

Université de Montréal

La résistance à l'insuline en insuffisance rénale chronique et le risque de développer un diabète de type 2 : Un cercle vicieux

**Mémoire présenté à la Faculté de Médecine de l'Université de Montréal
en vue de l'obtention du grade de Maîtrise universitaire ès sciences**

A été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Dr. Martin Sirois
Président rapporteur

Dr. Vincent Pichette
Directeur de recherche

Dr. Éric Thorin
Membre du jury

© François Dion, 2016

Université de Montréal

**La résistance à l'insuline en insuffisance rénale chronique et le
risque de développer un diabète de type 2 : un cercle vicieux**

par François Dion

Centre de recherche de l'Hôpital Maisonneuve-Rosemont, Centre affilié à l'Université de
Montréal

Département de Pharmacologie, Faculté de Médecine, Université de Montréal

Mémoire présenté à la Faculté de Médecine
en vue de l'obtention du grade de Maîtrise universitaire ès sciences
en Pharmacologie

Mai 2016

© François Dion, 2016

Résumé

L'insuffisance rénale chronique (IRC) est caractérisée par de multiples déséquilibres homéostatiques tels que la résistance à l'insuline. Peu d'études se sont intéressées aux mécanismes sous-jacents à cette résistance à l'insuline en IRC. De plus, il est méconnu si cette résistance à l'insuline peut mener au développement d'un diabète de type II chez des patients prédisposés. Dans un modèle d'IRC, le rat Sprague-Dawley (CD) néphrectomisé 5/6^e, on observe une corrélation entre la gravité de l'atteinte rénale, évaluée par la créatinine sérique, et l'hyperglycémie, évaluée par la fructosamine sérique ($R^2 = 0.6982$, $p < 0.0001$). Cependant, cet état hyperglycémique n'est pas observable lors d'une glycémie à jeun. Lors d'un test de tolérance au glucose, on observe une plus grande élévation de la glycémie (AUC 1.25 fois, $p < 0.0001$) chez le rat atteint d'IRC. Par contre, la sécrétion d'insuline au cours de ce même test n'augmente pas significativement (AUC ≈ 1.30 fois, N.S.) en comparaison aux rats témoins. Malgré une élévation des taux d'insuline en IRC suivant un bolus de glucose, les tissus périphériques ne montrent pas d'augmentation de la captation du glucose sanguin suggérant un défaut d'expression et/ou de fonction des transporteurs de glucose chez ces rats. En effet, on observe une diminution de ces transporteurs dans divers tissus impliqués dans le métabolisme du glucose tel que le foie (≈ 0.60 fois, $p < 0.01$) et le muscle (GLUT1 0.73 fois, $p < 0.05$; GLUT4 0.69 fois, $p < 0.01$). En conséquence, une diminution significative du transport insulindépendant du glucose est observable dans le muscle des rats atteint d'IRC (≈ 0.63 fois, $p < 0.0001$). Puisque les muscles sont responsables de la majorité de la captation insulindépendante du glucose, la diminution de l'expression du GLUT4 pourrait être associée à la résistance à l'insuline observée en IRC. La modulation de l'expression des transporteurs de glucose pourrait être à l'origine de la résistance à l'insuline en IRC. Cela dit, d'autres mécanismes peuvent aussi être impliqués. En dépit de cette importante perturbation du transport du glucose, nous n'avons pas observé de cas de diabète de type II chez le rat CD atteint d'IRC. Dans un modèle de rat atteint d'un syndrome métabolique, le rat Zucker Lepr^{fa/fa}, l'IRC provoque une forte hyperglycémie à jeun (1.5 fois, $p < 0.0001$). De plus, l'IRC chez le rat Zucker provoque une réponse glycémique (AUC 1.80 fois, $p < 0.0001$) exagérée lors d'un test de tolérance au glucose. Une forte résistance à l'insuline est mesurée au niveau des

muscles puisque la dose usuelle d'insuline (2mU/mL) n'est pas suffisante pour stimuler la captation du glucose chez le rat Zucker atteint d'IRC. De plus, une modulation similaire des transporteurs de glucose peut être observée chez ces deux espèces. Par contre, environ 30% ($p < 0.001$) des rats Zucker atteints d'IRC avaient une glycosurie. L'IRC en soi ne mènerait donc pas au développement d'un diabète de type II. Par contre, lorsqu'une résistance à l'insuline est présente antérieurement au développement d'une IRC, cela pourrait précipiter l'apparition d'un diabète de type II chez ces patients prédisposés.

Mots-clés : Résistance à l'insuline, insuffisance rénale chronique, transporteurs de glucose, GLUT4, diabète de type II

Abstract

Chronic renal failure (CRF) is characterized by multiple homeostasis imbalances such as insulin resistance. However, few studies addressed the underlying mechanisms of the insulin resistance in CRF. Moreover, it is not known if the insulin resistance in CRF could lead to type II diabetes in predisposed patients. In 5/6th nephrectomised Sprague-Dawley (CD) rat model of CRF, we observed a correlation between the severity of the renal injury, evaluated by the serum creatinine level, and the hyperglycaemia, evaluated by the serum fructosamine level ($R^2 = 0.6982$, $p < 0.0001$). However, this hyperglycemia is not observed on fasting. During a glucose tolerance test, we noticed an increase of the glycaemia in CRF rats (AUC 1.25 fold, $p < 0.0001$) comparing to controls. Insulin secretion of CRF rats was not significantly higher (AUC ≈ 1.30 fold, N.S.) during glucose challenge. Interestingly, despite more increase in insulin levels in CRF rats following a glucose bolus, the peripheral tissues did not show any increase in blood glucose uptake suggesting a defect in expression and/or function of glucose transporters in these rats. Indeed, we observed decreased expression of glucose transporters in the liver (≈ 0.60 fold, $p < 0.01$) and muscles (GLUT1 0.73 fold, $p < 0.05$ and GLUT4 0.69 fold, $p < 0.01$). Accordingly, there was a significant reduction in the insulin-dependent glucose uptake in the muscles of CRF rats compared to controls (≈ 0.63 fold, $p < 0.0001$). Since muscles are responsible for the majority of insulin-sensitive glucose transport, downregulation of GLUT4 could be associated with the insulin resistance observed in CRF. The modulation of the expression of several glucose transporters may contribute to insulin resistance in CRF, but other mechanisms could also be implicated. Despite this important perturbation of glucose transport, we did not observed any case of type II diabetes in our CD rat model. In a rat model of metabolic syndrome, the Zucker $Lepr^{fa/fa}$, CRF causes a strong hyperglycemia on fasting (1.5 fold, $p < 0.0001$). Furthermore, CRF Zucker showed an exacerbated glyceemic response (AUC 1.80 fold, $p < 0.0001$) during glucose challenge. A strong insulin resistance in muscle was measured as the usual insulin dose (2mU/mL) was not enough to stimulate glucose uptake in Zucker rats with CRF. The same modulation of glucose transporters in the peripheral tissues was observed in both rat models. As opposed to CD rats, $\approx 30\%$ ($p < 0.05$) of CRF Zucker rats' showed presence of glucose in their urine. CRF by itself

won't lead to type II diabetes. However, when insulin resistance is already present when developing CRF, it could precipitate the onset of type II diabetes among these patients.

Keywords: insulin resistance, chronic renal failure, GLUT4, glucose transporters, type II diabetes

Table des matières

Résumé.....	III
Abstract.....	V
Liste des tableaux.....	X
Liste des figures.....	XI
Liste des sigles.....	XIII
Liste des abréviations.....	XVI
Remerciements.....	XVIII
Introduction.....	1
1. L'insuffisance rénale chronique.....	2
1.1. Étiologie.....	3
1.2. Pathologies associées.....	4
1.2.1. Déséquilibre nutritionnel.....	4
1.2.2. Acidose métabolique.....	5
1.2.3. Anémie.....	6
1.2.4. Dystrophie osseuse et minérale.....	6
1.2.5. Inflammation.....	8
1.2.6. Cytochrome P450.....	9
1.2.7. Transporteurs des xénobiotiques.....	9
2. Syndrome métabolique, résistance à l'insuline et diabète de type 2.....	10
2.1. Étiologie.....	11
2.2. Impact du syndrome métabolique.....	12
2.2.1. Augmentation de la masse adipeuse.....	12
2.2.2. Lipotoxicité.....	14
2.2.3. Glucolipotoxicité.....	15
2.2.4. Diabète de type 2.....	15
2.2.5. Hypertension.....	16
2.2.6. Impact sur l'insuffisance rénale chronique.....	17
2.3. Homéostasie métabolique du glucose.....	19
2.3.1. L'absorption du glucose et les incrétines.....	19

2.3.2.	Transporteurs de glucose	20
2.3.3.	Régulation des transporteurs de glucose.....	25
2.3.4.	Fonctionnement du pancréas.....	26
2.3.5.	Rôle de l'insuline	27
2.3.6.	Rôle du glucagon	29
2.4.	Débalancement de l'homéostasie du glucose	30
2.4.1.	Conditions pathologiques affectant l'expression des transporteurs de glucose	30
2.4.2.	Conditions pathologiques affectant la sensibilité à l'insuline.....	31
2.5.	Impact de la résistance à l'insuline sur les fonctions rénales.....	34
2.6.	Développement d'un diabète de type 2.....	36
2.6.1.	Critères de diagnostic du diabète de type 2	37
2.7.	Méthodes pour mesurer et caractériser la résistance à l'insuline.....	39
2.7.1.	Mesures glycémiques.....	39
2.7.2.	Mesure de la résistance à l'insuline	41
2.8.	Modèles animaux	44
2.8.1.	Impact du knockout du récepteur de la leptine	47
3.	La résistance à l'insuline en insuffisance rénale chronique.....	49
3.1.	Débalancement de l'homéostasie du glucose	50
3.2.	Sécrétion et métabolisme de l'insuline	53
3.3.	Expression des transporteurs de glucose.....	54
3.4.	La résistance à l'insuline en insuffisance rénale chronique peut-elle évoluer en diabète de type 2?.....	55
4.	Hypothèses de recherche.....	56
5.	Résultats.....	58
5.1.	Article	58
	Abstract.....	61
	Introduction.....	62
	Materials and methods	64
	Results.....	69
	Discussion.....	72
	Bibliography	89

5.2. Résultats supplémentaires non inclus dans l'article.....	92
Discussion.....	102
Discussion tirée des résultats de l'article	102
Discussion des résultats supplémentaires	105
Conclusion et perspectives.....	108
Bibliographie.....	111
Autorisations pour l'utilisation des figures.....	123

Liste des tableaux

Tableau 1.1 Stades de l'insuffisance rénale chronique selon les recommandations internationales	2
Tableau 2.1 Critères de diagnostic du syndrome métabolique selon l'International Diabetes Federation	10
Tableau 2.2 Sommaire des propriétés des transporteurs de glucose.....	21
Tableau 2.3 Critères de diagnostic du diabète de type 2 et de l'état prédiabétique selon l'American Diabetes Association	38
Tableau 2.4 Caractéristiques des différents modèles animaux fréquemment utilisés en recherche sur le diabète et le syndrome métabolique	47
Table I TaqMan gene expression assays used for Real-time PCR.....	76
Table II Biochemical Parameters and Body Weight of Control and CRF CD Rats	76
Table III Biochemical Parameters and Body Weight of Control and CRF Zucker Lepr ^{fa/fa} Rats	76
Tableau 5.1 Paramètres biochimiques et poids corporel des rats Sprague-Dawley	92
Tableau 5.2 Paramètres biochimiques et poids corporel des rats Zucker Lepr ^{fa/fa}	92
Tableau 5.3 Analyse d'urine des rats Zucker Lepr ^{fa/fa} 42 jours après la 1 ^{re} néphrectomie ..	101

Liste des figures

Figure 1.1 Impact de l'IRC sur l'équilibre phosphocalcique	7
Figure 2.1 Progression de l'obésité vers la dyslipidémie	13
Figure 2.3 Effets des incrétines suites à l'ingestion de nutriments	19
Figure 2.4 Schématisation d'un entérocyte et de ses transporteurs de carbohydrate.....	20
Figure 2.5 Réabsorption du glucose dans le rein	24
Figure 2.6 Détection du glucose et sécrétion d'insuline par les cellules β du pancréas	26
Figure 2.7 Mécanismes de sécrétion du glucagon par les cellules α du pancréas.....	27
Figure 2.8 Signalisation du récepteur à l'insuline.....	28
Figure 2.9 Effet de l'insuline sur le transport du glucose et sur son métabolisme	28
Figure 2.10 Sécrétion de l'insuline par les cellules β pancréatiques et son effet sur les tissus périphériques.....	29
Figure 2.11 Interaction entre les désordres métaboliques provoqués par une résistance à l'insuline et les dommages rénaux résultants.....	34
Figure 2.12 Évolution du débalancement homéostasique du glucose pouvant mener au diabète de type 2	36
Figure 3.1 Débalancement du métabolisme du glucose en insuffisance rénale chronique...	50
Figure 4.1 L'insuffisance rénale chronique peut-elle mener au diabète de type 2?.....	56
Figure I Correlation between serum fructosamine and creatininemia in both control and CRF rats.....	77
Figure II Glucose and insulin responses to an intraperitoneal glucose tolerance test	78
Figure III mRNA expression of glucose transporters in select organs of CRF rats	80
Figure IV Protein levels glucose transporters in select organs of CRF rats	82
Figure V <i>Ex vivo</i> accumulation of radio-labeled 2-deoxyglucose in muscles	85
Figure VI Glycosuria apparition in Zucker Lepr ^{fa/fa} rats after the first nephrectomy	88
Figure 5.1 Comparaison de la réponse aux tests de tolérance au glucose chez le rat Sprague-Dawley selon la voie d'administration du dextrose.....	93
Figure 5.2 Expression en ARNm des transporteurs de glucose intestinaux chez le rat CD ..	95
Figure 5.3 Aire sous la courbe (AUC) de la glycémie sur 2 heures lors d'IPGTT chez les rats Sprague-Dawley en fonction du temps post-néphrectomie	96

Figure 5.4 | Aire sous la courbe de la glycémie sur 2 heures lors d'IPGTT chez les rats Sprague-Dawley en fonction de l'atteinte rénale..... 97

Figure 5.5 | Expression de l'ARNm des transporteurs de glucose dans le cerveau en IRC 98

Figure 5.6 | Expression protéique des transporteurs de glucose dans le cerveau en IRC 99

Figure 5.7 | Expression protéique du GLUT4 dans des membranes totales de *Biceps Femoris* chez les rats atteints d'IRC 100

Figure 5.8 | Rapport μ Albumine/créatinine urinaire..... 101

Liste des sigles

2-DG	2-deoxy-D-glucose
AC	Adénylate cyclase
ADP	Adénosine diphosphate
Akt	Protein kinase B
AMPc	Adénosine monophosphate cyclique
AMPK	5' adenosine monophosphate-activated protein kinase
ARNm	Acide ribonucléique messenger
ATP	Adénosine triphosphate
AUC	Aire sous la courbe
BAT	Brown adipose tissue
BSA	Bovine serum albumin
CD	Rat Sprague Dawley
ChREBP	Carbohydrate-responsive element-binding protein
CRP	Protéine C-Réactive
CYP450	Cytochrome P450
DFG	Débit de filtration glomérulaire
DPP-4	dipeptidyl peptidase 4
EPO	Érythropoïétine
ESRD	End-stage renal disease
ET-1	Endothéline-1
FFA	Acide gras libre
GapDH	Glyceraldehyde-3 dehydrogenase
GIP	Glucose-dependent insulintropic polypeptide
GK	Rat Goto-Kakizaki
GLP-1	Glucagon-like peptide-1
GLUT	Transporteur de glucose
GPCR	Récepteur couplé à une protéine G
Grb2	Growth factor receptor-bound protein 2
GSIS	Glucose-stimulated insulin secretion

HbA1c	Hémoglobine glyquée
HDL	High density lipoprotein
HFD	High fat diete
IGF	Insulin growth factor
IL-6	Interleukine-6
IPGTT	Test de tolérance au glucose intrapéritonéale
IR	Insuffisance rénale
IRC	Insuffisance rénale chronique
IRS	Insulin Receptor
IRT	Insuffisance rénale terminale
IVGTT	Test de tolérance au glucose intraveineux
K	Potassium
KDa	Kilodalton
LDL	Low density lipoprotein
LepR	Récepteur de la leptine
LPS	Lipopolysaccharide
MAPK	Mitogen-activated protein kinases
Na	Sodium
NO	Oxyde nitrique
NOD	Souris non-obese diabetic
NPX	Nephrectomie
OGTT	Test de tolérance au glucose oral
OP-CD	Rat CD Obese-prone
OR-CD	Rat CD Obese-resistant
PAI-1	Inhibiteur de l'activateur du plasminogène-1
PBS	Phosphate buffered saline
PC1	Proprotein convertase 1
PC2	Proprotein convertase 2
PCR	Polymerase chain reaction
pH	Potentiel hydrogène
PI3-K	Phosphoinositide 3-kinase

PIP₂	Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate
PIP₃	Phosphatidylinositol (3,4,5)-trisphosphate
PKA	Protéine kinase A
PPAR	Peroxisome proliferator-activated receptor
PTH	Parathormone
RAS	Renin-Angiotensin System
RE	Réticulum endoplasmique
RI	Résistance à l'insuline
ROS	Réactifs oxygénés
RXR	Retinoid X receptor
SDS	Sodium dodecyl sulfate
SGLT	Co-transporteur sodium-glucose
SHHF	Spontaneously Hypertensive Heart Failure
SLC	Solute carrier
SNARE	Soluble N-éthylmaleimide-sensitive-factor Attachment protein REceptor
SREBP	Sterol regulatory element-binding proteins
T2D	Diabète de type II
T₃	Triiodothyronine
T₄	Thyroxine
TBS	Tris buffered saline
TBST	Tris buffered saline / 0.1% Tween20
TGF-β	Transforming growth factor beta
TNF-α	Tumor necrosis factor α
VLDL	Very-low density lipoprotein
WAT	White adipose tissue
WAT	White adipose tissue
ZDF	Rat Zucker diabetic fatty
ZSF1	Rat Zucker fatty/Spontaneously hypertensive heart failure F1 hybrid

Liste des abréviations

Art.	Article
Dr.	Docteur
Etc.	Et cætera

*"Vous ne pourrez évoluer à moins d'essayer d'accomplir
quelque chose au-delà de ce que vous avez déjà réalisé."*

De Ralph Waldo Emerson

Remerciements

J'aimerais remercier mon directeur de recherche, le Dr. Vincent Pichette, de m'avoir offert l'opportunité d'apprendre et de faire évoluer la science au sein de son laboratoire. J'aimerais aussi remercier tous les membres du laboratoire, François Leblond, Nathalie Henley, Dominic Rollet, Marie-Laure Durand et Julie Dubeau pour leur aide et leur support dans le cadre de mes travaux de recherche. Ces 2 dernières années m'ont permis de compléter mon parcours universitaire et d'améliorer mes compétences professionnelles. Merci à tous pour cette expérience unique.

Je remercie ma famille, ma conjointe et mes amis proches pour leur soutien moral et leurs encouragements continus. Sans vous tous, je ne serais probablement pas rendu où j'en suis au moment où je vous parle.

Encore une fois, un grand merci à tous.

Introduction

L'insuffisance rénale chronique (IRC) est caractérisée par une perte progressive des fonctions rénales pouvant mener à une insuffisance rénale terminale (IRT). Les patients atteints d'IRT doivent absolument recourir à des traitements très coûteux tels que l'hémodialyse et la transplantation rénale pour survivre (7). En Amérique du Nord, un nombre grandissant de gens sont atteints d'IRC avec une prévalence s'élevant à plus de 16% en 2013 (8, 9). Cette hausse de prévalence est majoritairement liée à l'augmentation des cas de diabète de type 2 (T2D) et de syndrome métabolique (10). En effet, près de 45% des cas d'IRC sont attribuables au diabète (11). Bien qu'une résistance à l'insuline (RI) soit commune chez les patients atteints d'IRC et que ce désordre soit partiellement responsable du déclin des fonctions rénales (12), peu d'études mettent en évidence les mécanismes responsables du développement de la résistance à l'insuline en IRC. De plus, il est méconnu si cette résistance à l'insuline en IRC peut mener au développement d'un diabète de type 2 chez les patients prédisposés, comme ceux atteints d'un syndrome métabolique (13). L'importance de ces mécanismes est primordiale, puisque s'il s'avère que la résistance à l'insuline causée par l'IRC peut bel et bien mener au développement d'un T2D, chacun de ces désordres formerait un cercle vicieux menant à la dégradation des fonctions rénales et, au final, à l'augmentation de la morbidité et de la mortalité.

Pour ce faire, il serait important de déterminer si 1) l'IRC est associé à une diminution du transport du glucose dans les tissus sensibles à l'insuline, 2) si l'IRC provoque une résistance à l'insuline et un défaut d'expression des transporteurs de glucose et 3) si la résistance à l'insuline causée par l'IRC peut mener au développement d'un T2D. Ceci permettrait de mieux comprendre les mécanismes de débalancement de l'homéostasie du glucose en IRC.

1. L'insuffisance rénale chronique

L'insuffisance rénale chronique (IRC) est caractérisée par une diminution du débit de filtration glomérulaire (DFG) et des fonctions tubulaires. Chez un patient sain, le DFG est d'environ 120mL/min/1.73m². Le diagnostic de l'IRC est établi lorsqu'un patient montre des signes de dommages rénaux et/ou lorsque son DFG est inférieur à 60mL/min/1.73m² pour une période d'au moins 3 mois (14). Une perte d'albumine dans les urines permet de confirmer la présence de dommages rénaux. Par la suite, la gravité de la maladie est établie selon 5 stades en fonction du DFG estimé par le dosage de la créatinine sérique selon le tableau ci-dessous.

Tableau 1.1 | Stades de l'insuffisance rénale chronique selon les recommandations internationales (15)

Stade	DFG (mL/min/1,73m ²)	Définition
1	≥90	Maladie rénale chronique avec DFG normal ou augmenté
2	entre 89 et 60	Maladie rénale chronique avec DFG légèrement diminué
3	Entre 59 et 30	Insuffisance rénale chronique modérée
4	entre 29 et 15	Insuffisance rénale chronique sévère
5	<15	Insuffisance rénale terminale (IRT)

Lorsqu'un patient est atteint d'insuffisance rénale terminale, il doit absolument suivre des traitements remplaçant les fonctions de ses reins, tel qu'une greffe, l'hémodialyse ou toute autre intervention de purification sanguine pour survivre. À ce point, les reins sont incapables de maintenir l'homéostasie et de remplir adéquatement leur rôle. En plus d'affecter les fonctions rénales, l'IRC augmente significativement l'incidence des maladies cardiovasculaires et mène à une mort prématurée. Moins de 2% des patients atteints d'IRC doivent recourir à un traitement de remplacement des reins. Ce chiffre est majoritairement expliqué par l'augmentation du risque de mort prématurée d'une maladie cardiovasculaire bien avant d'atteindre l'IRT (16).

1.1. Étiologie

Parmi les nombreux facteurs de risque de l'IRC, le syndrome métabolique, l'hypertension et le diabète en sont les principaux. Puisque la prévalence de ces maladies augmente d'année en année et qu'elles causent la majorité des cas d'insuffisance rénale, on observe directement une augmentation de l'incidence des cas d'IRC. De plus, les glomérulonéphrites, c'est-à-dire une inflammation des néphrons, certains composés médicamenteux ou naturels néphrotoxiques, certaines infections comme le VIH et des néphropathies héréditaires peuvent être des facteurs de risque dans la dégradation des fonctions rénales (9). Dans les phases précoces de l'IRC, les facteurs de risques doivent absolument être contrôlés pour réduire la dégradation des reins. Le contrôle de la tension artérielle, une réduction de la protéinurie et un contrôle strict de la glycémie sont donc de mise (16). Avec le vieillissement de la population, on observe aussi une augmentation de la prévalence, puisque les reins perdent peu à peu de leur efficacité due à la diminution progressive du débit plasmatique et des fonctions rénales à partir de quarante ans. À lui seul, le vieillissement ne peut mener à l'insuffisance rénale terminale, mais l'addition d'autres facteurs de risques tels que le diabète et le syndrome métabolique, souvent présent chez les gens d'un âge plus avancé, peuvent mener à la progression de la maladie vers des stades plus avancés (17).

1.2. Pathologies associées

L'IRC a un impact sur l'ensemble des processus biologiques. Les complications de l'IRC incluent une augmentation de l'incidence des maladies cardiovasculaires, une perte cognitive, de l'anémie, un déséquilibre phosphocalcique et de la dystrophie osseuse, de l'acidose métabolique, de l'inflammation, une modulation du transport et du métabolisme des xénobiotiques, etc.

1.2.1. Déséquilibre nutritionnel

Le métabolisme des nutriments est gravement affecté en IRC. Ces débalancements énergétiques, tant au niveau des glucides, des lipides que des protéines, sont présents chez près de la moitié des patients non dialysés et affectent négativement la qualité de vie de ceux-ci. L'apport insuffisant en nutriments n'est pas le seul facteur déterminant de ce déséquilibre en urémie. On observe chez ces patients une perte importante de masse musculaire, une augmentation du catabolisme et du transport ainsi qu'une perte des nutriments dans les urines et lors des sessions d'hémodialyse (7, 18, 19).

Métabolisme des glucides

Le taux de patients diabétiques en IRT atteint plus de 45% et la majorité des non-diabétiques montrent une résistance à l'insuline. Dans les deux cas, l'homéostasie du glucose en est gravement affectée. De plus, cette résistance à l'insuline semble se développer dans les stades précoces de l'insuffisance rénale et pourrait participer au déclin des fonctions rénales (20). Les mécanismes menant au débalancement du métabolisme des glucides en IRC sont cependant incertains. Beaucoup s'entendent pour dire que cette résistance à l'insuline serait originaire d'un défaut de signalisation de l'insuline dans les tissus périphériques (21). L'impact du débalancement homéostatique des glucides sera décrit au chapitre 3 de ce mémoire.

Métabolisme des lipides

En ce qui a trait aux lipides, le taux de triglycérides (TG) est très élevé en IRC, car la production du low-density lipoprotein (LDL) et du very-low-density lipoprotein (VLDL) est augmentée en parallèle avec une réduction de la dégradation des TG. Ceci est majoritairement dû à un haut niveau sérique d'activateurs de la lipoprotéine lipase, d'insuline et/ou à un déficit en L-carnitine (22). De plus, une élévation des High-density lipoprotein (HDL) cholestérol est observable en urémie (7). La perturbation du métabolisme des lipides, chez les patients atteints d'insuffisance rénale terminale, est fortement associée au développement accru de plaques athérosclérotique et au décès prématuré d'une maladie cardiovasculaire (23, 24).

Métabolisme des protéines

La diminution de la masse musculaire étant la principale répercussion du déséquilibre du métabolisme des protéines, on remarque rapidement que près de la moitié des patients dialysés en sont affecté. Une perte importante d'acides aminés et de protéines par les néphrons défectueux ainsi qu'au cours des séances de dialyse en sont les causes principales. Des suppléments alimentaires sont donc nécessaires en dialyse pour contrer l'effet catabolique de l'IRC sur le métabolisme des protéines (25).

1.2.2. Acidose métabolique

Étant très commune en IRC, l'acidose métabolique est en corrélation directe avec la sévérité de l'atteinte rénale. Ce déséquilibre est surtout dû à la réduction de la réabsorption du tampon bicarbonate, de l'excrétion de l'ammoniac et de l'élimination d'acide du milieu sanguin par les reins (26). La rétention de ces acides en IRC entraîne une acidose métabolique. De plus, certains patients doivent absolument avoir recours à la dialyse pour retirer les acides organiques qui s'accumulent (27). L'administration d'un tampon bicarbonate en acidose permet de rétablir partiellement le pH. Lorsque l'acidose n'est pas adéquatement corrigée, elle mène au déséquilibre de multiples systèmes tels que le métabolisme des nutriments, un dysfonctionnement du système cardiovasculaire et gastro-intestinal, de l'hyperkaliémie, de

l'anémie et des lésions osseuses. Cette acidose peut aussi mener à des déséquilibres hormonaux tels qu'une augmentation de la sécrétion de PTH et une résistance à l'insuline. Tous ces déséquilibres peuvent mener au déclin des fonctions rénales (26).

1.2.3. Anémie

L'anémie en IRC est caractérisée par une diminution des globules rouges dans le sang. Chez les patients hémodialysés, c'est un facteur de risque important d'insuffisance cardiaque pouvant mener à une mort précoce. De plus, l'anémie cause une morbidité importante en augmentant la fatigue et en provoquant de la dysfonction cognitive et sexuelle. L'anémie en IRC est majoritairement due à une production inadéquate d'érythropoïétine (EPO), un facteur de croissance responsable de la production des globules rouges (28) ainsi qu'à une diminution de la survie des globules rouges par la présence de plusieurs défauts métaboliques associés à l'urémie (7). De plus, une déficience en fer, en folate et en vitamine B12 peut aggraver l'anémie en IRC. D'autre part, chez les patients hémodialysés, les leucocytes libèrent des radicaux libres lorsqu'ils sont en contact avec la membrane à dialyse, ce qui provoque de l'hémolyse (29). L'utilisation d'agents stimulant l'érythropoïétine permet de remplacer la transfusion sanguine et de normaliser les taux de globules rouges sanguin et ainsi améliorer la qualité de vie des patients hémodialysés (30). Cependant, certains de ces patients présentent une déficience en fer et répondent mal au traitement à l'EPO (28).

1.2.4. Dystrophie osseuse et minérale

Les désordres minéral et osseux sont communs en IRC et peuvent mener à une calcification vasculaire et à un risque accru de troubles cardiovasculaires. La dystrophie osseuse est caractérisée par un déséquilibre du remodelage osseux. Ce processus, équilibré entre la résorption et la formation osseuse, est perturbé en IRC par A) un hyperparathyroïdisme secondaire et/ou B) une diminution de la résorption osseuse, aussi appelée Os adynamique (16, 31).

Hyperparathyroïdie secondaire

Survenant tôt dans l'évolution de l'IRC, l'hyperparathyroïdie secondaire est majoritairement causée par un ensemble de facteurs tels qu'une diminution du calcitriol (1,25-dihydroxyvitamine D), une rétention du phosphore, des défauts dans les fonctions de la glande parathyroïde, de l'hypocalcémie et une résistance des os à l'action de la parathormone (PTH). Tous ces facteurs, provenant de l'insuffisance rénale, représentent un tout qui, au final, provoquent une augmentation de sécrétion de la PTH. En IRC, une augmentation du phosphore circulant est causée par une diminution de son excrétion par les reins endommagés. Une simple restriction alimentaire en phosphate permet de réduire l'apparition d'hyperparathyroïdie secondaire. De plus, la production du calcitriol, le métabolite actif de la vitamine D produit par les reins, est diminuée et provoque donc une hypocalcémie. Par contre, cette hyperparathyroïdie est présente même en l'absence d'une hypocalcémie, ce qui stimule la PTH. En plus d'affecter l'absorption du calcium, le calcitriol semble avoir des effets régulateurs sur la glande thyroïde en agissant sur la croissance de celle-ci et sur la sécrétion de la PTH. L'insuffisance rénale mène donc, par plusieurs chemins, au débalancement de l'équilibre phosphocalcique et à l'hyperparathyroïdie secondaire ainsi qu'à la résistance à la parathormone (31).

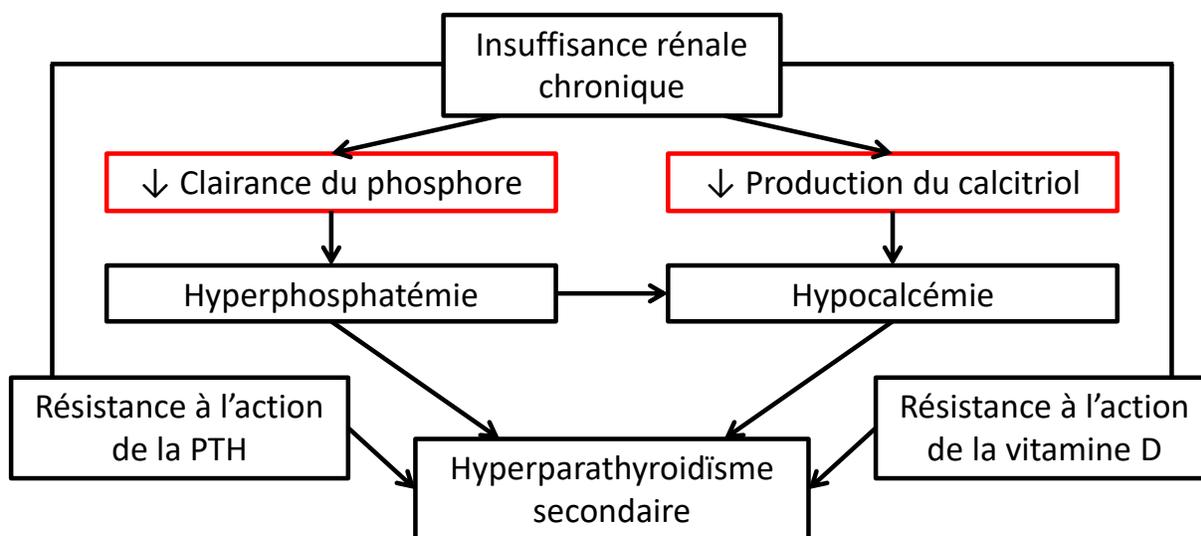


Figure 1.1 | Impact de l'IRC sur l'équilibre phosphocalcique (32)

Os adynamique

Ce trouble osseux, majoritairement observé chez les patients dialysés, est caractérisé par une diminution du remodelage osseux ainsi qu'une diminution du nombre d'ostéoclaste et d'ostéoblaste. Plusieurs facteurs tels que la présence d'un diabète, la prise de médicament diminuant la relâche de PTH, un apport élevé en calcium et/ou en vitamine D et l'âge peuvent influencer ce trouble. La pathogenèse reste par contre peu connue, mais il semblerait que la PTH soit peu sécrétée dû à un apport élevé en calcium et en vitamine D, deux traitements utilisés pour contrer l'hyperparathyroïdie secondaire chez les patients dialysés (31, 33, 34).

1.2.5. Inflammation

Les maladies rénales sont fortement associées à un processus inflammatoire systémique. Celui-ci reste prédominant en insuffisance rénale terminale. Le stress oxydatif serait inversement lié au déclin des fonctions rénales et serait aussi associé à la promotion de l'inflammation. Ces processus augmentent significativement l'incidence des maladies cardiovasculaires et modulent la sensibilité à l'insuline dans les tissus périphériques. Cet état inflammatoire est causé par plusieurs conséquences de l'urémie, telles qu'une augmentation des cytokines pro-inflammatoires et des adipocytokines. De plus, des cytokines inflammatoires sont sécrétées par les monocytes lors des contacts avec la membrane à dialyse et causent une activation des leucocytes. Ceux-ci produisent d'importantes quantités de réactifs oxygénés (ROS) et contribuent à l'inflammation en IRC. Les adipocytokines, produites par les tissus adipeux blancs (WAT) modulent les fonctions de plusieurs tissus en agissant sur le métabolisme des lipides, la sensibilité à l'insuline, les fonctions vasculaires et l'appétit. L'inflammation observée en IRC serait fortement associée à la diminution de la sensibilité à l'insuline dans les tissus périphériques (35).

1.2.6. Cytochrome P450

En plus d'affecter la clairance rénale des xénobiotiques, l'IRC s'accompagne d'une diminution du métabolisme de ceux-ci. En effet, l'expression et l'activité des enzymes du cytochrome P450 (CYP450) sont affectées par l'insuffisance rénale. Les toxines urémiques, les cytokines inflammatoires et la PTH sont les principaux acteurs dans la modulation du CYP450. L'IRC a aussi une influence sur tous les autres organes impliqués dans le métabolisme des xénobiotiques. La modulation de la clairance des médicaments en IRC peut avoir des impacts sur les patients, puisque certaines molécules peuvent voir leur efficacité fortement réduite dû à leur faible biotransformation en une molécule active et donc, réduirait l'effet pharmacologique recherché. Au contraire, certains médicaments peuvent aussi s'accumuler en IRC. L'impact peut être fatal, puisque ces médicaments se retrouvent à des doses toxiques et peuvent causer de graves effets indésirables pouvant entraîner la mort (36).

1.2.7. Transporteurs des xénobiotiques

Tout comme les enzymes du CYP450, les transporteurs de xénobiotiques sont affectés par l'insuffisance rénale. La biodisponibilité et la distribution de certains médicaments à travers l'organisme sont donc bouleversées par l'IRC. Les effets peuvent être similaires à la modulation des enzymes du CYP450, allant de la diminution de la biodisponibilité à l'accumulation des médicaments dans certains compartiments. Les xénobiotiques peuvent donc se retrouver en quantité insuffisante ou toxique au site actif (36, 37).

Chaque aspect de la pharmacocinétique des médicaments (absorption, distribution, métabolisme et excrétion) est affecté par l'IRC. La pharmacocinétique des médicaments devient donc imprévisible en IRC. Les médicaments employés et les doses de ceux-ci ont donc été complètement revus dans les dernières années afin de pallier à cet impact de l'IRC (36, 37).

2. Syndrome métabolique, résistance à l'insuline et diabète de type 2

Le syndrome métabolique est un état caractérisé par un ensemble de facteurs tels que l'obésité, la résistance à l'insuline, l'hypertension et la dyslipidémie. Lorsque diagnostiqué avec un syndrome métabolique, les risques de développer un incident cardiovasculaire et/ou un diabète de type II augmentent significativement. Bien que l'aspect génétique y soit pour beaucoup, la malnutrition et le sédentarisme sont majoritairement responsables de l'augmentation de la prévalence de ce syndrome depuis plusieurs années (38).

Tableau 2.1 | Critères de diagnostic du syndrome métabolique selon l'International Diabetes Federation (39)

Obésité centrale (défini par le tour de taille) > 94cm pour l'homme et > 80cm pour une femme + 2 critères parmi les suivants :	
↑ des triglycérides	≥ 1,7mmol/L
↓ du HDL cholestérol	< 1,03mmol/L pour l'homme < 1,29mmol/L pour la femme
↑ de la pression artérielle	Pression systolique ≥ 130 mmHg ou pression diastolique ≥ 85 mmHg
↑ de la glycémie à jeun	Glycémie ≥ 5,6mmol/L

Même si l'association entre le syndrome métabolique et l'IRC semble forte, une relation causale n'a pas encore été prouvée. La majorité des facteurs de risques du syndrome métabolique sont cependant communs à l'IRC.

2.1. Étiologie

Puisque le syndrome métabolique est un état caractérisé par une combinaison de pathologies, les facteurs de risques en cause sont très larges. Allant de la malnutrition aux causes génétiques, bien des chemins peuvent mener au syndrome métabolique. En 2015, plus de 1,4 milliard d'individus en souffraient autour du globe et ce chiffre ne fait qu'augmenter. L'âge contribuerait fortement à l'essor de ce syndrome dans une population vieillissante, puisque l'éventail de facteurs de risques tend à se développer à un âge avancé.

L'obésité est la caractéristique principale du syndrome métabolique. L'inactivité physique et les diètes riches en gras et en glucides contribuent à l'émergence de l'obésité et de la résistance à l'insuline qui s'installent chez ces patients. En plus, on observe chez ces ceux-ci une augmentation des triglycérides et des LDL couplés à une diminution des HDL circulant. Cette augmentation anormale des lipides sanguins, appelée dyslipidémie, contribue à l'émergence du syndrome métabolique. Apparaissant plus tardivement dans l'évolution du syndrome, l'hypertension aggrave les déséquilibres homéostatiques du syndrome métabolique. L'obésité et la résistance à l'insuline contribueraient au développement de l'hypertension. À ce stade, les conséquences du syndrome métabolique sont importantes, puisque des dommages rénaux et cardiovasculaires peuvent survenir (40-42).

2.2. Impact du syndrome métabolique

Les conséquences d'un syndrome métabolique sont multiples : dommages rénaux, cardiovasculaires, diabète de type II et cancer. Ces répercussions sont importantes et affectent gravement la qualité de vie de ces patients tout en diminuant significativement leur espérance de vie (40). Bien que chaque composante du syndrome soit liée à des déséquilibres homéostatiques spécifiques, celles-ci restent interconnectées dans le développement du syndrome et dans les répercussions biochimiques et physiologiques que celui-ci aura sur l'ensemble du corps (5).

2.2.1. Augmentation de la masse adipeuse

Principalement causée par une diète riche en gras et une réduction de l'activité physique, l'obésité est une des caractéristiques principales du syndrome métabolique. Une augmentation de la masse adipeuse sous-cutanée est souvent observée. Ce tissu génère la majorité des acides gras libres (FFA) circulant. L'exposition des muscles à de hauts niveaux de FFA induit une résistance à l'insuline en inhibant l'absorption insulino-dépendante du glucose. De plus, une exposition chronique du pancréas aux FFA affecte les fonctions des cellules β de l'organe. Cependant, c'est le tissu adipeux viscéral qui a le potentiel le plus dévastateur. L'augmentation de la masse adipeuse viscérale est directement corrélée avec une augmentation des FFA splanchniques. Ces FFA contribuent à l'accumulation pathologique de gras par le foie (5, 40).

L'augmentation du tissu adipeux provoque aussi une sécrétion importante d'adipocytokines telles que le Tumor necrosis factor alpha ($TNF\alpha$), la protéine C-réactive (CRP), l'interleukine-6 (IL-6) et l'inhibiteur de l'activateur du plasminogène-1 (PAI-1). Ces molécules pro-inflammatoires, en plus d'agir localement sur la sensibilité à l'insuline, mènent à un état inflammatoire systémique (5, 40).

La dyslipidémie, autre caractéristique du syndrome métabolique, est caractérisée par une altération des lipides et des glucides circulant. L'augmentation des FFA générés par les tissus adipeux cause une augmentation des triglycérides. Cette hypertriglycéridémie mène à son tour à une augmentation des VLDL. En temps normal, l'insuline régule l'activité de la protéine lipase, enzyme responsable de la clairance des VLVL. Par contre, lorsque l'hypertriglycéridémie est couplé à une résistance à l'insuline, il en découle une augmentation de la production des VLDL et une diminution de leur clairance. Une augmentation des LDL s'en suit. De plus, l'hypertriglycéridémie provoque une augmentation des HDL enrichie de triglycérides. Ces particules sont d'excellents substrats pour la lipase hépatique et sont donc rapidement retirées de la circulation. Il reste donc moins de HDL disponibles pour le transport du cholestérol. La dyslipidémie est fortement associée à l'augmentation du stress oxydatif et à la dysfonction endothéliale, acteurs importants dans les maladies athérosclérotiques (5, 40).

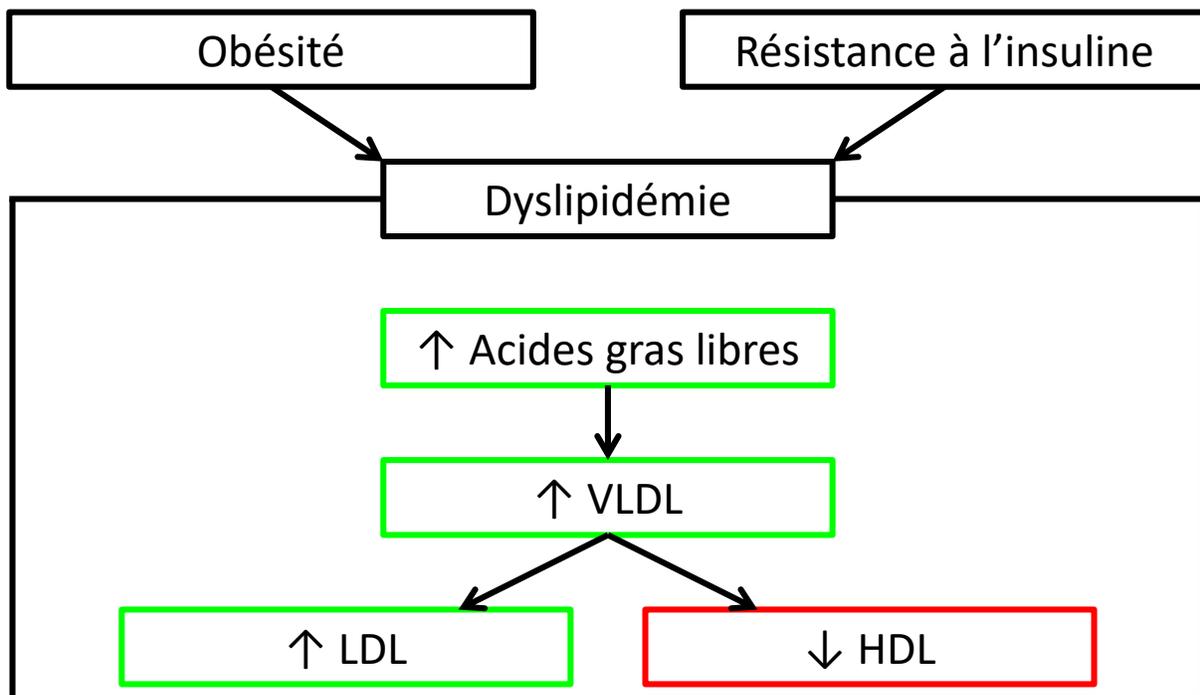


Figure 2.1 | Progression de l'obésité vers la dyslipidémie (5)

2.2.2. Lipotoxicité

L'homéostasie des lipides représente une balance entre l'apport, la genèse et l'utilisation de ces lipides. Lorsque les processus anaboliques fournissent plus de FFA que le catabolisme n'en a besoin, ces lipides en excès sont estérifiés et stockés sous forme de triglycérides. Ces lipides peuvent, par la suite, être utilisés selon le besoin. Par contre, quand la capacité de stockage de l'organe est dépassée, il en résulte une dysfonction cellulaire suivie d'une mort cellulaire. Ce processus est appelé lipotoxicité. Tous défauts ayant le potentiel de moduler à la hausse les taux de FFA et de triglycérides peuvent ultimement mener à ce processus. Bien sûr, les conséquences divergent d'un organe à l'autre (43).

Dans le foie, la lipotoxicité est associée à une hépatostéatose non alcoolique. Celle-ci est caractérisée par une réponse inflammatoire avec fibrose hépatique pouvant ultimement mener à une cirrhose (43).

La lipotoxicité provoque un tout autre effet dans les muscles squelettiques. L'accumulation de lipide a pour effet d'induire une résistance à l'insuline dans ces tissus en provoquant un défaut de translocation du GLUT4 en réponse à l'insuline (44).

Un surplus de lipides dans le pancréas interfère avec le processus de sécrétion de l'insuline pouvant même aller jusqu'à la dysfonction des cellules β du pancréas et à l'apoptose de ces cellules. L'accumulation de triglycérides dans le pancréas est fortement associée à une diminution de la masse de cellules β et un déclin de la production d'insuline (45).

Dans les reins, les FFA transportés par l'albumine ont un effet toxique sur l'épithélium tubulaire. Ajoutés à une protéinurie, ces FFA transportés par l'albumine provoquent une infiltration de macrophage dans le cortex rénal suivie d'une mort cellulaire. De plus, le stress oxydatif occasionné par la lipotoxicité provoquerait de l'apoptose et serait impliqué dans le développement d'insuffisance rénale chronique (46, 47).

2.2.3. Glucolipotoxicité

La glucolipotoxicité fait référence à la combinaison des effets délétères et synergiques des taux élevés de glucose et d'acide gras sur les fonctions et la survie des cellules β du pancréas. Celle-ci mène à la diminution des capacités d'expression et de sécrétion de l'insuline par le pancréas. Les mécanismes par lesquels la glucolipotoxicité affecte les cellules β sont méconnus, mais plusieurs évidences placent le stress oxydatif en tant qu'acteur majeur. Étant donné que le glucose a un effet sur le métabolisme des lipides, certaines études pointent plutôt l'activation de la lipogenèse induite par des taux élevés de glucose. La toxicité du glucose serait donc effectuée par l'entremise de la lipotoxicité dans ce cas-ci (48). Par contre, la glucolipotoxicité ne semble pas affecter le pancréas d'individus non prédisposés. Les taux élevés de glucides et d'acides gras ne feraient donc qu'accélérer la défaillance des cellules β du pancréas lorsque celle-ci est déjà en cours (49, 50).

2.2.4. Diabète de type 2

Bien qu'une résistance à l'insuline soit liée au syndrome métabolique, elle n'est pas toujours synonyme de diabète de type II. Une hyperinsulinémie est souvent observée pour contrer une hausse de la glycémie. Cette résistance à l'insuline observée chez les obèses est fortement liée à une diminution de l'expression du GLUT4 dans les tissus adipeux. Dans les tissus adipeux et musculaires, le processus de translocation de ce transporteur semble défectueux chez les obèses. Il en résulte une inhabileté de ces tissus à absorber le glucose circulant en présence d'insuline. De plus, la signalisation de l'insuline semble affectée dans les tissus périphériques via plusieurs mécanismes tels que la présence d'adipocytokines et l'augmentation de l'activité de plusieurs tyrosines phosphatase (51).

D'un autre point de vue, la surabondance des FFA liée à l'obésité contribuerait à réduire la sensibilité à l'insuline dans les tissus périphériques. De plus, les FFA causent une néoglucogenèse hépatique, autre signe de résistance à l'insuline (52). L'obésité étant fortement liée à l'augmentation de stress dans le réticulum endoplasmique (RE), ce stress

provoquerait à son tour une suppression de la signalisation du récepteur à l'insuline. Ce stress serait aussi impliqué dans le déclin et la survie des cellules β du pancréas (53).

La glucolipotoxicité exercée par les diverses facettes du syndrome métabolique augmente d'environ 4 fois les risques de développer un diabète de type II (41).

2.2.5. Hypertension

Bien que l'augmentation de la pression artérielle n'apparaisse que tardivement dans l'évolution du syndrome métabolique, celle-ci doit être traitée rapidement puisque c'est un facteur de risque important des maladies rénales et cardiovasculaires. L'obésité et la résistance à l'insuline en sont les principales causes. En effet, une accumulation de gras viscéral est fortement associée à l'hypertension. L'accumulation de matières adipeuses dans le système cardiovasculaire provoque un effet direct sur la tension artérielle. De plus, le gras viscéral est métaboliquement actif et sécrète activement des molécules appelées adipocytokines impliquées dans la progression de l'inflammation et de l'hypertension (5). L'obésité semble aussi contribuer à l'hypertension via l'altération de la natriurèse. La réabsorption sodique augmente en réponse à une élévation du débit plasmatique rénal et du DFG. Cette diminution de la natriurèse serait provoquée par une augmentation de l'activité du système nerveux sympathique, du système rénine-angiotensine (RAS) et de l'altération de l'hémodynamique rénale (54).

D'autre part, l'hyperinsulinémie résultant de la résistance à l'insuline provoque l'activation du système rénine-angiotensine qui, à son tour, mène à l'augmentation de la pression artérielle (55). L'insuline affecte aussi l'hémodynamique en réduisant la production d'oxyde nitrique (NO) dans l'endothélium capillaire. L'hypertension, si non traitée, cause des dommages au niveau de l'endothélium vasculaire rénal et cardiovasculaire en affectant la contractilité des vaisseaux sanguins (56).

2.2.6. Impact sur l'insuffisance rénale chronique

Le syndrome métabolique est fortement associé à l'essor de maladies rénales chroniques. Beaucoup d'études se sont intéressées aux mécanismes liant le syndrome métabolique à l'IRC, mais ceux-ci restent toujours incertains. Il est cependant reconnu que chacune des composantes principales du syndrome métabolique serait associée aux maladies rénales. Celles-ci auraient donc un effet synergique sur le déclin des fonctions rénales (10).

Le syndrome métabolique est associé à un risque 1,5 fois plus élevé de développer de l'insuffisance rénale chronique et la puissance de cette association augmente avec l'ajout de composantes du syndrome métabolique présentes chez le patient. L'hypertension semble être la composante la plus fortement associée au déclin des fonctions rénales avec rapport des cotes de 1,6, suivie de près par l'obésité avec 1,2 et l'hyperglycémie avec un rapport des cotes de 1,14. Puisque l'incidence du syndrome ne cesse d'augmenter, celle de l'IRC suit donc proportionnellement cette tendance désastreuse (57).

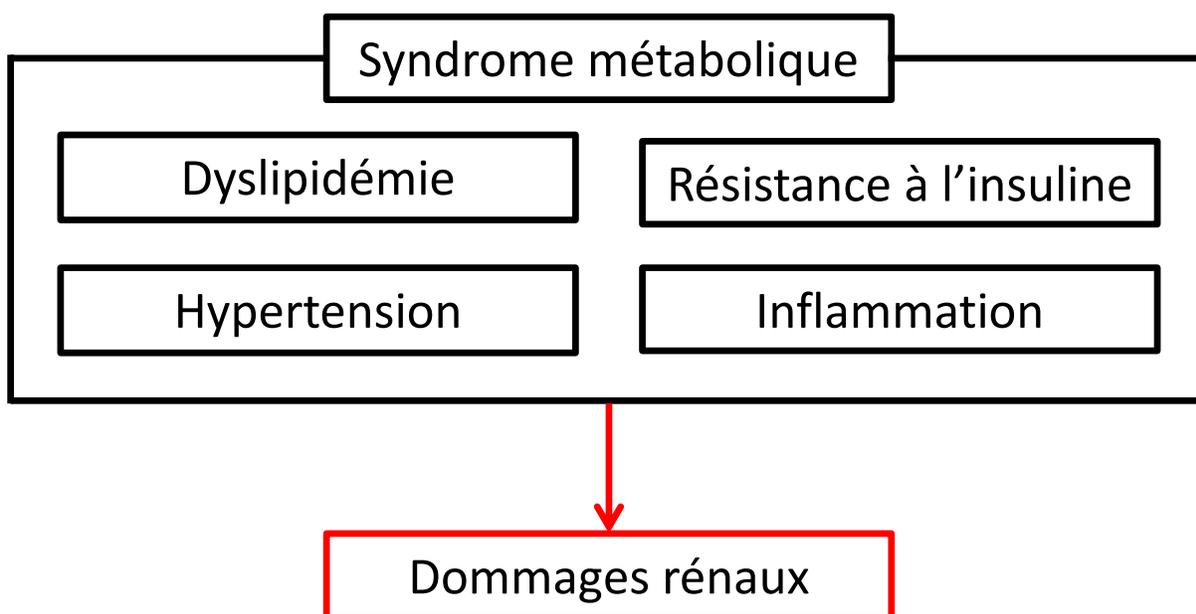


Figure 2.2 | Impact du syndrome métabolique sur l'insuffisance rénale chronique (58)

Puisque la résistance à l'insuline représente un des plus important facteur de risques de l'IRC, celle-ci jouerait un rôle central dans le développement de maladies rénales chez les individus atteints d'un syndrome métabolique. La résistance à l'insuline provoquerait des dommages rénaux via une multitude de mécanismes tels qu'une rétention sodique, une diminution de l'activité de la Na^+/K^+ -ATPase et une hyperfiltration (12). De plus, l'insuline amplifierait l'hypertension en stimulant le RAS (59). En augmentant la pression intrarénale, l'hypertension cause des dommages mécaniques aux structures rénales (54). Une attention particulière sera apportée à l'impact de la résistance à l'insuline sur l'IRC au chapitre 3 de ce mémoire.

En plus d'aggraver la résistance à l'insuline, le stress du RE causé par l'obésité provoquerait des dommages glomérulaires et tubulaires en faisant accroître la protéinurie et l'inflammation (60). Les adipocytokines seraient impliquées dans le développement de fibrose rénale en réduisant la sensibilité à l'insuline et en participant à l'état inflammatoire chez les obèses (61).

Comme mentionnée précédemment, la dyslipidémie cause elle aussi des dommages rénaux. En effet, cet excès de lipide a le potentiel d'endommager les structures rénales par des mécanismes qui restent encore méconnus. Une diminution du cholestérol et des triglycérides chez ces patients semble cependant retarder la progression de l'insuffisance rénale, suggérant une implication de ceux-ci dans l'aggravation de l'IRC (62). De plus, le stress oxydatif occasionné par la peroxydation d'un excès de lipides s'additionne en provoquant des dommages endothéliaux importants (58).

2.3. Homéostasie métabolique du glucose

Le métabolisme du glucose est composé de multiples processus dispersés sur l'ensemble des organes qui maintiennent un équilibre entre absorption, utilisation et production d'énergie sous forme d'hydrates de carbone. Ces processus doivent gérer l'offre et la demande en fonction des différents états comme le jeûne, l'exercice et l'état postprandial. La communication entre ces différents systèmes est primordiale. Le débalancement d'un seul de ces systèmes risque de provoquer une intolérance au glucose pouvant ultimement mener au diabète de type II (63).

2.3.1. L'absorption du glucose et les incrétines

Communément appelé glucagon-like peptide 1 (GLP-1) et glucose-dependent insulintropic polypeptide (GIP), ces deux molécules sont respectivement relâchées par les cellules L et K de l'intestin suite à l'ingestion de nutriments. Leur rôle principal est de maintenir une glycémie normale en favorisant la sécrétion d'insuline lorsque l'ingestion de glucose est élevée. En plus, le GLP-1 provoque un ralentissement de la vidange gastrique, une inhibition de la sécrétion du glucagon et augmente la satiété (64).

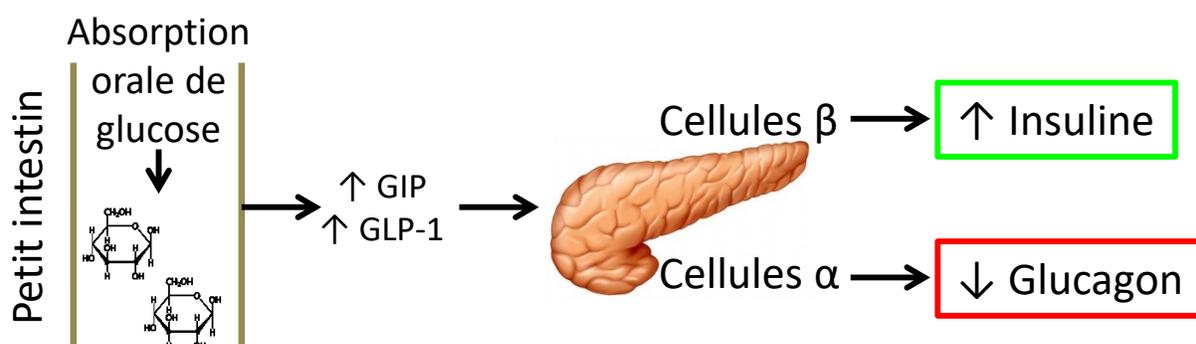


Figure 2.3 | Effets des incrétines suites à l'ingestion de nutriments (65)

L'absorption du glucose se fait par l'entremise de 2 transporteurs de glucose, le SGLT1 et le GLUT2. Le SGLT1 est présent du côté apical et permet de transporter le glucose contre son gradient à l'intérieur de l'entérocyte. Par la suite, le glucose traverse la membrane basolatérale selon son gradient de concentration par l'entremise du GLUT2 (66).

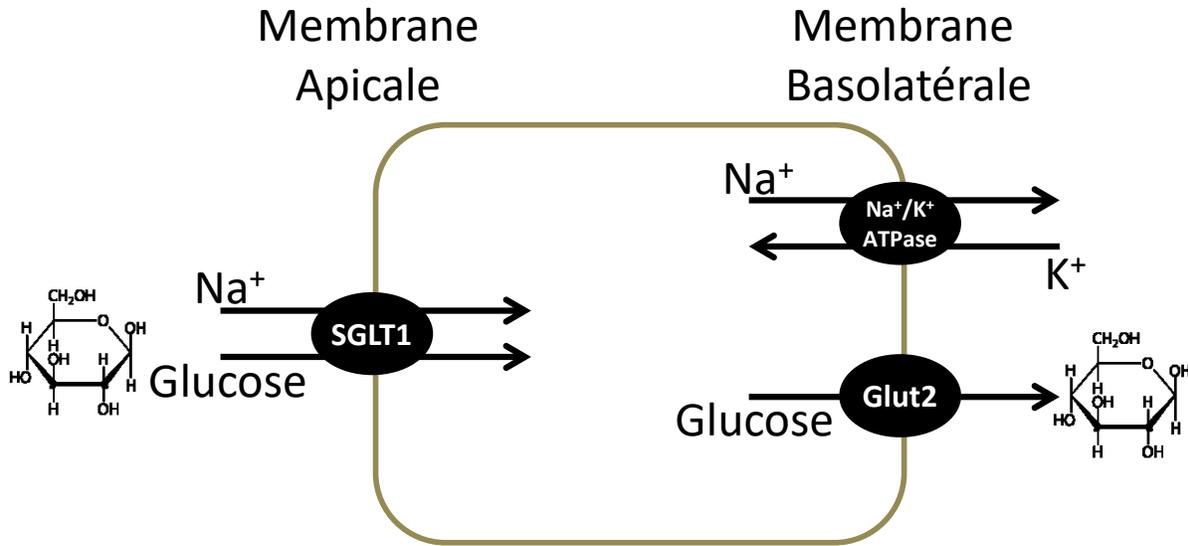


Figure 2.4 | Schématisation d'un entérocyte et de ses transporteurs de carbohydate (66)

2.3.2. Transporteurs de glucose

La diffusion du glucose à travers les tissus se fait par l'entremise de transporteurs. Le transport facilité se fait par les GLUT tandis que le transport contre gradient se fait par les symporteurs de glucose et de sodium SGLT. Les principaux transporteurs sont les GLUT1, 2, 3, 4 et SGLT1 et 2 (67, 68).

Tableau 2.2 | Sommaire des propriétés des transporteurs de glucose (67, 69, 70)

	GLUT1	GLUT2	GLUT3	GLUT4	SGLT1	SGLT2
Tissus	Ubiquitaire • Foie • Reins • Globules rouges • Cerveau • Muscles squelettiques	• Foie • Pancréas • Reins • Petit intestin	• Reins • Cerveau	• Muscles squelettiques et cardiaque • Tissus adipeux brun et blanc	• Petit intestin • Reins	• Reins
Substrat	• Glucose	• Glucose • Fructose	• Glucose	• Glucose	• Glucose	• Glucose
Affinité	Haute	Basse	Très haute	Haute	Haute	Basse
Capacité		Haute			Basse	Haute
Régulation de la translocation par l'insuline	Non	Non	Non	Oui	Non	Non
Rôles	Transport du glucose dans le sang, à travers les membranes et transport basal du glucose	Absorption du glucose lorsque celui-ci est en concentration importante	Transport basal de glucose, surtout au niveau neuronal	Transport insulindépendant du glucose dans les tissus périphériques	Absorption intestinale et réabsorption rénale	Réabsorption rénale

2.3.2.1 GLUT

La famille des GLUT (Symbol du gène *SLC2A*) est composée de 14 membres. Ces transporteurs sont exprimés spécifiquement dans certains tissus pour assurer le contrôle adéquat du transport du glucose. Par contre, leurs caractéristiques fonctionnelles peuvent être très variées (Substrat, spécificité et affinité). Bien que la majorité de ces transporteurs se retrouvent exclusivement au niveau de la membrane cellulaire, le GLUT4 se différencie des autres par la redistribution de sa localisation entre la membrane cellulaire et les vésicules de sécrétion (67, 68).

GLUT1 (SLC2A1)

Le GLUT1 est le transporteur majoritaire au niveau du cerveau et des barrières sang-tissus incluant la barrière placentaire et la barrière hématoencéphalique. Il est aussi co-exprimé avec le GLUT4 dans les muscles et les tissus adipeux. On le retrouve aussi dans le rein, le colon et le foie. Son expression génique est stimulée par une privation en glucose et par des mitogènes (71). De plus, ce transporteur est nécessaire au développement embryonnaire. Une carence en GLUT1 provoque, entre autres, une diminution de l'apport de glucose au cerveau, un retard développemental, de l'épilepsie et des désordres moteurs (6).

GLUT2 (SLC2A2)

Ce transporteur de basse affinité est fortement exprimé dans les cellules β du pancréas, le foie, les reins et le petit intestin. Il est difficilement saturable, permettant d'obtenir rapidement un équilibre des concentrations de part et d'autre de la membrane. Dans le pancréas, ce transporteur permet à la cellule β de détecter les taux de glucose circulant pour sécréter efficacement l'insuline. Dans le petit intestin et les reins, il permet au glucose de sortir de la cellule pour atteindre le sang (67, 68). Puisque son rôle est primordial dans la détection et le transport du glucose, un défaut de ce transporteur provoque une intolérance au glucose, de l'hypoglycémie à jeun et l'accumulation de glycogène dans les tissus. De plus, un knockout complet de ce transporteur provoque une incapacité des cellules β du pancréas à sécréter de l'insuline en

réponse à un apport de glucose. Un diabète s'installe donc très tôt puisque le pancréas ne se développe pas correctement (6).

GLUT3 (SLC2A3)

Ce transporteur, majoritairement exprimé dans le cerveau, permet de fournir une quantité importante de glucose aux tissus qui exigent plus d'énergie. On le retrouve aussi dans les cellules de la lignée blanche du sang. Son expression est plus importante au cours de l'embryogenèse (68).

GLUT4 (SLC2A4)

Ce transporteur, présent dans les tissus périphériques tels que les muscles et les tissus adipeux, a la caractéristique unique d'être sensible à l'insuline. En plus de le retrouver à la membrane plasmique, il est aussi présent dans des vésicules de sécrétion intracellulaire. La translocation de ce transporteur des vésicules vers la membrane se fait par l'entremise de l'insuline. Ceci a pour but d'augmenter l'absorption du glucose dans les tissus périphériques pour pallier à un apport important de glucose et retirer celui-ci du sang (71).

Beaucoup d'études se sont intéressées à ce transporteur et à son mécanisme de translocation, puisque la régulation de son expression est fortement liée à la sensibilité à l'insuline et à la pathogenèse du diabète de type II. Cependant, les mécanismes de régulation de celui-ci restent jusqu'à présent peu connus (68).

2.3.2.2 SGLT

La famille des SGLT (Symbole de gène *SLC5A*) n'a que 6 membres (67, 68). Ces transporteurs sont des symporteurs Na^+ /Glucose et permettent de transporter le glucose contre son gradient (69).

Dans les reins, le couple SGLT2/GLUT2 est responsable de la réabsorption d'environ 97% du glucose tandis que le couple SGLT1/GLUT1 n'est responsable que de moins de 3% de la réabsorption tubulaire. En l'absence du SGLT2 ou du GLUT2, le couple SGLT1/GLUT1 ne peut compenser que pour 40% de la réabsorption de glucose. Il est à noter que la localisation du couple SGLT1/GLUT1 se situe distalement au couple SGLT2/GLUT2 dans les tubules rénaux (72).

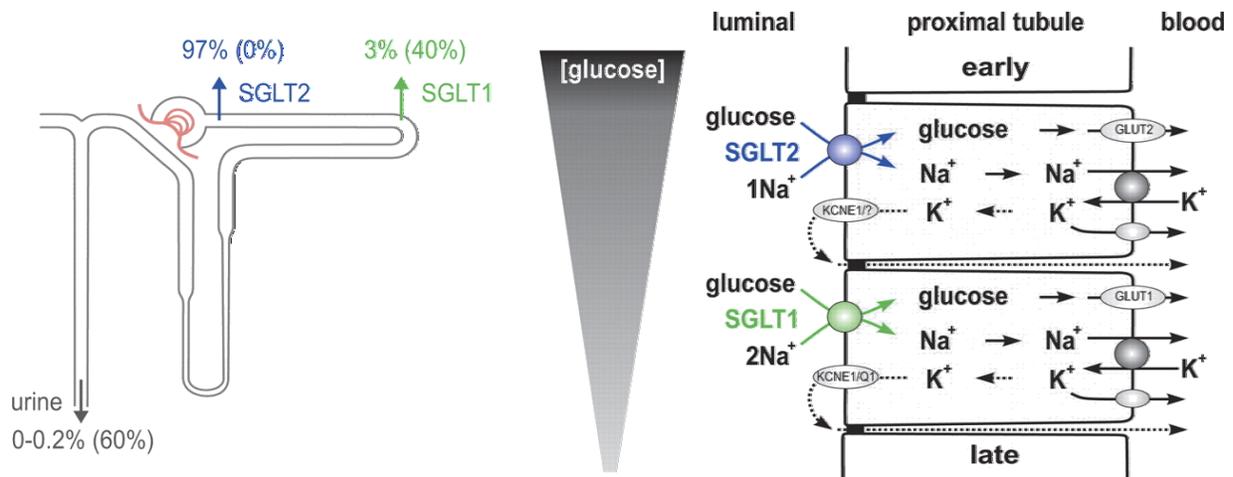


Figure 2.5 | Réabsorption du glucose dans le rein (72)

SGLT1 (SLC5A1)

Ce transporteur de haute affinité est exprimé majoritairement dans le petit intestin et dans les tubules rénaux. Il est aussi exprimé dans plusieurs tissus où le glucose doit être acheminé de façon facilitée contre son gradient, comme dans les glandes mammaires. Son rôle consiste à l'absorption et la réabsorption du glucose avec un ratio de 2 Na^+ pour une molécule de glucose. Un knockout de cette protéine est fatal puisque le glucose n'est plus absorbé dans l'intestin (6, 67, 69).

La modulation de l'expression du SGLT1 se fait par l'entremise d'une protéine G, la gustducin, en fonction des taux de carbohydrates dans le système digestif. Par contre, un niveau basal d'expression du SGLT1 est constitutivement maintenu (66).

SGLT2 (SLC5A2)

Ce transporteur de basse affinité et de haute capacité est majoritairement exprimé dans les tubules rénaux. Son rôle consiste à réabsorber la plupart du glucose de l'urine avec un ratio égal de Na⁺ et de glucose. Les propriétés de ce transporteur en font une cible parfaite dans le traitement thérapeutique de l'hyperglycémie. En effet, son inhibition provoque une perte de glucose dans les urines et une diminution de la glycémie (6, 69, 73).

2.3.3. Régulation des transporteurs de glucose

L'expression de la protéine et de son ARNm des transporteurs peut être modulée par plusieurs éléments tels que des facteurs de transcription et des hormones. La lactation par exemple, par l'entremise de la prolactine et de l'hydrocortisone, provoque une augmentation de la transcription des gènes du GLUT1 et du SGLT1 dans les glandes mammaires (74). La PTH contribue aussi à la modulation de l'expression des transporteurs de glucose (75, 76). Certains facteurs de transcriptions comme p53 (77), SREBP (78), PPAR et RXR (79) mènent aussi à la modulation des transporteurs de glucose en réponse à une demande cellulaire accrue en énergie (67).

Plusieurs cancers provoquent aussi une augmentation de l'absorption du glucose. En effet, les oncogènes, en plus d'augmenter la transcription des transporteurs de glucose, causent une augmentation de la demi-vie de ces protéines en stabilisant celles-ci avec des protéines chaperonnes (71).

L'insuline, en plus d'affecter la translocation du GLUT4, augmente l'expression du GLUT1 et du GLUT4 (80). Ces transporteurs peuvent même être régulés par l'interaction du glucose lui-même et du facteur de transcription "carbohydrate response element-binding protein" (ChREBP) (68).

2.3.4. Fonctionnement du pancréas

Le pancréas, une glande endocrine et exocrine, intervient dans la digestion et l'absorption des nutriments dans l'intestin ainsi que dans la régulation de l'homéostasie du glucose. La fonction endocrine de cet organe est assumée par un ensemble de cellules regroupé dans les îlots de Langerhans. Ces îlots sont composés de trois types cellulaires; les cellules α qui sécrètent du glucagon, les cellules β qui sécrètent de l'insuline, les cellules δ qui sécrètent la somatostatine et les cellules PP qui sécrètent le polypeptide pancréatique. Puisque la gestion du métabolisme du glucose est principalement effectuée par les cellules α et β , une attention particulière sera portée à ces deux types cellulaires.

Les cellules β font partie du sous-type cellulaire le plus nombreux des îlots de Langerhans. Ces cellules sont sensibles au glucose et sont responsables de la sécrétion de l'insuline. Cette hormone est d'abord produite par le clivage de la proinsuline par des proprotéines convertases (PC1 et PC2) au cours de leur trafic intracellulaire vers la voie de sécrétion. L'insuline active est ensuite entreposée dans des granules de sécrétion jusqu'à ce que la glycémie augmente, causant ainsi une relâche de celle-ci (81). En temps normal, la relâche d'environ 2% du contenu des granules est suffisante pour rétablir la glycémie. Ces cellules sont fortement sensibles au potentiel électrique. C'est cette excitabilité électrique qui leur confère cette précision dans la détection du glucose (82).

Suite à l'entrée du glucose circulant dans la cellule β , celui-ci est métabolisé et mène à une augmentation du ratio ATP/ADP dans la cellule. L'augmentation de l'ATP inhibe les canaux potassiques et cause leur fermeture (83). La dépolarisation de la cellule provoque ensuite un potentiel d'action déclenchant l'ouverture des canaux calciques voltage-dépendants (84). Cet apport en calcium

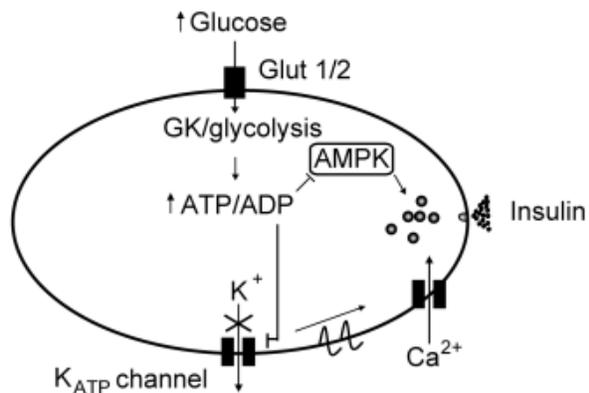


Figure 2.6 | Détection du glucose et sécrétion d'insuline par les cellules β du pancréas (2)

mène à son tour à la fusion des granules sécrétoires à la membrane cellulaire par l'entremise de protéines SNARE (85). L'insuline est alors libérée dans la circulation sanguine (86).

Contrairement aux cellules β , les cellules α des îlots de Langerhans réagissent à un manque de glucose. Tout comme les cellules β , une augmentation de la glycémie cause une augmentation du ratio ATP/ADP suivi d'une fermeture des canaux potassiques, mais la fermeture de ces canaux a plutôt pour effet d'inhiber la sécrétion du glucagon puisque la dépolarisation causée par la fermeture de ces canaux potassiques n'est pas suffisante pour activer les canaux

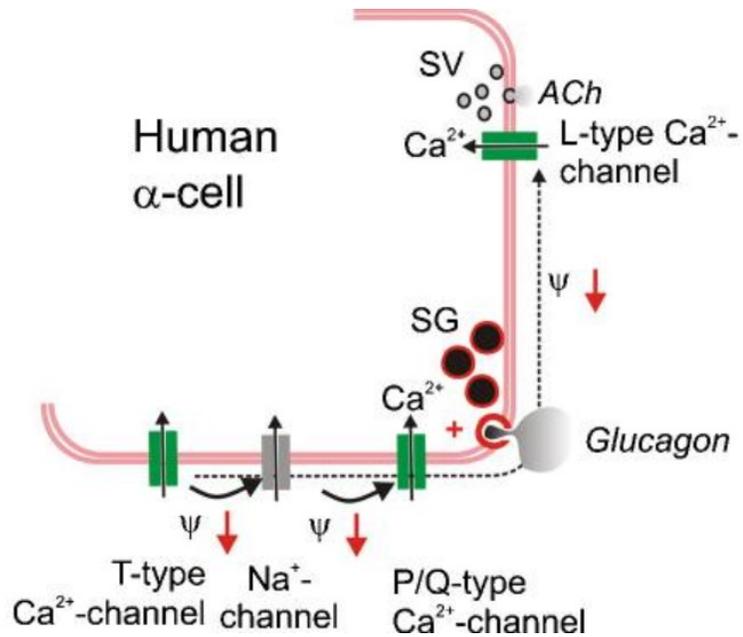


Figure 2.7 | Mécanismes de sécrétion du glucagon par les cellules α du pancréas (1)

subséquents. Au contraire, une diminution de l'apport en glucose provoque une hyperpolarisation (-60mV) de la cellule activant ainsi des canaux calciques de type T voltage-dépendants. Ceci a pour effet de dépolariser la cellule (-30mV) et mène à l'ouverture des canaux sodiques voltage-dépendants. À son tour, cet apport de Na^+ dépolarise encore plus la cellule et active les canaux calciques de type P et Q causant une fusion des granules sécrétoires à la membrane cellulaire et une relâche du glucagon dans le système sanguin (87, 88).

2.3.5. Rôle de l'insuline

Le récepteur à l'insuline est composé d'un dimer $(\alpha\beta)_2$ transmembranaire lié à une tyrosine kinase. La liaison de l'insuline provoque une autophosphorylation du récepteur. Il s'en suit une phosphorylation de protéines IRS et l'activation de plusieurs voies de signalisation. La voie du phosphatidylinositol 3-kinase (PI-3K) mène à la phosphorylation du PIP_2 en PIP_3 qui se

lie à Akt2 et provoque la translocation du GLUT4 à la membrane plasmique. Dans la voie des MAPK, IRS-1 lie Grb2 et Sos pour activer des protéines Ras. Il en résulte une activation des MAPK et la régulation de facteurs de transcription modulant de nombreux gènes ainsi que la prolifération et la différenciation cellulaire. L'insuline a donc le potentiel d'agir autant sur le métabolisme que sur la croissance cellulaire (4).

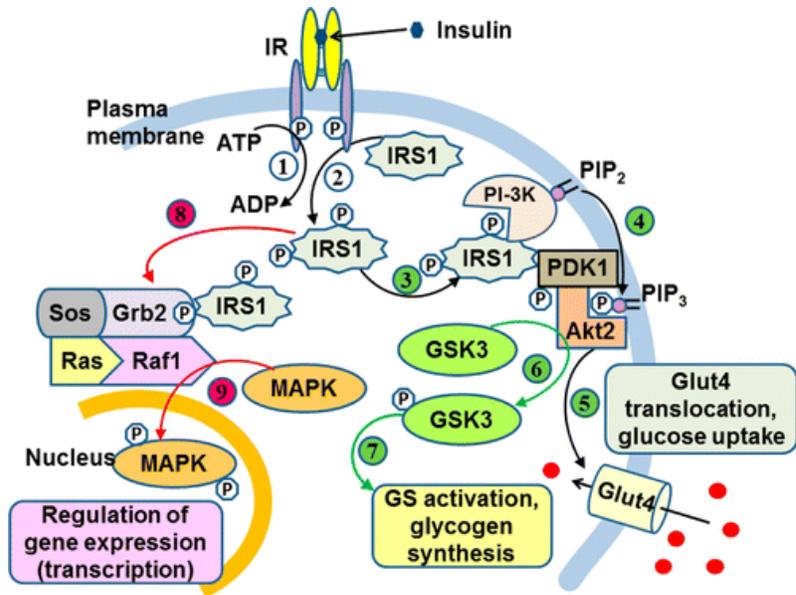


Figure 2.8 | Signalisation du récepteur à l'insuline (4)

Chez les mammifères, les muscles squelettiques sont les tissus principaux contribuant à retirer le glucose du sang pour maintenir la glycémie stable. Le GLUT4 étant majoritairement exprimé dans les muscles squelettiques, le muscle cardiaque et dans les tissus adipeux, c'est dans ces tissus que l'insuline produira la majorité de son effet hypoglycémiant. Cet effet se fait dans les tissus exprimant le GLUT4 et entraîne une translocation de ce transporteur à la membrane

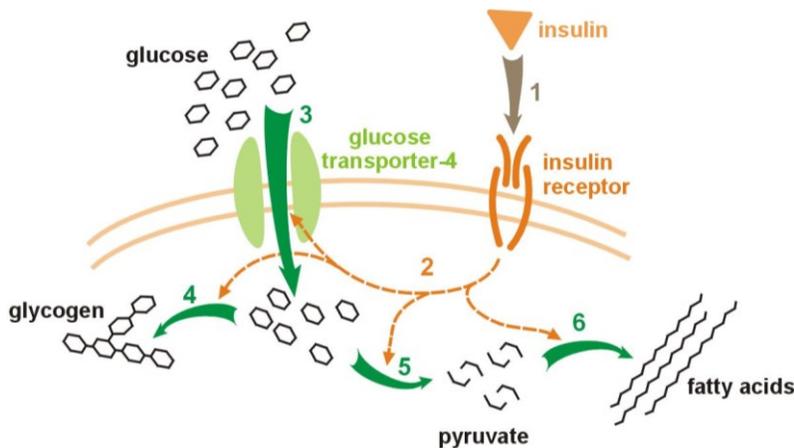


Figure 2.9 | Effet de l'insuline sur le transport du glucose et sur son métabolisme (3)

plasmique en plus de stimuler son expression (71). La sécrétion d'insuline stimulée par le glucose (GSIS) cause une diminution drastique de la glycémie dans les minutes suivant l'ingestion du glucose. Le glucose capté par les tissus périphériques est alors converti en glycogène à des fins de stockage. En plus de stimuler la glycolyse dans ces tissus, l'insuline inhibe la gluconéogenèse, diminue la lipolyse et augmente la synthèse de protéines (89).

Outre les tissus périphériques, le foie assure aussi un rôle dans la régulation de la glycémie. Les nutriments absorbés doivent subir un premier passage hépatique avant d'intégrer la circulation sanguine. Le foie participe activement au métabolisme du glucose en absorbant une quantité significative de glucose. L'insuline agit directement sur cet organe en stimulant le stockage du glucose sous forme de glycogène et en inhibant la néoglucogenèse (90, 91).

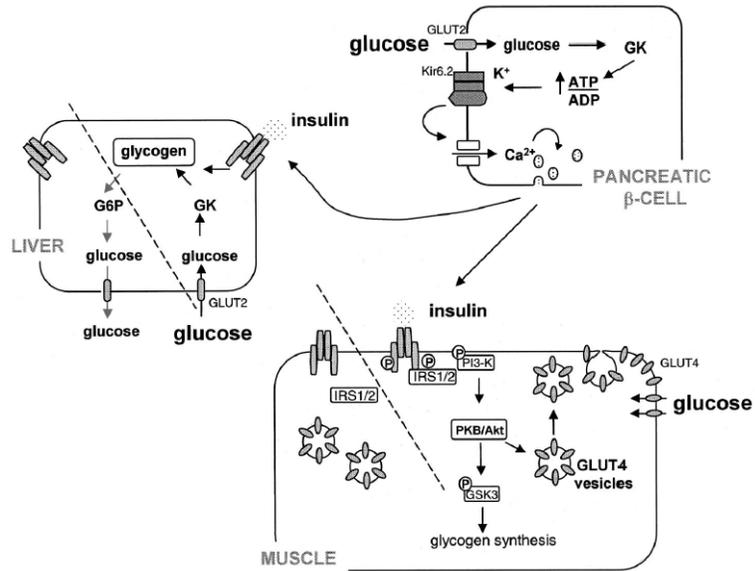


Figure 2.10 | Sécrétion de l'insuline par les cellules β pancréatiques et son effet sur les tissus périphériques (6)

2.3.6. Rôle du glucagon

Le glucagon, au contraire de l'insuline, est une hormone hyperglycémiant. Lorsque la concentration circulante de glucose est faible, le glucagon est relâché par le pancréas pour activer la gluconéogenèse et la lipolyse dans les organes clés de l'homéostasie du glucose. De plus, le glucagon inhiberait la sécrétion de l'insuline par la production de kisspeptin-1 dans le foie. En plus des effets hyperglycémiants, le glucagon cause une diminution de la relâche des VLDL, des triglycérides et du cholestérol par le foie. De plus, le glucagon ralentit la vidange gastrique et contrôle la satiété (92). Cette hormone semble aussi provoquer une augmentation du débit plasmatique rénal, effet qui ne serait pas attribuable à l'augmentation de la glycémie (93).

2.4. Débalancement de l'homéostasie du glucose

Des causes génétiques aux maladies associées à la résistance à l'insuline, le débalancement de l'homéostasie du glucose provient d'un large éventail de facteurs de risques. Plusieurs mécanismes peuvent y être impliqués. Une résistance à l'insuline, un défaut d'expression des transporteurs de glucose, un défaut hépatique, pancréatique, intestinal ou rénal; tous ces débalancements mènent au débalancement de l'homéostasie du glucose (94).

2.4.1. Conditions pathologiques affectant l'expression des transporteurs de glucose

Plusieurs maladies provoquent un défaut d'expression des transporteurs de glucose. Chez les patients atteints de diabète de type 2, par exemple, on observe une diminution de l'expression du GLUT4 dans les tissus périphérique et donc une diminution de l'effet de l'insuline sur la captation du glucose. Puisque le GLUT4 est régi par un trafic intracellulaire, ce trafic peut aussi être impliqué dans la modulation de l'apport en glucose dans les tissus périphériques. Outre l'insuline, les conditions pathologiques affectant la signalisation de l'insuline et la translocation du GLUT4 sont méconnues puisque la compréhension du transport insulino-dépendant n'est pas complètement élucidée (95).

Le GLUT1 quant à lui est fortement modulé. Son expression varie au cours du développement embryonnaire. L'insuline, l'IGF-1, la PTH, certains oncogènes et plusieurs autres hormones et facteurs agissent positivement sur l'expression de ce transporteur. Seul le glucose semble provoquer une diminution de son expression. L'expression du GLUT1 semble donc modulée par une panoplie d'éléments en fonction des besoins en glucose (96).

Les conditions pathologiques affectant l'expression des transporteurs de glucose ont, jusqu'à présent, été peu reportées. Seul le GLUT4 a fait l'objet de recherches poussées et les mécanismes menant à la réduction de son expression dans la résistance à l'insuline sont méconnus.

2.4.2. Conditions pathologiques affectant la sensibilité à l'insuline

Que ce soit en agissant sur le pancréas ou sur les tissus périphériques, diverses conditions peuvent affecter la sensibilité à l'insuline. Il en résulte souvent une hyperinsulinémie pouvant être associée à une hyperglycémie.

Obésité et syndrome métabolique

L'obésité est fortement associée à une diminution de la sensibilité à l'insuline. Chez ces individus, il est reconnu que les fonctions pancréatiques et hépatiques sont maintenues. La résistance à l'insuline est plutôt issue d'un dérèglement au niveau des tissus périphériques (97, 98). L'état inflammatoire observé chez les obèses affecte fortement la signalisation de l'insuline dans les tissus périphériques. De plus, les adipocytokines agissent sur le métabolisme des acides gras et des carbohydrates. Certaines études montrent toutefois que cette inflammation augmenterait la gluconéogenèse dans les hépatocytes pour contrer l'accumulation de lipides intrahépatiques. Le rôle du foie dans cette résistance à l'insuline reste donc incertain, mais les tissus périphériques seraient au cœur du déclin de la sensibilité à l'insuline (99).

Stéatose hépatique non alcoolique

Bien que le foie soit responsable d'environ 30% du métabolisme du glucose, les maladies hépatiques n'affectent pas que le foie. La sensibilité à l'insuline diminue aussi grandement dans les tissus périphériques. Dans le foie, l'accumulation de lipides provoque une diminution de l'habileté de l'insuline à supprimer la gluconéogenèse (100). Le pancréas compense alors en augmentant la sécrétion d'insuline et puisque cette hormone est impliquée dans le métabolisme des lipides, elle provoque une augmentation du métabolisme des lipides hépatiques. La stéatose hépatique implique donc un cercle vicieux avec la résistance à l'insuline. De plus, l'inflammation hépatique mène au déclin de la sensibilité à l'insuline dans l'organe (101). Puisque la gluconéogenèse et la lipogenèse restent élevées en cas de stéatose, il en résulte une hyperglycémie chronique et un accroissement du stress oxydatif menant à l'inhibition de la signalisation de l'insuline dans les tissus périphériques (102).

Vieillesse

Le vieillissement est fortement lié à une réorganisation des différents compartiments physiologiques. Les tissus adipeux, par exemple, tendent à augmenter tandis que la masse musculaire diminue. De plus, des changements hormonaux et une augmentation de la sédentarité surviennent avec le vieillissement. Tous ces facteurs influencent la sensibilité à l'insuline à la baisse. En plus d'une baisse de la sensibilité à l'insuline, on observe une diminution des capacités sécrétoires du pancréas. La dysfonction des cellules β survient plus tardivement au cours du vieillissement. Le métabolisme du glucose est donc fortement compromis chez les personnes âgées. L'étiologie de la résistance à l'insuline reste donc variée et diffère d'une personne à l'autre (103).

Hyperthyroïdie

La glande thyroïde influence grandement le métabolisme du glucose et la sensibilité à l'insuline puisque les hormones thyroïdiennes sont impliquées dans la régulation du métabolisme des nutriments. Une augmentation de celles-ci provoque une augmentation de la gluconéogenèse et des dépenses énergétiques. Dans le foie, la T_3 stimule directement la gluconéogenèse et provoque une résistance à l'insuline. Dans ces conditions, les tissus périphériques doivent augmenter le stockage de glycogène pour contrer la gluconéogenèse hépatique. Au niveau du pancréas, l'hyperthyroïdie provoque un déclin des fonctions sécrétoires de l'organe. Cependant, aucune corrélation n'a pu être établie entre les fonctions thyroïdiennes et l'apparition d'un diabète de type 2 (104).

Causes génétiques

Une mutation du récepteur de l'insuline est connue pour causer une forte résistance à l'insuline. Cette mutation est associée à une hyperinsulinémie sévère et de l'hyperglycémie chronique. Une mutation du gène de la tyrosine kinase du récepteur à l'insuline est aussi reconnue pour causer une résistance à l'insuline, quoique moins violente qu'une mutation directe du récepteur. Un diabète de type 2 est observé très tôt dans la vie de ces patients et ceux-ci meurent rapidement des complications cardiovasculaires (105). Bien sûr, une panoplie d'autres

mutations sont connues pour leur impact sur l'homéostasie du glucose. Les capacités sécrétoires du pancréas, le transport du glucose, les incrétines, la signalisation de l'insuline, le métabolisme des lipides et bien d'autres peuvent aussi être affectés par des mutations génétiques et influencer l'homéostasie du glucose. La génétique affecte largement la sensibilité à l'insuline et l'homéostasie du glucose. Ces mutations sont couramment associées au diabète de type 2 (106).

2.5. Impact de la résistance à l'insuline sur les fonctions rénales

Bien que l'insuffisance rénale chronique soit associée à la résistance à l'insuline, il est aussi bien décrit que la résistance à l'insuline promeut des dommages rénaux. La résistance à l'insuline et l'IRC ont donc le potentiel de s'aggraver mutuellement.

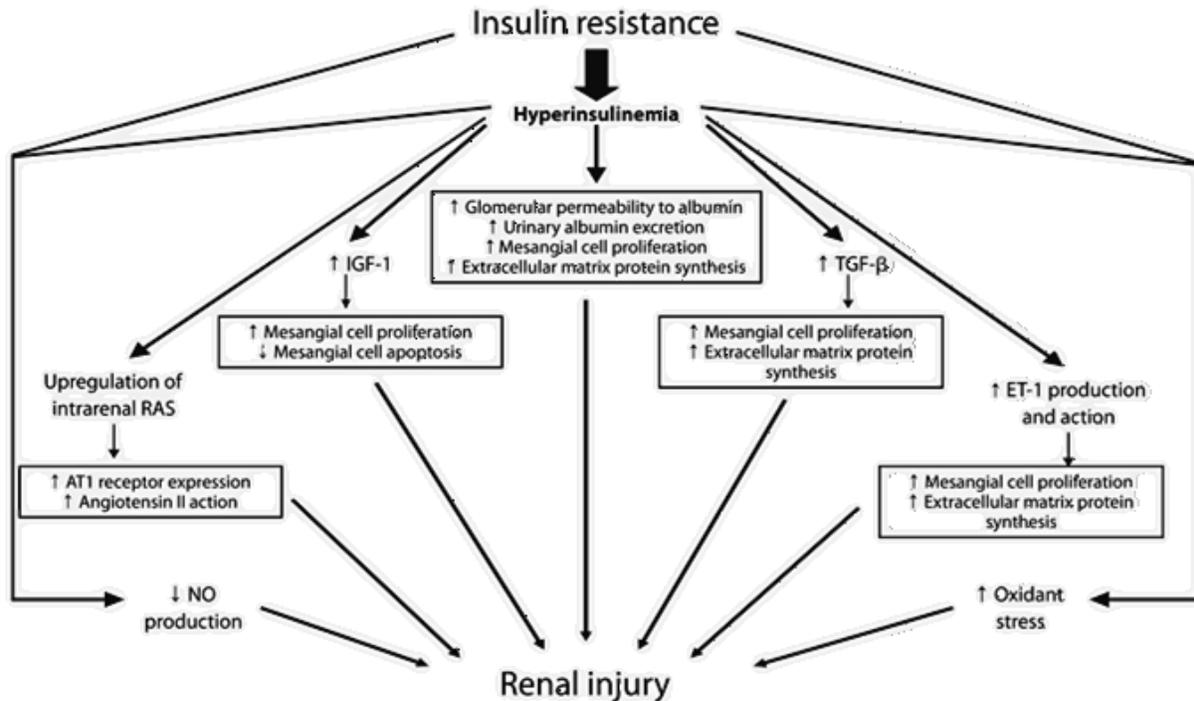


Figure 2.11 | Interaction entre les désordres métaboliques provoqués par une résistance à l'insuline et les dommages rénaux résultants (107)

Premièrement, l'insuline exerce un effet prolifératif direct sur les cellules glomérulaires et mésangiales ainsi qu'un effet indirect en stimulant la sécrétion d'IGF-1 (108). De plus, l'insuline stimule la production de facteurs de croissance comme le TGF- β participant à la fibrose rénale. L'impact de l'insuline, en résistance à l'insuline, sur la production de NO est aussi fortement affecté. Ceci mène à une stimulation de la production de l'endothélin-1 (ET-1) et à un accroissement de la pression intrarénale ainsi qu'à de la fibrose rénale (109).

En plus de l'impact de la résistance à l'insuline sur la fibrose rénale, l'hyperinsulinémie est reconnue pour engendrer du stress oxydatif. Celui-ci affectera à son tour la sensibilité à l'insuline en plus de promouvoir des dommages rénaux par plusieurs mécanismes. Ce stress oxydatif provoque une diminution du NO et augmente aussi la peroxydation des lipides (110). De plus, comme mentionné précédemment, l'hyperinsulinémie interfère avec le (RAS). Ceci a pour effet de potentialiser les effets délétères sur les fonctions rénales en plus d'affecter la croissance cellulaire et provoquer une augmentation de l'hypertrophie rénale (111).

2.6. Développement d'un diabète de type 2

Le diabète de type 2 survient lorsque les cellules β du pancréas cessent de fonctionner suffisamment. Bien sûr, une multitude d'évènements surviennent antérieurement à l'apparition du diabète tel que mentionné précédemment. La résistance à l'insuline provoque une augmentation de la sécrétion de celle-ci par le pancréas. La capacité sécrétoire de l'organe augmente donc jusqu'à l'atteinte d'un plateau. Il s'en suit une défaillance des cellules β du pancréas. À ce point, la capacité sécrétoire des cellules β est insuffisante pour compenser l'élévation de la glycémie. De plus, la sensibilité au glucose des cellules β diminue, affectant ainsi la sécrétion de l'insuline à la baisse en réponse à l'augmentation du glucose sanguin. De plus, la stimulation de la sécrétion d'insuline par les incrétines est fortement affectée. Lorsque les capacités sécrétoires des cellules β régressent, l'état prédiabétique commence à évoluer en diabète de type 2 (112, 113).

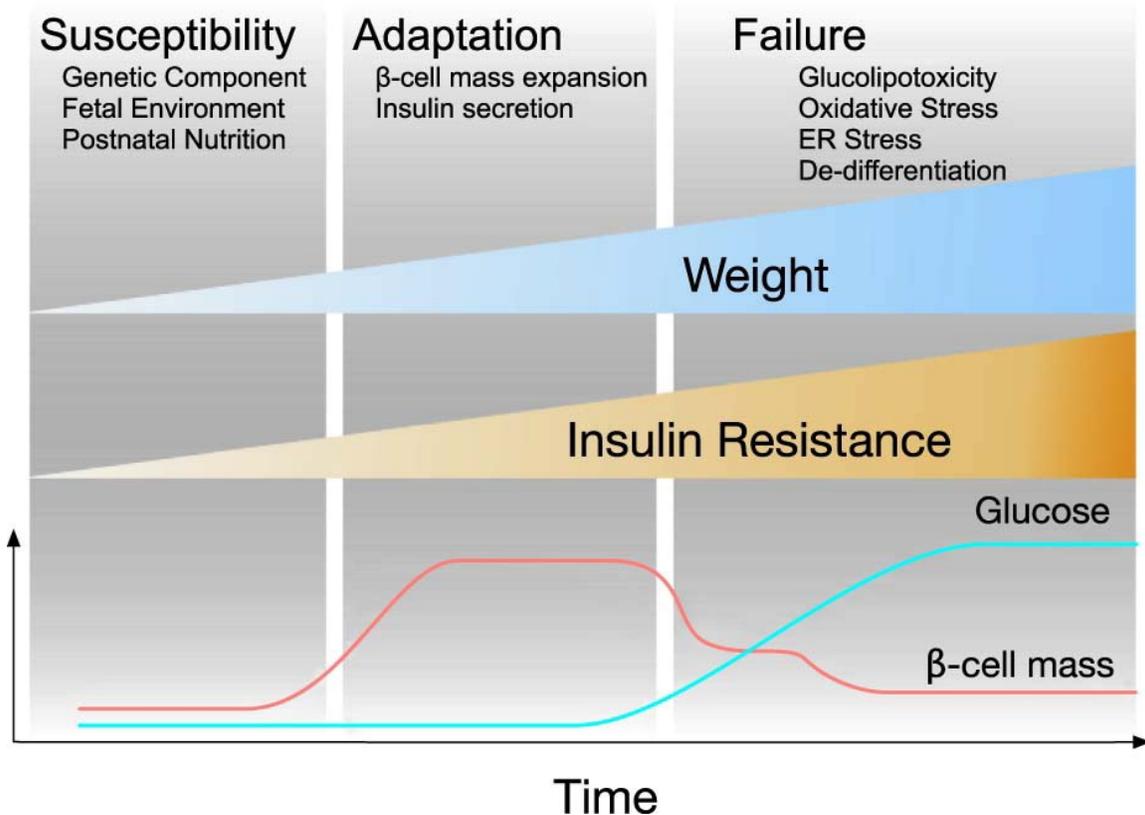


Figure 2.12 | Évolution du déséquilibre homéostatique du glucose pouvant mener au diabète de type 2 (114)

Chez les patients atteints d'un diabète de type 2, on observe couramment une diminution de la masse de cellules β . Étant donné que la régénération de ces cellules est très lente, ces changements demeurent quasiment permanents. Chez d'autres patients, l'on observe plutôt une dysfonction des cellules β sans pour autant observer une diminution de la masse. Cette dysfonction est suffisante pour causer une hyperglycémie chronique. À l'aide de méthodes de traitement adéquates, il est possible de renverser partiellement cette dysfonction et de ralentir l'évolution du diabète (112, 114).

Plusieurs voies agissent synergiquement dans la dysfonction pancréatique. La glucolipotoxicité est l'un des impacts de l'obésité et de la résistance à l'insuline ayant un effet délétère considérable sur le pancréas. Les mécanismes par lesquels cet excès de nutriments provoquerait une dysfonction du pancréas n'ont pas été complètement élucidés. Il est certain, par contre, que tous les tissus impliqués dans le métabolisme du glucose ont une incidence sur l'étiologie de la résistance à l'insuline et dans son développement subséquent en diabète de type 2. De plus, le stress occasionné par l'oxydation des nutriments et par le réticulum endoplasmique serait aussi impliqué dans la diminution de la masse de cellules β . Plusieurs mécanismes sont donc en cause dans le développement du diabète de type 2, mais les connaissances sur la pathophysiologie de cette maladie restent encore incomplètes (114).

2.6.1. Critères de diagnostic du diabète de type 2

Selon l'Association Américaine du Diabète, plusieurs critères sont requis dans le diagnostic d'un diabète de type 2. 1) une glycémie supérieure à 11.1mmol/L 2h après l'ingestion de 75g de glucose, 2) une glycémie supérieure à 11.1mmol/L à tout moment de la journée et 3) une glycémie à jeun supérieure à 7,0 mmol/L à plus d'une occasion. Depuis 2010, l'hémoglobine glyquée peut aussi être utilisée dans le diagnostic du diabète de type 2 de concert aux valeurs glycémique (115).

Tableau 2.3 | Critères de diagnostic du diabète de type 2 et de l'état prédiabétique selon l'American Diabetes Association (115)

	Prédiabète	Diabète de type 2
Glycémie aléatoire (mmol/L)	Ø	≥ 11,1
Glycémie à jeun (mmol/L)	≥ 5,55	≥ 7,0
Glycémie 2h post GTT (mmol/L)	≥ 7,77	≥ 11,1
HbA1c (%)	≥ 5,7	≥ 6,5

En clinique, l'usage d'un test de tolérance au glucose orale (OGTT) peut être utilisé dans le diagnostic du diabète de type 2. Celui-ci consiste à administrer 75g de glucose oralement aux patients et à suivre la glycémie pendant 2 heures. Chez les individus normaux, la glycémie revient à la normale 2h après l'administration du glucose, tandis que chez les patients résistants à l'insuline et diabétique, la glycémie prend beaucoup plus de temps à se régulariser (116).

L'usage de la glycémie à jeun est priorisé sur la glycémie prise à un moment aléatoire, puisque les valeurs obtenues à jeun sont répétables et elles corréleront directement avec un risque accru de complications diabétiques (116). L'hémoglobine glyquée (HbA1c) sera décrite ultérieurement, mais son utilisation reste récente et la corrélation entre celle-ci et la glycémie à jeun est très forte (115).

2.7. Méthodes pour mesurer et caractériser la résistance à l'insuline

Plusieurs critères sont requis dans l'évaluation de la résistance à l'insuline et dans le diagnostic d'un diabète de type 2. Les mesures glycémiques permettent de suivre l'évolution de la maladie, mais ne montrent en aucun cas les capacités sécrétoires du pancréas. Les mesures glycémiques et de la résistance à l'insuline doivent donc être obtenue simultanément afin d'obtenir un portrait global de l'état diabétique du patient.

2.7.1. Mesures glycémiques

Taux de glucose sanguins

Facile et peu coûteuse, la glycémie peut être prise à l'aide d'un glycomètre de poche. Celle-ci peut être prise sur une goutte de sang total ou sur du plasma. Puisque la répartition de la glycémie se fait entre le plasma et l'hémoglobine, les glycomètres de poche se basent sur une équation pour évaluer la glycémie plasmatique. Par contre, l'usage d'un glycomètre pour humain n'est pas recommandé pour les études chez l'animal, puisque la répartition de la glycémie n'est pas la même d'une espèce à l'autre. Chez l'homme, la répartition est de 58% dans le sérum et 42% dans l'hémoglobine, tandis que chez le rat, elle est de 84% dans le plasma et 16% dans l'hémoglobine (117).

L'usage d'un glycomètre pour animaux est donc requis, puisque l'algorithme de calcul de la glycémie diffère grandement entre les espèces. De plus, puisque ces glycomètres calculent la répartition entre l'hémoglobine et le plasma sans mesurer l'hémoglobine, l'anémie présente chez le rat en IRC peut affecter le dosage de la glycémie.

Fructosamine

La fructosamine, aussi appelée 1-amino-1-deoxy-D-fructose, se forme lorsque le groupement carbonyle du glucose réagit avec les amines des protéines sanguines. La fructosamine représente donc l'ensemble des protéines glyquées dans le sérum et est rapportée sur la concentration totale de protéines sanguines. La fructosamine représente la glycémie sur une échelle d'environ 2 semaines, soit selon le taux moyen de renouvellement des protéines plasmatiques. Lorsque l'étude se déroule sur un à deux mois, la fructosamine évalue plus fidèlement les modulations glycémiques que l'hémoglobine glyquée. De plus, ce paramètre n'est pas affecté par l'anémie et peut être obtenu dans un échantillon de sérum (118, 119).

Hémoglobine glyquée (HbA1c)

La mesure de l'hémoglobine glyquée est, en temps normal chez l'homme, la mesure de prédilection dans le suivi de la glycémie. Très couramment utilisée pour confirmer un diagnostic et suivre l'évolution d'un diabète de type 2, cette méthode possède tout de même quelques lacunes. L'HbA1c donne une représentation de la glycémie sur environ trois mois, soit le temps de renouvellement des érythrocytes. La mesure de l'HbA1c requiert du sang total non coagulé. Le sang du rat coagule très rapidement et le volume que l'on peut obtenir est très limité. Il est donc difficile de mesurer l'HbA1c chez ceux-ci. De plus, plusieurs désordres présents en IRC, tel que l'anémie, peuvent fausser le dosage de l'HbA1c. De plus, la viabilité des érythrocytes varie lorsque la glycémie subit d'importantes variations (118, 120).

L'usage de l'hémoglobine glyquée n'est donc pas adéquat dans le cadre de nos recherches. De plus, nos études se déroulent sur une échelle d'un à deux mois, la variation observée dans l'HbA1c ne sera donc pas représentative.

2.7.2. Mesure de la résistance à l'insuline

Les méthodes décrites ci-dessous permettent d'obtenir une vue globale de la capacité sécrétoire du pancréas et de la capacité des tissus périphériques et du foie à métaboliser et absorber adéquatement le glucose.

Test de tolérance au glucose

En clinique, cette méthode est la plus employée. Elle consiste à ingérer une quantité de glucose donnée, suite à une période de jeûne, et à observer la réponse glycémique et insulinémique sur une période de 2 heures. 15 minutes suivant l'administration du glucose, on peut observer la stimulation de la sécrétion de l'insuline par le glucose. Par la suite, la glycémie se normalise grâce à une sécrétion continue d'insuline par le pancréas. Chez les individus résistants à l'insuline, la sécrétion d'insuline est plus élevée sur la période de 2 heures et la glycémie ne revient pas à la normale à la fin du test. Chez les diabétiques, la sécrétion d'insuline diminue et la glycémie reste encore plus élevée (121).

Chez l'animal, il existe plusieurs dérivés de ce test en fonction de la voie d'administration du glucose. Celui-ci peut être donné oralement, par injection intrapéritonéale ou intraveineuse. Le test de tolérance au glucose orale prend en compte toutes les facettes du métabolisme du glucose, de l'absorption à sa disposition. Le test intrapéritonéal exclut l'absorption intestinale et contourne l'effet des incrétones sur la sécrétion d'insuline. Le test intraveineux exclut toute étape d'absorption (121).

Test de tolérance à l'insuline

Similaire au test de tolérance au glucose, celui-ci consiste à administrer, après une période de jeûne, un bolus d'insuline par la voie intrapéritonéale. On mesure ensuite sur une période de 2 heures la réponse glycémique et insulinémique. On observe donc l'effet de l'insuline sur les tissus responsables du métabolisme du glucose (121). Par contre, cette technique requiert une dose supraphysiologique d'insuline. Les conclusions obtenues pourraient

donc différer des conditions physiologiques. De plus, les risques d'hypoglycémie sont très élevés. Ceci pourrait enclencher une réponse hormonale chez le sujet et interférer avec la sensibilité à l'insuline (122).

Hyperglycemic clamp

Cette méthode est la plus efficace pour évaluer la réponse pancréatique lors d'une hyperglycémie provoquée. Les animaux sont connectés à des pompes et laissés libres dans leur cage lors du test. Le stress n'a donc pas d'impact sur l'étude. Rapidement, du glucose est infusé pour induire une hyperglycémie. Le glucose est ensuite infusé à taux variable pour maintenir l'hyperglycémie pendant 2 heures. Des échantillons de sang sont ensuite prélevés tous les 5 à 10 minutes pour mesurer l'insulinémie.

Les données obtenues permettent d'évaluer la quantité de glucose nécessaire pour induire une hyperglycémie. La courbe de sécrétion d'insuline permet d'évaluer les capacités de sécrétion du pancréas lors de la phase aiguë et chronique (121).

Hyperinsulinemic-euglycemic clamps

Cette méthode diffère de la précédente par l'injection d'insuline au lieu du glucose. Cette méthode est considérée comme la plus efficace pour représenter l'effet *in vivo* de l'insuline. On dose ensuite, sur une période de 2 heures, la glycémie pour déterminer l'absorption du glucose sanguin par les tissus périphériques. On obtient donc une évaluation fidèle de la résistance à l'insuline chez l'animal. Contrairement au test de tolérance à l'insuline, des doses physiologiques d'insuline sont utilisées (121).

HOMA-IR

HOMA, pour homeostasis model assessment, est un algorithme pour évaluer les fonctions des cellules β ainsi que la résistance à l'insuline à partir de la glycémie et de l'insulinémie à jeun. La relation entre la glycémie et l'insulinémie à jeun reflète un équilibre entre la gluconéogenèse hépatique et la sécrétion d'insuline en formant un cercle vicieux. Le modèle ne permet pas de séparer la résistance à l'insuline au niveau du foie et des tissus périphériques. Il donne, par contre, une idée du regroupement de la résistance à l'insuline et des fonctions pancréatiques. Puisque ce modèle fut développé chez l'humain, son usage chez les animaux peut être erroné puisque les conditions physiologiques diffèrent (123).

2.8. Modèles animaux

La plupart des modèles d'insuffisance rénale chronique reposent sur une réduction chirurgicale de la masse néphrotique. Bien sûr, il existe d'autres modèles pour étudier l'IRC et celle-ci peut être induite de plusieurs autres manières, soit par exposition à des radiations ou chimiquement. Chacune de ces méthodes comporte leur lot d'avantages et d'inconvénients, mais jusqu'à présent, la néphrectomie subtotale est celle qui représente le plus fidèlement les différentes facettes de l'IRC chez l'homme (124).

La néphrectomie subtotale est effectuée en 2 temps. Chez le rat, suite à une période d'acclimatation, les 2/3 du rein gauche sont retirés à l'aide d'un scalpel double. Une semaine plus tard, le rein droit est complètement retiré en prenant soin de laisser les glandes surrénales en place. L'IRC prend environ 3 semaines suite à la première chirurgie pour s'installer (125). Les témoins subissent 2 laparotomies blanches pour simuler la réaction inflammatoire causée par les chirurgies.

En ce qui a trait aux recherches sur le diabète de type 2, plusieurs modèles existent. En voici une liste exhaustive :

Rat Sprague Dawley (CD)

Modèle de rat sain sans prédisposition à quelque maladie. Peut être utilisé pour étudier une résistance à l'insuline et un diabète de type 2 issu d'un traitement, mais ne développera ni l'un ni l'autre de façon naturelle.

Souris Non-obese diabetic (NOD)

Modèle de souris ayant une susceptibilité à développer naturellement un diabète de type 1. Le diabète de type 1 de ce modèle résulte d'une infiltration leucocytaire des îlots de Langerhans (126).

Rat Goto-Kakizaki (GK)

Ce rat non obèse développe très tôt un diabète de type 2. Il est caractérisé par une faible sécrétion d'insuline stimulée par le glucose, possiblement due à une déféctuosité des îlots et/ou d'une réduction de la masse de cellules β (126).

Rat Spontaneously Hypertensive Obese (SHROB)

Ce rat possède une mutation sur le gène du récepteur de la leptine sur un fond génétique d'hypertension. Il présente une résistance à l'insuline, mais ne développera pas naturellement un diabète de type 2. Par contre, ils sont prédisposés à développer des maladies cardiovasculaires et rénales (127).

Rat Obese-prone (OP-CD) et Obese-resistant (OR-CD)

L'utilisation d'une diète riche en lipides (HFD) est une méthode fréquente pour induire de l'obésité chez les animaux de recherche. Chez le rat CD nourri avec une HFD, environ 1 rat sur 2 développe de l'obésité. L'autre moitié des rats semblent résistants à cette obésité induite par la HFD. Le croisement des individus obèse ensemble produit une lignée de rat fortement enclin à développer de l'obésité lorsque nourri à la HFD. Le même principe est appliqué pour les rats résistants à cette obésité induite. Il est à noter que cette obésité survient sans qu'il y ait d'altération au niveau du gène ou au récepteur de la leptine (128).

Ces rats, qu'ils soient OP ou OR, développent une résistance à l'insuline, une hyperglycémie et une hyperinsulinémie lorsqu'ils sont nourris avec une HFD, sans toutefois développer un diabète de type 2.

Rat Zucker Lepr^{fa/fa}

Ayant une double mutation du récepteur de la leptine, ce rat a une forte propension à l'hyperphagie. Il devient donc obèse très jeune et présente de la dyslipidémie, de l'hyperinsulinémie et une résistance à l'insuline. Ces rats ne développent pas de diabète de type 2 au cours de leur vie (129).

Rat Zucker diabetic fatty (ZDF)

Ce rat est en fait un dérivé du Zucker Lepr^{fa/fa}. En plus de la mutation sur le gène du récepteur de la leptine, ces rats portent un défaut autosomale récessif d'un gène non identifié ayant un impact sur les cellules β du pancréas. En plus des effets de la mutation Lepr^{fa/fa}, ces rats sont hyperglycémiques et ont une forte propension au diabète de type 2 (129).

Rat Zucker fatty/Spontaneously hypertensive heart failure F1 hybrid (ZSF1)

Issu du croisement entre un Zucker ZDF et un rat spontaneously hypertensive heart failure (SHHF), ces rats sont à haut risque de développer des maladies rénales et cardiovasculaires. Ce croisement reste assez récent et peu utilisé jusqu'à présent. Ses multiples pathologies causent de sévères lésions rénales. Ce modèle n'est donc pas adapté pour étudier individuellement les facettes de la maladie rénale. Ce modèle a une forte propension à développer un diabète de type 2 au cours de son existence (130).

Tableau 2.4 | Caractéristiques des différents modèles animaux fréquemment utilisés en recherche sur le diabète et le syndrome métabolique (131, 132)

Caractéristique	CD	NOD	GK	SHROB	OP	OR	ZSF1	ZDF	Zuc ^{fa/fa}
Rat / Souris	Rat	Souris	Rat	Rat	Rat	Rat	Rat	Rat	Rat
Diète spéciale	-	-	-	-	+ ¹	+ ¹	+	+	-
Résistance à l'insuline	-	-	+	+	+	+	+	+	+
Hyperglycémie à jeun	-	+	+	-	+	+	+	+	-
Hyperinsulinémie	-	-	+	+	+	+	+	+	+
Diabète de type I	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Diabète de type II	-	-	+	-	-	-	+	+	-
Hypertension	-	-	-	+	+	+	+	-	-
Obésité	-	-	-	+	+	-	+	+	+
Hypertriglycéridémie	-	-	-	+	+	+	+	+	-
Hypercholestérolémie	-	-	-	+	-	-	+	+	-
Néphropathie	-	+	+	+	-	-	+ ²	+ ²	+ ²
Mutation du Lepr.	-	-	-	-	-	-	+	+	+

¹ High Fat Diete (HFD), ² Hydronéphrose

Notre choix s'est arrêté sur le Zucker Lepr^{fa/fa} puisque celui-ci présente une forte résistance à l'insuline sans pour autant développer un diabète de type 2 au cours de leur vie. De plus, l'usage d'une diète riche en lipides était à proscrire, puisque les rats en IRC sont souvent dénutris. La diète n'aurait donc pas l'effet voulu sur le modèle et les témoins risqueraient de prendre significativement plus de poids que les rats atteints d'IRC.

2.8.1. Impact du knockout du récepteur de la leptine

La leptine, une hormone sécrétée par les tissus adipeux blancs, est impliquée dans la satiété et dans le stockage des lipides dans l'organisme. Le knockout de son récepteur résulte directement en une prise alimentaire constante menant rapidement à l'obésité. Plusieurs modèles animaux dérivés d'une mutation à ce gène sont actuellement utilisés en recherche comme modèle d'obésité. Puisque la leptine agit sur l'homéostasie du glucose, la pertinence de ces modèles pour

étudier l'impact de l'insuffisance rénale chronique sur le métabolisme et le transport du glucose pourrait être mise en question (133).

Ces rats ont un haut taux circulant d'insuline, sans pour autant avoir une hyperglycémie. La masse de cellules β augmente de près de 3 fois chez ces animaux pour compenser cette résistance à l'insuline. À la base, il était cru que cette résistance à l'insuline était une conséquence de l'obésité dont souffraient ces animaux. Le retrait de la leptine chez ceux-ci permettait de rétablir la sensibilité à l'insuline et la sécrétion d'insuline médiée par le glucose, suggérant que la leptine agit directement sur l'homéostasie du glucose. Par contre, ces animaux ne développeront pas naturellement un diabète de type 2 (134).

Chez les patients en hémodialyse, on observe couramment une hyperleptinémie. Cette augmentation de la leptine peut aussi être observée dans les stades moins avancés de l'IRC et est corrélée avec la créatininémie (135). Cette hyperleptinémie pourrait contribuer à la résistance à l'insuline et à l'hyperinsulinémie observée en IRC. Cependant, la relation causale entre ces 2 hormones reste floue (136).

Même si le Zucker Lepr^{fa/fa} atteints d'insuffisance rénale chronique est utilisé pour évaluer l'impact de l'IRC sur la résistance à l'insuline, l'utilisation de témoins restreints en nourriture, équivalente à l'apport des rats traités, nous permet de normaliser l'apport calorique quotidien chez ces animaux. L'impact individuel de la leptine peut donc être évalué chez ces témoins. L'IRC risque tout de même de s'additionner, voire d'empirer les déséquilibres homéostatiques de ce modèle. L'utilisation de celui-ci pour évaluer l'impact de l'IRC sur l'apparition d'un diabète subséquent reste tout de même pertinente, puisque ce diabète ne se développera pas naturellement.

3. La résistance à l'insuline en insuffisance rénale chronique

La résistance à l'insuline en insuffisance rénale chronique est chose courante et cette-ci tend à s'aggraver chez les patients en hémodialyse. En plus de contribuer au développement de maladies cardiovasculaires, la résistance à l'insuline affecte significativement le quotidien des patients en IRC. Bien que plusieurs facettes de l'IRC telles que l'inflammation et l'hyperparathyroïdie soient associées à la résistance à l'insuline, les mécanismes menant au développement de cette résistance à l'insuline restent méconnus (119, 137).

Plusieurs hypothèses sur le développement de la résistance à l'insuline en insuffisance rénale chronique font l'objet de recherches approfondies: 1) La sécrétion et le métabolisme de l'insuline sont perturbés en IRC, 2) une diminution de l'absorption du glucose stimulée par l'insuline dans les tissus périphériques et 3) une modulation du métabolisme du glucose et de la sensibilité à l'insuline hépatique (12, 138, 139). Néanmoins, plusieurs études pointent les tissus périphériques en tant que site primaire de cette résistance à l'insuline. De plus, un défaut post-récepteur dans la signalisation de l'insuline est généralement pointé du doigt (12, 21, 138, 140-142).

3.1. Débalancement de l'homéostasie du glucose

Comme décrit antérieurement, l'insuffisance rénale cause une multitude de débalancements homéostatiques. Plusieurs d'entre eux ont une influence directe sur le métabolisme des glucides. L'hyperparathyroïdie secondaire et le manque de vitamine D chez les patients atteints d'IRC sont reconnus pour provoquer un défaut de sécrétion de l'insuline. De leur côté, l'inflammation et le stress oxydatif affectent autant la sécrétion d'insuline dans le pancréas que la sensibilité à celle-ci dans les tissus périphériques. Les toxines urémiques, l'anémie et l'acidose métabolique provoquent elles aussi une diminution de la sensibilité à l'insuline dans les tissus périphériques (138, 143).

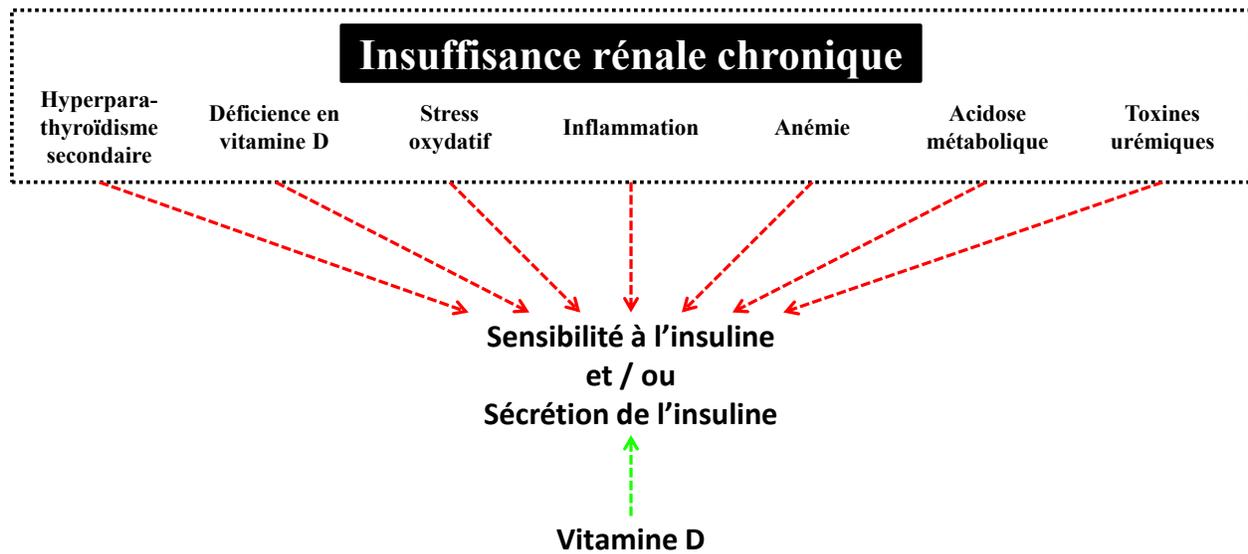


Figure 3.1 | Débalancement du métabolisme du glucose en insuffisance rénale chronique (144)

L'étude de la résistance à l'insuline en l'IRC révèle que cette maladie bouleverse non seulement la sécrétion et la sensibilité à l'insuline, mais aussi l'absorption, le métabolisme et le stockage des glucides. L'impact de la maladie rénale est donc systémique et affecte l'ensemble du métabolisme du glucose (138).

Suite à l'ingestion de glucose, celui-ci est rapidement absorbé dans l'intestin et rejoint la circulation sanguine. Cependant, Vaziri *et al.* ont observé une modification du microbiome intestinal en IRC. L'impact de ce changement reste méconnu. Par contre, la modification de la flore intestinale peut affecter le métabolisme des lipides et des glucides dès l'absorption de ceux-ci (145). Ces changements se prolongent même en amont de l'absorption en générant de l'inflammation (146, 147). De plus, la sécrétion du GLP-1 est augmentée en IRC. Il semble donc y avoir une réduction de la sensibilité aux incrétines par le pancréas (148).

Les fonctions hépatiques comptent beaucoup dans le maintien de la glycémie. En plus de capter une grande quantité de glucose suite à son absorption intestinale, cet organe produit une quantité importante de glucose à partir de ses stocks pour éviter l'hypoglycémie. Par contre, l'effet de la maladie rénale sur le foie reste contradictoire. En IRC, la gluconéogenèse hépatique augmente d'environ 35% et pourrait expliquer partiellement l'hyperglycémie observée chez ces patients (149). Cependant, certains groupes n'observent aucune différence en IRC. À insulinémie égale, la suppression de la production de glucose hépatique par l'insuline serait affectée. Une hyperinsulinémie est souvent observée en urémie et pourrait expliquer les divergences entre ces diverses conclusions (21, 138).

Selon DeFronzo *et al.*, la résistance à l'insuline en IRC proviendrait majoritairement des tissus périphériques. À l'aide de glucose clamp, ce groupe a démontré que l'absorption de glucose médiée par l'insuline dans les tissus périphériques serait affectée (21). Un défaut dans la signalisation du récepteur à l'insuline causerait cette diminution de l'absorption du glucose dans les muscles (150, 151). De plus, la capacité du muscle à produire et stocker le glycogène en réponse à l'insuline semble être affectée en urémie (152, 153). D'autre part, l'urémie affecterait à la baisse la voie oxydative de la glycolyse dans le muscle (154).

Bien que les muscles soient les tissus périphériques principaux dans le métabolisme du glucose, les tissus adipeux ont eux aussi un rôle important. En sécrétant des adipokines, les tissus adipeux ont le potentiel de moduler la sensibilité à l'insuline. En urémie, ces molécules sont

élevées dans le sang, majoritairement dû à la diminution de leur clairance rénale. Elles participent donc à l'essor de l'inflammation en IRC et à la modulation de la résistance à l'insuline ainsi qu'à l'induction de l'expression du GLUT4 (155).

Le rôle des reins dans le débalancement de l'homéostasie du glucose est bien différent. La vitamine D y étant activée, une réduction de celle-ci est observée en conséquence à l'IRC. Puisque cette vitamine affecte la sensibilité à l'insuline, une diminution de celle-ci semble provoquer des effets délétères sur l'homéostasie du glucose (144).

3.2. Sécrétion et métabolisme de l'insuline

L'hyperinsulinémie est une des caractéristiques de la résistance à l'insuline en IRC et, en plus d'affecter le transport du glucose, elle affecte le métabolisme des lipides et des protéines (156). En plus d'une résistance à l'insuline, une diminution de la clairance et un défaut de sécrétion de l'insuline peuvent être observables en IRC (157).

Le défaut de sécrétion serait principalement expliqué par un taux élevé de calcium circulant causé par une élévation de la PTH en IRC. Ceci aurait pour effet d'affecter l'oxydation du glucose et de réduire le ratio ATP/ADP. De plus, la concentration élevée en Ca^{2+} dans les îlots provoque une diminution de l'activité de la pompe Ca^{2+} ATPase. La capacité du pancréas à réagir à l'augmentation de la glycémie serait donc affectée. Une concentration de glucose plus élevée serait donc nécessaire pour une sécrétion équivalente d'insuline (157, 158). Chez le rat, une parathyroïdectomie permet de rétablir la sécrétion d'insuline en IRC (159).

Tout récemment, des travaux non publiés de Poitout *et al.* montrent que l'urée affecte directement les fonctions des cellules β . L'urée provoquerait une augmentation des protéines O-Glycosylées (O-GlcNAc) et du stress oxydatif. L'inhibition de l'un de ces 2 aspects permettrait de restaurer la sécrétion d'insuline (160). L'IRC causerait donc un défaut de sécrétion de l'insuline en affectant le métabolisme du glucose dans les îlots de Langerhans par l'entremise de plusieurs mécanismes directs et indirects.

En IRC, la clairance de l'insuline diminue avec le déclin des fonctions rénales. Ceci est dû à une diminution de la clairance métabolique de celle-ci. (161). Outre les reins, la dégradation de l'insuline diminue dans d'autres tissus tels que les muscles. Par contre, la clairance de l'insuline par le foie ne semble pas être affectée par l'urémie. La diminution de la clairance de l'insuline en IRC pourrait contribuer à l'augmentation de l'insulinémie (162).

3.3. Expression des transporteurs de glucose

La modulation de l'expression des transporteurs de glucose en IRC n'a été que peu étudiée jusqu'à présent et les conclusions restent contradictoires. Néanmoins, plusieurs groupes s'entendent pour dire que l'absorption de glucose dans le muscle en présence d'insuline est affectée en IRC. En l'absence d'insuline, l'absorption reste inchangée par rapport au groupe témoin (163, 164). Selon Friedman *et al.*, cette réduction dans le transport insulino-dépendant du glucose dans le muscle ne serait pas attribuable à une diminution de l'expression du GLUT4 (140). Au contraire, Aksentijevic *et al.* ont observé une diminution de l'expression totale du GLUT4 dans le muscle squelettique (165). L'usage de différents muscles peut expliquer ces différences puisque le diabète les affecte de façon différentielle (166). Outre les muscles, Szolkiewick *et al.* ont observé une augmentation de l'absorption du glucose par les tissus adipeux blancs. Une hausse de l'ARNm du GLUT4 dans les tissus adipeux blancs est aussi observable et serait la principale cause dans l'augmentation de la captation du glucose dans celui-ci (167). L'homéostasie du glucose est donc modulée dans les tissus périphériques. En plus du GLUT4, il est largement cité qu'un défaut dans la signalisation du récepteur à l'insuline en urémie pourrait être à la base de cette résistance à l'insuline (150, 151).

En plus des tissus périphériques, le foie est lui aussi responsable d'une importante fraction du métabolisme du glucose. Par contre, aucune étude ne cite la modulation des transporteurs de glucose dans cet organe comme source de résistance à l'insuline.

Fait intéressant, même si aucune étude ne s'est intéressée aux transporteurs de glucose rénaux, l'efficacité des inhibiteurs de SGLT2 est fortement diminuée lorsque les fonctions rénales sont affectées. Puisque la clairance rénale diminue, l'inhibition du SGLT2 ne permet pas d'éliminer autant de glucose que chez les patients sains. Le traitement de l'hyperglycémie en IRC est donc plus complexe et une autre classe d'hypoglycémiant doit être utilisée en urémie (168).

3.4. La résistance à l'insuline en insuffisance rénale chronique peut-elle évoluer en diabète de type 2?

Le diabète de type 2 est associé à l'insuffisance rénale chronique, mais cette relation reste jusqu'à présent linéaire. Bien que l'IRC mène à la résistance à l'insuline, aucune étude épidémiologique n'a réussi à associer un lien causal de l'IRC vers le diabète de type 2. Plusieurs raisons, telles que l'hyperinsulinémie et l'intolérance au glucose, portent à croire que l'IRC est un état prédiabétique.

Si cette résistance à l'insuline, observée chez les patients non-diabétiques atteints d'IRC, mène au développement d'un diabète de type 2, ceci délinéariserait la relation entre l'IRC et le diabète de type 2. Les patients seraient coincés dans un cercle vicieux dans lequel l'IRC et le diabète de type 2 mèneraient au déclin mutuel de l'homéostasie du glucose et des fonctions rénales.

4. Hypothèses de recherche

Ce projet s'intéresse aux mécanismes menant au débalancement de l'homéostasie du glucose en insuffisance rénale chronique. Jusqu'à présent, ces mécanismes restent méconnus. Leur compréhension permettrait de mieux saisir l'étiologie de la résistance à l'insuline en IRC. Puisque l'IRC provoque une modulation dans l'expression des transporteurs des xénobiotiques, l'hypothèse d'une modulation des transporteurs de glucose serait plausible.

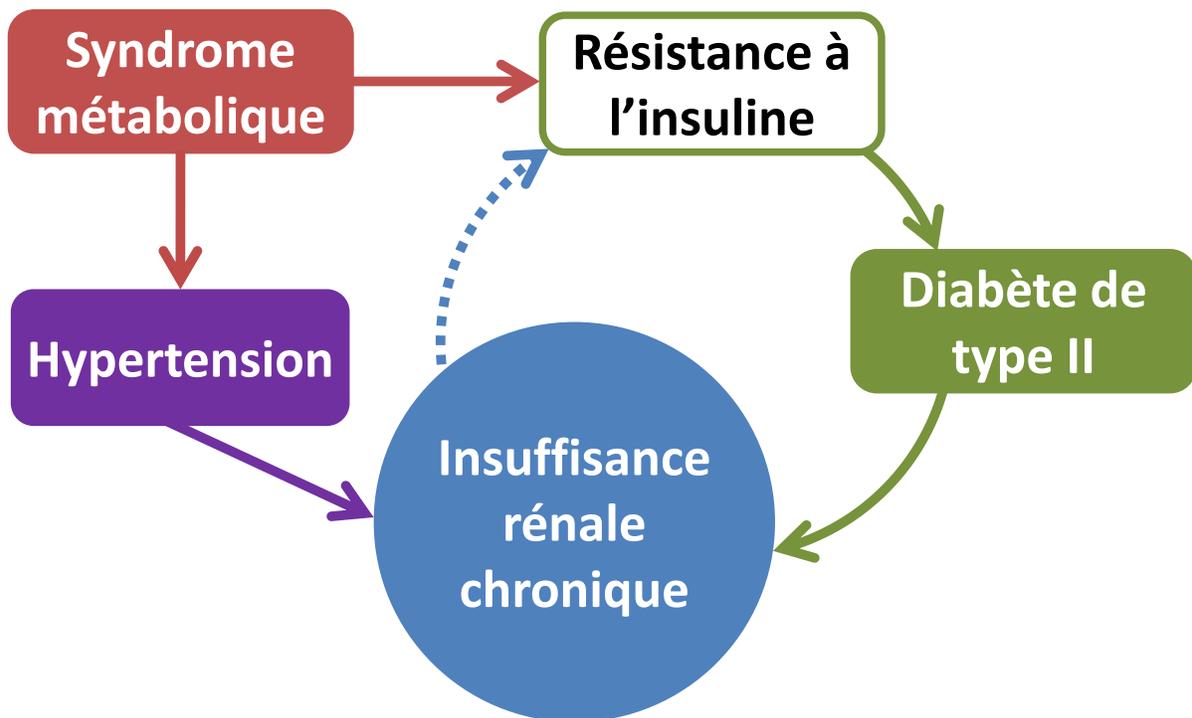


Figure 4.1 | L'insuffisance rénale chronique peut-elle mener au diabète de type 2?

Les objectifs de ce projet sont donc de:

1) Caractériser la résistance à l'insuline en IRC:

Le but est d'évaluer si la néphrectomie 5/6^e chez le rat provoque une résistance à l'insuline. Des tests de tolérance au glucose seront effectués pour observer si l'IRC affecte l'absorption de glucose médiée par l'insuline. La glycémie et l'insulinémie seront aussi dosées.

2) Déterminer si l'IRC provoque un défaut d'expression des transporteurs de glucose dans les tissus clés de l'homéostasie du glucose

Les mécanismes responsables du développement d'une résistance à l'insuline en IRC étant méconnus, nous croyons que la modulation des transporteurs de glucose pourrait participer à l'apparition de celle-ci. Dans des biopsies de tissus, tels que le foie, le muscle, le rein et les tissus adipeux, l'expression des transporteurs de glucose sera mesurée par immunobuvardage et par qPCR.

3) Déterminer si l'IRC provoque une diminution du transport du glucose dans les tissus sensibles à l'insuline

Puisque les tissus périphériques sont souvent pointés du doigt en tant que lieu principal de la résistance à l'insuline en IRC, l'absorption de glucose radioactif en présence et en absence d'insuline sera mesurée dans ces tissus. Ceci permettra de confirmer que la résistance à l'insuline affecte bel et bien le muscle et permettra d'appuyer la modulation des transporteurs de glucose comme étant l'une des causes de cette résistance à l'insuline.

4) Déterminer si la résistance à l'insuline causée par l'IRC peut mener au développement d'un diabète de type 2

Chez un modèle de rat prédisposé à développer un diabète de type 2, le rat Zucker $Lepr^{fa/fa}$, nous évaluerons si la résistance à l'insuline en IRC peut provoquer l'apparition d'un diabète de type 2. Les tests de tolérance au glucose, la glycémie et l'insulinémie à jeun ainsi que la glycosurie seront utilisés dans le diagnostic du diabète de type 2.

5. Résultats

5.1. Article

MECHANISM OF INSULIN RESISTANCE IN A RAT MODEL OF RENAL FAILURE AND THE RISK OF DEVELOPING TYPE 2 DIABETES

**François Dion BSc^{1,2,5}, Christopher Dumayne MSc^{1,2,5}, Nathalie Henley MSc¹,
Stéphanie Beauchemin MSc¹, François A. Leblond PhD¹, Sylvie Lesage PhD^{1,3},
Stéphane Lefrançois PhD^{1,2}, Gregory D. Cartee PhD⁴, Edward B. Arias⁴,
Vincent Pichette MD PhD^{1,2}**

¹Centre de recherche de l'Hôpital Maisonneuve-Rosemont, Faculté de Médecine, Université de Montréal, 5415 boulevard de l'Assomption, Montréal, Québec, Canada, H1T 2H4.

²Département de pharmacologie, Faculté de Médecine, Université de Montréal, Québec, Canada.

³Département de microbiologie, infectiologie et immunologie, Faculté de Médecine, Université de Montréal, Québec, Canada.

⁴School of Kinesiology, University of Michigan, 401 Washtenaw Avenue, Ann Arbor MI, USA.

⁵Equal Contribution.

a) **Running title:** Insulin resistance in chronic renal failure

b) **Correspondence addressed to:** Vincent Pichette M.D., Ph.D.
Centre de recherche de l'Hôpital
Maisonneuve-Rosemont

Tel : (514) ...-.... (....)

Fax : (514) ...-....

E-mail:

c)

Number of text pages: 19

Number of tables: 3

Number of figures: 18

Number of references: 57

Number of words in Abstract: 217 words

Number of words in Introduction: 823 words

Number of words in Discussion: 1420 words

List of non-standard abbreviations: BSA: bovine serum albumin, CD: Sprague-Dawley, CRF: chronic renal failure, CTL: control, ESRD: end-stage renal disease, GAPDH: glyceraldehyde-3 phosphate dehydrogenase, GLUT: glucose transporter, GSIS: glucose-stimulated insulin secretion, GTT: glucose tolerance test, KHB: Krebs Henseleit buffer, PBS: phosphate-buffered saline, PMSF: phenylmethylsulfonylfluoride, PTH: parathyroid hormone, PVDF: Polyvinylidene fluoride, SDS: Sodium dodecyl sulfate, SGLT: sodium-glucose transporter, T2D: Type 2 diabetes, TBS: Tris-buffered saline.

Abstract

Chronic renal failure is associated to homeostatic imbalances such as insulin resistance, but the underlying mechanisms and whether it promotes the development of type 2 diabetes is unknown. In 5/6th nephrectomised Sprague-Dawley rat model of chronic renal failure, we observed a correlation between the severity of chronic renal failure and hyperglycemia, evaluated by fructosamine level ($R^2=0.698$). Glucose tolerance tests indicated an increase in glycemia in chronic renal failure rats (AUC $\uparrow 25\%$) as compared to controls whereas insulin secretion was not significantly increased. We also observed modulation of glucose transporters expression in the liver ($\downarrow \approx 40\%$), kidneys (from $\downarrow 19\%$ to $\uparrow 72\%$) and muscles ($\downarrow \approx 29\%$). There was a significant reduction in insulin-dependent glucose uptake in the muscles of chronic renal failure rats ($\downarrow \approx 37\%$ vs controls). However, the development of type 2 diabetes was never observed. In a rat model of metabolic syndrome (Zucker $Lepr^{fa/fa}$), chronic renal failure caused an increased fasting hyperglycemia ($\uparrow 50\%$) and an exacerbated glycemc response (AUC $\uparrow 80\%$) during glucose challenge. Similar modulations of glucose transporters expression and glucose uptake were observed. Despite these modulations, 30% of chronic renal failure Zucker rats developed characteristics of type 2 diabetes. We demonstrated that downregulation of GLUT4 in skeletal muscle may be associated with insulin resistance in chronic renal failure and this could leads to type 2 diabetes in predisposed animals.

Keywords: insulin resistance, chronic renal failure, GLUT4, glucose transporters, type 2 diabetes

Introduction

The prevalence of chronic renal failure (CRF) is steadily increasing (1), and its metabolic and hormonal complications have been the subject of many studies (2, 3). In particular, type 2 diabetes (T2D), a leading cause of end-stage renal disease (ESRD), is an important and growing health problem (4, 5). The convergence of these two conditions could lead to mutual exacerbation and worsening of patient health (6, 7).

Glucose intolerance is a common finding in patients and animal models affected by renal impairment (8, 9). Numerous studies suggest that peripheral insulin resistance and impaired insulin secretion are causative factors for diminished carbohydrate metabolism (10-12). As insulin resistance in CRF is associated with diabetes, kidney disease could also lead to a deterioration of insulin sensitivity (10, 13). The morbidity and mortality associated with CRF are predominantly attributable to cardiovascular complications, as more than half of the reported cases of death in patients with ESRD are linked to heart disease (14, 15). Consequently, given that insulin resistance may contribute to the development of cardiovascular disease, insulin resistance is an important target to prevent such complications in patients with CRF.

Although insulin resistance in CRF is usually regarded as a post-receptor defect (15, 16), the mechanisms underlying this disorder are still poorly understood. Several lines of emerging evidence have demonstrated that CRF leads to modulation of the expression and activity of several drug transporters including the ATP-Binding Cassette and Solute Carriers families and that, in the liver, the intestine, the kidneys and the brain (17-19). It therefore seems plausible that glucose transporters, members of the family of Solute Carriers, could also be altered. To date, there is limited and conflicting data concerning alterations in the expression of glucose transporters in CRF and its role in insulin resistance (16, 20-22). For example, Friedman and colleagues have observed lower glucose uptake by skeletal muscle preparations obtained from uremic patients while the expression of GLUT4, a glucose transporter strongly linked to insulin resistance, remained unchanged (16). On the other hand, Aksentijevic and colleagues noted a diminished GLUT4 protein expression in the skeletal muscles of uremic animals (20), whereas Szolkiewicz and colleagues have shown an upregulation of GLUT4 mRNA in adipose tissue retrieved from nephrectomised rats (22). Notably, however, fat tissue represents only a minor

part of global glucose metabolism (23). Peripheral tissues thus seem to play an important role in the development of this insulin resistance (24).

The purpose of this study was to determine whether: 1) CRF leads to insulin resistance in a nephrectomised rat model of CRF, 2) whether CRF modulates key transporters involved in glucose homeostasis which could ultimately lead to insulin resistance, 3) CRF is associated with impaired glucose uptake in insulin-sensitive organs and 4) insulin resistance in CRF leads to (T2D). To address these aims, we used the 5/6th nephrectomy model to induce CRF in both Sprague-Dawley (CD) and Zucker Lepr^{fa/fa} rats, where the latter rat strain presents with a metabolic syndrome and, therefore, exhibit insulin resistance. These studies allowed us to evaluate the potential of renal failure to precipitate the onset of T2D in predisposed patients.

Materials and methods

Animal models

Male Sprague-Dawley (CD) rats (Charles River Laboratories, St-Constant, QC, Canada), weighing 176 to 225 g, and Zucker ZUC-Lepr^{fa/fa} rats (Charles River Laboratories, Raleigh, NC), 6 weeks of age, were housed in the animal facility at the Hôpital Maisonneuve-Rosemont Research Center and maintained on Harlan Teklad rodent diet #2014 (Envigo, Lachine, QC, Canada) and water ad libitum. Animals were allowed an acclimatization period of at least 7 days before the first nephrectomy was performed. All the experiments were conducted according to the Canadian Council on Animal Care guidelines for the care and use of laboratory animals and under the supervision of our local animal care committee.

Surgery and experimental protocol

CRF was induced by a two-stage 5/6 nephrectomy protocol as previously described (25). Rats underwent a 2/3 nephrectomy of the left kidney and 7 days later, a right total nephrectomy. Rats from the control group underwent two sham laparotomies. Isoflurane was used for anaesthesia. The amount of chow fed to control pair-fed rats was adjusted daily based on the amount of chow that the CRF rats ate the day before. At day 41 after nephrectomy, the rats were housed in metabolic cages and urine was collected for 24 h to determine creatinine clearance. Rats were sacrificed by decapitation 42 days after nephrectomy for organ and blood collection. After the rats were sacrificed, liver, kidneys, Biceps Femoris and epididymal white adipose tissue were immediately excised, rinsed in phosphate buffered saline (PBS) and flash-frozen in liquid nitrogen. Blood was collected for further biochemical characterization. Rats used for glycosuria assessment were kept alive for up to 15 weeks.

Biochemical parameters

Serum creatinine, urea, calcium, phosphate, fructosamine and urinary creatinine were analysed on ARCHITECT c16000 Clinical Chemistry Analyzer (Abbott Diagnostics, Lake Forest, IL, USA). Glycemia was measured using an AlphaTRAK blood glucose monitoring

system (Abbott Laboratories, North Chicago, IL, USA). Serum insulin was assayed by a Rat ultrasensitive ELISA kit (ALPCO, Salem, NH, USA). Presence of glycosuria was obtained by 2 consecutive day positive Diastix™ (Bayer Corp. Diagnostics, Tarrytown, NY, USA)

Intraperitoneal glucose tolerance test

An intraperitoneal glucose tolerance test (IPGTT) was performed after 4 weeks of uremia. Rats underwent an overnight fast and were then injected with an intraperitoneal bolus of D-glucose (BDH, Westchester, PA) (2g/kg of body weight for CD rats and 1.5g/kg for Zucker rats). Blood samples (200µl) were collected from the saphenous vein immediately before and 15, 30, 60, 90, and 120 minutes after glucose administration. Glycemia was measured using an AlphaTRAK blood glucose monitoring system. Residual blood samples were kept at room temperature for 30 minutes. Serum was obtained by centrifugation at 10,000g for 10 minutes at room temperature, less than 60 minutes after the blood collection. Serum insulin levels were determined at each time point as described above.

***Ex vivo* glucose uptake in the muscles**

The glucose uptake capacity of two skeletal muscles, *soleus* (predominantly slow-twitch muscles) and *epitrochlearis* (predominantly fast-twitch muscle) were determined using a previously published method (26). Briefly, rats were fasted 4 hours before being anesthetized with an intraperitoneal injection of sodium pentobarbital (60 mg/kg). After 10-15 minutes, *epitrochlearis* and *soleus* muscles were delicately removed and rapidly rinsed in PBS. *Soleus* muscles were separated into longitudinal strips to ensure equal diffusion across the muscle and reduce potential hypoxia. Muscles were then pre-incubated in a Krebs-Henseleit buffer (KHB) solution containing 2mM pyruvate and 6mM Mannitol. After a 30 min pre-incubation period, muscles were incubated in KHB containing 1mM of [³H]-2-deoxy-D-glucose (2-DG) (American Radiolabeled Chemicals, St. Louis, MO), 9mM [¹⁴C]-mannitol (American Radiolabeled Chemicals) and 0 or 2mU/ml of insulin (Humulin R, Eli Lilly, Toronto, ON) for CD rats and 0 or 10mU/ml for Zucker rats. After incubation, muscle biopsies were snap frozen in liquid nitrogen. Frozen muscles were weighed, transferred to prechilled glass tissue grinder tubes (Kontes,

Vineland, NJ), and homogenized in ice-cold perchloric acid using a glass pestle attached to a motorized homogenizer. A sample of muscle homogenate supernatant (0,2ml) was added to 8mL of ScintiSafe Plus Scintillant (Fisher Scientific, Ottawa, Ontario, Canada). Radioactivity was counted on a Hidex 300 SL beta counter (Hidex Oy, Turko, Finland) (27).

Tissue preparation for Western Blot analysis

Frozen biopsies of rat liver, kidney, skeletal muscle and fat tissue were homogenized using an overhead stirrer in RIPA buffer (150mM sodium chloride, 1% Triton X-100, 0.5% sodium deoxycholate, 0.1% SDS, 50 mM Tris, pH 8) containing 0.1 mM PMSF at a ratio of 0.2g of tissue for 1mL of buffer. Delipidation was performed on adipose tissue homogenate by chloroform extraction (28). The resulting homogenate was passed through a QiaShredder (Qiagen, Mississauga, ON, Canada). Protein content was then determined using the Lowry method (29), using bovine serum albumin as reference protein. Aliquots were stored at -80°C for Western blot analysis.

Protein expression

Abundance of glucose transporter protein was assessed by Western blot analysis. Samples of 5 or 20 μg of protein (see figure IV legend) were separated by electrophoresis on a 9% polyacrylamide gel containing 0.1% sodium dodecyl sulfate (SDS). Separated proteins were electrophoretically transferred onto Polyvinylidene fluoride (PVDF) membrane. Membranes were saturated with 5% BSA in Tris buffered saline (TBS) containing 0.1% Tween20 (TBST) and washed with TBST. GLUT1 was detected using a rabbit polyclonal antibody PA1-1063 (Thermo Scientific Pierce, Rockford, IL). GLUT2 was detected using a rabbit polyclonal antibody ARP41706 (Aviva Systems Biology, San Diego, CA). GLUT4 was detected using a rabbit polyclonal antibody PA1-1065 (Thermo Scientific Pierce). SGLT1 was detected using a rabbit polyclonal antibody Ab-14686 (Abcam, Cambridge, MA). SGLT2 was detected using a rabbit polyclonal antibody AP00335PU-N (Acris Antibodies, San Diego, CA). GAPDH was used as a GLUT4 containing-tissue loading control using a rabbit polyclonal antibody Ab9485 (Abcam). Beta-Actin was used as a loading control for liver samples using a mouse monoclonal

antibody GTX23280 (GeneTex, Irvine, CA). Villin-1 was used as a loading control for kidney tissue using a rabbit polyclonal antibody R814 (Cell Signaling Technology, Danvers, MA). Specific antibody binding were revealed by the appropriate secondary antibody (Goat anti-rabbit IgG or Goat anti-mouse IgG from Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) coupled to peroxidase and with the Clarity Western ECL Substrate from Bio-Rad Laboratories (Hercules, CA). Results were analyzed by computer-assisted densitometry using ImageQuant LAS-4000 system from GE Healthcare Life Sciences (Mississauga, ON) and FUJIFILM MultiGauge V3.0.

mRNA expression

Total RNA was extracted from frozen tissue using TRIzol reagent (Invitrogen, Burlington, ON, Canada). The RNA from the aqueous fraction was then purified using the RNeasy Mini kit (Qiagen) according to the manufacturer's protocol including the optional DNA digestion step. RNA concentrations and quality were determined by measuring absorbance at 260/280nm. One microgram of total RNA was used to prepare cDNA by reverse transcription using the SuperScript VILO cDNA Synthesis kit (Invitrogen). The mRNA encoding for GLUT1 (*Slc2a1*), GLUT2 (*Slc2a2*), GLUT4 (*Slc2a4*), SGLT1 (*Slc5a1*), SGLT2 (*Slc5a2*), GAPDH, β -actin and Villin-1 were measured by quantitative real-time polymerase chain reaction using iTaq Fast Supermix with ROX and appropriate primers on an ABI 7500 Real Time PCR System (Applied Biosystems, Foster city, CA) with a 5 min denaturation at 95°C following 35 cycles at 95°C for 15s and 60°C for 60s. The primer sequences used for the quantification of mRNA for each transporter can be found in Table I. PCR products were analyzed using the $\Delta\Delta$ CT method (30) using GAPDH, β -actin and Villin-1 as housekeeping genes as described above (See figure III legends).

Statistical analysis

The results are expressed as mean \pm S.D. CD rats were analysed as a cohort using the Student's t test. Each Zucker CRF rat was analysed against its own control using a ratio paired Student's t test. Survival curves were assessed using the Mantel-Cox test. Correlations were assessed using linear regression. The threshold of significance was $p \leq 0.05$. Statistical analyses were made using GraphPad Prism v6.05.

Results

Biochemical Parameters and Body Weight in Control and CRF Rats

Table II presents the biochemical parameters and body weights of control and CRF CD rats. Compared to controls, CRF rats had higher levels of serum creatinine and urea and lower creatinine clearance. Although glucose levels were not statistically elevated in CRF animals, we nevertheless observed a hyperglycemia state. Indeed, fructosamine levels were 25% higher in CRF rats compared to control. Furthermore, a direct correlation between serum fructosamine and serum creatinine ($R^2 = 0.762$, $p < 0.0001$) can be observed (Figure I A). Otherwise, there were no significant changes in insulinemia.

Intraperitoneal Glucose Tolerance Test

Results of a glucose tolerance test (GTT) performed on CD rats at 4 weeks post nephrectomy resulted in impaired carbohydrate metabolism in the nephrectomised cohort, as displayed by their higher glycemic levels at each time-point studied when compared to control rats (Figure II A). Glucose-stimulated insulin secretion (GSIS) was also impaired in nephrectomised rats, as demonstrated by a 30% greater insulin level over 2 hours compared to control rats (Figure II B).

mRNA Expression of SGLT and GLUT Glucose Transporters in CRF Rats

Figure III presents the results of the analysis of mRNA encoding glucose transporters involved in carbohydrate homeostasis in key organs. There was a significant decrease in the expression of GLUT1 and GLUT2 (decrease of 31% and 32%, $p < 0.001$ and $p < 0.0001$ respectively) in CRF rat livers compared to controls. Renal impairment induced an important increase in kidney GLUT2 expression (increase of 105%, $p < 0.0001$) compared to control rats. However, mRNA expression of the residual kidney glucose transporters remained stable. Both GLUT1 and GLUT4 mRNA expression in muscle were decreased by CRF (decrease of 31% and 29%, $p < 0.05$ and $p < 0.001$ respectively). The levels of GLUT1 and GLUT4 mRNA expression in the adipose tissue were increased (increase of 89% and 42%, $p < 0.01$ and $p < 0.05$ respectively).

Protein Levels of GLUT and SGLT Glucose Transporters in CRF Rats

Figure IV presents the relative protein levels of the principal glucose transporters in various tissues involved in carbohydrate metabolism. The results were obtained from a total homogenate preparation from control and CRF rats. Renal impairment causes down-regulation of hepatic GLUT1 and GLUT2 (decrease of 24% and 54%, $p < 0.01$ and $p < 0.0001$ respectively) as compared to control rats. Conversely, kidney GLUT2 and SGLT2 levels were increased in the presence of CRF (increase of 49% and 73%, $p < 0.01$ and $p < 0.01$ respectively). The levels of GLUT1 and SGLT1 remained unchanged in the kidney. In muscle, both GLUT1 and GLUT4 were considerably diminished (decrease of 27% and 31%, $p < 0.05$ and $p < 0.01$ respectively) by kidney disease, and GLUT1 and GLUT4 were inversely affected by CRF in adipose tissue as compared to the muscle (increase of 27% and 106%, N.S. and $p < 0.01$ respectively). The data from the mRNA and protein levels are in accordance.

***Ex Vivo* uptake of Radiolabeled 2-deoxyglucose in the *Epitrochlearis* and the *Soleus* Muscles of CRF rats**

Analysis of insulin stimulated glucose uptake (measured by fold increase in glucose uptake) revealed a lower glucose uptake in the CRF cohort for both *epitrochlearis* (decrease of 34% vs controls, $p < 0.0001$) and *soleus* (decrease of 39% vs controls, $p < 0.0001$) muscles (Figure V B).

Insulin resistance in Zucker rats is affected by CRF

Similar to CD rats, CRF Zucker rats showed an increase in serum fructosamine correlated with serum creatinine (Figure I B) ($R^2 = 0.698$, $p < 0.0001$). Unlike CD rats, Zucker rats with CRF had an elevated fasting glycemia (increase of 50% vs controls, $p < 0.0001$) without higher insulin levels (Table III).

Zucker rats, demonstrating insulin resistance, showed an even greater response to glucose load under CRF conditions (Figure II C and D) compared to CD, and demonstrated a similar impairment in insulin levels. In addition, changes in glucose transporter expression (Figure IV)

in control and CRF Zucker rats reflected that seen in CD rats in the muscle (GLUT1 decrease of 26%, $p < 0.05$; GLUT4 decrease of 25%, $p < 0.01$) and adipose tissue (GLUT1 increase of 70%, $p < 0.05$; GLUT4 increase of 23%, N.S.). This was also true for modulation of glucose transporter protein levels of Zucker control versus CRF rats (Figure IV C) with a reduction of glucose transporters in muscles (GLUT1 decrease of 41%, $p < 0.01$; GLUT4 decrease of 39%, $p < 0.01$) and higher protein levels in adipose tissues (GLUT1 increase of 56%, $p < 0.05$; GLUT4 increase of 47%, N.S.).

Differences in insulin stimulated glucose uptake in muscle of Zucker control and CRF rats is more dramatic as compared to the CD rat model. Since 2mU/mL of insulin did not significantly increase glucose uptake by muscles from Zucker rats with CRF (data not shown), a higher dose of insulin (10mU/mL) was necessary to induce insulin-stimulated glucose uptake in the muscles of these rats. As compared to their controls, Zucker rats affected by CRF have a reduced insulin stimulated glucose uptake in both *epitrochlearis* (decrease of 22% vs controls, $p > 0.001$) and *soleus* (decrease of 20% vs controls, $p > 0.0001$) muscles.

Presence of glucose in urine (Glycosuria)

The presence of glycosuria is due to the inability of the kidney to reabsorb filtered glucose or spillage due to abnormally high levels of blood glucose. Spillage does not generally occur until blood glucose exceeds ~10 mmol/L (31). None of the CD rats had detectable urine glucose levels. In contrast, ~30% of the Zucker rats with severe CRF (creatininemia $\geq 200\mu\text{mol/L}$) presented glycosuria whereas none in the control Zucker rats had detectable urine glucose.

Discussion

In the present study, we provided evidence that CRF rats have chronic hyperglycemia as indicated by a significant increase in serum fructosamine, although fasting glycemia was not significantly elevated. To further characterize the insulin sensitivity and secretion in our models of CRF, we performed glucose tolerance tests (GTT). Our results confirmed impaired glucose tolerance in the nephrectomised cohort as revealed by their inability to restore basal blood glucose levels (Figure II A) despite increased insulin secretion (Figure II B). The enhanced insulin synthesis by the pancreas is generally a sign of insulin resistance as it attempts to overcome the rise in blood glucose that occurs in response to reduced insulin sensitivity (32, 33). Additionally, the increased insulin concentration was insufficient to counteract hyperglycemia as higher blood glucose levels were measured in rats with renal impairment, thus providing evidence of an insulin resistance evolution. Although high insulin levels are recognized as a reliable indicator of insulin resistance, its presence in end-stage renal disease (ESRD) is occasionally misinterpreted due to reduced renal clearance (34, 35). In the present study, since the GTT experiment was conducted on rats whose renal function was not severely compromised, a significant reduction in renal clearance of insulin does not explain the observed hyperinsulinemia. Results thus suggest an impaired compensatory insulin secretion to stabilize hyperglycemia as the latter occurs in the presence of insulin resistance.

Having established that CRF may lead to insulin resistance, the expression of glucose transporters was measured in several key organs involved in glucose metabolism as to determine the mechanisms of this metabolic condition when kidney function is compromised. We primarily focused on fat and muscle glucose transporters as impaired insulin sensitivity in CRF is generally ascribed in peripheral tissues (36, 37). Furthermore, we focused on GLUT4 as any abnormality affecting its expression, its translocation and/or its activity has been strongly linked to insulin resistance (38, 39). Interestingly, our results show a significant decrease in GLUT4 protein levels in skeletal muscle (decrease of $\approx 31\%$) of rats with impaired renal function (Figure IV). Despite a paucity of information on GLUT4 regulation in CRF, earlier research suggested unaltered levels of GLUT4 despite reduced insulin-stimulated glucose uptake (40). Nonetheless, a number of research groups have published evidence of a variability of GLUT4 responses to diabetes and

insulin resistance depending on the muscle's fiber type (41, 42). Moreover, Glut4 expression in human is generally assessed from muscle biopsies of vastus lateralis and rectus abdominis muscles where GLUT4 is negligibly affected by diabetes (41, 43). This could explain why no study has thus far been demonstrated a reduction of GLUT4 in CRF in humans. Moreover, since our studies refer to the muscles of the hindlimb, which is constructed of more than one type of muscle fiber, it is possible that our results underestimate the actual reduction in GLUT4 in kidney disease.

Glucose uptake studies were performed on skeletal muscle since this tissue represents the main site of insulin resistance in CRF (36, 44). Experiments were done *ex vivo* to avoid any extra-muscular hormonal and metabolic factors that may influence glucose uptake (45, 46). Our results demonstrated a clear reduction of insulin-stimulated glucose transport (decrease of 37% vs controls, $p < 0.0001$) in CRF muscles (Figure V) which likely attributable, at least in large part, by the profound down-regulation of the expression of muscle GLUT4 glucose transporters content in kidney failure. Jacobs *et al.* have reported a similar conclusion in uremic adipocytes, although it referred to total glucose transporters (21). In contrast to GLUT1, GLUT4 is translocated to the plasma membrane in response to insulin in skeletal muscle (47). The reduction of insulin-dependent glucose transport is related to the diminished GLUT4 protein in muscle. Furthermore, insulin acts on microvascular perfusion to promote glucose uptake in peripheral tissues. The impacts of kidney disease on insulin-mediated microvascular responses have not been studied and could contribute to reduced glucose uptake in the muscles under *in vivo* conditions (48, 49). Thus, the considerable down-regulation of GLUT4 expression in skeletal muscle of nephrectomised rats can explain the insulin resistance in renal failure. That said, other organs are also involved in carbohydrate metabolism and may contribute to the insulin resistance.

Our observed substantial increase of GLUT4 in adipose tissue was insufficient to prevent insulin resistance in CRF. This may be explained by limited role that fat plays in overall glucose disposal. Nonetheless, adipose tissue's role in glucoregulation is not limited to its contribution to

the direct disposal of glucose. Accordingly, increased GLUT4 in adipose tissue may limit, to some extent, the effect of a GLUT4 decrease in muscle (50).

While the presence of defective hepatic glucose metabolism in CRF has usually been disregarded, no study has so far focused on the modulation of glucose transporters in CRF. Notably, our results demonstrate a substantial decrease in the protein levels of GLUT1 and GLUT2 (Figure IV A). As the liver extracts approximately 1/3 of oral glucose loads, a decrease of glucose transporters in this tissue could have major repercussions on blood glucose regulation (51). Rizza *et al.* have already suggested that impaired glucose uptake in liver and peripheral tissues could contribute to hyperglycemia in people with T2D (52). Few studies have suggested impaired hepatic glucose disposal and production as a cause of insulin resistance in CRF. According to Schmitz *et al.*, uraemia seems to clearly impair glucose-induced glucose uptake by the liver (53). Parathyroid hormone (PTH), a common uremic toxin present in renal impairment, has been regarded as a possible cause as it enhances gluconeogenesis and glycogenolysis (54, 55). The impairment in blood glucose disposal by the liver in CRF provides evidence of hepatic insulin resistance.

Kidneys play an important role in glucose homeostasis as they ensure its reabsorption through glucose transporters. The modulation of glucose transporters in renal impairment has rarely been mentioned in the literature. Our data suggest upregulation of GLUT2 and SGLT2 levels in the kidney (Figure IV A). Since those transporters are responsible for ~90% of glucose reabsorption, this implies that the kidneys try to reabsorb more glucose from glomerular filtrate. In a rodent model of T2D with long-term hyperglycemia, GLUT2 and SGLT2 levels in the kidney are increased. Thus, it seems plausible that dysregulation of GLUT2 and SGLT2 could contribute to the hyperglycemia in CRF (56).

We have not observed any case of T2D among CD rats with kidney disease. Since CRF commonly arises alongside other metabolic imbalances such as metabolic syndrome, kidney disease could worsen glucose homeostasis in these patients. The Zucker Lepi^{fa/fa} is a rat model

affected by insulin resistance and metabolic syndrome. Inducing renal failure in Zucker rats exacerbated the hyperglycemia state (Figure I B) and insulin resistance (Figure II B and D) as compared to CD rats. The modulation of glucose transporters were similar (Figure III C and Figure IV C) to those observed in CD rats, but the reduction in glucose uptake by the muscle was more severe (Figure V D). Renal failure and metabolic syndrome in Zucker rats acts synergistically on glucose homeostasis and reduced insulin sensitivity. Moreover, glycosuria appeared in severely affected CRF Zucker rats with a fasting glycemia near 10mmol/L. Glycemia rises to a critical point at which the kidneys can no longer entirely reabsorb the filtrated glucose. Thus, those rats exhibit a chronic hyperglycemic state, which can be associated with T2D as insulinemia does not rise to normalize blood glucose (57).

In conclusion, altered glucose transporter expression was associated with an impairment of glucose metabolism in CRF as confirmed by GTT experiments. Indeed, a significant reduction of GLUT4 in skeletal muscle was likely important for the measured insulin resistance. This modulation may also explain the reduced glucose uptake by muscles reported in CRF. Moreover, the increased protein expression of the majority of kidney glucose transporters in CRF allows a greater reabsorption of glucose in which hyperglycemia further contributes to the exacerbation of insulin resistance. Reduced levels of hepatic GLUT1 and GLUT2 proteins may reflect dysregulated glucose metabolism by the liver in CRF and may suggest the presence of hepatic glucose intolerance that would subsequently contribute to the impaired glucose metabolism in CRF. Thus, CRF leads to insulin resistance through the modulation of the expression of various key transporters involved in glucose homeostasis. However, CRF by itself does not lead to T2D. Rather, CRF seems to worsen the insulin resistance in Zucker rats in which insulin resistance is already present before the nephrectomies. Thus, in presence of other pathologies like the metabolic syndrome where insulin resistance is already present, CRF could precipitate the onset of T2D.

TABLES

Table I | TaqMan gene expression assays used for Real-time PCR.

	Gene	NCBI Location Chromosome	TaqMan Gene Expression Assay
Glut1	<i>Slc2a1</i>	Chr.5: 138154677 - 138182897	Rn01417099_m1
Glut2	<i>Slc2a2</i>	Chr.2: 114413431 - 114445418	Rn00563565_m1
Glut4	<i>Slc2a4</i>	Chr.10: 56552983 - 56558561	Rn01752377_m1
Sigt1	<i>Slc5a1</i>	Chr.14: 82910448 - 82975303	Rn01640634_m1
Sigt2	<i>Slc5a2</i>	Chr.1: 199682688 - 199688809	Rn00574917_m1
Gapdh	<i>Gapdh</i>	Chr.4: 157676396 - 157680271	Rn01775763_g1
ActinB	<i>actin, beta</i>	Chr.12: 13715843 - 13718813	Rn00667869_m1
Villin-1	<i>Villin-1</i>	Chr.9: 81689802 - 81717623	Rn01254356_g1

Table II | Biochemical Parameters and Body Weight of Control and CRF CD Rats

	CRF (n=25)	CTL (n=17)	p value
Body weight (g)	300.7 ± 28.6	321.1 ± 10.6	< 0.01
Creatininemia (µmol/L)	152.6 ± 66.2	40.1 ± 3.8	< 0.0001
Uremia (mmol/L)	23.0 ± 11.4	3.2 ± 0.8	< 0.0001
Creatinine clearance (µl/100g b.wt./min)	111.8 ± 50.7	527.8 ± 96.9	< 0.0001
Glycemia (mmol/L)	6.5 ± 1.2	6.0 ± 1.0	N.S.
Insulinemia (ng/mL)	0.91 ± 0.54	1.05 ± 0.51	N.S.

Table III | Biochemical Parameters and Body Weight of Control and CRF Zucker Lepr^{fa/fa} Rats

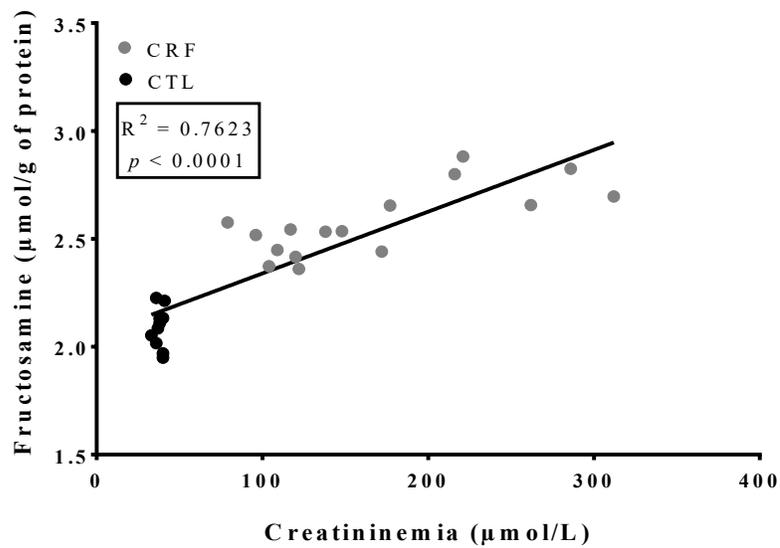
	CRF (n=19)	CTL (n=19)	p value
Body weight (g)	340.8 ± 13.4	345.6 ± 13.3	N.S.
Creatininemia (µmol/L)	136.2 ± 23.8	51.8 ± 1.7	< 0.0001
Uremia (mmol/L)	29.6 ± 5.4	5.5 ± 0.3	< 0.0001
Creatinine clearance (µl/100g b.wt./min)	83.2 ± 9.2	146.3 ± 7.1	< 0.01
Glycemia (mmol/L)	9.1 ± 0.6	6.0 ± 0.2	< 0.0001
Insulinemia (ng/mL)	6.65 ± 0.85	5.76 ± 0.92	N.S.

FIGURES

Figure I | Correlation between serum fructosamine and creatininemia in both control and CRF rats

Plot of fructosamine concentration expressed as a ratio of fructosamine reported on total protein content in serum, versus creatininemia in the serum of **A.** 26 CD rats and **B.** 38 Zucker Lepr^{fa/fa} rats. The line represents the linear regression between serum fructosamine and creatininemia. Control rats are showed as black circles and CRF rats are showed as grey circles.

A.



B.

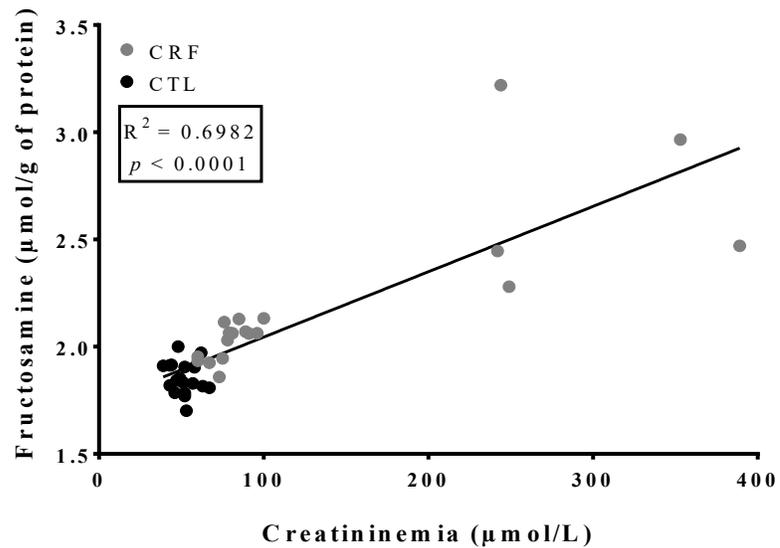
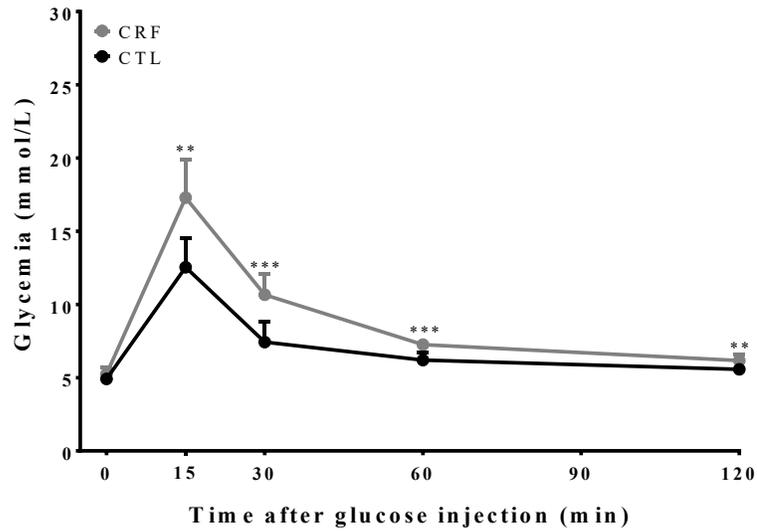


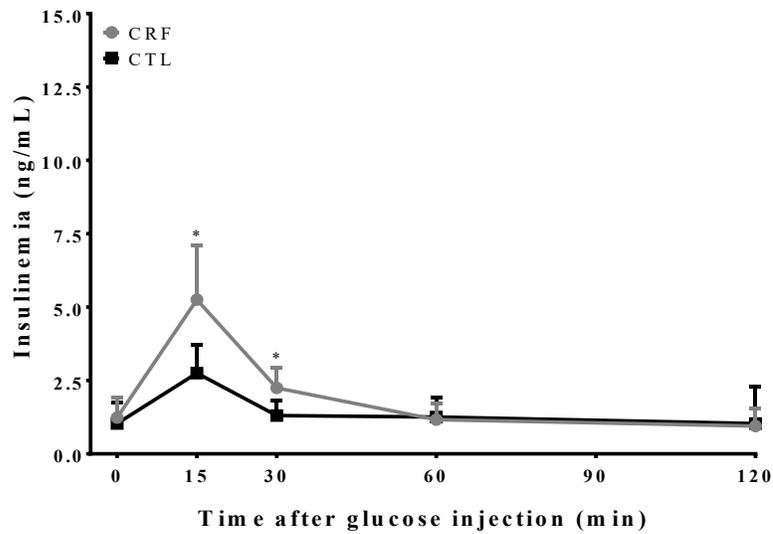
Figure II | Glucose and insulin responses to an intraperitoneal glucose tolerance test

A. Glucose and **B.** Insulin responses to an intraperitoneal glucose tolerance test (2g/kg) performed on CD rats at 4 weeks of uremia following a 16 hour fast. **C.** Glucose and **D.** Insulin responses to an intraperitoneal glucose tolerance test (1.5g/kg) performed on Zucker Lepr^{fa/fa} rats at 3 weeks of uremia following a 16 hour fast. Values are mean ± S.D. n=10 for each group. *, p < 0.05; **, p < 0.01; ***, p < 0.001; ****, p < 0.0001 as compared to CTL rats.

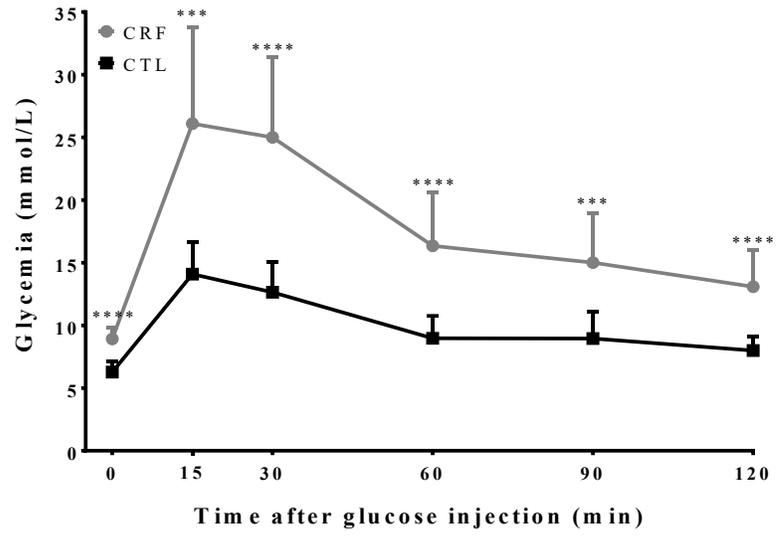
A.



B.



C.



D.

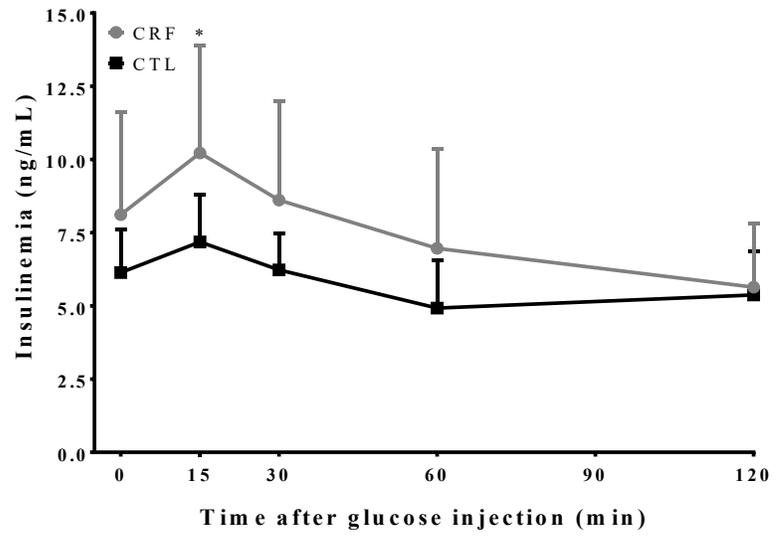
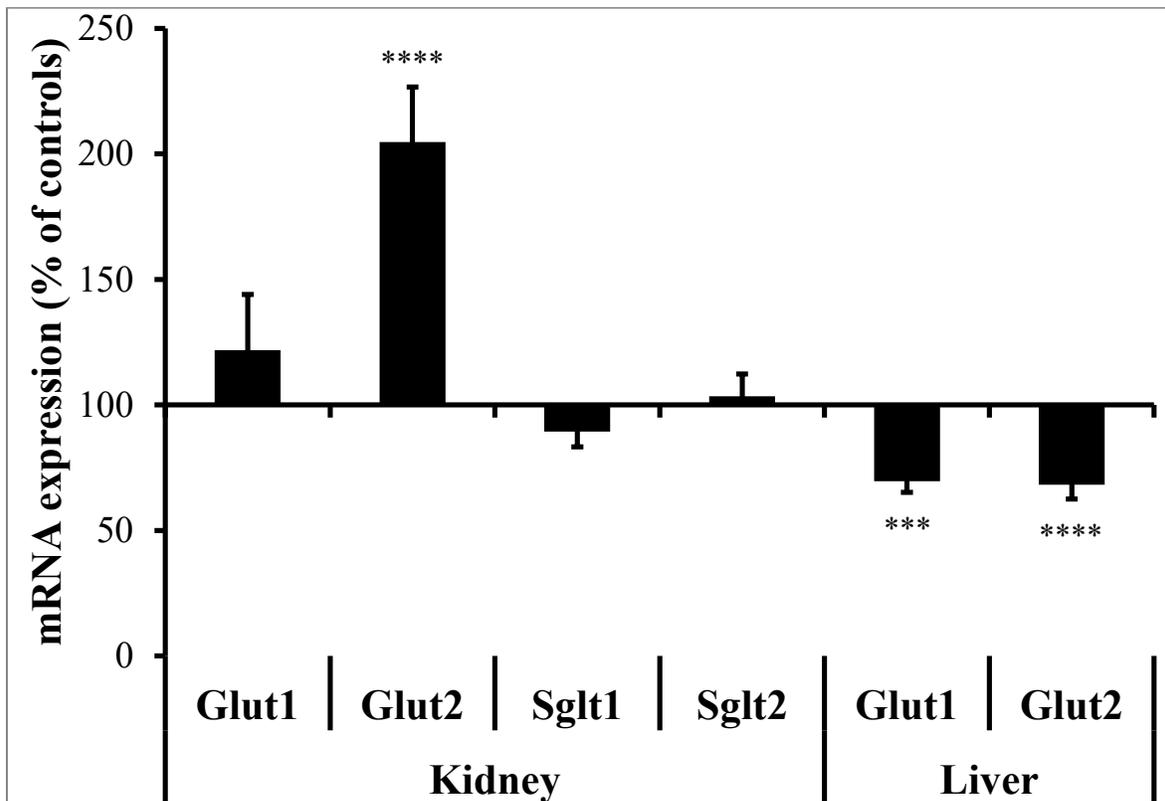


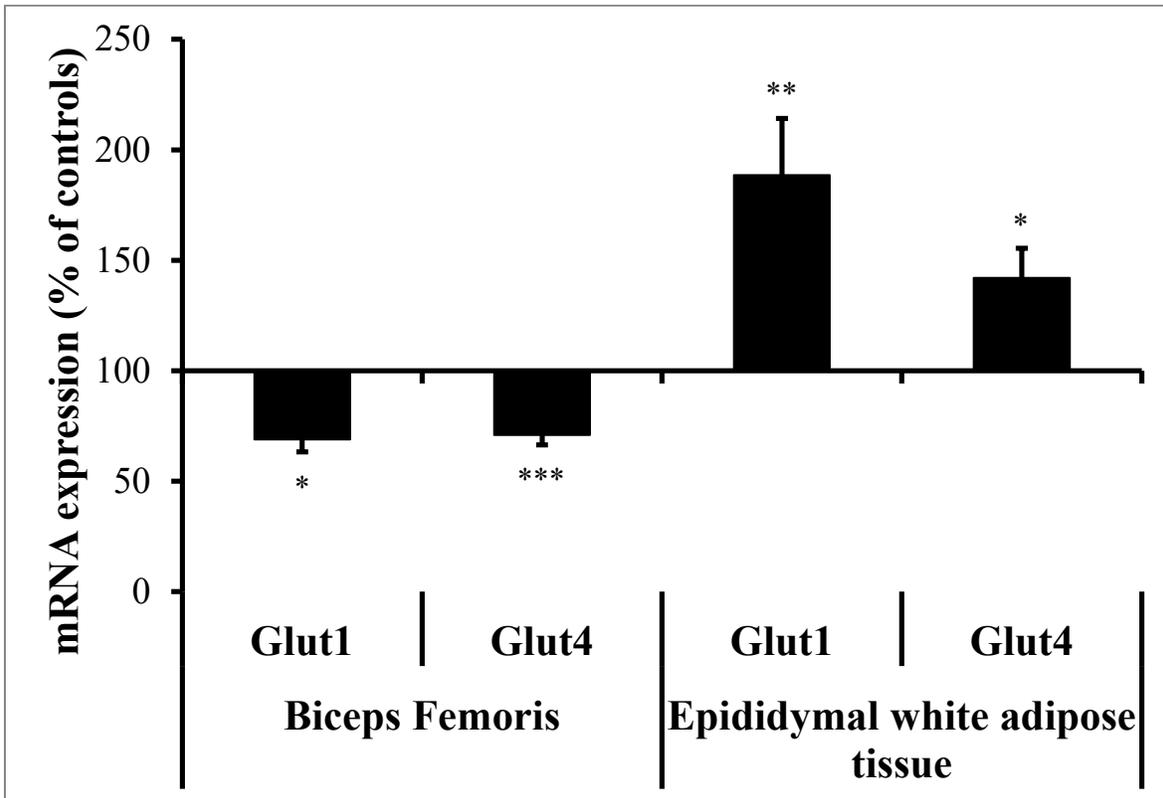
Figure III | mRNA expression of glucose transporters in select organs of CRF rats

mRNA encoding glucose transporters in CTL and CRF rats in the indicated tissues were measured by quantitative real-time PCR. mRNA levels are expressed in relative quantities using the $\Delta\Delta$ CT method (30) with their respective housekeeping gene (Villin-1 for kidneys, β -actin for liver and GAPDH for muscles and adipose tissues). Data was normalized to the mean relative quantity of each gene in CTL rats. The graph shows the mean expression in CRF rats expressed as a percentage of controls \pm S.D. of at least 10 rats in each group. *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$; ****, $p < 0.0001$ as compared to CTL rats. **A.** mRNA expression of glucose transporters in the kidney and livers of CD rats. **B.** mRNA expression of GLUT1 and GLUT4 in skeletal muscle and white adipose tissue of CD rats. **C.** mRNA expression of GLUT1 and GLUT4 in skeletal muscle and white adipose tissue of Zucker $Lepr^{fa/fa}$ rats.

A.



B.



C.

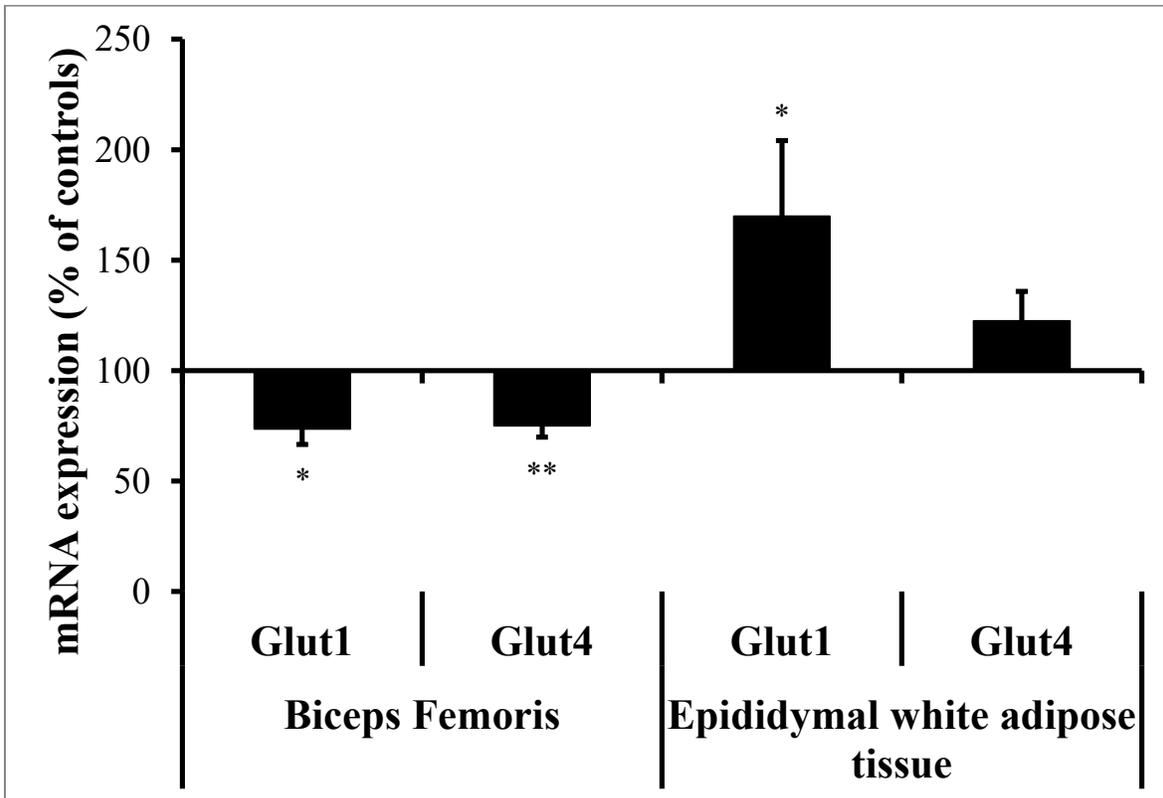
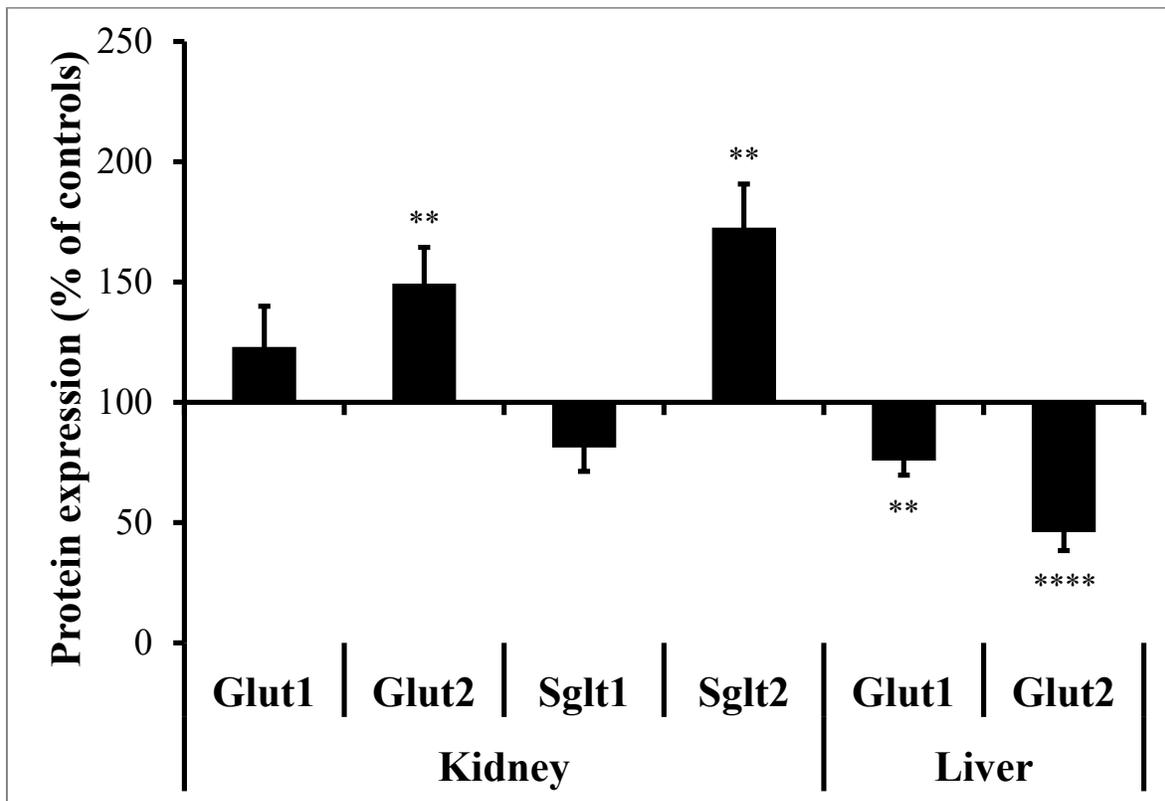


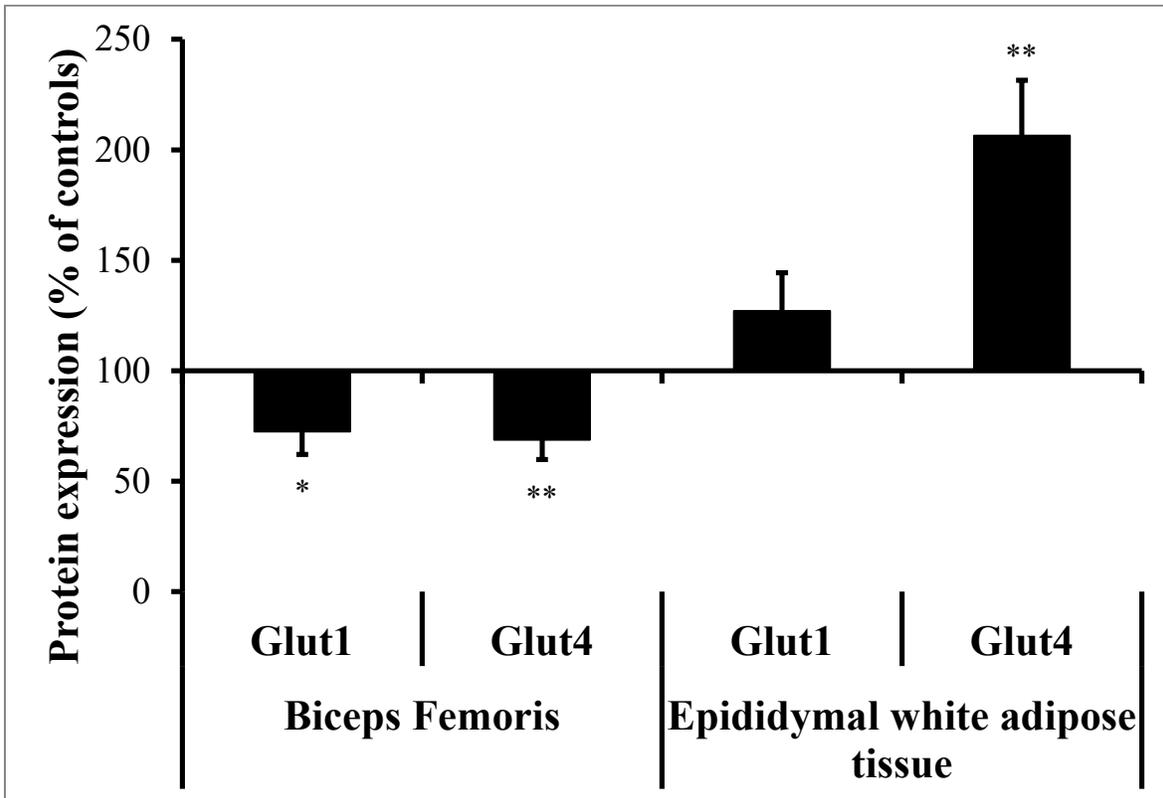
Figure IV | Protein levels glucose transporters in select organs of CRF rats

Protein levels are expressed in densitometry units. The densitometry units measured for glucose transporters were normalized by dividing them by the value obtained for their respective loading control (β -actin: Liver; GAPDH: muscles and adipose tissues; villin-1: kidneys). The normalized densitometry units of control rats were arbitrarily defined as 100%. The graph shows the mean expression in CRF rats expressed as percentage of CTL \pm S.D of at least 5 rats in each group. *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$; ****, $p < 0.0001$ as compared to CTL rats. Protein levels of glucose transporters in the **A.** Kidneys and liver of CD rats, **B.** Skeletal muscle and white adipose tissue of CD rats. **C.** Skeletal muscle and white adipose tissue in Zucker $Lepr^{fa/fa}$ rats. **D.** Representative Western blots for each glucose transporter. Each blot contains examples of three CRF (left) and three CTL (right) CD rats.

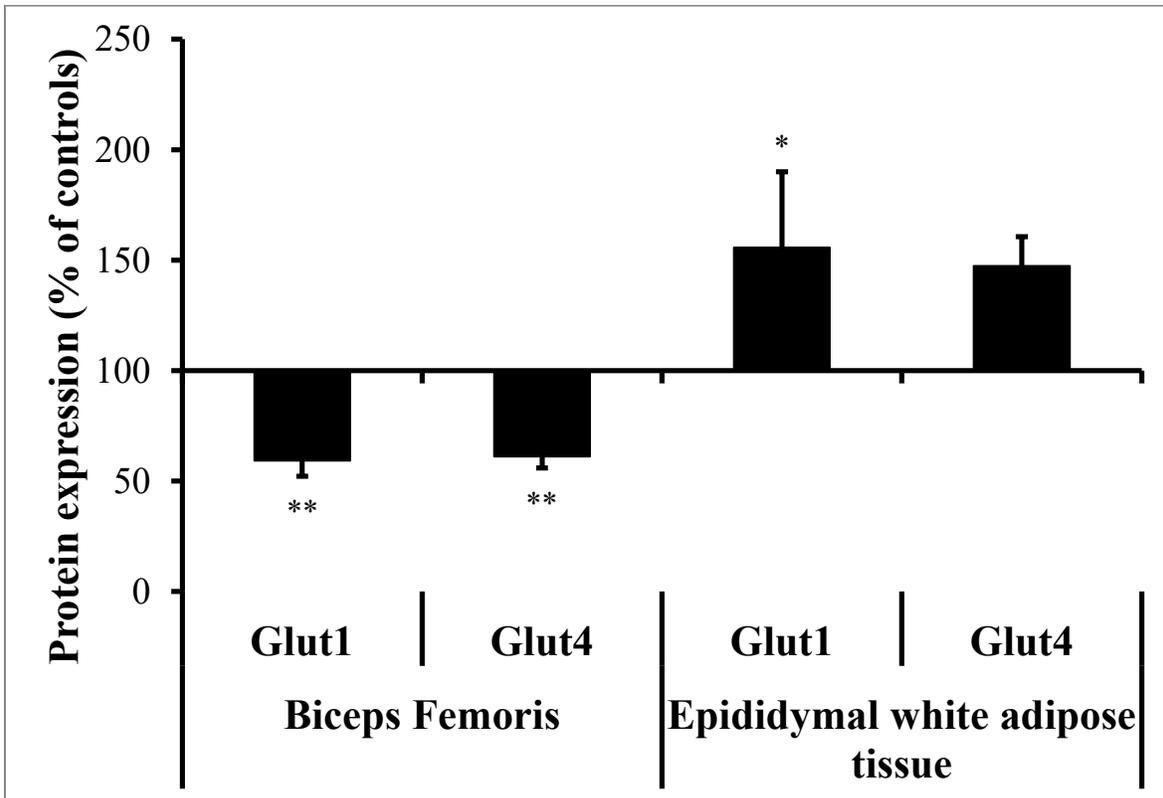
A.



B.



C.



D.

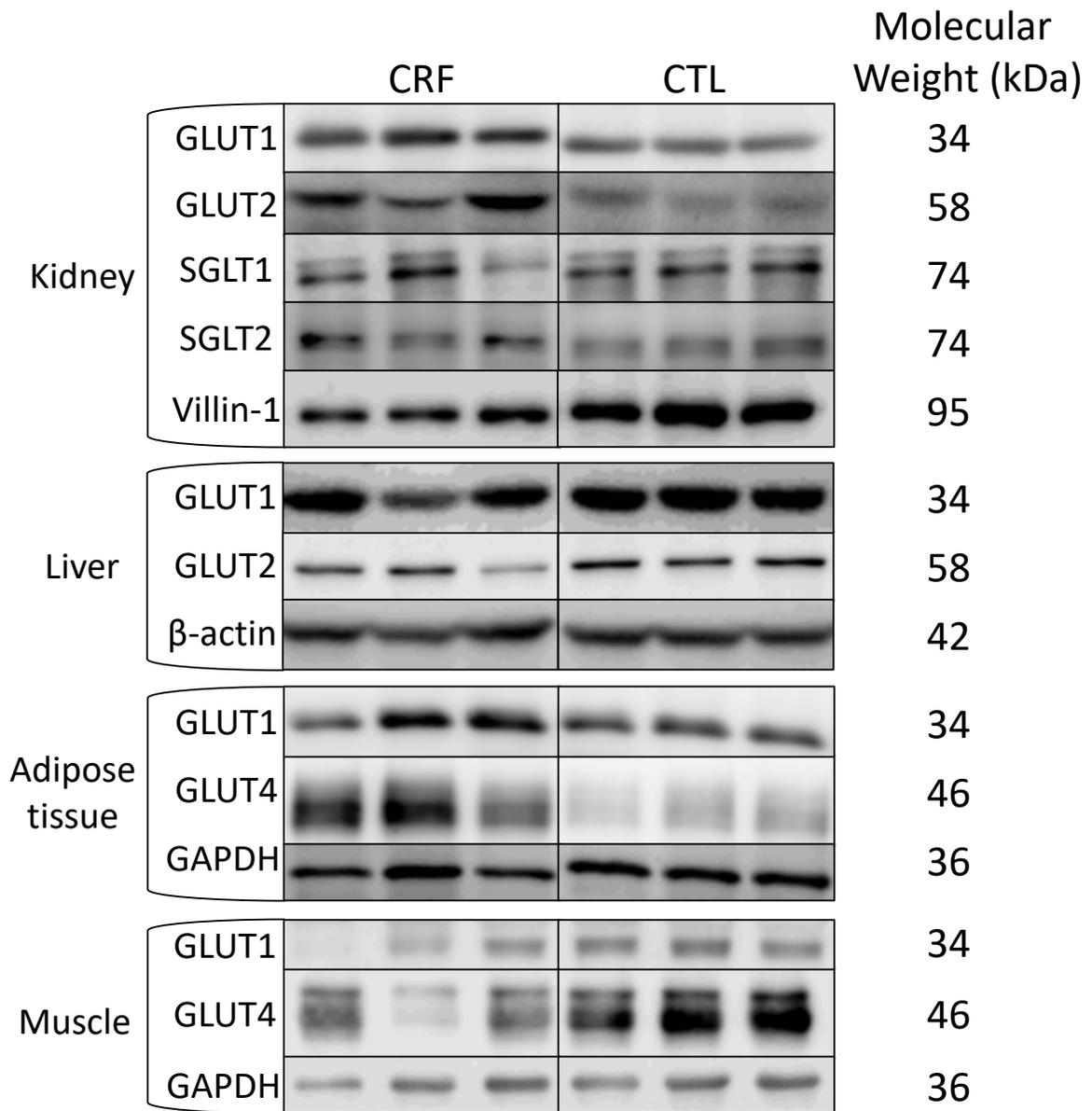
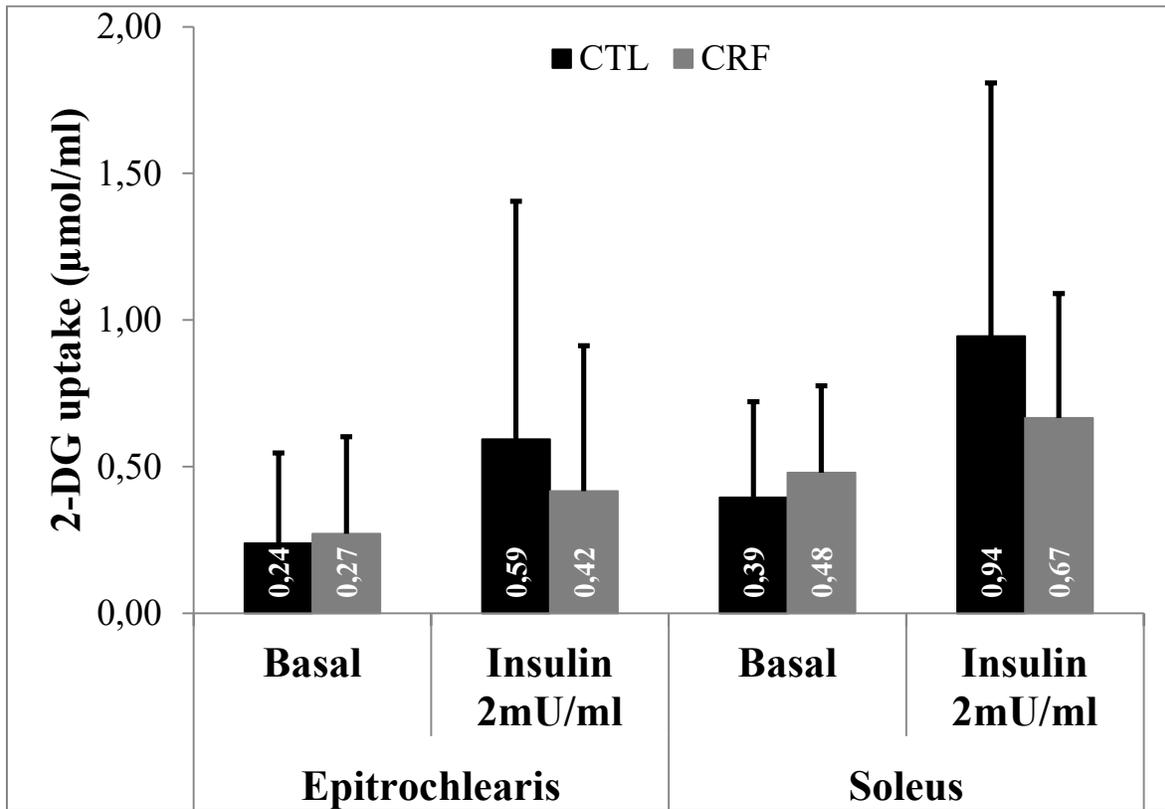


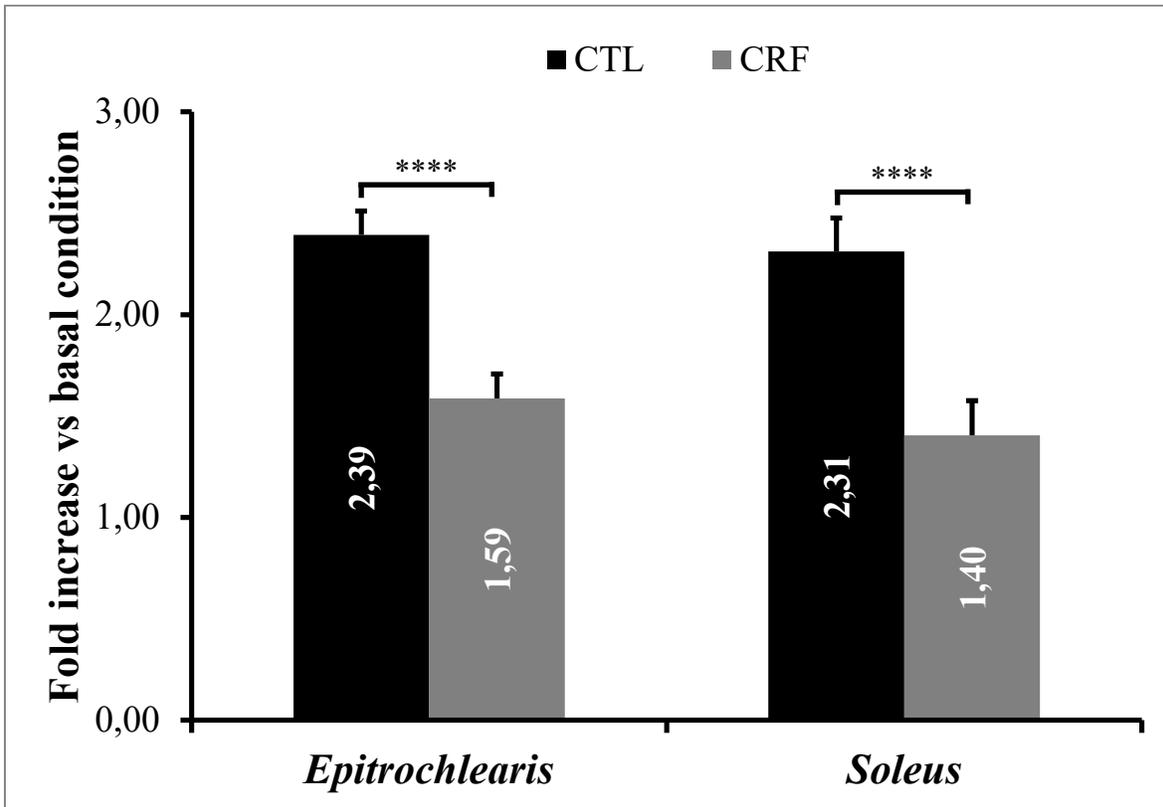
Figure V | Ex vivo accumulation of radio-labeled 2-deoxyglucose in muscles

Uptake of radio labeled 2-deoxyglucose in CTL and CRF rat muscles. For **B.** and **D.**, Basal condition of each muscle was arbitrarily defined as 1,0. Data are expressed as 2-DG uptake or fold increase (mean) \pm S.D for at least 5 rats per group. ***, $p < 0.001$; ****, $p < 0.0001$ as compared to CTL rats. **A.** 2-DG uptake in CD rats, **B.** Fold increase of basal vs. insulin condition in CD rats, **C.** 2-DG uptake in Zucker Lepr^{fa/fa} rats and **D.** Fold increase of basal vs. insulin condition in Zucker Lepr^{fa/fa} rats.

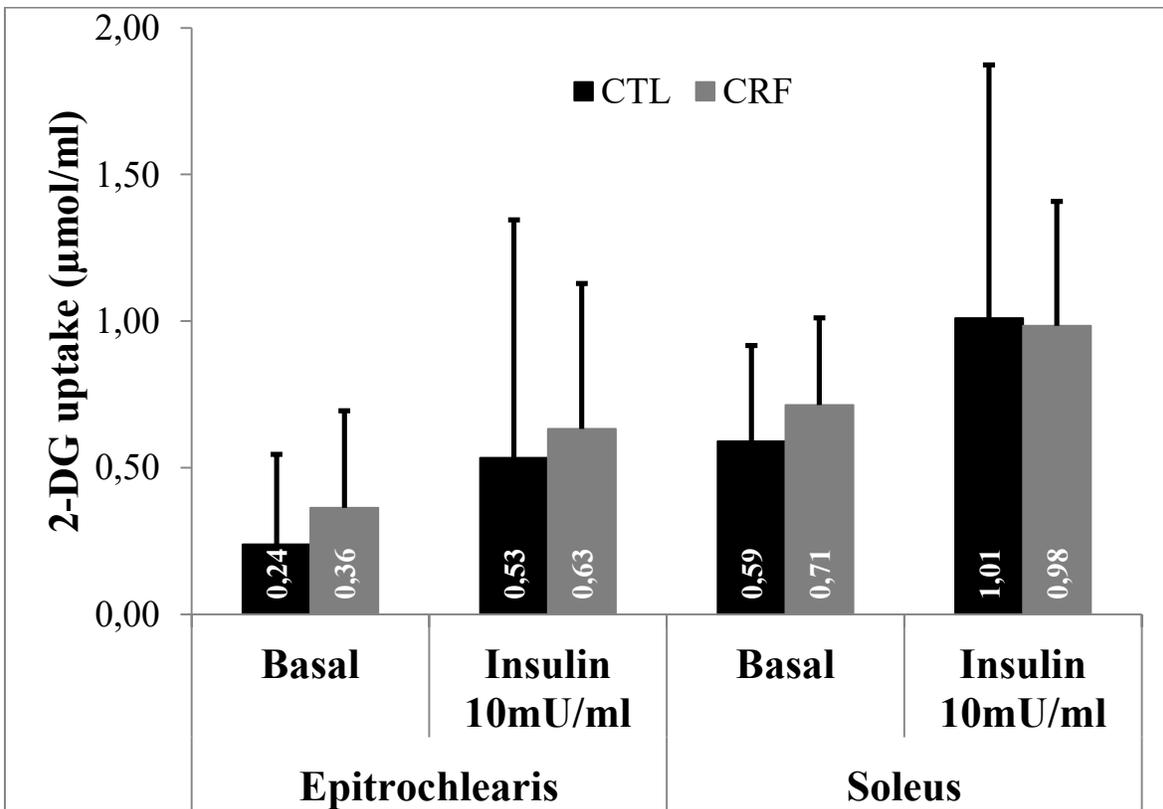
A.



B.



C.



D.

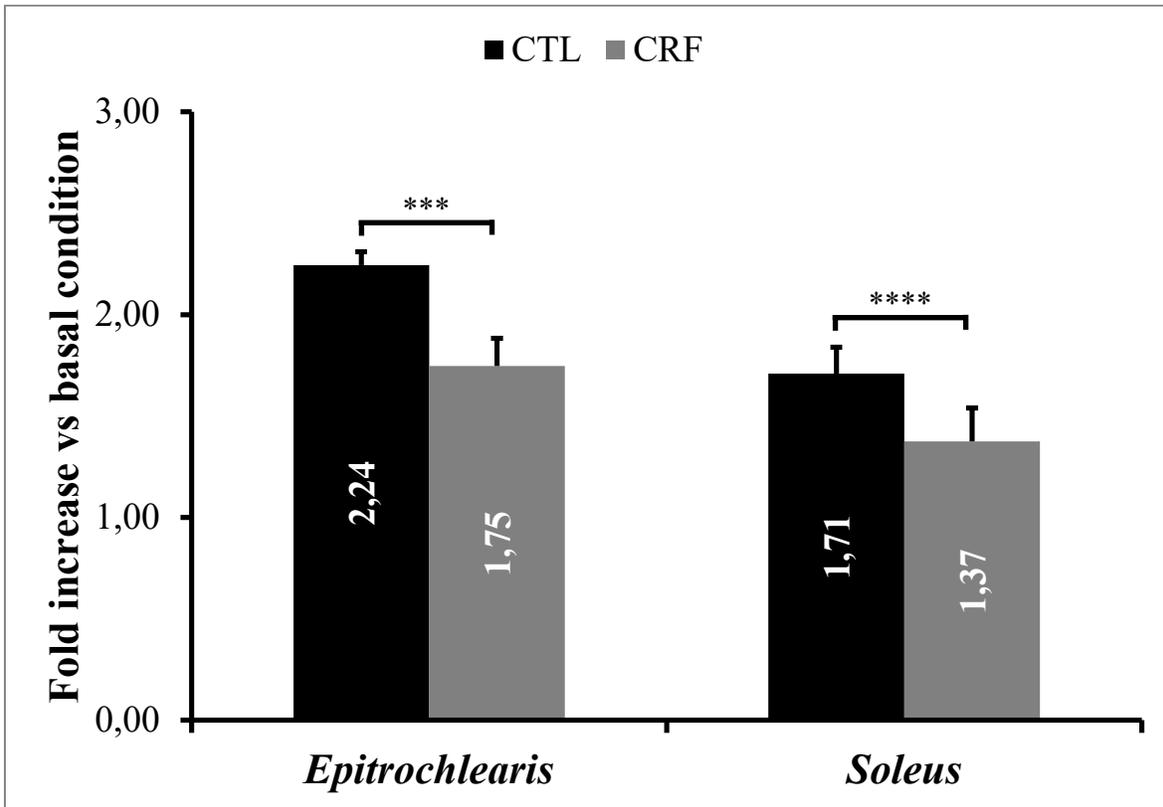
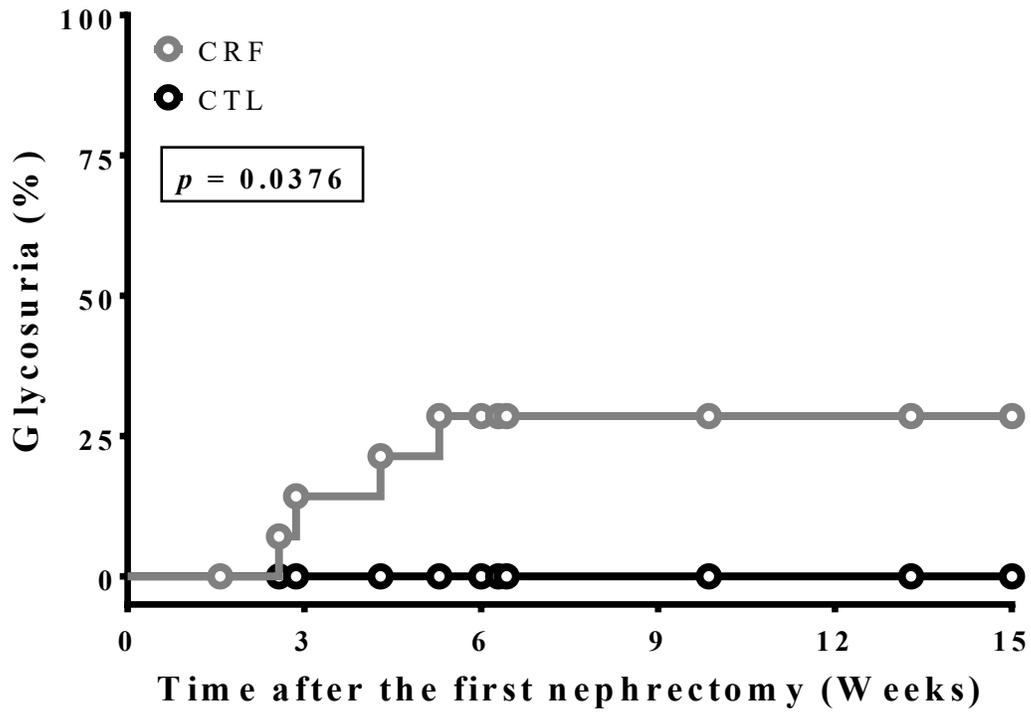


Figure VI | Glycosuria apparition in Zucker Lepr^{fa/fa} rats after the first nephrectomy

The graph shows the proportion of rats with glycosuria as confirmed by two positive DiastixTM (Bayer) tests on consecutive days for 15 Zucker Lepr^{fa/fa} rats per group.



Bibliography

1. Abboud H, Henrich WL. Clinical practice. Stage IV chronic kidney disease. *N Engl J Med*. 2010;362(1):56-65. Epub 2010/01/08.
2. Slee AD. Exploring metabolic dysfunction in chronic kidney disease. *Nutrition & metabolism*. 2012;9(1):36. Epub 2012/04/28.
3. Cibulka R, Racek J. Metabolic disorders in patients with chronic kidney failure. *Physiol Res*. 2007;56(6):697-705. Epub 2007/02/15.
4. KDOQI. KDOQI Clinical Practice Guidelines and Clinical Practice Recommendations for Diabetes and Chronic Kidney Disease. *Am J Kidney Dis*. 2007;49(2 Suppl 2):S12-154. Epub 2007/02/06.
5. Fox CS, Golden SH, Anderson C, Bray GA, Burke LE, de Boer IH, et al. Update on Prevention of Cardiovascular Disease in Adults With Type 2 Diabetes Mellitus in Light of Recent Evidence: A Scientific Statement From the American Heart Association and the American Diabetes Association. *Circulation*. 2015;132(8):691-718. Epub 2015/08/08.
6. Niewczas MA, Sirich TL, Mathew AV, Skupien J, Mohny RP, Warram JH, et al. Uremic solutes and risk of end-stage renal disease in type 2 diabetes: metabolomic study. *Kidney Int*. 2014;85(5):1214-24. Epub 2014/01/17.
7. Sit D, Kadiroglu AK, Kayabasi H, Yilmaz ME. The prevalence of insulin resistance in nondiabetic nonobese patients with chronic kidney disease. *Adv Ther*. 2006;23(6):988-98. Epub 2007/02/06.
8. Shipman KE, Jawad M, Sullivan KM, Ford C, Gama R. Effect of chronic kidney disease on A1C in individuals being screened for diabetes. *Primary care diabetes*. 2015;9(2):142-6. Epub 2014/06/05.
9. Jia T, Riserus U, Xu H, Lindholm B, Arnlov J, Sjogren P, et al. Kidney function, beta-cell function and glucose tolerance in older men. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015;100(2):587-93. Epub 2014/11/28.
10. Liao MT, Sung CC, Hung KC, Wu CC, Lo L, Lu KC. Insulin resistance in patients with chronic kidney disease. *Journal of biomedicine & biotechnology*. 2012;2012:691369. Epub 2012/08/25.
11. Koppe L, Pelletier CC, Alix PM, Kalbacher E, Fouque D, Soulage CO, et al. Insulin resistance in chronic kidney disease: new lessons from experimental models. *Nephrol Dial Transplant*. 2014;29(9):1666-74. Epub 2013/11/30.
12. Massry SG. Sequence of cellular events in pancreatic islets leading to impaired insulin secretion in chronic kidney disease. *J Ren Nutr*. 2011;21(1):92-9. Epub 2011/01/05.
13. Hung AM, Ikizler TA. Factors determining insulin resistance in chronic hemodialysis patients. *Contributions to nephrology*. 2011;171:127-34.
14. Sandsmark DK, Messe SR, Zhang X, Roy J, Nessel L, Lee Hamm L, et al. Proteinuria, but Not eGFR, Predicts Stroke Risk in Chronic Kidney Disease: Chronic Renal Insufficiency Cohort Study. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 2015;46(8):2075-80. Epub 2015/07/02.
15. Sud M, Tangri N, Pintilie M, Levey AS, Naimark D. Risk of end-stage renal disease and death after cardiovascular events in chronic kidney disease. *Circulation*. 2014;130(6):458-65. Epub 2014/06/06.
16. Friedman JE, Dohm GL, Elton CW, Rovira A, Chen JJ, Leggett-Frazier N, et al. Muscle insulin resistance in uremic humans: glucose transport, glucose transporters, and insulin receptors. *The American journal of physiology*. 1991;261(1 Pt 1):E87-94.
17. Naud J, Michaud J, Beauchemin S, Hebert MJ, Roger M, Lefrancois S, et al. Effects of chronic renal failure on kidney drug transporters and cytochrome P450 in rats. *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals*. 2011;39(8):1363-9.
18. Naud J, Michaud J, Leblond FA, Lefrancois S, Bonnardeaux A, Pichette V. Effects of chronic renal failure on liver drug transporters. *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals*. 2008;36(1):124-8.

19. Sun H, Frassetto L, Benet LZ. Effects of renal failure on drug transport and metabolism. *Pharmacology & therapeutics*. 2006;109(1-2):1-11.
20. Aksentijevic D, Bhandari S, Seymour AM. Insulin resistance and altered glucose transporter 4 expression in experimental uremia. *Kidney Int*. 2009;75(7):711-8. Epub 2009/01/30.
21. Jacobs DB, Hayes GR, Truglia JA, Lockwood DH. Alterations of glucose transporter systems in insulin-resistant uremic rats. *The American journal of physiology*. 1989;257(2 Pt 1):E193-7.
22. Szolkiewicz M, Sucajtyś E, Wolyniec W, Rutkowski P, Stelmanska E, Korczynska J, et al. Mechanisms of enhanced carbohydrate and lipid metabolism in adipose tissue in uremia. *J Ren Nutr*. 2005;15(1):166-72.
23. Zhang J, Liu F. Tissue-specific insulin signaling in the regulation of metabolism and aging. *IUBMB Life*. 2014;66(7):485-95. Epub 2014/08/05.
24. Samuel VT, Shulman GI. The pathogenesis of insulin resistance: integrating signaling pathways and substrate flux. *The Journal of clinical investigation*. 2016;126(1):12-22. Epub 2016/01/05.
25. Leblond F, Guevin C, Demers C, Pellerin I, Gascon-Barre M, Pichette V. Downregulation of hepatic cytochrome P450 in chronic renal failure. *J Am Soc Nephrol*. 2001;12(2):326-32. Epub 2001/02/07.
26. Sharma N, Arias EB, Bhat AD, Sequea DA, Ho S, Croff KK, et al. Mechanisms for increased insulin-stimulated Akt phosphorylation and glucose uptake in fast- and slow-twitch skeletal muscles of calorie-restricted rats. *American journal of physiology Endocrinology and metabolism*. 2011;300(6):E966-78. Epub 2011/03/10.
27. Wang H, Sharma N, Arias EB, Cartee GD. Insulin Signaling and Glucose Uptake in the Soleus Muscle of 30-Month-Old Rats After Calorie Restriction With or Without Acute Exercise. *The journals of gerontology Series A, Biological sciences and medical sciences*. 2015. Epub 2015/09/06.
28. Byrdwell WC, Sato H, Schwarz AK, Borchman D, Yappert MC, Tang D. 31P NMR quantification and monophasic solvent purification of human and bovine lens phospholipids. *Lipids*. 2002;37(11):1087-92. Epub 2003/02/01.
29. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*. 1951;193(1):265-75. Epub 1951/11/01.
30. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods*. 2001;25(4):402-8.
31. Marsenic O. Glucose control by the kidney: an emerging target in diabetes. *Am J Kidney Dis*. 2009;53(5):875-83. Epub 2009/03/28.
32. Saltiel AR. The molecular and physiological basis of insulin resistance: emerging implications for metabolic and cardiovascular diseases. *The Journal of clinical investigation*. 2000;106(2):163-4.
33. Matthaie S, Stumvoll M, Kellerer M, Haring HU. Pathophysiology and pharmacological treatment of insulin resistance. *Endocrine reviews*. 2000;21(6):585-618.
34. Pham H, Utzschneider KM, de Boer IH. Measurement of insulin resistance in chronic kidney disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2011;20(6):640-6. Epub 2011/09/03.
35. Mehta RL. Glycemic control and critical illness: is the kidney involved? *J Am Soc Nephrol*. 2007;18(10):2623-7. Epub 2007/07/28.
36. Shinohara K, Shoji T, Emoto M, Tahara H, Koyama H, Ishimura E, et al. Insulin resistance as an independent predictor of cardiovascular mortality in patients with end-stage renal disease. *J Am Soc Nephrol*. 2002;13(7):1894-900. Epub 2002/06/29.
37. DeFronzo RA, Alvestrand A, Smith D, Hendler R, Hendler E, Wahren J. Insulin resistance in uremia. *The Journal of clinical investigation*. 1981;67(2):563-8. Epub 1981/02/01.
38. Tataranni PA. Pathophysiology of obesity-induced insulin resistance and type 2 diabetes mellitus. *European review for medical and pharmacological sciences*. 2002;6(2-3):27-32.

39. Nawano M, Oku A, Ueta K, Umebayashi I, Ishirahara T, Arakawa K, et al. Hyperglycemia contributes insulin resistance in hepatic and adipose tissue but not skeletal muscle of ZDF rats. *American journal of physiology Endocrinology and metabolism*. 2000;278(3):E535-43.
40. Kraut JA, Kurtz I. Metabolic acidosis of CKD: diagnosis, clinical characteristics, and treatment. *Am J Kidney Dis*. 2005;45(6):978-93. Epub 2005/06/16.
41. Dubois M, Vacher P, Roger B, Huyghe D, Vandewalle B, Kerr-Conte J, et al. Glucotoxicity inhibits late steps of insulin exocytosis. *Endocrinology*. 2007;148(4):1605-14.
42. Rossetti L, Shulman GI, Zawalich W, DeFronzo RA. Effect of chronic hyperglycemia on in vivo insulin secretion in partially pancreatectomized rats. *The Journal of clinical investigation*. 1987;80(4):1037-44.
43. Leahy JL, Cooper HE, Deal DA, Weir GC. Chronic hyperglycemia is associated with impaired glucose influence on insulin secretion. A study in normal rats using chronic in vivo glucose infusions. *The Journal of clinical investigation*. 1986;77(3):908-15.
44. Rutter MK, Meigs JB, Sullivan LM, D'Agostino RB, Sr., Wilson PW. Insulin resistance, the metabolic syndrome, and incident cardiovascular events in the Framingham Offspring Study. *Diabetes*. 2005;54(11):3252-7. Epub 2005/10/27.
45. Rossetti L. Glucose toxicity: the implications of hyperglycemia in the pathophysiology of diabetes mellitus. *Clinical and investigative medicine Medecine clinique et experimentale*. 1995;18(4):255-60.
46. Hidaka H, Nagulesparan M, Klimes I, Clark R, Sasaki H, Aronoff SL, et al. Improvement of insulin secretion but not insulin resistance after short term control of plasma glucose in obese type II diabetics. *J Clin Endocrinol Metab*. 1982;54(2):217-22. Epub 1982/02/01.
47. Martin S, Slot JW, James DE. GLUT4 trafficking in insulin-sensitive cells. A morphological review. *Cell biochemistry and biophysics*. 1999;30(1):89-113. Epub 1999/04/01.
48. St-Pierre P, Genders AJ, Keske MA, Richards SM, Rattigan S. Loss of insulin-mediated microvascular perfusion in skeletal muscle is associated with the development of insulin resistance. *Diabetes Obes Metab*. 2010;12(9):798-805. Epub 2010/07/24.
49. Youd JM, Rattigan S, Clark MG. Acute impairment of insulin-mediated capillary recruitment and glucose uptake in rat skeletal muscle in vivo by TNF-alpha. *Diabetes*. 2000;49(11):1904-9. Epub 2000/11/15.
50. Saltiel AR, Kahn CR. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature*. 2001;414(6865):799-806. Epub 2001/12/14.
51. Moore MC, Coate KC, Winnick JJ, An Z, Cherrington AD. Regulation of hepatic glucose uptake and storage in vivo. *Advances in nutrition (Bethesda, Md)*. 2012;3(3):286-94. Epub 2012/05/16.
52. Basu A, Basu R, Shah P, Vella A, Johnson CM, Nair KS, et al. Effects of type 2 diabetes on the ability of insulin and glucose to regulate splanchnic and muscle glucose metabolism: evidence for a defect in hepatic glucokinase activity. *Diabetes*. 2000;49(2):272-83. Epub 2000/06/27.
53. Schmitz O. Glucose metabolism in non-diabetic and insulin-dependent diabetic subjects with end-stage renal failure. *Danish medical bulletin*. 1991;38(1):36-52. Epub 1991/02/01.
54. Dokken BB, Saengsirisuwan V, Kim JS, Teachey MK, Henriksen EJ. Oxidative stress-induced insulin resistance in rat skeletal muscle: role of glycogen synthase kinase-3. *American journal of physiology Endocrinology and metabolism*. 2008;294(3):E615-21.
55. Evans JL, Goldfine ID, Maddux BA, Grodsky GM. Are oxidative stress-activated signaling pathways mediators of insulin resistance and beta-cell dysfunction? *Diabetes*. 2003;52(1):1-8.
56. Calado J, Santer R, Rueff J. Effect of kidney disease on glucose handling (including genetic defects). *Kidney Int Suppl*. 2011(120):S7-13. Epub 2011/03/05.
57. Abdul-Ghani MA. Type 2 diabetes and the evolving paradigm in glucose regulation. *The American journal of managed care*. 2013;19(3 Suppl):S43-50. Epub 2013/03/06.

5.2. Résultats supplémentaires non inclus dans l'article

Dans cette section, vous trouverez les résultats de plusieurs autres expériences que j'ai faites pendant ma maîtrise, mais qui n'ont pas été incluses dans le manuscrit. Les résultats seront commentés dans la section discussion.

Paramètres biochimiques des rats atteints d'IRC

Tableau 5.1 | Paramètres biochimiques et poids corporel des rats Sprague-Dawley

	IRC (n=16)	CTL (n=10)	Valeur p
Poids corporel (g)	300.7 ± 28.6	321.1 ± 10.6	< 0.01
Créatininémie (µmol/L)	152.6 ± 66.2	40.1 ± 3.8	< 0.0001
Urémie (mmol/L)	23.0 ± 11.4	3.2 ± 0.8	< 0.0001
Clairance de la créatinine (µl/100g b.wt./min)	111.8 ± 50.7	527.8 ± 96.9	< 0.0001
Glycémie (mmol/L)	6.5 ± 1.2	6.0 ± 1.0	N.S.
Insulinémie (ng/mL)	0.91 ± 0.54	1.05 ± 0.51	N.S.
Fructosamine (µmol/g de protéines)	2.61 ± 0.05	2.09 ± 0.03	< 0.0001
Cholestérol (mmol/L)	4.08 ± 0.22	2.24 ± 0.12	< 0.0001
Triglycérides (mmol/L)	0.86 ± 0.07	0.83 ± 0.10	N.S.
HDL (mmol/L)	1.05 ± 0.05	0.78 ± 0.04	< 0.001
LDL (mmol/L)	2.64 ± 0.18	1.09 ± 0.10	< 0.0001

Tableau 5.2 | Paramètres biochimiques et poids corporel des rats Zucker Lepr^{fa/fa}

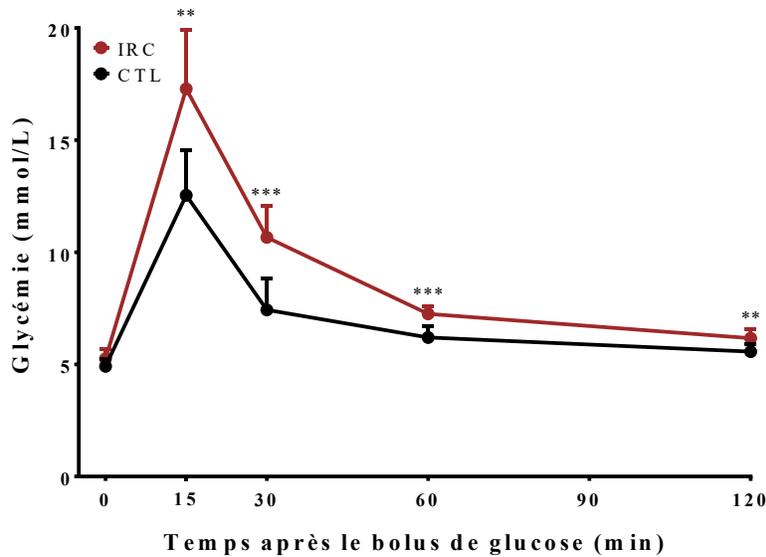
	IRC (n=19)	CTL (n=19)	Valeur p
Poids corporel (g)	340.8 ± 13.4	345.6 ± 13.3	N.S.
Créatininémie (µmol/L)	136.2 ± 23.8	51.8 ± 1.7	< 0.0001
Urémie (mmol/L)	29.6 ± 5.4	5.5 ± 0.3	< 0.0001
Clairance de la créatinine (µl/100g b.wt./min)	83.2 ± 9.2	146.3 ± 7.1	< 0.01
Glycémie (mmol/L)	9.1 ± 0.6	6.0 ± 0.2	< 0.0001
Insulinémie (ng/mL)	6.65 ± 0.85	5.76 ± 0.92	N.S.
Fructosamine (µmol/g de protéines)	2.20 ± 0.08	1.85 ± 0.02	< 0.0001
Cholestérol (mmol/L)	5.61 ± 0.31	5.06 ± 0.27	N.S.
Triglycérides (mmol/L)	2.75 ± 0.14	2.27 ± 0.16	< 0.05
HDL (mmol/L)	1.45 ± 0.07	1.51 ± 0.04	N.S.
LDL (mmol/L)	2.93 ± 0.25	2.52 ± 0.28	N.S.

Les incrétines sont-elles affectées par l'IRC?

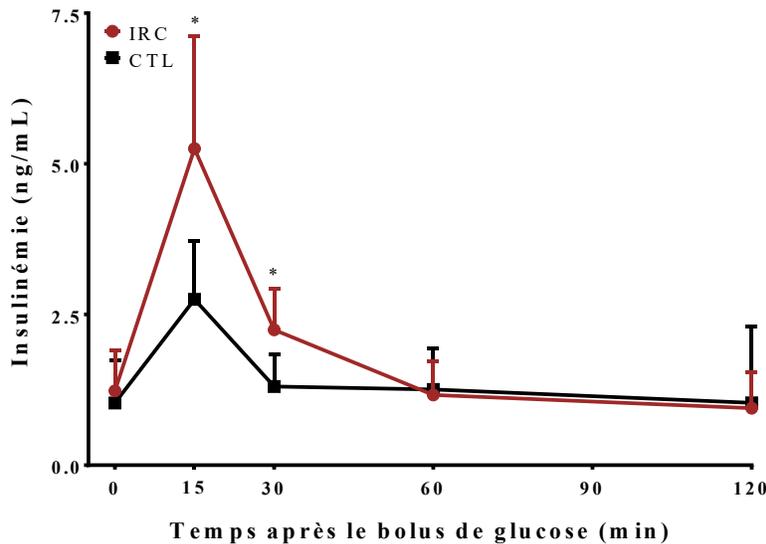
Figure 5.1 | Comparaison de la réponse aux tests de tolérance au glucose chez le rat Sprague-Dawley selon la voie d'administration du dextrose

A. Glycémie et **B.** Insulinémie sur 2 heures des rats lors d'un test de tolérance au glucose intrapéritonéal (IPGTT) à 2g/kg de dextrose suite à un jeûne de 16 heures. **C.** Glycémie et **D.** Insulinémie sur 2 heures des rats lors d'un test de tolérance au glucose oral (OGTT) à 3,2g/kg de dextrose suite à un jeûne de 16 heures. Chaque groupe comporte au moins 5 rats. *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$ comparé aux témoins.

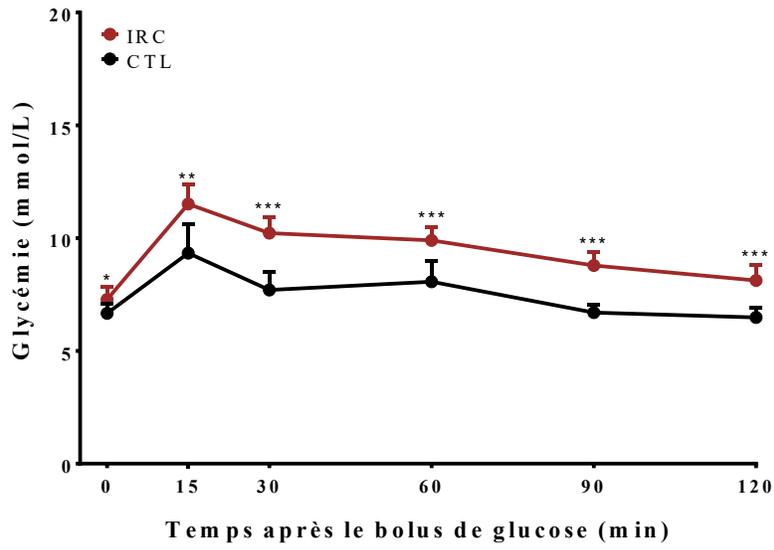
A.



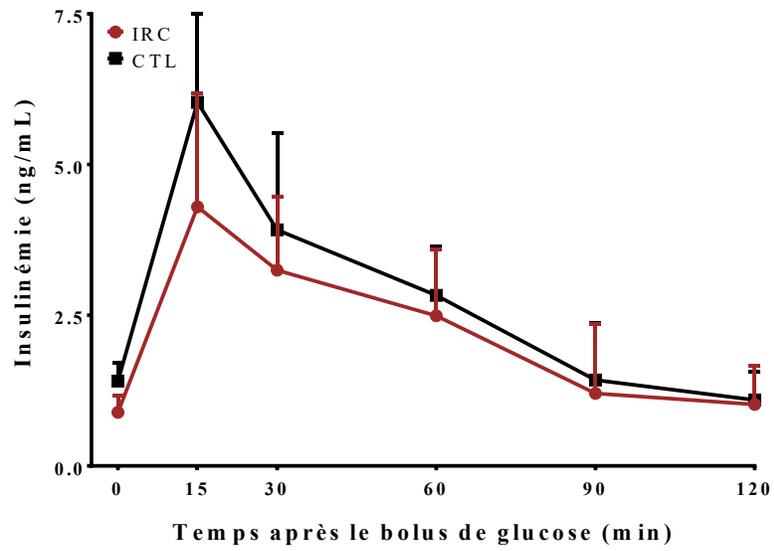
B.



C.



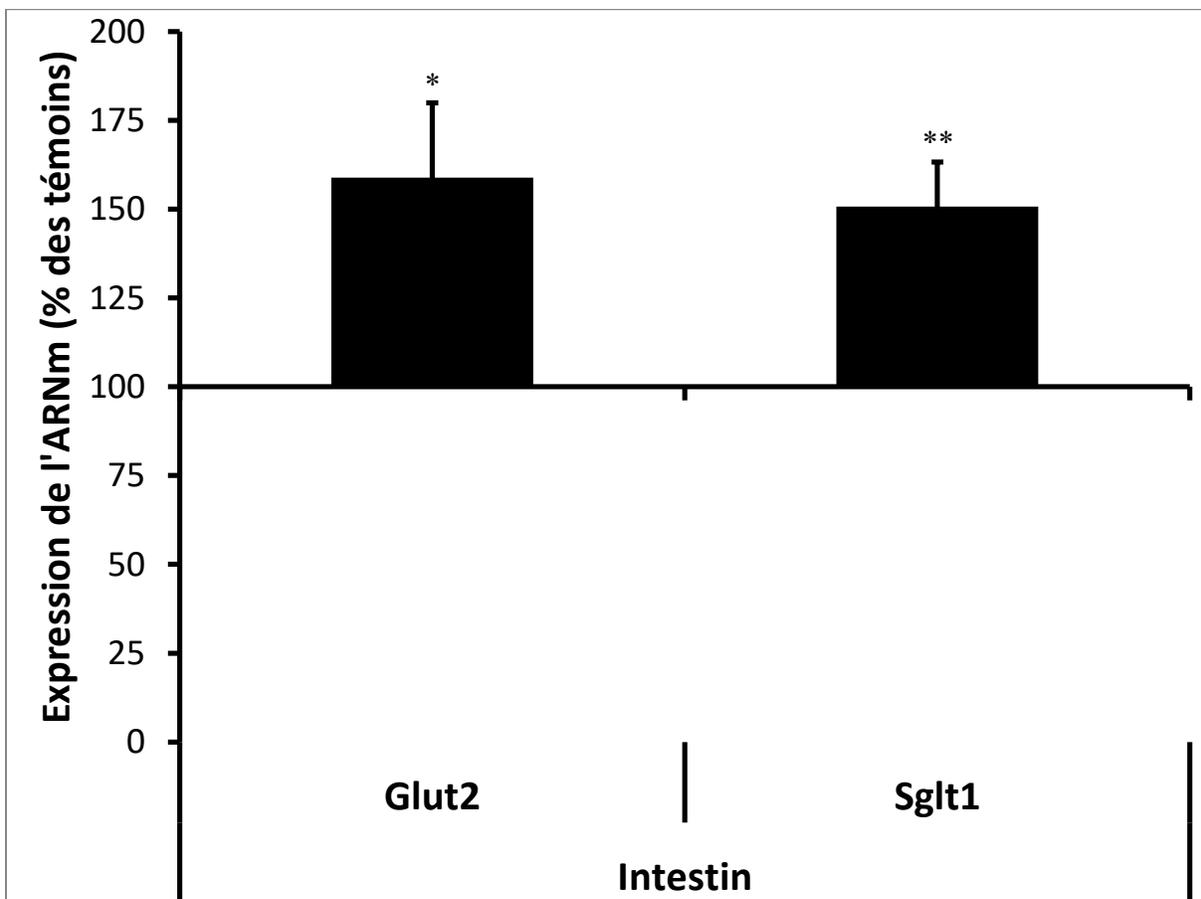
D.



L'absorption intestinale du glucose est-elle affectée par l'IRC?

Figure 5.2 | Expression en ARNm des transporteurs de glucose intestinaux chez le rat CD

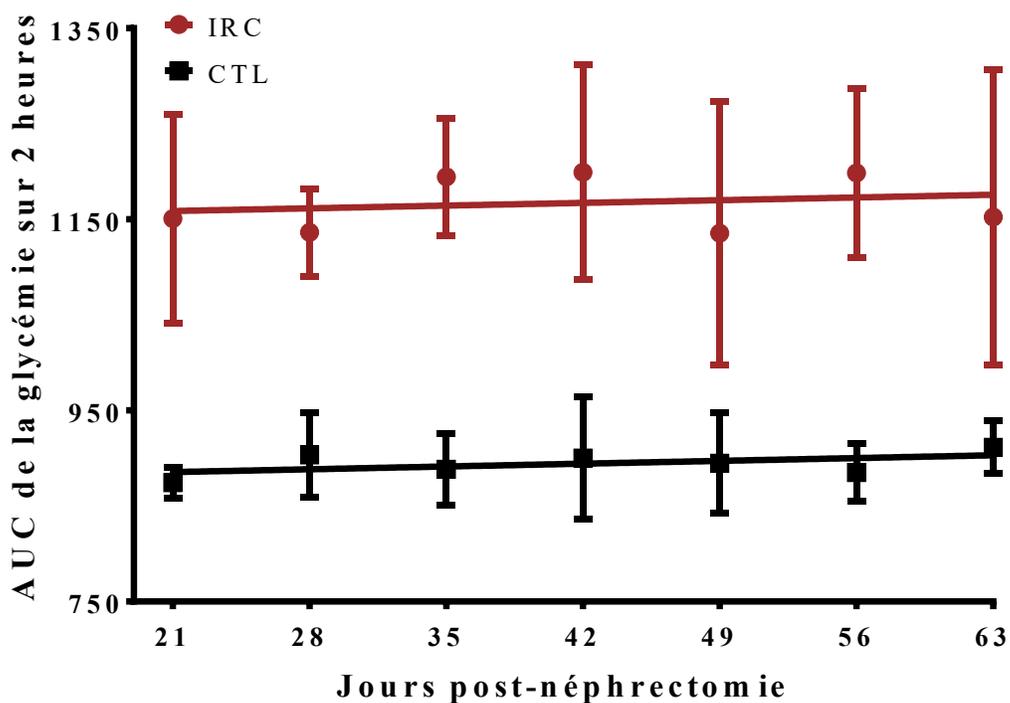
L'ARNm codant pour des gènes de transporteurs de glucose dans l'intestin des rats CD est mesuré par PCR en temps réel. Les niveaux d'ARNm sont exprimés en unités relatives en utilisant la méthode $\Delta\Delta CT$ (169) rapporté sur les niveaux d'expression de la Villin-1. Les niveaux d'expression des témoins ont été définis comme 100%. Le graphique montre l'expression moyenne des gènes des rats IRC exprimés en pourcentage des témoins \pm écart-type pour au moins 7 rats par groupe. *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$ comparé aux témoins.



Est-ce que la résistance à l'insuline s'aggrave avec le temps chez les animaux atteints d'IRC?

Figure 5.3 | Aire sous la courbe (AUC) de la glycémie sur 2 heures lors d'IPGTT chez les rats Sprague-Dawley en fonction du temps post-néphrectomie

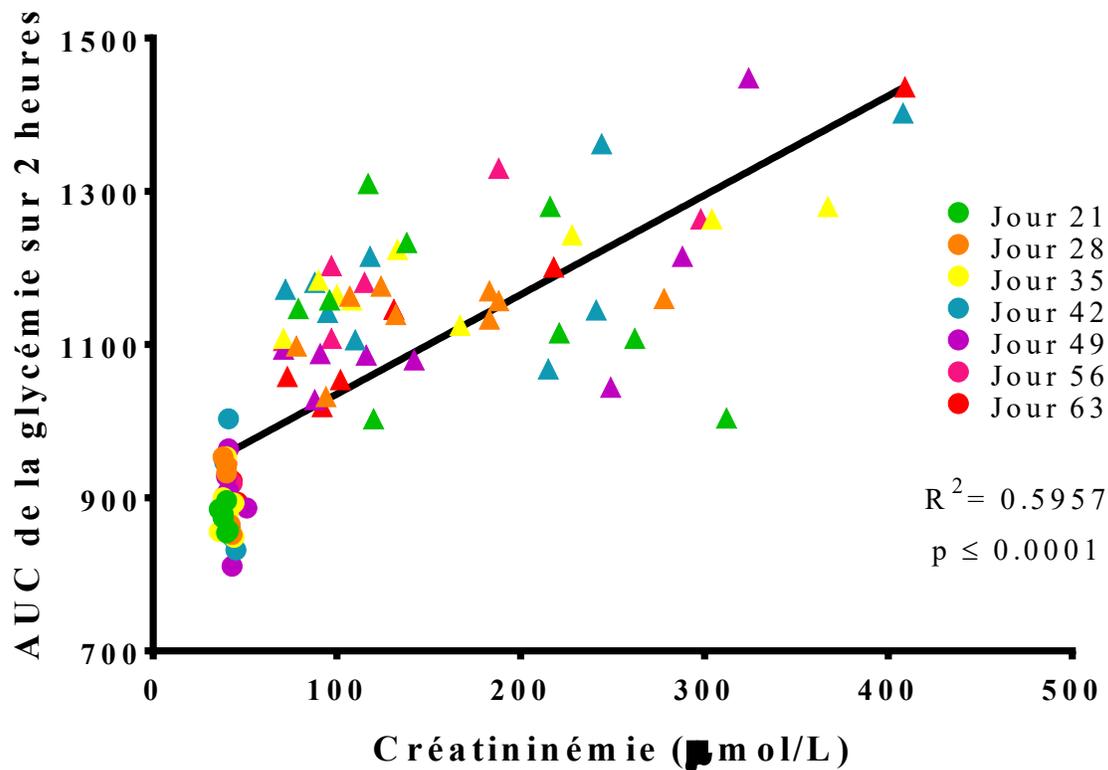
Aire sous la courbe moyenne de la réponse glycémique à des tests de tolérance au glucose intrapéritonéal tel qu'effectué à la **Figure 5.1 A**. Le graphique montre l'AUC moyen de la glycémie des rats au cours de l'IPGTT \pm l'écart-type. L'IPGTT a été répété toutes les semaines, du jour 21 au jour 63 suite à la première néphrectomie, pour suivre l'évolution de la résistance à l'insuline en fonction du temps post néphrectomie.



Est-ce que la résistance à l'insuline augmente avec la détérioration des fonctions rénales?

Figure 5.4 | Aire sous la courbe de la glycémie sur 2 heures lors d'IPGTT chez les rats Sprague-Dawley en fonction de l'atteinte rénale

Aire sous la courbe de la réponse glycémique de chaque rat à des tests de tolérance au glucose intrapéritonéal tel qu'effectué à la **Figure 5.1 A**. Le graphique montre l'AUC de la glycémie de chaque rat au cours d'IPGTT. L'IPGTT a été répété toutes les semaines, du jour 21 au jour 63 suite à la première néphrectomie. Le graphique est rapporté sur la créatininémie pour évaluer si la sensibilité à l'insuline diminue avec les fonctions rénales.



Est-ce que l'IRC affecte d'autres transporteurs de glucose?

Figure 5.5 | Expression de l'ARNm des transporteurs de glucose dans le cerveau en IRC

L'ARNm codant pour des gènes de transporteurs de glucose dans le cerveau des rats CD est mesuré par PCR en temps réel. Les niveaux d'ARNm sont exprimés en unités relatives en utilisant la méthode $\Delta\Delta CT$ (169) rapporté sur les niveaux d'expression de la GAPDH. Les niveaux d'expression des témoins ont été définis comme 100%. Les graphiques montrent l'expression moyenne des transporteurs de glucose chez les rats atteints d'IRC en pourcentage \pm l'écart-type de 4 rats Sprague-Dawley par groupes. *, $p < 0.05$ comparé aux témoins.

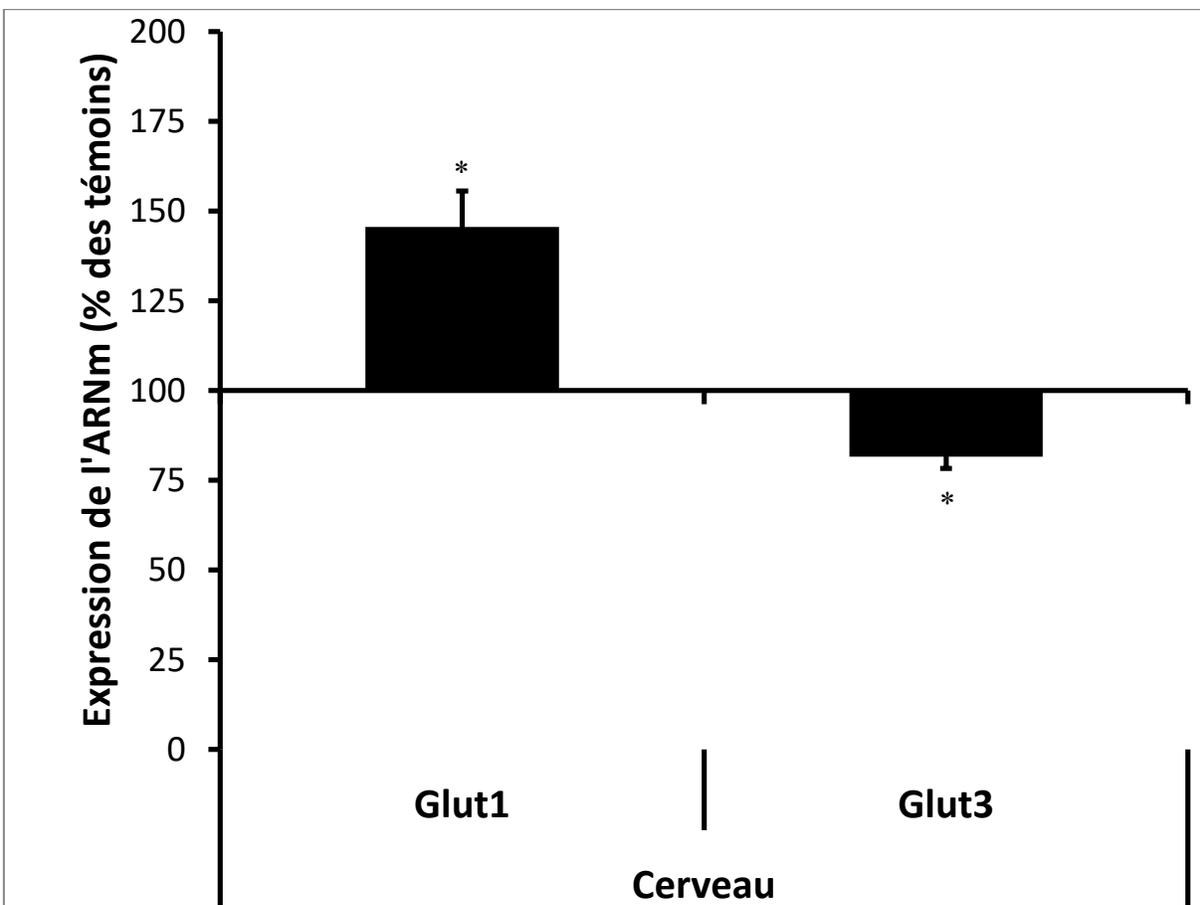
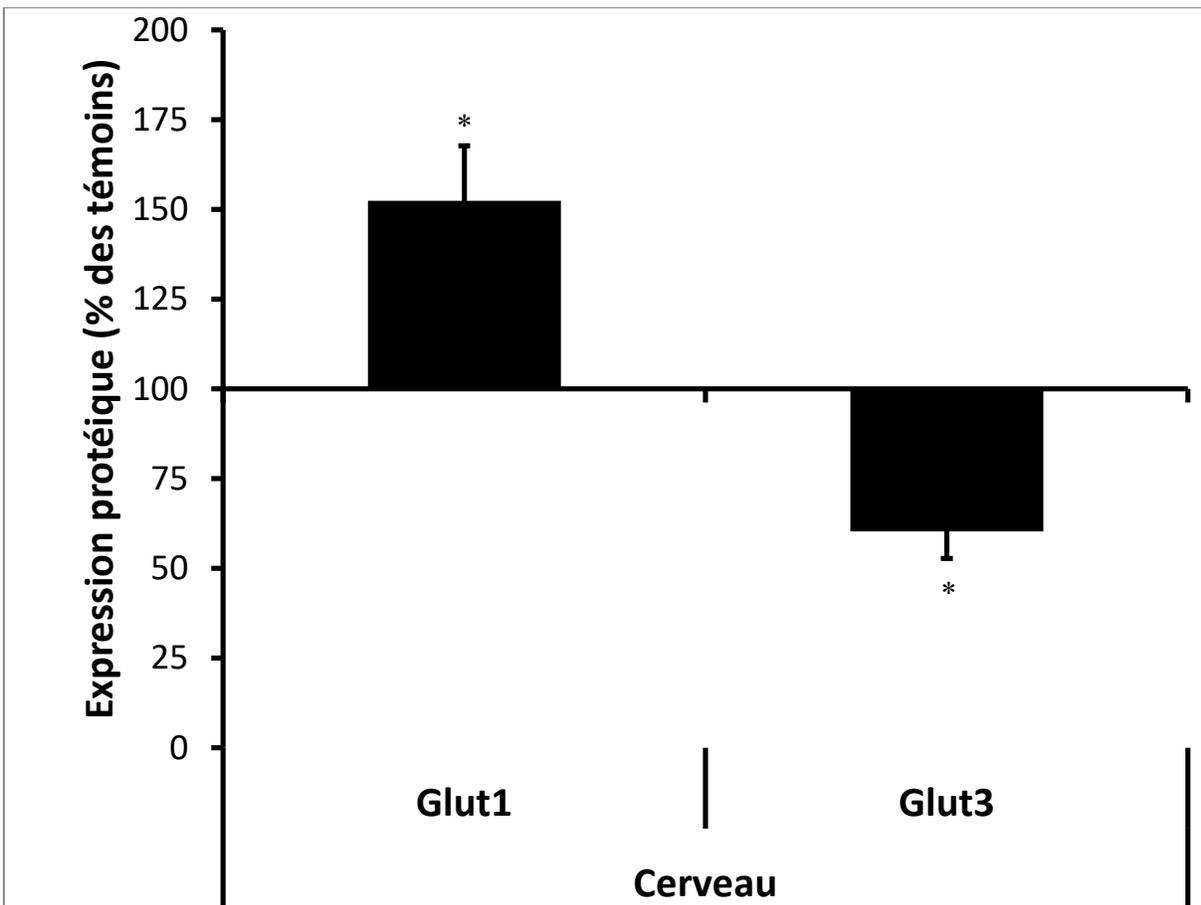


Figure 5.6 | Expression protéique des transporteurs de glucose dans le cerveau en IRC

L'expression protéique est exprimée par densitométrie suite à un immunobuvardage. La densité d'expression des transporteurs de glucose est rapportée sur celle d'un gène de référence, la GAPDH. La densitométrie relative des témoins est alors définie en tant que 100%. Le graphique montre l'expression des transporteurs de glucose chez les rats atteints d'IRC en pourcentage \pm l'écart-type de 4 rats Sprague-Dawley par groupes. *, $p < 0.05$ comparé aux témoins.

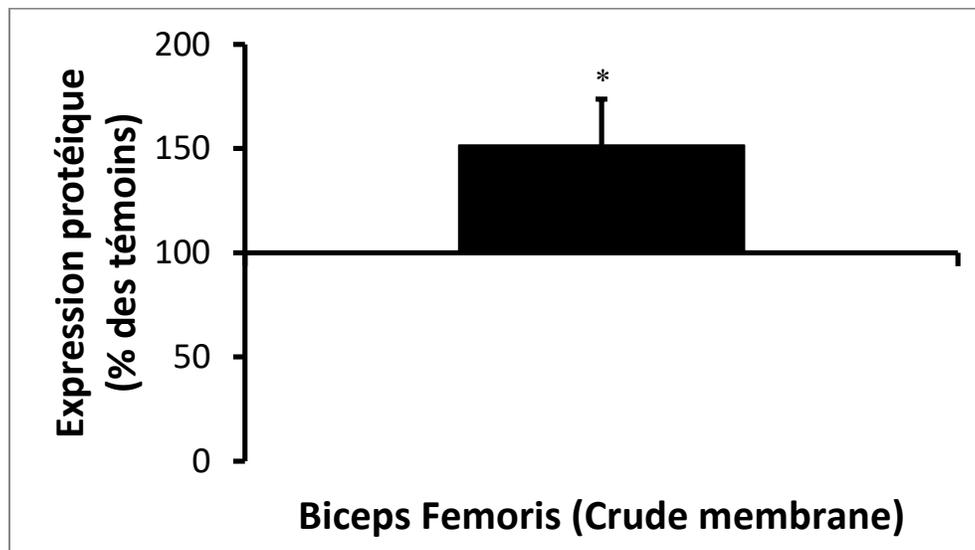


Est-ce que l'IRC affecte la translocation du GLUT4 à la membrane du muscle?

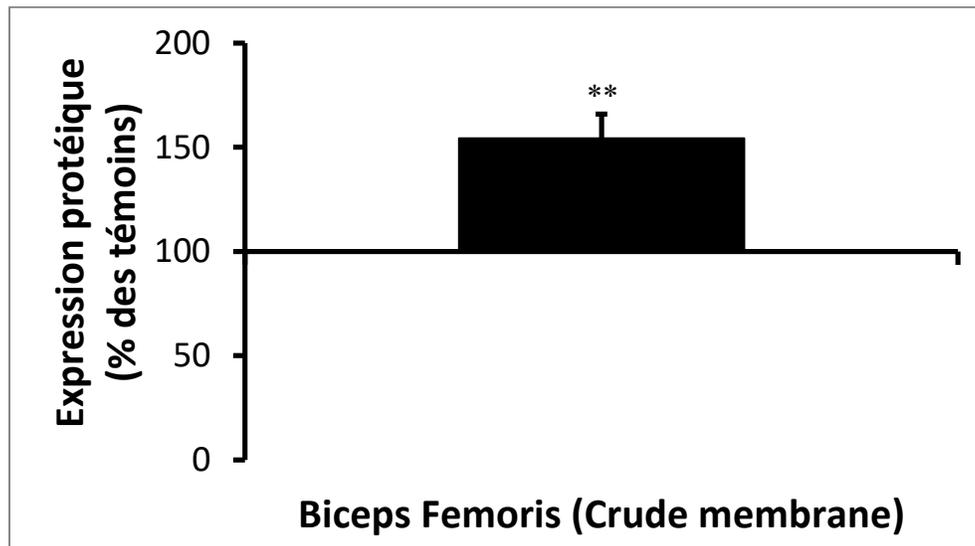
Figure 5.7 | Expression protéique du GLUT4 dans des membranes totales de *Biceps Femoris* chez les rats atteints d'IRC.

L'expression protéique est exprimée par densitométrie suite à un immunobuvardage. La densité d'expression du GLUT4 est rapportée sur celle d'un gène de référence, la $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$. La densitométrie relative des témoins est alors définie en tant que 100%. Le graphique montre l'expression du GLUT4 chez les rats atteints d'IRC en pourcentage \pm l'écart-type d'au moins 8 rats par groupes. *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$ comparé aux témoins. **A.** Expression chez les rats Sprague-Dawley et **B.** expression chez le rat Zucker $\text{Lepr}^{\text{fa}/\text{fa}}$.

A.



B.



Peut-on obtenir des renseignements supplémentaires sur le diabète dans un échantillon urinaire ?

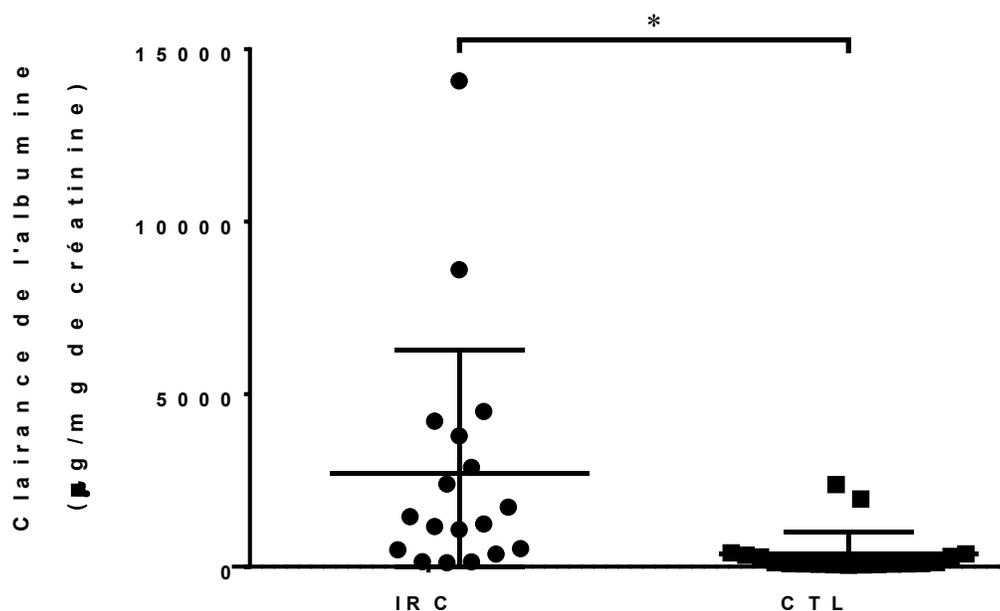
Tableau 5.3 | Analyse d'urine des rats Zucker Lepr^{fa/fa} 42 jours après la 1^{re} néphrectomie

Paramètre urinaire	IRC (n=16)	CTL (n=18)	Valeur p
Bilirubin †	—	—	
Corps cétoniques (mg/dL)	0	0	
Densité (g/L)	1,013 ± 0,001	1,004 ± 0,002	0,0004
Sang †	—	—	
pH	6,8 ± 0,2	8,4 ± 0,2	< 0,0001
Protéines (mg/dL)	6,0 ± 2,1	4,9 ± 2,0	N.S.
Urobilirubinogène (mg/dL)	Normal	Normal	
Leucocytes †	+	—	< 0,0001

† Évaluation par présence (+) ou absence (—), *Analyses effectuées avec des bandelettes urinaires Multistix 10 SG de Siemens

Figure 5.8 | Rapport μ Albumine/créatinine urinaire

Dosage de l'albumine dans l'urine d'au moins 18 rats Zucker par groupe. Le résultat est exprimé sous forme de ratio de l'albumine sur la créatinine urinaire pour rapporter le dosage sur la fonction rénale résiduelle (170). *, p<0.05 comparé aux témoins.



Discussion

L'intolérance au glucose est fréquente en IRC (171-174). Cependant, bien des éléments restent à découvrir pour comprendre l'étiologie de celle-ci. Jusqu'à présent, plusieurs études s'y sont intéressées, mais peu d'entre elles s'entendent sur un consensus. Un débalancement de l'homéostasie dans les tissus périphériques reste l'hypothèse la plus plausible. Un défaut de signalisation du récepteur à l'insuline est souvent pointé du doigt, mais n'explique pas entièrement ce débalancement (140, 175).

Discussion tirée des résultats de l'article

Comme mentionné précédemment dans l'article, l'IRC provoque, chez le rat Sprague-Dawley (CD) partiellement néphrectomisé, un état hyperglycémique. En effet, une baisse des fonctions rénales est inversement corrélée à une hausse de la fructosamine sérique. Par contre, l'hyperglycémie n'est pas observée lors d'une glycémie à jeun. De plus, cet état hyperglycémique ne semble pas provoquer une hausse de l'insulinémie. Un phénomène similaire est observable lors d'un test de tolérance au glucose. En effet, la glycémie augmente significativement chez les animaux atteints d'IRC en comparaison à leurs contrôles et ce, sans observer une hausse significative de l'insuline. Le pancréas ne réagirait donc pas adéquatement à l'augmentation de la glycémie. Une hausse de l'insuline est souvent observable à un stade avancé de l'IRC due à la réduction de la clairance rénale de celle-ci (142, 161, 176). Cependant, des travaux récents non publiés de Poitout *et al.* montrent qu'un défaut de production de l'insuline par le pancréas est présent en IRC. De plus, l'hyperparathyroïdie secondaire observée en IRC semble affecter la sécrétion de l'insuline par le pancréas (157, 158, 160, 177). Puisque nos rats ne montrent pas d'hyperinsulinémie à jeun ainsi qu'une hausse de celle-ci suite à un bolus de glucose, les défauts de production et de sécrétion de l'insuline en IRC peuvent partiellement expliquer ces résultats contradictoires.

Il est évident que l'IRC conduit au déclin de la sensibilité à l'insuline. Pour ce faire, l'IRC mène à une modulation des transporteurs de glucose dans tous les organes responsables

du maintien de l'homéostasie du glucose. Puisque les tissus périphériques sont impliqués dans la disposition rapide du glucose absorbé, une modulation des transporteurs, particulièrement le GLUT4, dans ces tissus aurait un impact significatif (21, 178, 179). L'IRC induit une importante diminution de l'expression des transporteurs de glucose dans le muscle (≈ 0.69 fois). Cette diminution du GLUT4 mène directement à une diminution du transport de glucose dans le muscle. En effet, les muscles des rats atteints d'IRC réagissent moins à l'insuline et absorbent donc moins de glucose. La modulation du GLUT4 pourrait donc être directement liée à la résistance à l'insuline en IRC. Cela dit, d'autres organes sont impliqués dans le métabolisme du glucose et peuvent affecter la sensibilité à l'insuline.

Au niveau des tissus adipeux, on observe une augmentation des transporteurs de glucose. Par contre, cette augmentation ne semble pas prévenir la résistance à l'insuline, mais peut limiter l'impact de la diminution de l'expression des transporteurs de glucose dans les muscles sur la résistance à l'insuline (179).

Dans le foie, on observe une diminution de ces transporteurs. Cet organe aide à retirer le glucose absorbé du sang et à réguler la glycémie par la suite. La diminution des transporteurs observée dans le foie peut donc contribuer à l'hyperglycémie (90).

Les reins jouent un rôle important dans l'homéostasie du glucose, puisqu'ils sont responsables de la réabsorption de celui-ci. Une augmentation des transporteurs GLUT2 et SGLT2 est observée dans ce tissu. Puisque ces transporteurs sont responsables d'environ 90% de la réabsorption du glucose, les reins des animaux atteints d'IRC ont le potentiel de réabsorber une quantité supérieure de glucose (180). L'augmentation de la réabsorption du glucose pourrait participer à l'essor de l'hyperglycémie en IRC.

Bien que les muscles, les reins et le foie semblent promouvoir l'hyperglycémie et affecter la sensibilité à l'insuline en IRC, aucun cas de diabète n'a été démontré chez le rat

Sprague-Dawley atteint d'IRC. Puisque l'IRC survient souvent de concert avec divers déséquilibres métaboliques tel que le syndrome métabolique, la maladie rénale aurait le potentiel d'empirer le métabolisme du glucose chez ces patients. Le rat Zucker $Lepr^{fa/fa}$ est affecté d'une résistance à l'insuline et d'un syndrome métabolique. Cette résistance à l'insuline ne semble toutefois pas provoquer une hyperglycémie à jeun. Cependant, une hyperinsulinémie à jeun est observable chez le rat Zucker pour compenser la présence de cette résistance à l'insuline et normaliser les valeurs glycémiques (**Figure II**).

L'induction de l'IRC chez ces rats provoque une hyperglycémie à jeun ainsi qu'une hausse marquée de la fructosamine sérique. De plus, la réponse au test de tolérance au glucose des rats IRC est exagérée en comparaison au rat CD. La modulation des transporteurs de glucose est similaire au rat CD, mais l'absorption médiée par l'insuline du glucose par le muscle est presque nulle, puisque ceux-ci ne répondent pas à une dose physiologique d'insuline.

L'IRC chez l'homme est souvent accompagnée de multiples co-pathologies pouvant affecter synergiquement le métabolisme du glucose (11). Chez le rat Zucker, la présence au préalable d'un syndrome métabolique entraîne une exacerbation de l'impact de l'IRC sur la résistance à l'insuline, occasionnant ainsi une hyperglycémie. La résistance à l'insuline causée par l'IRC semble donc s'additionner à celle déjà présente chez le rat Zucker. Contrairement au rat CD, $\approx 30\%$ des rats Zucker avaient du glucose dans leur urine. La glycémie augmente donc à un point où les reins ne peuvent plus réabsorber le glucose en totalité et celui-ci est éliminé dans les urines. Les rats Zucker atteints d'IRC sont affectés par un état hyperglycémique pouvant être associé au diabète de type 2 puisque l'insuline ne s'élève pas afin de normaliser la glycémie.

Discussion des résultats supplémentaires

Les incrétines et l'absorption intestinale sont-elles affectées par l'IRC?

Une modulation des incrétines a déjà été mise au jour chez les patients atteints d'IRT. En effet, ceux-ci sécrètent une quantité supérieure de GIP et GLT-1 en comparaison à des individus sains pour un même bolus de glucose (148). Il en résulterait normalement une augmentation de la relâche d'insuline en réponse aux incrétines. Cependant, tel qu'observé à la **Figure 5.1**, la sécrétion d'insuline chez les IRC est inférieure à celle des témoins pour une même quantité de glucose administrée par voie orale. Au contraire, on observe une sécrétion d'insuline supérieure chez les IRC lorsque ce glucose est administré par voie intrapéritonéale. Il semblerait donc que les incrétines perdent de leur efficacité en IRC et que la relâche d'insuline en réponse à celle-ci diminue.

Par ailleurs, nous avons observé, au niveau intestinal, une modulation de l'ARNm des transporteurs de glucose en IRC. La **Figure 5.2** montre clairement une augmentation significative de ces transporteurs. Physiologiquement, il pourrait en résulter une augmentation de l'absorption intestinale du glucose en IRC. Cette augmentation d'absorption pourrait participer à l'hyperglycémie observée en IRC. D'autres études seront nécessaires pour déterminer l'impact des incrétines et la modulation des transporteurs intestinaux sur l'absorption et le métabolisme du glucose en IRC.

Est-ce que la résistance à l'insuline s'aggrave avec le temps chez les animaux atteints d'IRC?

En comparaison aux animaux témoins, la résistance à l'insuline ne s'aggrave pas à un rythme plus élevé en IRC. Le vieillissement des animaux semble être à l'origine de la diminution de la sensibilité à l'insuline telle qu'observée à la **Figure 5.3** et celle-ci s'additionne à la résistance à l'insuline en IRC. L'impact de cette résistance à l'insuline en IRC serait donc synergique au vieillissement, aspect d'autant plus important dans une population vieillissante (181).

Est-ce que la résistance à l'insuline diminue avec la détérioration des fonctions rénales?

La **Figure 5.4** montre une forte corrélation entre les fonctions rénales résiduelles, exprimée par la créatininémie, et la résistance à l'insuline, exprimée par la surface sous la courbe de la glycémie pendant 2 heures lors d'un test de tolérance au glucose. De plus, les animaux fortement atteints par l'IRC et sur le point de décéder montrent une résistance à l'insuline beaucoup plus importante lorsqu'ils s'approchent du décès. L'IRC serait donc directement associé à la résistance à l'insuline et le déclin des fonctions rénales mènerait au déclin de la sensibilité à l'insuline.

Est-ce que l'insuffisance rénale chronique affecte d'autres transporteurs de glucose?

En plus des modulations des transporteurs de glucose dans le foie, les reins, l'intestin et les tissus périphériques, on observe aussi une modulation de ceux-ci dans le cerveau. Dans les **Figures 5.5** et **5.6**, on observe une légère diminution du GLUT3 et une augmentation du GLUT1 cérébral. Puisque ces 2 transporteurs ont une haute affinité pour le glucose, l'impact de ces modulations devrait être presque nul. Cependant, il serait intéressant d'évaluer l'influence individuelle de ces transporteurs sur l'apport de glucose au cerveau (67).

Est-ce que l'IRC affecte la translocation du GLUT4 à la membrane du muscle?

Plusieurs études pointent un défaut de signalisation de l'insuline dans les tissus périphériques comme principal mécanisme dans la résistance à l'insuline en IRC. Dans l'article précédent, nous avons démontré qu'une diminution du GLUT4 dans l'homogénat du *Biceps Femoris* est observable en IRC. De plus, le transport insulindépendant du glucose diminue dans ces conditions. Dans la **Figure 5.7**, on observe une augmentation significative du GLUT4 dans une purification de membranes du *Biceps Femoris*. Étant donné que le GLUT4 est quantitativement moins exprimé dans l'homogénat, il y aurait plus de GLUT4 à la membrane à l'état basal en comparaison aux témoins et donc, moins de transporteurs intracellulaires. Même si l'insuline provoque une translocation du GLUT4 à la membrane, moins de transporteurs seraient disponibles pour être transloqués puisqu'une plus grande

fraction de celui-ci se trouverait déjà à la membrane. En plus d'un défaut de signalisation, l'IRC pourrait donc provoquer une diminution du GLUT4 intracellulaire (21, 140, 165).

Peut-on obtenir des renseignements supplémentaires sur le diabète dans un échantillon urinaire ?

L'analyse de l'urine des rats atteints d'IRC en comparaison aux témoins montre clairement l'atteinte rénale chez ceux-ci. En effet, la présence de protéinurie témoigne d'une atteinte du glomérule. Celui-ci laisse alors passer des protéines à travers ses pores. De plus, la densité élevée de l'urine, son bas pH et la présence d'albumine dans les urines représentent d'autres signes de dommages rénaux (182). L'analyse de la présence de leucocytes peut cependant être faussée par une quantité importante de glucose et de protéines dans les urines. Il s'agit alors probablement d'un faux positif (183).

Par ailleurs, l'absence de corps cétoniques chez l'un ou l'autre des groupes de rats permet d'exclure la présence d'un diabète de type 1. Ces corps cétoniques sont, en effet, principalement observés chez les individus ayant une déficience en insuline (182, 184).

Conclusion et perspectives

La résistance à l'insuline en insuffisance rénale chronique est chose fréquente. Tel qu'observé lors d'un test de tolérance au glucose, le rat néphrectomisé n'en fait pas exception. Bien que l'hyperglycémie à jeun ne soit pas toujours observable, un état hyperglycémique s'installe tout de même, comme nous avons pu le constater avec l'augmentation de la fructosamine. Cependant, une hausse de l'insulinémie n'apparaît pas en réponse à cette hyperglycémie.

L'étude des mécanismes responsables de l'apparition d'une résistance à l'insuline en insuffisance rénale chronique permet clairement de mettre en évidence un défaut d'expression des transporteurs de glucose dans les organes clés de l'homéostasie du glucose. Cependant, la sous-expression des transporteurs au niveau du *Biceps Femoris* semble être à l'origine de la réduction de la captation du glucose dans le muscle en présence d'insuline. Bien qu'un défaut de signalisation du récepteur à l'insuline soit généralement perçu comme acteur majoritaire dans cette résistance à l'insuline, il reste certain que cette diminution de l'expression des transporteurs de glucose aurait un rôle primordial dans l'étiologie de celle-ci en IRC. De plus, la modulation de ces transporteurs dans les autres organes impliqués dans l'homéostasie du glucose, tel que le foie, les reins et les tissus adipeux peuvent aussi compromettre cet équilibre. Bien entendu, d'autres mécanismes peuvent être en cause dans l'apparition de cette résistance à l'insuline.

Plusieurs questions restent cependant sans réponses. Les défauts d'expression des transporteurs de glucose intestinaux ainsi qu'un défaut au niveau des incrélines observée en IRC peuvent avoir un effet important sur l'absorption et le métabolisme du glucose. Les études préliminaires effectuées à ce niveau ne permettent pas d'établir des conclusions claires sur l'impact de leur modulation dans le métabolisme du glucose. D'un autre point de vue, les tissus adipeux jouent un rôle important dans le métabolisme du glucose. Par contre, l'impact de l'augmentation de l'expression des transporteurs de glucose dans ces tissus n'a pas été caractérisé et aurait tout intérêt à l'être.

La modulation de l'expression des transporteurs de glucose semble être l'une des causes principales dans l'étiologie de cette résistance à l'insuline. Le défaut de signalisation menant à cette modulation en insuffisance rénale chronique reste inconnu. De plus, les voies de signalisation impliquées dans la modulation des transporteurs de glucose restent mal étudiées. L'AMP-activated protein kinase (AMPK) pourrait être concernée dans la modulation des transporteurs de glucose en IRC, puisque l'activation de cette enzyme serait impliquée dans la maladie rénale. Bien sûr, plusieurs autres voies de signalisation sont modulées en IRC et peuvent agir différemment sur l'expression des transporteurs de glucose (185, 186). De plus, puisque le GLUT4 est régi par un trafic intracellulaire, celui-ci pourrait être affecté par l'IRC en plus du défaut dans la signalisation de l'insuline déjà rapporté. En effet, la voie de signalisation de l'insuline est large et fortement modulable. Il est bien connu qu'en IRC, une diminution de la réponse à l'insuline et à l'IGF-1 résultant d'une réduction de l'activité de la PI3-K et d'Akt est observable (187). Plusieurs autres voies de signalisation sont modulées en IRC et on connaît encore peu les répercussions de celles-ci sur la modulation des transporteurs de glucose.

Bien que la résistance à l'insuline soit fréquente en IRC et que celle-ci s'aggrave avec le déclin des fonctions rénales, son implication dans l'apparition d'un diabète de type 2 reste incertaine. L'IRC d'elle-même ne mènerait pas au diabète de type 2. Cependant, l'addition de cette résistance à l'insuline en IRC à d'autres pathologies affectant l'homéostasie du glucose semble précipiter l'apparition d'un diabète de type 2 chez des individus prédisposés à le développer.

Le traitement de cette résistance à l'insuline en IRC reste compliqué, puisque la pharmacocinétique et dynamique des médicaments est imprévisible (188). De plus, le traitement des différentes facettes d'un syndrome métabolique, tel que l'hypertension, n'affecte pas toujours positivement la sensibilité à l'insuline et semble encore plus compliqué lorsqu'additionné à l'IRC (189, 190).

Une dernière question reste sans réponse. Ces travaux ont permis de démontrer que l'IRC peut bel et bien mener au diabète de type 2 chez des individus prédisposés. Ce diabète de type 2 peut-il, à son tour, provoquer des dommages rénaux et conduire à la détérioration des fonctions rénales à son tour? Si la réponse à cette question est positive, les patients atteints d'un stade avancé d'IRC augmenteraient leur risque de développer un diabète de type 2 qui, à son tour, mènerait au déclin des fonctions rénales. Ce cercle vicieux mènerait bien sûr à une mort précoce. Certains résultats nous permettent de croire que tel est le cas, puisque les rats Zucker décèdent très rapidement lorsque l'on détecte du glucose dans leur urine. La détérioration mutuelle de ces 2 conditions leur est donc fatale.

Bien que ce ne soient que des résultats préliminaires, il aurait été intéressant d'évaluer si les animaux atteints d'IRC développent la néphropathie diabétique par microscopie électronique d'une coupe histologique. Puisque celle-ci mène directement à l'insuffisance rénale terminale, cela expliquerait la mort très rapide des rats suite au dépistage de glucose dans l'urine (191). Cela permettrait de confirmer le diagnostic du diabète de type 2 chez les rats atteints d'insuffisance rénale terminale et délinéariserait le lien entre le diabète de type 2 et l'IRC, formant ainsi un cercle vicieux.

Bibliographie

1. Rorsman P, Braun M, Zhang Q. Regulation of calcium in pancreatic alpha- and beta-cells in health and disease. *Cell calcium*. 2012;51(3-4):300-8. Epub 2011/12/20.
2. Mountjoy PD, Rutter GA. Glucose sensing by hypothalamic neurones and pancreatic islet cells: AMPle evidence for common mechanisms? *Experimental physiology*. 2007;92(2):311-9. Epub 2006/12/13.
3. Meiquer U. Effect of insulin on glucose uptake and metabolism. *English wikipedia*; 2006.
4. Tatulian SA. Structural Dynamics of Insulin Receptor and Transmembrane Signaling. *Biochemistry*. 2015;54(36):5523-32.
5. Kaur J. A comprehensive review on metabolic syndrome. *Cardiology research and practice*. 2014;2014:943162. Epub 2014/04/09.
6. Scheepers A, Joost HG, Schurmann A. The glucose transporter families SGLT and GLUT: molecular basis of normal and aberrant function. *JPEN Journal of parenteral and enteral nutrition*. 2004;28(5):364-71. Epub 2004/09/29.
7. Cibulka R, Racek J. Metabolic disorders in patients with chronic kidney failure. *Physiol Res*. 2007;56(6):697-705. Epub 2007/02/15.
8. Coresh J, Selvin E, Stevens LA, Manzi J, Kusek JW, Eggers P, et al. Prevalence of chronic kidney disease in the United States. *JAMA*. 2007;298(17):2038-47. Epub 2007/11/08.
9. Jha V, Garcia-Garcia G, Iseki K, Li Z, Naicker S, Plattner B, et al. Chronic kidney disease: global dimension and perspectives. *Lancet*. 2013;382(9888):260-72. Epub 2013/06/04.
10. Johns BR, Pao AC, Kim SH. Metabolic syndrome, insulin resistance and kidney function in non-diabetic individuals. *Nephrol Dial Transplant*. 2012;27(4):1410-5. Epub 2011/09/13.
11. KDOQI. KDOQI Clinical Practice Guidelines and Clinical Practice Recommendations for Diabetes and Chronic Kidney Disease. *Am J Kidney Dis*. 2007;49(2 Suppl 2):S12-154. Epub 2007/02/06.
12. Liao MT, Sung CC, Hung KC, Wu CC, Lo L, Lu KC. Insulin resistance in patients with chronic kidney disease. *Journal of biomedicine & biotechnology*. 2012;2012:691369. Epub 2012/08/25.
13. Lee I-T, Chiu Y-F, Hwu C-M, He C-T, Chiang F-T, Lin Y-C, et al. Central obesity is important but not essential component of the metabolic syndrome for predicting diabetes mellitus in a hypertensive family-based cohort. Results from the Stanford Asia-pacific program for hypertension and insulin resistance (SAPPHIRE) Taiwan follow-up study. *Cardiovascular Diabetology*. 2012;11(1):43.
14. Levey AS, Eckardt KU, Tsukamoto Y, Levin A, Coresh J, Rossert J, et al. Definition and classification of chronic kidney disease: a position statement from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney Int*. 2005;67(6):2089-100. Epub 2005/05/11.
15. Néphrologie GdtdlSd. [Evaluation of glomerular filtration rate and proteinuria for the diagnosis of chronic kidney disease]. *Nephrol Ther*. 2009;5(4):302-5. Epub 2009/05/02. Evaluation de la fonction rénale et de la protéinurie pour le diagnostic de la maladie rénale chronique chez l'adulte. Recommandations pour la pratique clinique.

16. Abboud H, Henrich WL. Clinical practice. Stage IV chronic kidney disease. *N Engl J Med*. 2010;362(1):56-65. Epub 2010/01/08.
17. Silva FG. The aging kidney: a review - part I. *International urology and nephrology*. 2005;37(1):185-205. Epub 2005/09/01.
18. Kovesdy CP, Kalantar-Zadeh K. Accuracy and limitations of the diagnosis of malnutrition in dialysis patients. *Seminars in dialysis*. 2012;25(4):423-7. Epub 2012/06/27.
19. Ikizler TA. Protein and energy: recommended intake and nutrient supplementation in chronic dialysis patients. *Seminars in dialysis*. 2004;17(6):471-8. Epub 2005/01/22.
20. Dzurik R, Spustova V, Janekova K. The prevalence of insulin resistance in kidney disease patients before the development of renal failure. *Nephron*. 1995;69(3):281-5. Epub 1995/01/01.
21. DeFronzo RA, Alvestrand A, Smith D, Hendler R, Hendler E, Wahren J. Insulin resistance in uremia. *The Journal of clinical investigation*. 1981;67(2):563-8. Epub 1981/02/01.
22. Chan MK, Varghese Z, Moorhead JF. Lipid abnormalities in uremia, dialysis, and transplantation. *Kidney Int*. 1981;19(5):625-37.
23. Vaziri ND. Causes of dysregulation of lipid metabolism in chronic renal failure. *Seminars in dialysis*. 2009;22(6):644-51. Epub 2009/12/19.
24. Ponda MP, Barash I. Lipid metabolism in dialysis patients-the story gets more complicated. *Seminars in dialysis*. 2008;21(5):390-4. Epub 2008/09/04.
25. Pupim LB, Flakoll PJ, Ikizler TA. Protein homeostasis in chronic hemodialysis patients. *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care*. 2004;7(1):89-95. Epub 2004/04/20.
26. Kovacic V, Roguljic L, Kovacic V. Metabolic acidosis of chronically hemodialyzed patients. *Am J Nephrol*. 2003;23(3):158-64. Epub 2003/03/22.
27. Oettinger CW, Oliver JC. Normalization of uremic acidosis in hemodialysis patients with a high bicarbonate dialysate. *J Am Soc Nephrol*. 1993;3(11):1804-7. Epub 1993/05/01.
28. Santoro A. Anemia in renal insufficiency. *Rev Clin Exp Hematol*. 2002;Suppl 1:12-20. Epub 2003/05/09.
29. Thomas R, Kalso A, Sedor JR. Chronic kidney disease and its complications. *Prim Care*. 2008;35(2):329-44, vii. Epub 2008/05/20.
30. Strippoli GF. Effects of the dose of erythropoiesis stimulating agents on cardiovascular events, quality of life, and health-related costs in hemodialysis patients: the clinical evaluation of the dose of erythropoietins (C.E. DOSE) trial protocol. *Trials*. 2010;11:70. Epub 2010/06/11.
31. González E, Martin K. Renal Osteodystrophy. *Rev Endocr Metab Disord*. 2001;2(2):187-93.
32. Nigwekar SU, Tamez H, Thadhani RI. Vitamin D and chronic kidney disease-mineral bone disease (CKD-MBD). *BoneKEy Rep*. 2014;3.
33. Hruska KA, Teitelbaum SL. Renal osteodystrophy. *N Engl J Med*. 1995;333(3):166-74. Epub 1995/07/20.

34. Giamalis P, Economidou D, Dimitriadis C, Memmos D, Papagianni A, Efstratiadis G. Treatment of adynamic bone disease in a haemodialysis patient with teriparatide. *Clinical Kidney Journal*. 2015;8(2):188-90.
35. Zanetti M, Barazzoni R, Guarnieri G. Inflammation and insulin resistance in uremia. *J Ren Nutr*. 2008;18(1):70-5. Epub 2007/12/20.
36. Naud J, Nolin TD, Leblond FA, Pichette V. Current understanding of drug disposition in kidney disease. *Journal of clinical pharmacology*. 2012;52(1 Suppl):10s-22s. Epub 2012/01/18.
37. Naud J, Dumayne C, Nolin TD, Leblond FA, Pichette V. [Drug pharmacokinetics in renal failure: What's new?]. *Nephrol Ther*. 2015;11(3):144-51. Epub 2015/04/12. Pharmacocinetique des medicaments en insuffisance renale : nouveautes.
38. Roberts CK, Hevener AL, Barnard RJ. Metabolic Syndrome and Insulin Resistance: Underlying Causes and Modification by Exercise Training. *Compr Physiol*. 2013;3(1):1-58.
39. (IDF) IDF. The IDF consensus worldwide definition of the METABOLIC SYNDROME. *IDF Communications*. 2006.
40. O'Neill S, O'Driscoll L. Metabolic syndrome: a closer look at the growing epidemic and its associated pathologies. *Obesity reviews : an official journal of the International Association for the Study of Obesity*. 2015;16(1):1-12. Epub 2014/11/20.
41. Shin JA, Lee JH, Lim SY, Ha HS, Kwon HS, Park YM, et al. Metabolic syndrome as a predictor of type 2 diabetes, and its clinical interpretations and usefulness. *Journal of Diabetes Investigation*. 2013;4(4):334-43.
42. Dominguez LJ, Barbagallo M. The biology of the metabolic syndrome and aging. *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care*. 2016;19(1):5-11. Epub 2015/11/13.
43. Schaffer JE. Lipotoxicity: when tissues overeat. *Current opinion in lipidology*. 2003;14(3):281-7. Epub 2003/07/04.
44. Griffin ME, Marcucci MJ, Cline GW, Bell K, Barucci N, Lee D, et al. Free fatty acid-induced insulin resistance is associated with activation of protein kinase C theta and alterations in the insulin signaling cascade. *Diabetes*. 1999;48(6):1270-4. Epub 1999/05/26.
45. Unger RH, Orci L. Diseases of liporegulation: new perspective on obesity and related disorders. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. 2001;15(2):312-21. Epub 2001/02/07.
46. Katsoulis E, Mabley JG, Samai M, Sharpe MA, Green IC, Chatterjee PK. Lipotoxicity in renal proximal tubular cells: relationship between endoplasmic reticulum stress and oxidative stress pathways. *Free radical biology & medicine*. 2010;48(12):1654-62. Epub 2010/04/07.
47. Thomas ME, Harris KP, Walls J, Furness PN, Brunskill NJ. Fatty acids exacerbate tubulointerstitial injury in protein-overload proteinuria. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2002;283(4):F640-7. Epub 2002/09/10.
48. Roche E, Farfari S, Witters LA, Assimacopoulos-Jeannet F, Thumelin S, Brun T, et al. Long-term exposure of beta-INS cells to high glucose concentrations increases anaplerosis, lipogenesis, and lipogenic gene expression. *Diabetes*. 1998;47(7):1086-94. Epub 1998/07/02.

49. Leibowitz G, Uckaya G, Oprescu AI, Cerasi E, Gross DJ, Kaiser N. Glucose-regulated proinsulin gene expression is required for adequate insulin production during chronic glucose exposure. *Endocrinology*. 2002;143(9):3214-20. Epub 2002/08/24.
50. Poitout V, Robertson RP. Glucolipototoxicity: fuel excess and beta-cell dysfunction. *Endocrine reviews*. 2008;29(3):351-66. Epub 2007/12/01.
51. Kahn BB, Flier JS. Obesity and insulin resistance. *The Journal of clinical investigation*. 2000;106(4):473-81. Epub 2000/08/23.
52. Gallagher EJ, Leroith D, Karnieli E. The metabolic syndrome--from insulin resistance to obesity and diabetes. *The Medical clinics of North America*. 2011;95(5):855-73. Epub 2011/08/23.
53. Özcan U, Cao Q, Yilmaz E, Lee A-H, Iwakoshi NN, Özdelen E, et al. Endoplasmic Reticulum Stress Links Obesity, Insulin Action, and Type 2 Diabetes. *Science*. 2004;306(5695):457-61.
54. Hall JE, Kuo JJ, da Silva AA, de Paula RB, Liu J, Tallam L. Obesity-associated hypertension and kidney disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2003;12(2):195-200. Epub 2003/02/18.
55. Kamide K. Role of Renin-Angiotensin-Aldosterone System in Metabolic Syndrome and Obesity-related Hypertension. *Current hypertension reviews*. 2014. Epub 2014/08/15.
56. Mendizabal Y, Llorens S, Nava E. Hypertension in metabolic syndrome: vascular pathophysiology. *International journal of hypertension*. 2013;2013:230868. Epub 2013/04/11.
57. Thomas G, Sehgal AR, Kashyap SR, Srinivas TR, Kirwan JP, Navaneethan SD. Metabolic syndrome and kidney disease: a systematic review and meta-analysis. *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN*. 2011;6(10):2364-73. Epub 2011/08/20.
58. Singh AK, Kari JA. Metabolic syndrome and chronic kidney disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2013;22(2):198-203. Epub 2013/01/24.
59. Sowers JR, Frohlich ED. Insulin and insulin resistance: impact on blood pressure and cardiovascular disease. *The Medical clinics of North America*. 2004;88(1):63-82. Epub 2004/02/12.
60. Gluba A, Mikhailidis DP, Lip GY, Hannam S, Rysz J, Banach M. Metabolic syndrome and renal disease. *International journal of cardiology*. 2013;164(2):141-50. Epub 2012/02/07.
61. Wisse BE. The inflammatory syndrome: the role of adipose tissue cytokines in metabolic disorders linked to obesity. *J Am Soc Nephrol*. 2004;15(11):2792-800. Epub 2004/10/27.
62. Cases A, Coll E. Dyslipidemia and the progression of renal disease in chronic renal failure patients. *Kidney Int Suppl*. 2005(99):S87-93. Epub 2005/12/13.
63. Herman MA, Kahn BB. Glucose transport and sensing in the maintenance of glucose homeostasis and metabolic harmony. *The Journal of clinical investigation*. 2006;116(7):1767-75.
64. Roder PV, Geillinger KE, Zietek TS, Thorens B, Koepsell H, Daniel H. The role of SGLT1 and GLUT2 in intestinal glucose transport and sensing. *PLoS One*. 2014;9(2):e89977. Epub 2014/03/04.
65. shiraClaire McDougall GAM, Miles Fisher Drugs for diabetes: part 5 DPP-4 inhibitors. *The British Journal of Cardiology*. 2011;18(3):130-2.

66. Shirazi-Beechey SP, Moran AW, Batchelor DJ, Daly K, Al-Rammahi M. Glucose sensing and signalling; regulation of intestinal glucose transport. *The Proceedings of the Nutrition Society*. 2011;70(2):185-93. Epub 2011/04/01.
67. Zhao FQ, Keating AF. Functional Properties and Genomics of Glucose Transporters. *Curr Genomics*. 2007;8(2):113-28.
68. Thorens B, Mueckler M. Glucose transporters in the 21st Century. *American journal of physiology Endocrinology and metabolism*. 2010;298(2):E141-5. Epub 2009/12/17.
69. Wood IS, Trayhurn P. Glucose transporters (GLUT and SGLT): expanded families of sugar transport proteins. *Br J Nutr*. 2003;89(1):3-9. Epub 2003/02/06.
70. Wright EM. Renal Na(+)-glucose cotransporters. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2001;280:F10-F8.
71. McGowan KM, Long SD, Pekala PH. Glucose transporter gene expression: regulation of transcription and mRNA stability. *Pharmacology & therapeutics*. 1995;66(3):465-505. Epub 1995/06/01.
72. Vallon V. Molecular determinants of renal glucose reabsorption. Focus on "Glucose transport by human renal Na⁺/d-glucose cotransporters SGLT1 and SGLT2" 2011 2011-01-01 00:00:00.
73. Han S. Dapagliflozin, a selective SGLT2 inhibitor, improves glucose homeostasis in normal and diabetic rats. *Diabetes*. 2008;57:1723-9.
74. Zhao FQ, Moseley WM, Tucker HA, Kennelly JJ. Regulation of glucose transporter gene expression in mammary gland, muscle, and fat of lactating cows by administration of bovine growth hormone and bovine growth hormone-releasing factor. *Journal of animal science*. 1996;74(1):183-9. Epub 1996/01/01.
75. Weinstein SP, O'Boyle E, Fisher M, Haber RS. Regulation of GLUT2 glucose transporter expression in liver by thyroid hormone: evidence for hormonal regulation of the hepatic glucose transport system. *Endocrinology*. 1994;135(2):649-54. Epub 1994/08/01.
76. Santalucia T, Palacin M, Zorzano A. T3 strongly regulates GLUT1 and GLUT3 mRNA in cerebral cortex of hypothyroid rat neonates. *Mol Cell Endocrinol*. 2006;251(1-2):9-16. Epub 2006/04/04.
77. Schwartzenberg-Bar-Yoseph F, Armoni M, Karnieli E. The tumor suppressor p53 down-regulates glucose transporters GLUT1 and GLUT4 gene expression. *Cancer research*. 2004;64(7):2627-33. Epub 2004/04/03.
78. Im SS, Kang SY, Kim SY, Kim HI, Kim JW, Kim KS, et al. Glucose-stimulated upregulation of GLUT2 gene is mediated by sterol response element-binding protein-1c in the hepatocytes. *Diabetes*. 2005;54(6):1684-91. Epub 2005/05/28.
79. Kim HI, Kim JW, Kim SH, Cha JY, Kim KS, Ahn YH. Identification and functional characterization of the peroxisomal proliferator response element in rat GLUT2 promoter. *Diabetes*. 2000;49(9):1517-24. Epub 2000/09/02.
80. Koivisto UM, Martinez-Valdez H, Bilan PJ, Burdett E, Ramlal T, Klip A. Differential regulation of the GLUT-1 and GLUT-4 glucose transport systems by glucose and insulin in L6 muscle cells in culture. *J Biol Chem*. 1991;266(4):2615-21. Epub 1991/02/05.
81. POULI AE, EMMANOUILIDOU E, ZHAO C, WASMEIER C, HUTTON JC, RUTTER GA. Secretory-granule dynamics visualized in vivo with a phogrin-green fluorescent protein chimera. *Biochemical Journal*. 1998;333(1):193-9.

82. Rutter GA, Pullen TJ, Hodson DJ, Martinez-Sanchez A. Pancreatic beta-cell identity, glucose sensing and the control of insulin secretion. *The Biochemical journal*. 2015;466(2):203-18. Epub 2015/02/24.
83. Cook DL, Hales CN. Intracellular ATP directly blocks K⁺ channels in pancreatic B-cells. *Nature*. 1984;311(5983):271-3. Epub 1984/09/20.
84. Yang SN, Berggren PO. The role of voltage-gated calcium channels in pancreatic beta-cell physiology and pathophysiology. *Endocrine reviews*. 2006;27(6):621-76. Epub 2006/07/27.
85. Jahn R, Fasshauer D. Molecular machines governing exocytosis of synaptic vesicles. *Nature*. 2012;490(7419):201-7. Epub 2012/10/13.
86. Rorsman P. The pancreatic beta-cell as a fuel sensor: an electrophysiologist's viewpoint. *Diabetologia*. 1997;40(5):487-95. Epub 1997/05/01.
87. MacDonald PE, De Marinis YZ, Ramracheya R, Salehi A, Ma X, Johnson PR, et al. A K ATP channel-dependent pathway within alpha cells regulates glucagon release from both rodent and human islets of Langerhans. *PLoS biology*. 2007;5(6):e143. Epub 2007/05/17.
88. Gylfe E, Gilon P. Glucose regulation of glucagon secretion. *Diabetes Res Clin Pract*. 2014;103(1):1-10. Epub 2013/12/26.
89. Dimitriadis G, Mitrou P, Lambadiari V, Maratou E, Raptis SA. Insulin effects in muscle and adipose tissue. *Diabetes Res Clin Pract*. 2011;93 Suppl 1:S52-9. Epub 2011/09/01.
90. Moore MC, Coate KC, Winnick JJ, An Z, Cherrington AD. Regulation of hepatic glucose uptake and storage in vivo. *Advances in nutrition (Bethesda, Md)*. 2012;3(3):286-94. Epub 2012/05/16.
91. Rojas JM, Schwartz MW. Control of hepatic glucose metabolism by islet and brain. *Diabetes Obes Metab*. 2014;16 Suppl 1:33-40. Epub 2014/09/10.
92. Charron MJ, Vuguin PM. Lack of glucagon receptor signaling and its implications beyond glucose homeostasis. *The Journal of endocrinology*. 2015;224(3):R123-30. Epub 2015/01/09.
93. Denis N, Tebot I, Bonnet JM, Cirio A, Boivin R. Effects of intravenous perfusion of glucagon on renal blood flow in conscious sheep. *Experimental physiology*. 2003;88(5):575-80. Epub 2003/09/05.
94. Adlan MA, Bondugulapati LN, Premawardhana LD. Glucose intolerance and diabetes mellitus in endocrine disorders - two case reports and a review. *Curr Diabetes Rev*. 2010;6(5):266-73. Epub 2010/07/03.
95. Lacombe VA. Expression and regulation of facilitative glucose transporters in equine insulin-sensitive tissue: from physiology to pathology. *ISRN veterinary science*. 2014;2014:409547. Epub 2014/07/01.
96. Mueckler M. Facilitative glucose transporters. *European journal of biochemistry / FEBS*. 1994;219(3):713-25. Epub 1994/02/01.
97. Gastaldelli A, Baldi S, Pettiti M, Toschi E, Camastra S, Natali A, et al. Influence of obesity and type 2 diabetes on gluconeogenesis and glucose output in humans: a quantitative study. *Diabetes*. 2000;49(8):1367-73. Epub 2000/08/03.
98. Gastaldelli A, Ferrannini E, Miyazaki Y, Matsuda M, DeFronzo RA. Beta-cell dysfunction and glucose intolerance: results from the San Antonio metabolism (SAM) study. *Diabetologia*. 2004;47(1):31-9. Epub 2003/12/11.

99. Ye J. Mechanisms of insulin resistance in obesity. *Frontiers of medicine*. 2013;7(1):14-24. Epub 2013/03/09.
100. Perry RJ, Samuel VT, Petersen KF, Shulman GI. The role of hepatic lipids in hepatic insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature*. 2014;510(7503):84-91. Epub 2014/06/06.
101. Gruben N, Shiri-Sverdlov R, Koonen DP, Hofker MH. Nonalcoholic fatty liver disease: A main driver of insulin resistance or a dangerous liaison? *Biochimica et biophysica acta*. 2014;1842(11):2329-43. Epub 2014/08/17.
102. Capeau J. Insulin resistance and steatosis in humans. *Diabetes & metabolism*. 2008;34(6 Pt 2):649-57. Epub 2009/02/07.
103. Kalyani RR, Egan JM. Diabetes and altered glucose metabolism with aging. *Endocrinology and metabolism clinics of North America*. 2013;42(2):333-47. Epub 2013/05/25.
104. Mullur R, Liu YY, Brent GA. Thyroid hormone regulation of metabolism. *Physiol Rev*. 2014;94(2):355-82. Epub 2014/04/03.
105. Rojek A, Niedziela M. [Insulin receptor defect as a cause of Rabson-Mendenhall syndrome and other rare genetic insulin resistance syndromes]. *Pediatric endocrinology, diabetes, and metabolism*. 2010;16(3):205-12. Epub 2010/11/26. Defekt receptora insuliny jako przyczyna zespołu Rabsona-Mendenhalla i innych rzadkich postaci insulinooporności.
106. Barker A, Langenberg C, Wareham NJ. Genetic determinants of glucose homeostasis. *Best practice & research Clinical endocrinology & metabolism*. 2012;26(2):159-70. Epub 2012/04/14.
107. Sarafidis PA, Ruilope LM. Insulin Resistance, Hyperinsulinemia, and Renal Injury: Mechanisms and Implications. *American Journal of Nephrology*. 2006;26(3):232-44.
108. McFarlane SI, Banerji M, Sowers JR. Insulin resistance and cardiovascular disease. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86(2):713-8. Epub 2001/02/07.
109. Sarafidis PA, Bakris GL. Review: Insulin and endothelin: an interplay contributing to hypertension development? *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92(2):379-85. Epub 2006/11/23.
110. Sarafidis PA, Grekas DM. Insulin resistance and oxidant stress: an interrelation with deleterious renal consequences? *Journal of the cardiometabolic syndrome*. 2007;2(2):139-42. Epub 2007/08/09.
111. Nistala R, Whaley-Connell A. Resistance to insulin and kidney disease in the cardiorenal metabolic syndrome; role for angiotensin II. *Mol Cell Endocrinol*. 2013;378(1-2):53-8. Epub 2013/02/19.
112. Saltiel AR. The molecular and physiological basis of insulin resistance: emerging implications for metabolic and cardiovascular diseases. *The Journal of clinical investigation*. 2000;106(2):163-4.
113. Ferrannini E, Mari A. β -Cell function in type 2 diabetes. *Metabolism*. 2014;63(10):1217-27.
114. Alejandro EU, Gregg B, Blandino-Rosano M, Cras-Meneur C, Bernal-Mizrachi E. Natural history of beta-cell adaptation and failure in type 2 diabetes. *Molecular aspects of medicine*. 2015;42:19-41. Epub 2014/12/30.
115. Fox CS, Golden SH, Anderson C, Bray GA, Burke LE, de Boer IH, et al. Update on Prevention of Cardiovascular Disease in Adults With Type 2 Diabetes Mellitus in Light of Recent Evidence: A Scientific

Statement From the American Heart Association and the American Diabetes Association. *Circulation*. 2015;132(8):691-718. Epub 2015/08/08.

116. Mahler RJ, Adler ML. Clinical review 102: Type 2 diabetes mellitus: update on diagnosis, pathophysiology, and treatment. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999;84(4):1165-71. Epub 1999/04/13.

117. Abbott. AlphaTrak Blood glucose monitoring system. 2013.

118. Montagnana M, Paleari R, Danese E, Salvagno GL, Lippi G, Guidi GC, et al. Evaluation of biological variation of glycated albumin (GA) and fructosamine in healthy subjects. *Clin Chim Acta*. 2013;423:1-4. Epub 2013/04/17.

119. Shipman KE, Jawad M, Sullivan KM, Ford C, Gama R. Effect of chronic kidney disease on A1C in individuals being screened for diabetes. *Primary care diabetes*. 2015;9(2):142-6. Epub 2014/06/05.

120. Lee JE, Lee JW, Fujii T, Fujii N, Choi JW. The ratio of estimated average glucose to fasting plasma glucose level is superior to glycated albumin, hemoglobin A1c, fructosamine, and GA/A1c ratio for assessing beta-cell function in childhood diabetes. *Biomed Res Int*. 2014;2014:370790. Epub 2014/07/12.

121. Ayala JE, Samuel VT, Morton GJ, Obici S, Croniger CM, Shulman GI, et al. Standard operating procedures for describing and performing metabolic tests of glucose homeostasis in mice. *Dis Model Mech*. 2010;3(9-10):525-34. Epub 2010/08/18.

122. Patarrão RS, Wayne Lutt W, Paula Macedo M. Assessment of methods and indexes of insulin sensitivity. *Revista Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo*. 2014;9(1):65-73.

123. Wallace TM, Levy JC, Matthews DR. Use and abuse of HOMA modeling. *Diabetes Care*. 2004;27(6):1487-95. Epub 2004/05/27.

124. Yang HC, Zuo Y, Fogo AB. Models of chronic kidney disease. *Drug discovery today Disease models*. 2010;7(1-2):13-9.

125. Leblond FA, Giroux L, Villeneuve JP, Pichette V. Decreased in vivo metabolism of drugs in chronic renal failure. *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals*. 2000;28(11):1317-20. Epub 2000/10/19.

126. King A, Bowe J. Animal models for diabetes: Understanding the pathogenesis and finding new treatments. *Biochemical pharmacology*. 2016;99:1-10. Epub 2015/10/04.

127. Alexandre de Artinano A, Miguel Castro M. Experimental rat models to study the metabolic syndrome. *Br J Nutr*. 2009;102(9):1246-53. Epub 2009/07/28.

128. Levin BE, Dunn-Meynell AA, Balkan B, Keeseey RE. Selective breeding for diet-induced obesity and resistance in Sprague-Dawley rats. *The American journal of physiology*. 1997;273(2 Pt 2):R725-30. Epub 1997/08/01.

129. Wang B, Chandrasekera PC, Pippin JJ. Leptin- and leptin receptor-deficient rodent models: relevance for human type 2 diabetes. *Curr Diabetes Rev*. 2014;10(2):131-45. Epub 2014/05/09.

130. Tofovic SP, Kusaka H, Kost CK, Jr., Bastacky S. Renal function and structure in diabetic, hypertensive, obese ZDFxSHHF-hybrid rats. *Ren Fail*. 2000;22(4):387-406. Epub 2000/07/20.

131. River Cs. Modèles et services de recherche charle's river. Canada2015.

132. Breyer MD, Bottinger E, Brosius FC, 3rd, Coffman TM, Harris RC, Heilig CW, et al. Mouse models of diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol*. 2005;16(1):27-45. Epub 2004/11/26.
133. D'Souza A M, Asadi A, Johnson JD, Covey SD, Kieffer TJ. Leptin deficiency in rats results in hyperinsulinemia and impaired glucose homeostasis. *Endocrinology*. 2014;155(4):1268-79. Epub 2014/01/29.
134. Koch C, Augustine RA, Steger J, Ganjam GK, Benzler J, Pracht C, et al. Leptin rapidly improves glucose homeostasis in obese mice by increasing hypothalamic insulin sensitivity. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 2010;30(48):16180-7. Epub 2010/12/03.
135. Maggio MC, Montaperto D, Maringhini S, Corrado C, Gucciardino E, Corsello G. Adiponectin, resistin and leptin in paediatric chronic renal failure: correlation with auxological and endocrine profiles. *Journal of nephrology*. 2014;27(3):275-9. Epub 2014/01/23.
136. Stenvinkel P, Heimbürger O, Lonnqvist F. Serum leptin concentrations correlate to plasma insulin concentrations independent of body fat content in chronic renal failure. *Nephrol Dial Transplant*. 1997;12(7):1321-5. Epub 1997/07/01.
137. Sit D, Kadiroglu AK, Kayabasi H, Yilmaz ME. The prevalence of insulin resistance in nondiabetic nonobese patients with chronic kidney disease. *Adv Ther*. 2006;23(6):988-98. Epub 2007/02/06.
138. Koppe L, Pelletier CC, Alix PM, Kalbacher E, Fouque D, Soulage CO, et al. Insulin resistance in chronic kidney disease: new lessons from experimental models. *Nephrol Dial Transplant*. 2014;29(9):1666-74. Epub 2013/11/30.
139. Massry SG. Sequence of cellular events in pancreatic islets leading to impaired insulin secretion in chronic kidney disease. *J Ren Nutr*. 2011;21(1):92-9. Epub 2011/01/05.
140. Friedman JE, Dohm GL, Elton CW, Rovira A, Chen JJ, Leggett-Frazier N, et al. Muscle insulin resistance in uremic humans: glucose transport, glucose transporters, and insulin receptors. *The American journal of physiology*. 1991;261(1 Pt 1):E87-94.
141. Cecchin F, Ittoop O, Sinha MK, Caro JF. Insulin resistance in uremia: insulin receptor kinase activity in liver and muscle from chronic uremic rats. *The American journal of physiology*. 1988;254(4 Pt 1):E394-401. Epub 1988/04/01.
142. Pham H, Utschneider KM, de Boer IH. Measurement of insulin resistance in chronic kidney disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2011;20(6):640-6. Epub 2011/09/03.
143. Eldin WS, Ragheb A, Klassen J, Shoker A. Evidence for increased risk of prediabetes in the uremic patient. *Nephron Clinical practice*. 2008;108(1):c47-55.
144. Nigwekar SU, Thadhani RI. Shining light on vitamin D trials in chronic kidney disease. *Kidney Int*. 2013;83(2):198-200.
145. Vaziri ND, Wong J, Pahl M, Piceno YM, Yuan J, DeSantis TZ, et al. Chronic kidney disease alters intestinal microbial flora. *Kidney Int*. 2013;83(2):308-15. Epub 2012/09/21.
146. Vaziri ND. HDL abnormalities in nephrotic syndrome and chronic kidney disease. *Nature reviews Nephrology*. 2016;12(1):37-47. Epub 2015/11/17.
147. Lau WL, Kalantar-Zadeh K, Vaziri ND. The Gut as a Source of Inflammation in Chronic Kidney Disease. *Nephron*. 2015;130(2):92-8. Epub 2015/05/15.

148. Idorn T, Knop FK, Jørgensen M, Holst JJ, Hornum M, Feldt-Rasmussen B. Postprandial responses of incretin and pancreatic hormones in non-diabetic patients with end-stage renal disease. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2014;29(1):119-27.
149. Cano N, Catelloni F, Fontaine E, Novaretti R, di Costanzo-Dufétel J, Reynier JP, et al. Isolated rat hepatocyte metabolism is affected by chronic renal failure. *Kidney Int*. 1995;47(6):1522-7. Epub 1995/06/01.
150. Thomas SS, Zhang L, Mitch WE. Molecular mechanisms of insulin resistance in chronic kidney disease. *Kidney Int*. 2015;88(6):1233-9. Epub 2015/10/08.
151. Bailey JL. Insulin resistance and muscle metabolism in chronic kidney disease. *ISRN endocrinology*. 2013;2013:329606. Epub 2013/02/23.
152. Castellino P, Solini A, Luzi L, Barr JG, Smith DJ, Petrides A, et al. Glucose and amino acid metabolism in chronic renal failure: effect of insulin and amino acids. *The American journal of physiology*. 1992;262(2 Pt 2):F168-76. Epub 1992/02/01.
153. May RC, Clark AS, Goheer MA, Mitch WE. Specific defects in insulin-mediated muscle metabolism in acute uremia. *Kidney Int*. 1985;28(3):490-7. Epub 1985/09/01.
154. Contreras I, Caro JF, Aveledo L, Diaz K, Durrego P, Weisinger JR. In chronic uremia, insulin activates receptor kinase but not pyruvate dehydrogenase. *Nephron*. 1992;61(1):77-81. Epub 1992/01/01.
155. Manolescu B, Stoian I, Atanasiu V, Busu C, Lupescu O. Review article: The role of adipose tissue in uraemia-related insulin resistance. *Nephrology*. 2008;13(7):622-8. Epub 2008/10/02.
156. Rigalleau V, Gin H. Carbohydrate metabolism in uraemia. *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care*. 2005;8(4):463-9. Epub 2005/06/03.
157. Hajjar SM, Fadda GZ, Thanakitcharu P, Smogorzewski M, Massry SG. Reduced activity of Na(+)-K+ ATPase of pancreatic islets in chronic renal failure: role of secondary hyperparathyroidism. *J Am Soc Nephrol*. 1992;2(8):1355-9. Epub 1992/02/01.
158. Fadda GZ, Hajjar SM, Perna AF, Zhou XJ, Lipson LG, Massry SG. On the mechanism of impaired insulin secretion in chronic renal failure. *The Journal of clinical investigation*. 1991;87(1):255-61. Epub 1991/01/01.
159. Fadda GZ, Akmal M, Premdas FH, Lipson LG, Massry SG. Insulin release from pancreatic islets: effects of CRF and excess PTH. *Kidney Int*. 1988;33(6):1066-72. Epub 1988/06/01.
160. Park J, Kwon H, Kang Y, Kim Y. Proteomic analysis of O-GlcNAc modifications derived from streptozotocin and glucosamine induced beta-cell apoptosis. *Journal of biochemistry and molecular biology*. 2007;40(6):1058-68. Epub 2007/12/01.
161. Mak RH. Insulin and its role in chronic kidney disease. *Pediatr Nephrol*. 2008;23(3):355-62. Epub 2007/10/12.
162. Mondon CE, Dolkas CB, Reaven GM. Effect of acute uremia on insulin removal by the isolated perfused rat liver and muscle. *Metabolism*. 1978;27(2):133-42. Epub 1978/02/01.
163. Schmitz O, Orskov L, Lund S, Moller N, Christiansen JS, Orskov H. Glucose metabolism in chronic renal failure with reference to GH treatment of uremic children. *The Journal of pediatric endocrinology*. 1993;6(1):53-9. Epub 1993/01/01.

164. Gouveia LM, Moyses-Neto M, Paccola GM, Piccinato CE, Foss MC. Peripheral glucose metabolism in patients with chronic renal failure. *Brazilian journal of medical and biological research = Revista brasileira de pesquisas medicas e biologicas / Sociedade Brasileira de Biofisica* [et al]. 1995;28(2):201-7. Epub 1995/02/01.
165. Aksentijevic D, Bhandari S, Seymour AM. Insulin resistance and altered glucose transporter 4 expression in experimental uremia. *Kidney Int.* 2009;75(7):711-8. Epub 2009/01/30.
166. Castorena CM, Arias EB, Sharma N, Bogan JS, Cartee GD. Fiber type effects on contraction-stimulated glucose uptake and GLUT4 abundance in single fibers from rat skeletal muscle. *American journal of physiology Endocrinology and metabolism.* 2015;308(3):E223-30. Epub 2014/12/11.
167. Szolkiewicz M, Sucajtys E, Wolyniec W, Rutkowski P, Stelmanska E, Korczynska J, et al. Mechanisms of enhanced carbohydrate and lipid metabolism in adipose tissue in uremia. *J Ren Nutr.* 2005;15(1):166-72.
168. Scheen AJ. Pharmacokinetics, Pharmacodynamics and Clinical Use of SGLT2 Inhibitors in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus and Chronic Kidney Disease. *Clinical pharmacokinetics.* 2015;54(7):691-708. Epub 2015/03/26.
169. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2⁻(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods.* 2001;25(4):402-8.
170. Mattix HJ, Hsu CY, Shaykevich S, Curhan G. Use of the albumin/creatinine ratio to detect microalbuminuria: implications of sex and race. *J Am Soc Nephrol.* 2002;13(4):1034-9. Epub 2002/03/26.
171. Akmal M, Massry SG, Goldstein DA, Fanti P, Weisz A, DeFronzo RA. Role of parathyroid hormone in the glucose intolerance of chronic renal failure. *The Journal of clinical investigation.* 1985;75(3):1037-44. Epub 1985/03/01.
172. Chen SM, Young TK, Ho LT. Effects of parathyroid hormone infusion on glucose tolerance and glucose-stimulated insulin secretion in normal and uremic rats. *Diabetes Res Clin Pract.* 1998;41(2):85-94. Epub 1998/10/28.
173. Alvestrand A, Mujagic M, Wajngot A, Efendic S. Glucose intolerance in uremic patients: the relative contributions of impaired beta-cell function and insulin resistance. *Clin Nephrol.* 1989;31(4):175-83. Epub 1989/04/01.
174. Alvestrand A. Carbohydrate and insulin metabolism in renal failure. *Kidney Int Suppl.* 1997;62:S48-52.
175. Sud M, Tangri N, Pintilie M, Levey AS, Naimark D. Risk of end-stage renal disease and death after cardiovascular events in chronic kidney disease. *Circulation.* 2014;130(6):458-65. Epub 2014/06/06.
176. Mehta RL. Glycemic control and critical illness: is the kidney involved? *J Am Soc Nephrol.* 2007;18(10):2623-7. Epub 2007/07/28.
177. Mak RH. Insulin secretion in uremia: effect of parathyroid hormone and vitamin D metabolites. *Kidney Int Suppl.* 1989;27:S227-30. Epub 1989/11/01.
178. Tataranni PA. Pathophysiology of obesity-induced insulin resistance and type 2 diabetes mellitus. *European review for medical and pharmacological sciences.* 2002;6(2-3):27-32.
179. Nawano M, Oku A, Ueta K, Umebayashi I, Ishirahara T, Arakawa K, et al. Hyperglycemia contributes insulin resistance in hepatic and adipose tissue but not skeletal muscle of ZDF rats. *American journal of physiology Endocrinology and metabolism.* 2000;278(3):E535-43.

180. Calado J, Santer R, Rueff J. Effect of kidney disease on glucose handling (including genetic defects). *Kidney Int Suppl.* 2011(120):S7-13. Epub 2011/03/05.
181. Rivas Velasquez KM, Hames E, Masri H. Evaluation and management of the older adult with chronic kidney disease. *Prim Care.* 2014;41(4):857-74. Epub 2014/12/03.
182. Reine NJ, Langston CE. Urinalysis interpretation: how to squeeze out the maximum information from a small sample. *Clinical techniques in small animal practice.* 2005;20(1):2-10. Epub 2005/04/13.
183. Fogazzi GB, Verdesca S, Garigali G. Urinalysis: core curriculum 2008. *Am J Kidney Dis.* 2008;51(6):1052-67. Epub 2008/05/27.
184. Westerberg DP. Diabetic ketoacidosis: evaluation and treatment. *American family physician.* 2013;87(5):337-46. Epub 2013/04/04.
185. Declèves AE, Mathew AV, Cunard R, Sharma K. AMPK Mediates the Initiation of Kidney Disease Induced by a High-Fat Diet. *J Am Soc Nephrol.* 2011;22(10):1846-55.
186. Czech MP, Corvera S. Signaling mechanisms that regulate glucose transport. *J Biol Chem.* 1999;274(4):1865-8. Epub 1999/01/16.
187. Bailey JL, Zheng B, Hu Z, Price SR, Mitch WE. Chronic kidney disease causes defects in signaling through the insulin receptor substrate/phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway: implications for muscle atrophy. *J Am Soc Nephrol.* 2006;17(5):1388-94. Epub 2006/04/14.
188. Sampanis C. Management of hyperglycemia in patients with diabetes mellitus and chronic renal failure. *Hippokratia.* 2008;12(1):22-7.
189. Berne C, Pollare T, Lithell H. Effects of antihypertensive treatment on insulin sensitivity with special reference to ACE inhibitors. *Diabetes Care.* 1991;14 Suppl 4:39-47. Epub 1991/11/01.
190. Powers DR, Wallin JD. End-stage renal disease in specific ethnic and racial groups: risk factors and benefits of antihypertensive therapy. *Archives of internal medicine.* 1998;158(7):793-800. Epub 1998/04/29.
191. Forbes JM, Fukami K, Cooper ME. Diabetic nephropathy: where hemodynamics meets metabolism. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2007;115(2):69-84. Epub 2007/02/24.

Autorisations pour l'utilisation des figures

Figure 1.1 : Adaptée de l'article suivant

Nigwekar SU, Tamez H, Thadhani RI. Vitamin D and chronic kidney disease-mineral bone disease (CKD-MBD). BoneKEy Rep. 2014;3.

NATURE PUBLISHING GROUP LICENSE TERMS AND CONDITIONS		Jul 28, 2016
<hr/> <hr/> <p>This Agreement between francois dion ("You") and Nature Publishing Group ("Nature Publishing Group") consists of your license details and the terms and conditions provided by Nature Publishing Group and Copyright Clearance Center.</p>		
License Number	3917700341385	
License date	Jul 28, 2016	
Licensed Content Publisher	Nature Publishing Group	
Licensed Content Publication	BoneKEy Reports	
Licensed Content Title	Vitamin D and chronic kidney disease-mineral bone disease (CKD-MBD)	
Licensed Content Author	Sagar U Nigwekar, Hector Tamez, Ravi I Thadhani	
Licensed Content Date	Feb 5, 2014	
Licensed Content Volume Number	3	
Type of Use	reuse in a dissertation / thesis	
Requestor type	academic/educational	
Format	electronic	
Portion	figures/tables/illustrations	
Number of figures/tables/illustrations	1	
High-res required	no	
Figures	Figure 2	
Author of this NPG article	no	
Your reference number		
Title of your thesis / dissertation	LA RÉSISTANCE À L'INSULINE EN INSUFFISANCE RÉNALE CHRONIQUE ET LE RISQUE DE DÉVELOPPER UN DIABÈTE DE TYPE 2	
Expected completion date	Apr 2016	
Estimated size (number of pages)	150	
Requestor Location	francois dion	
Billing Type	Invoice	
Billing Address	francois dion	

Figure 2.1 : Adaptée de l'article suivant

Kaur J. A comprehensive review on metabolic syndrome. *Cardiology research and practice*. 2014;2014:943162. Epub 2014/04/09.

Cardiology Research and Practice

Volume 2014 (2014), Article ID 943162, 21 pages

<http://dx.doi.org/10.1155/2014/943162>

Review Article

A Comprehensive Review on Metabolic Syndrome

Jaspinder Kaur

Ex-Servicemen Contributory Health Scheme (ECHS) Polyclinic, Sultanpur Lodhi, Kapurthala District 144626, India

Received 20 November 2013; Accepted 19 January 2014; Published 11 March 2014

Academic Editor: Paul Holvoet

Copyright © 2014 Jaspinder Kaur. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Figure 2.2 : Adaptée de l'article suivant

Singh AK, Kari JA. Metabolic syndrome and chronic kidney disease. Curr Opin Nephrol Hypertens. 2013;22(2):198-203. Epub 2013/01/24.

WOLTERS KLUWER HEALTH, INC. LICENSE TERMS AND CONDITIONS	
Mar 09, 2016	
<hr/> <hr/>	
<p>This Agreement between francois dion ("You") and Wolters Kluwer Health, Inc. ("Wolters Kluwer Health, Inc.") consists of your license details and the terms and conditions provided by Wolters Kluwer Health, Inc. and Copyright Clearance Center.</p>	
License Number	3824810306512
License date	Mar 09, 2016
Licensed Content Publisher	Wolters Kluwer Health, Inc.
Licensed Content Publication	Current Opinion in Nephrology and Hypertension
Licensed Content Title	Metabolic syndrome and chronic kidney disease
Licensed Content Author	Ajay Singh and Jameela Kari
Licensed Content Date	Jan 1, 2013
Licensed Content Volume Number	22
Licensed Content Issue Number	2
Type of Use	Dissertation/Thesis
Requestor type	Individual
Portion	Figures/table/illustration
Number of figures/tables/illustrations	1
Figures/tables/illustrations used	FIGURE 2. The potential mechanistic pathway that might explain how the constellation of factors causing metabolic syndrome cause renal fibrosis.
Author of this Wolters Kluwer article	No
Title of your thesis / dissertation	LA RÉSISTANCE À L'INSULINE EN INSUFFISANCE RÉNALE CHRONIQUE ET LE RISQUE DE DÉVELOPPER UN DIABÈTE DE TYPE 2
Expected completion date	Apr 2016
Estimated size(pages)	150
Requestor Location	francois dion
<hr/>	
Billing Type	Invoice
Billing Address	francois dion

Figure 2.3 : Inspirée de l'article suivant

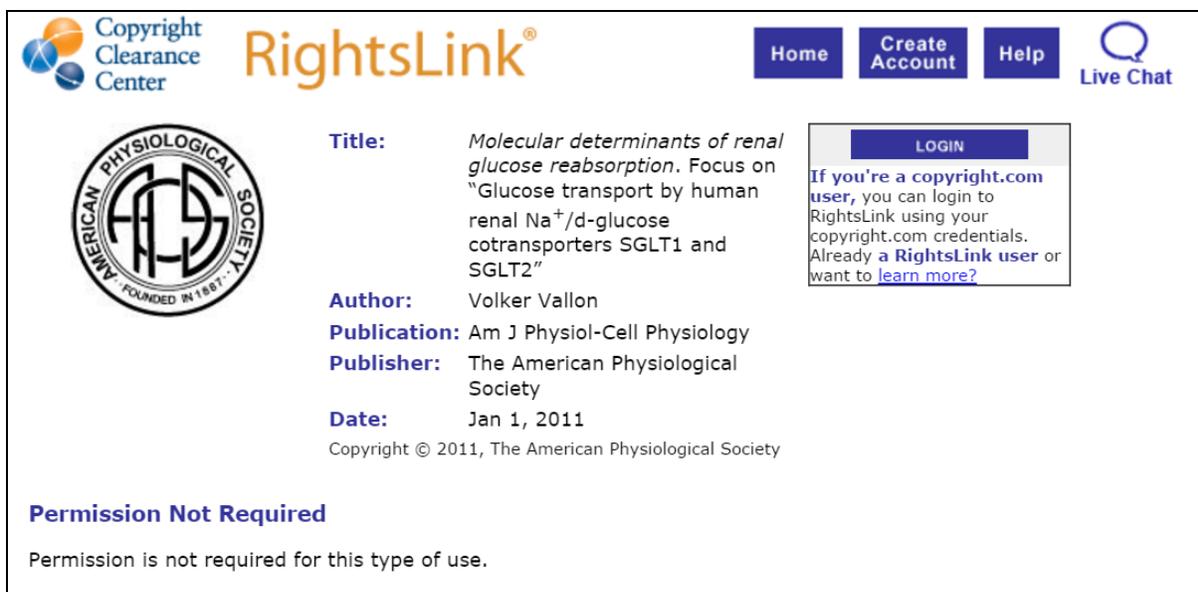
Claire McDougall GAM, Miles Fisher Drugs for diabetes: part 5 DPP-4 inhibitors. The British Journal of Cardiology. 2011;18(3):130–2.

Figure 2.4 : Inspirée de l'article suivant

Shirazi-Beechey SP, Moran AW, Batchelor DJ, Daly K, Al-Rammahi M. Glucose sensing and signalling; regulation of intestinal glucose transport. The Proceedings of the Nutrition Society. 2011;70(2):185-93. Epub 2011/04/01.

Figure 2.5 : Tirée de l'article suivant

Vallon V. Molecular determinants of renal glucose reabsorption. Focus on “Glucose transport by human renal Na⁺/d-glucose cotransporters SGLT1 and SGLT2”2011 2011-01-01 00:00:00.



The screenshot displays the RightsLink interface. At the top left is the Copyright Clearance Center logo. The main header features the RightsLink logo in orange. Navigation buttons for Home, Create Account, Help, and Live Chat are located in the top right. On the left side, there is a circular logo for the American Physiological Society, which includes the text 'FOUNDED IN 1887'. The central area contains the following metadata:

- Title:** *Molecular determinants of renal glucose reabsorption. Focus on "Glucose transport by human renal Na⁺/d-glucose cotransporters SGLT1 and SGLT2"*
- Author:** Volker Vallon
- Publication:** Am J Physiol-Cell Physiology
- Publisher:** The American Physiological Society
- Date:** Jan 1, 2011

Below the metadata, it states 'Copyright © 2011, The American Physiological Society'. To the right of the metadata is a 'LOGIN' button and a text box that reads: 'If you're a copyright.com user, you can login to RightsLink using your copyright.com credentials. Already a RightsLink user or want to learn more?'. At the bottom left, a section titled 'Permission Not Required' states: 'Permission is not required for this type of use.'

Figure 2.6 : Tirée de l'article suivant

Mountjoy PD, Rutter GA. Glucose sensing by hypothalamic neurones and pancreatic islet cells: AMPle evidence for common mechanisms? *Experimental physiology*. 2007;92(2):311-9. Epub 2006/12/13.

JOHN WILEY AND SONS LICENSE TERMS AND CONDITIONS	
Jul 28, 2016	
This Agreement between francois dion ("You") and John Wiley and Sons ("John Wiley and Sons") consists of your license details and the terms and conditions provided by John Wiley and Sons and Copyright Clearance Center.	
License Number	3917710806532
License date	Jul 28, 2016
Licensed Content Publisher	John Wiley and Sons
Licensed Content Publication	Experimental Physiology
Licensed Content Title	Glucose sensing by hypothalamic neurones and pancreatic islet cells: AMPle evidence for common mechanisms?
Licensed Content Author	Philip D. Mountjoy,Guy A. Rutter
Licensed Content Date	Mar 7, 2007
Licensed Content Pages	9
Type of use	Dissertation/Thesis
Requestor type	University/Academic
Format	Electronic
Portion	Figure/table
Number of figures/tables	1
Original Wiley figure/table number(s)	Figure 2
Will you be translating?	No
Title of your thesis / dissertation	LA RÉSISTANCE À L'INSULINE EN INSUFFISANCE RÉNALE CHRONIQUE ET LE RISQUE DE DÉVELOPPER UN DIABÈTE DE TYPE 2
Expected completion date	Apr 2016
Expected size (number of pages)	150
Requestor Location	francois dion
Publisher Tax ID	EU826007151
Billing Type	Invoice
Billing Address	francois dion
Total	0.00 CAD

Figure 2.7 : Tirée de l'article suivant

Rorsman P, Braun M, Zhang Q. Regulation of calcium in pancreatic alpha- and beta-cells in health and disease. Cell calcium. 2012;51(3-4):300-8. Epub 2011/12/20.



Creative Commons Attribution License (CC BY)
This article is available under the terms of the [Creative Commons Attribution License \(CC BY\)](#). You may distribute and copy the article, create extracts, abstracts, and other revised versions, adaptations or derivative works of or from an article (such as a translation), to include in a collective work (such as an anthology), to text or data mine the article, including for commercial purposes without permission from Elsevier. The original work must always be appropriately credited.

Permission is not required for this type of reuse.

Figure 2.8 : Tirée de l'article suivant

Tatulian SA. Structural Dynamics of Insulin Receptor and Transmembrane Signaling. Biochemistry. 2015;54(36):5523-32.



Title: Structural Dynamics of Insulin Receptor and Transmembrane Signaling
Author: Suren A. Tatulian
Publication: Biochemistry
Publisher: American Chemical Society
Date: Sep 1, 2015
Copyright © 2015, American Chemical Society

Logged in as: francois dion
[LOGOUT](#)

PERMISSION/LICENSE IS GRANTED FOR YOUR ORDER AT NO CHARGE

This type of permission/license, instead of the standard Terms & Conditions, is sent to you because no fee is being charged for your order. Please note the following:

- Permission is granted for your request in both print and electronic formats, and translations.
- If figures and/or tables were requested, they may be adapted or used in part.
- Please print this page for your records and send a copy of it to your publisher/graduate school.
- Appropriate credit for the requested material should be given as follows: "Reprinted (adapted) with permission from (COMPLETE REFERENCE CITATION). Copyright (YEAR) American Chemical Society." Insert appropriate information in place of the capitalized words.
- One-time permission is granted only for the use specified in your request. No additional uses are granted (such as derivative works or other editions). For any other uses, please submit a new request.

Figure 2.9 : Tirée de Wikipedia

Meiquer U. Effect of insulin on glucose uptake and metabolism. English wikipedia; 2006.

Licensing [\[edit \]](#)

 Permission is granted to copy, distribute and/or modify this document under the terms of the [GNU Free Documentation License](#), Version 1.2 or any later version published by the [Free Software Foundation](#); with no Invariant Sections, no Front-Cover Texts, and no Back-Cover Texts. A copy of the license is included in the section entitled [GNU Free Documentation License](#). Subject to [disclaimers](#).

This file is licensed under the [Creative Commons Attribution-Share Alike 3.0 Unported](#) license. Subject to [disclaimers](#).

You are free:

- **to share** – to copy, distribute and transmit the work
- **to remix** – to adapt the work

Under the following conditions:

- **attribution** – You must attribute the work in the manner specified by the author or licensor (but not in any way that suggests that they endorse you or your use of the work).
- **share alike** – If you alter, transform, or build upon this work, you may distribute the resulting work only under the same or similar license to this one.

 SOME RIGHTS RESERVED

This licensing tag was added to this file as part of the [GFDL licensing update](#).

Figure 2.10 : Tirée de l'article suivant

Scheepers A, Joost HG, Schurmann A. The glucose transporter families SGLT and GLUT: molecular basis of normal and aberrant function. JPEN Journal of parenteral and enteral nutrition. 2004;28(5):364-71. Epub 2004/09/29.





Title: The glucose transporter families SGLT and GLUT: molecular basis of normal and aberrant function:
Author: A Scheepers, HG Joost, A Schurmann
Publication: Journal of Parenteral and Enteral Nutrition
Publisher: SAGE Publications
Date: 09/01/2004
Copyright © 2004, © SAGE Publications

Logged in as:
francois dion
[LOGOUT](#)

Gratis Reuse

This type of use includes making copies (print or electronic) for students, staff or faculty at a non-commercial, academic institution in a coursepack, library reserve, virtual learning environment, etc. Electronic coursepacks/copies must be distributed through a password protected system. Electronic content cannot be accessible on the internet, to the general public.

Permission to download articles and make copies for coursepacks and electronic reserve collections is granted at no charge if your institution has a Combined or E-Only Institutional subscription to this journal. If your Institution has a Print-Only subscription, please select 'My institution does NOT subscribe to this journal' to complete your request.

If your Institution subscribes to an Academic annual license (i.e. from the CCC, CLA, etc.) this reuse may already be allowed without further permission. Please refer to the terms of your annual license prior to completing this request.

Figure 2.11 : Tirée de l'article suivant

Sarafidis PA, Ruilope LM. Insulin Resistance, Hyperinsulinemia, and Renal Injury: Mechanisms and Implications. American Journal of Nephrology. 2006;26(3):232-44.

KARGER PUBLISHERS LICENSE TERMS AND CONDITIONS	
Mar 09, 2016	
<hr/> <hr/>	
<p>This Agreement between francois dion ("You") and Karger Publishers ("Karger Publishers") consists of your license details and the terms and conditions provided by Karger Publishers and Copyright Clearance Center.</p>	
License Number	3824860712291
License date	Mar 09, 2016
Licensed Content Publisher	Karger Publishers
Licensed Content Publication	American Journal of Nephrology
Licensed Content Title	Insulin Resistance, Hyperinsulinemia, and Renal Injury: Mechanisms and Implications
Licensed copyright line	Copyright © 2006, Karger Publishers
Licensed Content Author	Sarafidis Pantelis A., Ruilope Luis M.
Licensed Content Date	Jul 19, 2006
Licensed Content Volume Number	26
Licensed Content Issue Number	3
Special issue or supplement	None
Type of Use	Thesis/Dissertation
Requestor type	student
Format	Electronic
Portion	figures/tables/illustrations
Number of figures/tables/illustrations	1
Include Image file	no
Rights for	Main product
Duration of use	Life of current edition/presentation
Creation of copies for the disabled	yes
With minor editing privileges	no
For distribution to	Canada
In the following language(s)	Original language plus one translation
Specific languages	Figure in English, Thesis in french
The lifetime unit quantity of new product	1
The requesting person/organization is:	Francois Dion, Université de montréal

Figure 2.12 : Tirée de l'article suivant

Alejandro EU, Gregg B, Blandino-Rosano M, Cras-Meneur C, Bernal-Mizrachi E. Natural history of beta-cell adaptation and failure in type 2 diabetes. Molecular aspects of medicine. 2015;42:19-41. Epub 2014/12/30.

ELSEVIER LICENSE TERMS AND CONDITIONS		Mar 09, 2016
<hr/> <hr/>		
<p>This is a License Agreement between francois dion ("You") and Elsevier ("Elsevier") provided by Copyright Clearance Center ("CCC"). The license consists of your order details, the terms and conditions provided by Elsevier, and the payment terms and conditions.</p>		
<p>All payments must be made in full to CCC. For payment instructions, please see information listed at the bottom of this form.</p>		
Supplier	Elsevier Limited The Boulevard, Langford Lane Kidlington, Oxford, OX5 1GB, UK	
Registered Company Number	1982084	
Customer name	francois dion	
Customer address		
License number	3824861323355	
License date	Mar 09, 2016	
Licensed content publisher	Elsevier	
Licensed content publication	Molecular Aspects of Medicine	
Licensed content title	Natural history of β -cell adaptation and failure in type 2 diabetes	
Licensed content author	Emilyn U. Alejandro, Brigid Gregg, Manuel Blandino-Rosano, Corentin Cras-Meneur, Ernesto Bernal-Mizrachi	
Licensed content date	April 2015	
Licensed content volume number	42	
Licensed content issue number	n/a	
Number of pages	23	
Start Page	19	
End Page	41	
Type of Use	reuse in a thesis/dissertation	
Intended publisher of new work	other	
Portion	figures/tables/illustrations	
Number of figures/tables/illustrations	1	
Format	electronic	
Are you the author of this Elsevier article?	No	

Figure 3.1 : Adaptée de l'article suivant

Nigwekar SU, Thadhani RI. Shining light on vitamin D trials in chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2013;83(2):198-200.

ELSEVIER LICENSE TERMS AND CONDITIONS		Mar 09, 2016
<hr/> <p>This is a License Agreement between francois dion ("You") and Elsevier ("Elsevier") provided by Copyright Clearance Center ("CCC"). The license consists of your order details, the terms and conditions provided by Elsevier, and the payment terms and conditions.</p> <p>All payments must be made in full to CCC. For payment instructions, please see information listed at the bottom of this form.</p>		
Supplier	Elsevier Limited The Boulevard, Langford Lane Kidlington, Oxford, OX5 1GB, UK	
Registered Company Number	1982084	
Customer name	francois dion	
Customer address		
License number	3824880686253	
License date	Mar 09, 2016	
Licensed content publisher	Elsevier	
Licensed content publication	Kidney International	
Licensed content title	Shining light on vitamin D trials in chronic kidney disease	
Licensed content author	Sagar U. Nigwekar, Ravi I. Thadhani	
Licensed content date	February 2013	
Licensed content volume number	83	
Licensed content issue number	2	
Number of pages	3	
Start Page	198	
End Page	200	
Type of Use	reuse in a thesis/dissertation	
Intended publisher of new work	other	
Portion	figures/tables/illustrations	
Number of figures/tables/illustrations	1	
Format	electronic	
Are you the author of this Elsevier article?	No	
Will you be translating?	No	