimentation soit suffisante. En effet, si les chevaux reçoivent du foin à volonté et deux petites rations de concentrés par jour, les variations de leptinémie à la suite de l'ingestion des concentrés sont très faibles (Cartmill *et al.*, 2005).

Le jeûne, même de courte durée (24 heures), induit une diminution de la leptinémie associée à une forte réduction de la production d'insuline ; cette dernière étant un puissant stimulant de la sécrétion de leptine (Mc Manus *et al.*, 2000). De plus, le rythme circadien de sécrétion est altéré par un jeûne de 48 heures (Buff *et al.*, 2005).

E. Leptine et exercice physique

1. Effet de l'exercice physique

Tout d'abord, il a été montré chez l'homme que, chez les sujets entraînés, la concentration basale de leptine est basse et n'est pas modifiée par un exercice aigu (40 minutes d'aérobic, 4 jours par semaine) (Hickey *et al.*, 1997). En revanche, la leptinémie est diminuée à la suite d'exercices intenses demandant une forte dépense énergétique accompagnée d'une diminution du glycogène musculaire. Selon Essig *et al.*, (2000), cette baisse de la leptinémie permettrait de stimuler l'appétit afin de reconstituer les réserves énergétiques musculaires. Cette hypothèse est en accord avec l'étude de Karamouzis *et al.*, (2002) qui a mis en évidence que la diminution de la concentration de leptine à la suite d'un marathon de natation est associée à une augmentation du neuropeptide Y, un puissant neuromédiateur central qui provoque une augmentation de l'appétit. Ainsi, un exercice intense stimule l'axe NPY-leptine qui augmente l'appétit afin de reconstituer les réserves énergétiques.

Chez le cheval, la concentration de leptine diminue 24 heures après un exercice court (< 10 minutes) et intense (Gordon *et al.*, 2007) (figure 16). Dans cette étude portant sur 6 juments de race trotteur américain, 3 ont subi l'exercice suivant sur tapis roulant : une minute de trot à la vitesse de 4 m.s⁻¹, une minute à la vitesse de 6 m.s⁻¹, puis la vitesse a été augmenté d'un mètre par seconde toutes les minutes jusqu'à ce que le cheval soit fatigué c'est-à-dire qu'il ne puisse plus maintenir la vitesse du tapis roulant malgré les encouragements. Les trois autres juments qui ont formé le groupe « contrôle », n'ont rien fait.

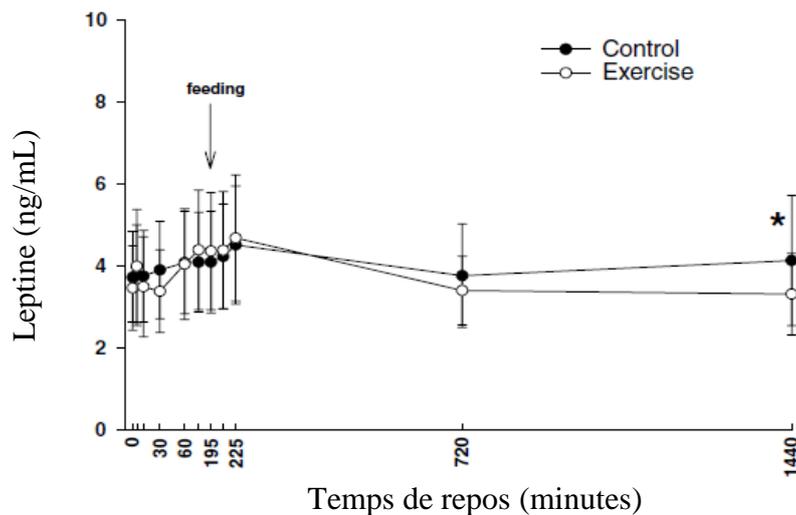


Figure 16 : Evolution de la concentration plasmatique de leptine après un exercice intense chez le cheval. L'astérisque indique une différence significative ($p < 0,05$) entre les 2 groupes (Gordon *et al.*, 2007).

La concentration plasmatique de leptine mesurée 24 heures après l'exercice a été significativement plus basse chez les juments ayant réalisé l'exercice que chez celles du groupe contrôle ($p < 0.05$). La leptinémie a diminué de 19.5% entre le début de l'exercice et la mesure réalisée 24 heures plus tard, chez les juments ayant réalisé l'exercice.

Une étude de Kowalik *et al.* (2011) a montré qu'un exercice continu (11 km au trot à vitesse constante) entraîne une augmentation de la leptinémie après l'effort alors que celle-ci n'est pas modifiée par un exercice de 15 minutes au trot puis 15 minutes à vitesse croissante entrecoupé de pauses d'une minute au pas. De plus, la concentration d'acides gras libres, qui sont les principaux substrats énergétiques utilisés au cours d'un exercice long, est également augmentée. La leptine stimulant l'oxydation hépatique des acides gras, alors en augmentation au cours d'un exercice, favorise le fonctionnement du métabolisme énergétique.

La leptinémie chez le cheval ne serait donc pas modifiée par un exercice aigu ou un effort plus long mais entrecoupé de pause. En revanche, la concentration de leptine serait augmentée juste après un effort continu et diminuerait 24 heures après un exercice court et intense.

2. Effet de l'entraînement

Les études réalisées chez l'homme ont montré qu'un entraînement de courte durée ne modifie pas la leptinémie s'il n'y a pas de modification de la masse grasse (Gomez-Merino *et al.*, 2004). Dirlewanger *et al.*, (1999) ont mis en évidence que les taux de leptine chez l'homme ne sont modifiés ni par l'entraînement ni par la balance énergétique sur de courtes périodes (3 jours dans cette étude).

Dans une étude, Desgorces *et al.*, (2004) ont mesuré les valeurs de la leptinémie avant un exercice puis 2 heures et 24 heures après cet exercice et cela, avant et après un entraînement intensif de 6 semaines. Avant la période d'entraînement, la leptinémie est diminuée 2 heures après l'exercice et retrouve sa valeur initiale 24 heures plus tard alors qu'après les 6 semaines d'entraînement, la valeur initiale est obtenue seulement 2 heures après l'exercice. Ainsi, l'entraînement amènerait à une régulation plus rapide de l'homéostasie énergétique en réponse à un stress métabolique et donc un retour plus rapide à la valeur usuelle de la leptine.

Une étude réalisée chez 8 chevaux (Gordon *et al.*, 2006) a révélé que la leptinémie était significativement augmentée pendant un exercice intense après une période d'entraînement de 8 semaines alors qu'il n'y a pas d'augmentation chez le cheval non entraîné (figures 17 et 18). Dans cette étude, les chevaux ont été soumis à l'exercice suivant :

- 8 minutes de trot à 40% de VO_{2max}
- 2 minutes de galop à 100% de VO_{2max}

- 4 minutes de trot à 40% de VO_{2max}
- 2 minutes de galop à 100% de VO_{2max}
- 4 minutes de pas à 20% de VO_{2max}

Une prise de sang a été réalisée avant l'exercice (rest) puis 3 prélèvements ont été effectués au cours de l'exercice (EX1, EX2, EX3) et 2, 30 et 60 minutes après la fin de l'exercice. Les chevaux du groupe « contrôle » ont été amenés près du tapis roulant pour être prélevés mais n'ont pas effectué l'exercice.

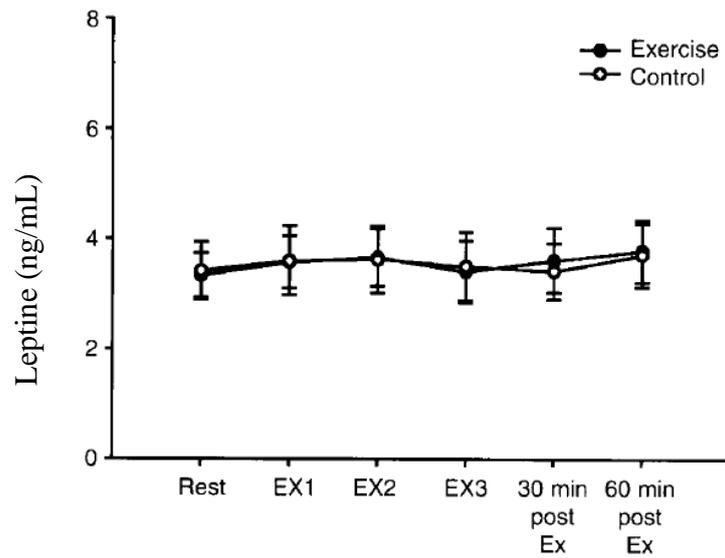


Figure 17 : Concentration plasmatique de la leptine (en ng/ml) en réponse à un exercice intense chez les chevaux non entraînés (d'après Gordon *et al.*, 2006).

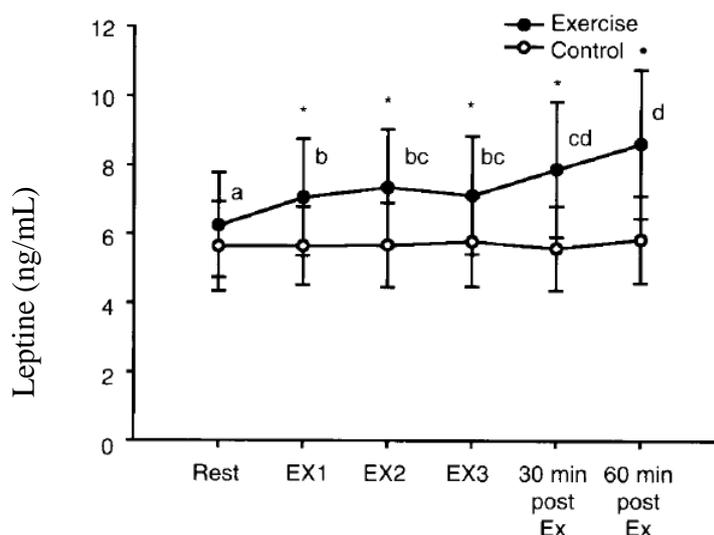


Figure 18 : Concentration plasmatique de la leptine (en ng/ml) en réponse à un exercice intense chez les chevaux après 8 semaines d'entraînement (d'après Gordon *et al.*, 2006).

Une diminution de la prise alimentaire après l'exercice a été observée chez les chevaux entraînés et pourrait être due à ces fortes leptinémies. Les variations de la leptinémie après l'exercice n'ont pas été étudiées ici et nous n'avons donc pas d'information sur le délai avant le retour à la normale de la leptinémie, dans cette étude chez le cheval.

Chez l'homme, Rämson *et al.*, (2008) ont mis en évidence qu'un test d'aviron de 2 heures à une intensité de 80% du seuil anaérobie (80% VO_{2max}) entraînait une chute post-exercice de la leptinémie deux semaines après l'augmentation du volume d'entraînement. Avant cette intensification de l'entraînement, le même test ne provoquait pas de diminution post-exercice de la leptinémie. De même, après une période de repos, ce test n'a plus été suivi d'une chute de la leptinémie.

De plus, il a été montré que l'augmentation d'intensité des entraînements comprenant des périodes de repos (nageurs) n'avait pas d'effet sur la leptinémie alors que l'augmentation de la durée d'entraînement sans pause tout en gardant une faible intensité engendrait une diminution de la leptinémie.

Ainsi, nous avons vu que, chez les chevaux subissant un entraînement intensif, la leptinémie est mieux régulée après l'exercice puisqu'elle retrouve sa valeur basale dans les deux heures suivant l'effort. En outre, l'analyse des variations de la leptinémie induites par un exercice peut révéler un entraînement excessif. En effet, les athlètes réalisant des entraînements très importants présentent des chutes post-exercice de leptinémie contrairement à ceux réalisant des entraînements de moindre intensité.

F. Leptine et surentraînement

Selon Yihua *et al.*, (2004), une diminution de la leptine plasmatique a été observée chez les nageuses après trois semaines d'entraînement intensif, alors qu'il n'y a pas encore de modification significative des concentrations plasmatiques du cortisol et de la testostérone. Ainsi, selon cette étude, la leptine serait un marqueur plus sensible que la testostérone et le cortisol du stress énergétique lié à un entraînement intensif.

Des études sur les athlètes montrent que les variations de la leptinémie dépendent de l'énergie corporelle totale disponible. En effet, une diminution significative de la leptine (de 2,5 à 1,5 ng/ml) a été observée après une course d'aviron de 2000 m (dépense énergétique d'environ 120-150 kcal) après 3 semaines d'entraînement intense, alors qu'aucune diminution n'a été observée après une même course réalisée avant les 3 semaines d'entraînement ni après 2 semaines de repos (Jürimäe *et al.*, 2003). Ces résultats suggèrent que, lorsque l'entraînement est trop intensif, il conduit à la rupture de l'homéostasie métabolique, de telle sorte que la dépense énergétique engendrée par une seule course entraîne une diminution de la leptinémie.

Chez le cheval, une étude d'Amatto (2011) sur 37 chevaux ibériques a montré une diminution significative des valeurs de la leptinémie pendant la période des spectacles par rapport à la période d'entraînement. Pendant la période de spectacle la plus intensive (juin, juillet et août), les chevaux n'avaient aucun jour de repos. Cependant, pendant cette période de travail intensif le score corporel des chevaux n'avait pas varié.

Ainsi, il a été montré chez l'homme que la leptinémie post-exercice diminue en cas d'entraînement excessif et de rupture de l'homéostasie énergétique. De Graaf-Roelfsema *et al.*, (2009) ont suggéré que le cheval pourrait servir de modèle pour étudier le surentraînement puisqu'il réagit de la même manière que le sportif humain au surentraînement. Le suivi de la leptinémie post-exercice pourrait donc servir à la prévention du surentraînement, chez le cheval. Néanmoins, des études expérimentales seraient nécessaires pour confirmer cette hypothèse.

Ainsi, nous avons vu dans cette seconde partie que la leptinémie est modifiée par l'entraînement intensif aussi bien chez l'homme que chez le cheval. Cependant, bien que les études réalisées sur les athlètes humains aient montré que la valeur de la leptinémie post-exercice est diminuée en cas de surentraînement, les travaux réalisés sur les chevaux ne permettent pas de conclure sur les variations de la leptinémie chez le cheval surentraîné. D'autres études expérimentales seraient donc nécessaires.

Comme nous avons vu que, chez le cheval non entraîné, la leptinémie est diminuée plus de 24 heures après l'exercice alors que chez le cheval entraîné la leptinémie est diminuée 2 heures après l'exercice mais a retrouvé sa valeur basale 24 heures après l'exercice, le suivi de la leptinémie sur les 24 heures suivant une course permettrait donc de voir si, en cas de surentraînement, la leptinémie retrouve ou non sa valeur basale, et si oui, si le délai avant le retour à la valeur pré-exercice est augmenté.

De plus, dans le but de donner une valeur pronostique à la leptinémie, chez le cheval, il serait intéressant d'établir une cinétique des modifications physiques et hormonales en cas de surentraînement. Nous avons vu dans la première partie, que la concentration sanguine des hormones thyroïdiennes était plus basse chez les chevaux surentraînés, et cela, dès le début de la mise au travail. Ainsi des concentrations en hormones thyroïdiennes diminuées avec une leptinémie non modifiée seraient en faveur d'un état de fatigue réversible et une diminution de l'entraînement permettrait d'éviter d'atteindre le surentraînement. Au contraire, si la leptinémie est diminuée, en plus des concentrations en hormones thyroïdiennes, le pronostic serait mauvais puisque le cheval, ayant épuisé ses réserves énergétiques aurait atteint l'état de surentraînement et seule une mise au repos totale et de longue durée permettrait un rétablissement.

Ainsi, il serait intéressant de suivre l'évolution au cours du temps du poids des chevaux, des réserves corporelles en graisse, des concentrations sanguines en hormones thyroïdiennes et de la leptine.

III. Proposition d'étude expérimentale

A. Objectif

Le but de cette étude est d'établir une cinétique d'apparition des modifications physiologiques et hormonales causées par l'entraînement intensif puis par le surentraînement et ainsi donner une valeur pronostique à la leptinémie, chez le cheval.

B. Matériel et méthodes

1. Choix des chevaux

Les disciplines équestres sont nombreuses et variées et la pratique de chacune d'entre elle à haut niveau est susceptible d'amener le cheval à un état de surentraînement. Les chevaux d'endurance évoluant sur des courses de 120 km semblent les mieux adaptés à notre étude car ils subissent des entraînements très intensifs associés à des dépenses énergétiques importantes.

2. Paramètres mesurés

a) Le poids vif

Le poids pourrait être mesuré une fois par semaine dès la mise à l'entraînement, dans les centres d'entraînement des chevaux. La mesure est effectuée sur les chevaux au repos.

Le poids des chevaux peut être mesuré de différentes façons. La pesée sur une balance donne le résultat le plus précis mais elle n'est pas facilement réalisable dans les centres d'entraînement ou en compétition. Sur le marché, les balances permettent une pesée de 1 à 1500 kg et donnent des résultats avec une précision entre 1 et 5 kg, chez le cheval.

De nombreuses équations ont été décrites pour estimer le poids du cheval. Des études ont été réalisées pour déterminer la précision de ces différentes équations. Toutes méthodes confondues, l'erreur entre le poids vif réel et estimé ne dépasse pas 15 %. Les meilleures prédictions sont obtenues avec des équations faisant intervenir 2 variables (tableau 1).

La figure 5 représente les mesures corporelles utilisées dans les différentes équations.

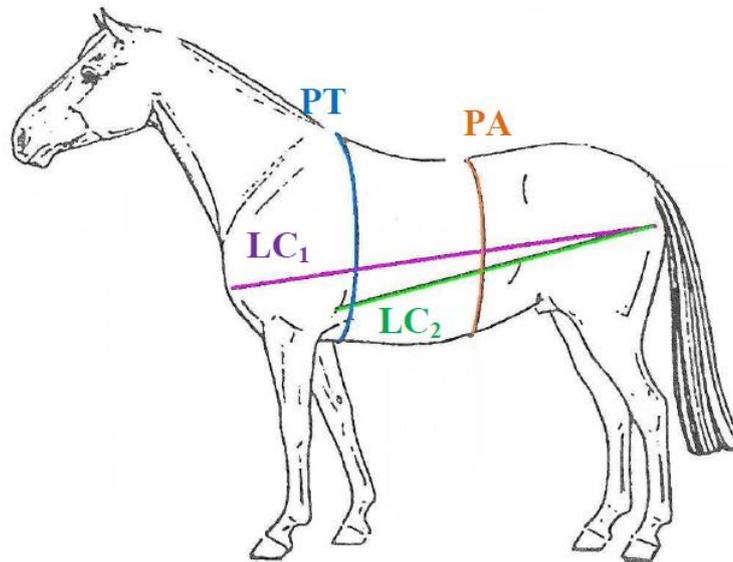


Figure 19 : Récapitulatif des mesures corporelles nécessaires à l'estimation du poids du cheval (Reavell, 1999). PT : périmètre thoracique au niveau du garrot (en cm), LC1 : Longueur du corps de la pointe de l'épaule à la tubérosité ischiatique (en cm), LC2 : Longueur du corps de l'olécrane à la tubérosité ischiatique (en cm), PA : périmètre abdominal au niveau de l'ombilic (en cm)

Auteurs	Type de chevaux	Nombre de chevaux	Equation du poids (kg)	Précision
MARCENAC et AUBLET (1964)	Non disponible		$PT^3 \times 80$	Non évaluée
MILNER et HEWITT (1969)	Toutes races	108	$PT^2 \times LC_3 / 10\ 815$	11 % d'erreur
ENSMINGER (1977)	Non disponible		$[(PT^2 \times LC_2) + 22,7] / 10\ 815$	Non évaluée
CARROLL et HUNTINGTON (1988)	Toutes races	281	$PT^2 \times LC_1 / 11\ 877,4$	7 % d'erreur
JONES <i>et al.</i> (1989)	Toutes races	53	$PA^{1,78} \times LC_2^{1,05} / 3011$	8 % d'erreur
MARTIN-ROSSET (1990)	Chevaux de selle		$2,6\ HG + 5,2\ PT - 855$	+/- 30 kg
BLANCHARD <i>et al.</i> (2005)	Pur-Sang Anglais	46	$2,3\ HG + 3,19\ PT - 428$	+/- 29 kg
BLANCHARD <i>et al.</i> (2005)	Selle-Français	23	$0,64\ HG + 5,78\ PT - 633$	+/- 29 kg
BLANCHARD <i>et al.</i> (2005)	Trotteur-Français	49	$4,42\ HG + 3,76\ PT - 849$	+/- 29 kg

Tableau 1 : Différentes équations d'estimation du poids du cheval et leur précision. HG : hauteur au garrot, PT : périmètre thoracique au niveau du garrot (en cm), LC1 : Longueur du corps de la pointe de l'épaule à la tubérosité ischiatique (en cm), LC2 : Longueur du corps de l'olécrane à la tubérosité ischiatique (en cm), PA : périmètre abdominal au niveau de l'ombilic (en cm)

Il semble que la formule de Carroll et Huntington soit plus précise sur les poneys et les petits chevaux (5% d'erreur) alors que pour les chevaux plus lourds, la formule de Jones et al. est préférable (Reavell, 1999).

b) *La leptinémie*

La leptinémie serait mesurée avant et pendant chaque course et, si possible, durant les 24 heures suivant chaque compétition. Pour cela, le sang est prélevé dans un tube EDTA avant le départ des courses, puis, à chaque contrôle vétérinaire effectué pendant la course et à l'arrivée. Selon la localisation des centres d'entraînement des chevaux, le suivi de la leptinémie durant les 24 heures suivant les compétitions sera ou non réalisable.

c) *Les performances*

La diminution des performances est le paramètre qui nous permettra de détecter les chevaux surentraînés (cf I.B.1). Les temps de courses des chevaux, leurs fréquences cardiaque et respiratoire, la survenue ou non de boiterie ou toute autre trouble seront évalués à chaque contrôle vétérinaire, effectué pendant les courses.

d) *Les hormones thyroïdiennes T3- T4*

Le dosage de T3 et T4 sera fait par radioimmunologie à l'aide du kit RIA développé par Diagnostic Product Corporation (Los Angeles, CA, USA) à partir de sang prélevé dans un tube EDTA. Ce dosage sera donc réalisé sur le même prélèvement que celui réalisé pour le dosage de la leptine.

e) *L'alimentation*

Les quantités d'aliments distribuées aux chevaux seront notées afin d'évaluer les apports énergétiques de chaque cheval.

Conclusion

La leptinémie est le témoin des réserves énergétiques de l'organisme. Elle semble être un bon marqueur du surentraînement. Les études actuellement réalisées chez l'homme indiquent effectivement qu'on observe une diminution de la leptinémie chez les athlètes surentraînés. De même, il a été montré que l'entraînement et les exercices intensifs influencent la leptinémie du cheval. Cependant, les travaux disponibles dans la bibliographie, chez le cheval, étant insuffisants, une étude a été proposée dans le troisième partie dans le but d'étudier l'évolution de la leptinémie chez les chevaux surentraînés au repos et après l'exercice. Cette étude n'a pas pu être mise en œuvre lors de ce travail de thèse pour des raisons financières et de temps. Néanmoins, un protocole succinct a été proposé pour aider à un travail expérimental futur. L'objectif serait, en dosant simultanément la leptine et les hormones thyroïdiennes de donner une valeur pronostique à la leptinémie.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

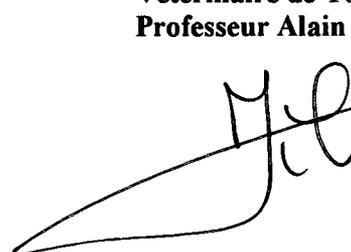
En vue de l'obtention du permis d'imprimer de la thèse de doctorat vétérinaire

Je soussignée, **Nathalie PRIYMENKO**, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **LE GAL Sandrine** intitulée « *Surentraining du cheval : Quel peut-être l'apport du suivi de la leptinémie.* » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

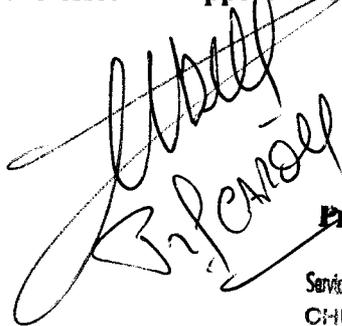
Fait à Toulouse, le 19 Octobre 2012
Docteur Nathalie PRIYMENKO
Enseignant chercheur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse



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

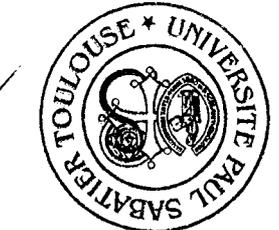


Vu :
Le Président du jury :
Professeur Philippe CARON



Professeur Philippe CARON
Chef de Service
Service d'Endocrinologie - Métabolisme - Nutrition - Nummés
CHU TOULOUSE - Hôpital Larrey
24, chemin de Pouchouville - TSA 30030
31059 TOULOUSE Cedex 9 - Tél. 05 62 71 47 87

Vu et autorisation de l'impression :
Le Président de l'Université
Paul Sabatier
Professeur Bertrand MONTHUBERT



Mlle **LEGAL Sandrine**
a été admis(e) sur concours en : 2007
a obtenu son diplôme d'études fondamentales vétérinaires le : 30/6/2011
a validé son année d'approfondissement le : 12/7/2012
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

Bibliographie

Amato C., Martin L., Dumon H., Jaillardon L., Nguyen P., Siliart B. (2011), Variations of plasma leptin in show horses during a work season, *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*

Barash I., Cheung C., Weigle D., Ren H., Kabigting E., Kuijper J., Clifton D., Steiner R. (1996), Leptin is a Metabolic Signal to the Reproductive System, *Journal of Endocrinology*, 137, 3144-3147.

Baylor L.S., Hackney A.C. (2003), Resting thyroid and leptin hormone changes in women following intense, prolonged exercise training, *European Journal Applied Physiology* 88, 480-484.

Benoit S.C., Clegg D.J., Seeley R.J., Woods S.C. (2004), Insulin and leptin as adiposity signals, *Recent Progress in Hormone Research*, 59, 267-285.

Bonnet N., Courteix D., Benhamou C. (2005), Leptine, système nerveux central et tissu osseux : influence de l'exercice physique, *Revue du Rhumatisme*, 72, 890-893.

Bradley R.L., Kokkotou E.G., Maratos-Flier E., Cheatham B. (2000), Melanin-concentrating hormone regulates leptin synthesis and secretion in rat adipocytes, *Diabetes*, 49(7), 1073-1077.

Bricout V.-A., Guinot M., Duclos M., Koulmann N., Serrurier B., Brune J.-F., Flore P., Chatard J.-C., Bigard X., Favre-Juvin A. (2006), Position de consensus : apport des examens biologiques dans le diagnostic de surentraînement, *Science & Sports*, 21, 319-350.

Buff P.R., Dodds A.C., Morrison C.D., Whitley N.C., Mc Fadin E.L., Daniel J.A., Djiane J., Keisler D.H. (2002), Leptin in horse: tissue localization and relationship between peripheral concentrations of leptin and body condition, *Journal of Animal Sciences*, 80, 2942-2948.

Buff P.R., Morrison C.D., Ganjam V.K., Keisler D.H. (2005), Effects of short-term feed deprivation and melatonin implants on circadian patterns of leptin in the horse, *Journal of Animal Sciences*, 83, 1023-1032.

Buff P.R., Spader B.R., Morrison C.D., Keisler D.H. (2006), Endocrine responses in mares undergoing abrupt changes in nutritional management, *Journal of Animal Sciences*, 84, 2700-2707.

Cammisotto P.G., Gelinas Y., Bukowiecki L.J., Deshaies Y., (2005), Regulation of leptin secretion from white adipocytes by insulin, glycolytic substrates, and amino acids, *American Journal of Physiology: Endocrinology and Metabolism*, 289, E166-E171.

Cammisotto P.G., Bukowiecki L.J., Deshaies Y., Bendayan M. (2006), Leptin biosynthetic pathway in white adipocytes, *Biochemistry and Cell Biology*, 84, 207-214.

Cartmill J. A., Thompson D. L., Storer W. A., Crowley J. C., Huff N. K., Waller C.A. (2005), Effect of dexamethasone, feeding time, and insulin infusion on leptin concentrations in stallions, *Journal of Animal Sciences*, 83:1875-1881.

Cartmill J.A., Thompson Jr. D.L., Del Vecchio R.P., Storer W.A., Crowley J.C. (2006), Leptin secretion in horses: Effects of dexamethasone, gender, and testosterone, *Domestic Animal Endocrinology*, 31, 197-210.

Cebulj-Kadunc N., Kosec M., Cestnik V. (2009), Serum Leptin Concentrations in Lipizzan Fillies, *Reproduction in Domestic Animals*, 44, 1-5.

Chan J.L., Heist K, De Paoli A.M., Veldhuis J.D., Mantzoros C.S. (2003), The role of falling leptin levels in the neuroendocrine and metabolic adaption to short-term starvation in healthy men, *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, 111, 1409-1421.

Chehab FF, Lim ME, Lu R. (1996), Correction of the sterility defect in homozygous obese female mice by treatment with the human recombinant leptin, *Nature Genetics*, 12, 318-320.

Cohen P., Miyakasi M., Socci N.D., Hagge-Greenberg A., Soukas A.A., Sharma R., Huggins L.C., Ntambi J.M., Friedman J.M. (2002), Role for Stearoyl-CoA desaturase 1 in leptin mediated weight loss, *Science*, 297(5579), 240-243.

Combarous Y (1996), *Biochimie des communications cellulaires*, 2e édition, Lavoisier TEC et DOC.

Costill D.L., Flynn M.G., Kirwan J.P. (1988), Effects of repeated days of intensified training on muscle glycogen and swimming performance. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 20, 249-254.

De Graaf-Roelfsema E., Keizer H.A., van Breda E., Wijnberg I.D., Van der Kolk J.H. (2007), Hormonal responses to acute exercise, training and overtraining : A review with emphasis on the horse, *The Veterinary Quarterly*, 29, 82-101.

De Graaf-Roelfsema E., Veldhuis P.P., Keizer H.A., van Ginneken M.M., Van Dam K.G., Johnson M.L., Barneveld A., Menheere P.P., Van Breda E., Wijnberg I.D., Van der Kolk J.H. (2009), Overtrained horses alter their resting pulsatile growth hormone secretion, *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 297, R403-R411.

Desgorces F.D., Chennaoui M., Gomez-Merino D., Drogou C., Bonneau D., Guezennec C.Y. (2004), Leptin, catecholamines and free fatty acids related to reduced recovery delays after training, *European journal of applied physiology*, 93: 153-158.

Dirlwanger M, Di Vetta V, Giusti V, Schneiter P, Jequier E, Tappy L. (1999), Effect of moderate physical activity on plasma leptin concentrations in humans, *European Journal of Applied Physiology*, 79, 331-335.

Donahoo W.T., Jensen D.R., Yost T.J., Eckel R.H. (1997), Isoproterenol and somatostatin decrease plasma leptin in humans: a novel mechanism regulating leptin secretion, *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 82, 4139-4143.

Essig D.A., Alderson N.L., Ferguson M.A., Bartoli W.P., Durstine J.L. (2000), Delayed effects of exercise on the plasma leptin concentration, *Metabolism*, 49, 395-399.

Favre-Juvin A., Flore P., Rousseaux Blanche M.-P. (2003), Approche clinique du surentraînement, *Science et Sports*, 18, 287-289.

Gleeson M. (2002), Biochemical and immunological markers of overtraining, *Journal of Sports Science and Medicine* 1, 31-41.

Golland L.C., Evans D.L., McGowan C.M., Hodgson D.R., Rose R.J. (2003), The Effects of Overtraining on Blood Volumes in Standardbred Racehorses, *Veterinary Journal*, 165, 228-233.

Gomez-Merino D., Chennaoui M., Guezennec C.Y. (2004), Leptine et exercice physique, *Science et Sports*, 19, 8-18.

Gordon M. E., Mc Keever K. H., Bokman S., Betros C. L., Manso-Filho H., Liburt N. and Streltsova J. (2006), Interval exercise alters feed intake as well as leptin and ghrelin concentrations in Standardbred mares, *Equine Veterinary Journal*, 36, 596-605.

Gordon M. E., McKeever K. H., Betros C. L., Manso Filho H. C. (2007), Exercise-induced alterations in plasma concentrations of ghrelin, adiponectin, leptin, glucose, insulin, and cortisol in horses, *Veterinary Journal*, 173, 532-540.

Hamlin M. J., Shearman J. P., Hopkins W. G. (2002), Changes in physiological parameters in overtrained Standardbred racehorses, *Equine Veterinary Journal*, 34, 383-388.

Heiman M.L., Ahima R.S., Craft L.S., Schoner B., Stephens T.W., Fliers J.S. (1997), Leptin inhibition of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in response to stress, *Endocrinology*, 138, 3859-3863.

Hickey M.S., Considine R.V., Israel R.G., Mahar T.L., Mc Cammon M.R., Tyndall G.L., (1996), Leptin is related to body fat content in male distance runners, *American Journal of Physiology*, 271, E938-940.

Hickey M.S., Houmard J.A., Considine R.V., Tyndall G.L., Midgett J.B., Gavigan K.E., Weidner M.L., Mc Cammon M.R., Israel R.G., Caro J.F. (1997), Gender-dependent effects of exercise training on serum leptin levels in humans, *American Journal of Physiology*, 272, 562-566.

Jürimäe J., Mäestu J., Jürimäe T. (2003), Leptin as a marker of training stress in highly trained male rowers, *European Journal of Applied Physiology*, 90, 533-538.

Jürimäe J., Mäestu J., Jürimäe T., Mangus B., Von Duvillard S.P. (2011), Peripheral signals of energy homeostasis as possible markers of training stress in athletes: a review, *Metabolism Clinical and Experimental*, 60, 335-350.

Karamouzis I., Karamouzis M., Vrabas I.S., Christoulas K., Kyriazis N., Giannoulis E., Mandroukas K. (2002), The effects of marathon swimming on serum leptin and plasma neuropeptide Y levels, *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 40, 132-136.

Kowalik S., Kędzierski W. (2011), The effect of interval versus continuous exercise on plasma leptin and ghrelin concentration in young trotters, *Polish Journal of Veterinary Sciences* 14, 373-378.

Leleu C., Haentjens F. (2010), Morphological, haemato-biochemical and endocrine changes in young Standardbreds with 'maladaptation' to early training, *Equine Veterinary Journal*, 42 (Suppl. 38), 171-178.

Li H., Matheny M., Scarpace P.J. (1997), β 3-Adrenergic-mediated suppression of leptin gene expression in rats, *American Journal of Physiology*, 272, 1031-1036.

Linco Research, Multi-species leptin RIA kit protocol, en ligne sur http://www.sceti.co.jp/medical/PdfFiles/LINCO/Multi-species_Leptin_RIA_kit.pdf, consulté le 04.07.2012.

Mc Manus C., Fitzgerald B. (2000), Effects of a single day of feed restriction on changes in serum leptin, gonadotropins, prolactin, and metabolites in aged and young mares, *Domestic Animal Endocrinology* 19, 1-13.

Ménager S., (2010) Méthode d'évaluation du poids chez le cheval d'endurance. Détermination expérimentale du « poids de forme », Thèse pour le Doctorat Vétérinaire.

Miller S.G., Devos P., Guerre-Millo M., Wong K., Hermann T, Staels B, Briggs MR, Auwerks J (1996), The adipocyte specific transcription factor C/EBP α modulates human ob gene expression, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 93, 5507-5511.

Padalino B., Rubino G., Centoducati P., Petazzi F. (2007), Training versus overtraining: Evaluation of two protocols, *Journal of Equine Veterinary Science*, 27, 28-31.

Petibois C., Cazorla G., Déléris G., Gin H. (2001), L'étiologie clinique du surentraînement au travers de l'examen sanguin : état des connaissances, *Revue de Médecine Interne*, 22, 723-736.

Piccione G., Bertolucci C., Foà A., Caola G. (2004), Influence of fasting and exercise on the daily rhythm of serum leptin in the horse, *Chronobiology International*, 21, 405-417.

Radin M. J., Sharkey L. C., Holycross B. J. (2009), Adipokines: a review of biological and analytical principles and an update in dogs, cats, and horses, *American Society for Veterinary Clinical Pathology*, 38, 136-156.

Rämson R, Jürimäe J, Jürimäe T, Mäestu J. (2008), The influence of increased training volume on cytokines and ghrelin concentration in college level male rowers. *European Journal of Applied Physiology*, 104, 839-846.

Reavell DG. (1999), Measuring and estimating the weight of horses with tapes, formulae and

visual assessment, *Equine Veterinary Education*, 11, 314-317.

Roh C., Han J., Zatsos A., Kandror K.V. (2003), Nutrient-sensing mTOR-mediated pathway regulates leptin production in isolated rat adipocytes, *American Journal of Physiology, Endocrinology and Metabolism*, 284, 322-330.

Sarraf P., Frederich R.C., Turner E.M., Ma G., Jaskowiak N.T., Rivet D.J., Flier J.S., Lowell B.B., Fraker D.L., Alexander H.R. (1997), Multiple cytokines and acute inflammation raise mouse leptin levels: potential role in inflammatory anorexia, *Journal of Experimental Medicine*, 185, 171-176.

Serrurier B., Guezennec C.-Y. (1997), Mécanismes biologiques du syndrome de surentraînement, *Revue Française des Laboratoires*, 298, 31-33.

Sesboüé B., Guincestre J.-Y. (2006), La fatigue musculaire, *Annales de Réadaptation et de Médecine Physique*, 49, 257-264.

Slieker L.J., Sloop K.W., Surface P.L., Kriauciunas A., Laquier F., Manetta J., Bue-Valleskey J., Stephens T.W. (1996), Regulation of Expression of ob mRNA and Protein by Glucocorticoids and cAMP, *Journal of Biological Chemistry*, 271, 5301-5304.

Steelman S. M., Michael-Eller E. M., Gibbs P. G., Potter G. D. (2006), Meal size and feeding frequency influence serum leptin concentration in yearling horses, *Journal of Animal Sciences*, 84, 2391-2398.

Thomas T. (2003), La leptine : un médiateur potentiel des effets protecteurs de la masse grasse sur le tissu osseux, *Revue du rhumatisme*, 70, 22-25.

Tyler-McGowan C. M., Golland L. C., Evans D. L., Hodgson D. R., Rose R. J. (1999), Haematological and biochemical responses to training and overtraining, *Equine Veterinarian Journal*, 30, 621-625.

Vallois L. (2007), La Leptinémie chez le cheval: étude des différents facteurs de variation, Thèse pour le Doctorat Vétérinaire.

Wallace A. M. (2000), Measurement of leptin and leptin binding in the human circulation. *Annals of Clinical Biochemistry*, 37, 244-252.

Watanobe H, Habu S. (2002), Leptin regulates growth hormone-releasing factor, somatostatin, and alpha-melanocyte-stimulating hormone but not neuropeptide Y release in rat hypothalamus in vivo: relation with growth hormone secretion, *Journal of Neurosciences*, 22, 6265-6271.

Yihua D., Xiaoyan G., Huali L., Fanxing Z. (2004), Effect of different training stress on leptin, cortisol and testosterone in elite female rowers, *Journal of Exercise Science and Fitness*, 2, 99-104.

Zhang Y., Proenca R., Maffei M. (1994), Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*, 372, 425-432.

