

# Interactions incrétines-adipocytokines chez le sujet diabétique de type 2 avec ou sans stéatose hépatique non alcoolique : intérêt du GLP-1 (*glucagon-like peptide-1*) comme biomarqueur modulateur

*Incretins-adipocytokines interactions in type 2 diabetic subjects with or without non-alcoholic fatty liver disease: interest of GLP-1 (glucagon-like peptide-1) as a modulating biomarker*

Souad Chellali<sup>1</sup>  
Aissa Boudiba<sup>2</sup>  
Lakhdar Griene<sup>3</sup>  
Elhadj-Ahmed Koceir<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Université des sciences et de la technologie Houari Boumediene, Faculté des sciences biologiques, Laboratoire de biologie et physiologie des organismes, Équipe de bioénergétique et métabolisme intermédiaire, Alger, Algérie

<sup>2</sup> Service de diabétologie, CHU Mustapha Bacha, Alger, Algérie

<sup>3</sup> Laboratoire d'hormonologie, Centre Pierre et Marie Curie, CHU Mustapha Bacha, Alger, Algérie

Article reçu le 04 janvier 2019,  
accepté le 18 mars 2019

**Résumé.** Un diabète de type 2 (DT2) associé à une stéatose hépatique non alcoolique (NAFLD) aggrave et majore le risque cardiovasculaire. Des relations complexes et subtiles s'installent entre la dysfonction hépatique et l'hyperactivité du tissu adipeux. Elles sont médiées par l'insulinorésistance, les dyslipidémies et l'inflammation. Il a été mis en évidence plus récemment le rôle des incrétines, dont le GLP-1 (*glucagon-like peptide-1*) dans ces relations. Le but de cette étude est d'identifier des liens entre le profil plasmatique du GLP-1 et les marqueurs du syndrome métabolique d'une part, et les adipocytokines (leptine, adiponectine, résistine, TNF $\alpha$  et IL-6) d'autre part, chez des sujets diabétiques atteints ou non de NAFLD. L'étude a été menée sur une cohorte de 320 sujets adultes répartis en quatre groupes : stéatosiques (NAFLD), diabétiques (DT2), diabétiques-stéatosiques (NAFLD+DT2) et témoins. Chez l'ensemble des sujets, la présence d'un syndrome métabolique selon les critères de la NCEP/ATPIII a été recherchée. L'insulinorésistance a été évaluée par le modèle Homa. Les paramètres métaboliques ont été déterminés sur automate Cobas<sup>®</sup>. Les adipocytokines ont été dosées par méthode immuno-enzymatique sur lecteur Elisa human - Biotek ELX 800. La NAFLD a été confirmée par échographie abdominale et par histologie sur biopsie hépatique. Le GLP-1 plasmatique a été mesuré à jeun et en post-prandial par méthode Elisa. Les résultats montrent que l'insulinorésistance (Homa-IR) est présente dans tous les groupes. Le Homa-IR est associé négativement à la déplétion plasmatique du GLP-1 dans les groupes NAFLD, DT2 et NAFLD+DT2. Les concentrations d'adiponectine, ainsi que celles du GLP-1, sont diminuées dans tous les groupes alors que les concentrations de leptine, de résistine, du TNF $\alpha$  et de l'IL-6 présentent une relation inverse au GLP-1. Cette étude suggère que le GLP-1 plasmatique peut être considéré comme un véritable biomarqueur de transition et d'évolution entre la NAFLD et le DT2. Le GLP-1 reflète fidèlement les statuts métaboliques et inflammatoires, à la fois chez des sujets seulement stéatosiques ou seulement diabétiques, avant le stade compliqué du diabète stéatosique.

**Mots clés :** NAFLD, diabète de type 2, *glucagon-like peptide-1*, adipocytokines, insulinorésistance, syndrome métabolique

**Abstract.** Type 2 diabetes (T2DM) associated with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) increases cardiovascular risk. Complex and subtle connections are established between hepatic dysfunction and adipose tissue hyperactivity. This relationship is mediated by insulin resistance,

**Correspondance :** E.-A. Koceir  
e.koceir@gmail.com

dyslipidemia and inflammation. Recently incretins have been involved in this connection including GLP-1 (glucagon-like peptide-1). The aim of this study is to establish interactions between the GLP-1 plasma levels and metabolic syndrome clusters and adipocytokines profile (leptin, adiponectin, resistin, TNF $\alpha$  and IL-6) in diabetic subjects with or without NAFLD. The study was undertaken on 320 adult subjects divided into four groups: NAFLD, DT2, NAFLD+DT2 and control. In all subjects, the metabolic syndrome clusters was investigated according to the NCEP/ATPIII criteria. Insulin resistance was evaluated by the Homa-IR model. The metabolic parameters were determined on Cobas® automated biochemical analysis. The adipocytokines are determined by immunoassay method on Elisa human reader - Biotek ELX 800. The NAFLD has been confirmed by abdominal ultrasound and by histology. Fasting plasma GLP-1 was assessed by Elisa method. The data revealed that insulin resistance (Homa-IR) is present in all groups. Homa-IR is negatively associated with plasma GLP-1 depletion in the NAFLD, DT2 and NAFLD+DT2 groups. Adiponectin levels are decreased in all groups as for GLP-1. At the opposite, leptin, resistin, TNF $\alpha$  and IL-6 levels show an inverse correlation with GLP-1. This study suggests that plasma GLP-1 can be considered as a transition and evolution biomarker between NAFLD and T2D. GLP-1 accurately reflects metabolic and inflammatory status, both in subjects with NAFLD only or with T2D only, before the diabetes - steatosis stage.

**Key words:** NAFLD, type 2 diabetes, glucagon-like peptide-1, adipocytokines, insulin resistance, metabolic syndrome

La triade entre diabète de type 2 (DT2), stéatose hépatique non alcoolique ou *non-alcoholic fatty liver disease* (NAFLD) et inflammation adipocytaire, entretient un état physiopathologique critique, subtil [1], et devient plus complexe lorsqu'elle est associée au trouble de sécrétion des incrétines [2]. Ces différentes relations sont très peu décrites dans la littérature ou souvent incomplètement élucidées. Parmi la famille des incrétines, le *glucagon-like peptide-1* (GLP-1) a été le plus étudié pour ses multiples effets physiologiques entéro-hormonaux. Les plus cruciaux ont d'ailleurs fait l'objet de cibles pharmacologiques, ouvrant la voie à de nouvelles classes thérapeutiques d'anti-diabétiques, tels le liraglutide et l'exanatide [3, 4]. Le GLP-1 est produit via l'expression du gène codant le pro-glucagon, sécrété par les cellules L entéro-endocrines duodéno-jéjunales. Il est libéré en réponse à l'ingestion de nutriments, particulièrement les glucides et les lipides monoinsaturés. La demi-vie du GLP-1 plasmatique est très courte (2 minutes), car il est inactivé rapidement par la dipeptidyl peptidase IV (DPP-IV). Le GLP-1 se lie à ses récepteurs spécifiques cellulaires heptahélicaux couplés à l'activation de l'adénylate-cyclase qui stimule la synthèse d'AMP cyclique via la voie de signalisation de la protéine kinase A - glucose dépendante [5]. Les récepteurs du GLP-1 s'expriment dans différents tissus tels que pancréas, foie, cœur, poumon, tissu adipeux, muscle lisse, rein et cerveau (hypothalamus).

Le GLP-1 exerce plusieurs effets physiologiques dont la satiété, en freinant la vidange gastrique. Il potentialise l'insulinosécrétion post prandiale avec plus de 70 % des effets insulinothropes sans hypoglycémie (le GLP-1 n'a pas d'action directe sur la sécrétion d'insuline en absence de glucose), et inhibe la libération du glucagon [6].

La majorité des travaux qui ont exploré les relations entre NAFLD et DT2 ont décrit séparément les associations DT2-NAFLD [7], DT2-GLP-1 [8] et NAFLD-GLP-1 [9]. Ces interactions ont été le plus souvent liées à l'insulinorésistance hépatique [10] et les marqueurs du syndrome métabolique. L'ensemble des méta-analyses publiées confirme la prévalence de la NAFLD dans le DT2, et mentionne que l'hyperactivité du tissu adipeux viscéral est celle qui a été la plus incriminée dans la genèse des désordres métaboliques en rapport avec la dysfonction hépatique et les troubles vasculo-inflammatoires [11]. Cependant, durant la dernière décennie, les travaux publiés suggèrent que le véritable *primum movens* des dysfonctionnements physiologiques observés au cours de la NAFLD et du DT2 trouvent leur origine au niveau du tractus gastro-intestinal car le flux de sécrétion du GLP-1 devient inapproprié [12], avec implication du microbiote [13].

Le concept d'axes anatomiques physiologiques entre les organes a permis d'éclaircir les mécanismes impliqués. En effet, le tube digestif entretient des interactions multiples avec d'autres organes, tels que le pancréas endocrine

(entéro-insulaire via la prolifération des cellules bêta et l'inhibition de leur apoptose) [14], le foie (entéro-hépatique via l'atténuation de la néoglucogénèse et la stimulation de la glycogénogénèse) [15], le tissu adipeux (entéro-adipocytaire via la réduction du flux des acides gras libres) [16] et le cerveau (entéro-cérébro spinale via les effets physiologiques du nerf vague) [17].

Dans la famille des adipokines : la leptine, l'adiponectine et la résistine sont celles qui ont été les plus incriminées dans la coexistence DT2-NAFLD [18] via la modulation des incrétones [19]. Le processus inflammatoire vient se greffer à cette association de dysglycémies et de stéatose, activé par la voie de signalisation des cytokines pro-inflammatoires du TNF $\alpha$  (*tumor necrosis factor alpha*) [20] et des interleukines, particulièrement l'IL-6 [21]. L'objectif de cette étude est donc de mettre en évidence si le changement du profil de sécrétion du GLP-1 peut être considéré comme un biomarqueur modulateur de transition entre la NAFLD isolée et le DT2. Les effets pléiotropes du GLP-1 seront argumentés vis-à-vis des marqueurs du syndrome métabolique et les concentrations sériques en adipokines et cytokines pro-inflammatoires. La littérature décrit très peu ces interactions, motivant l'exploration de cet aspect de la question dans un cadre de biologie clinique.

## Patients et méthodes

### *Population de l'étude et protocole*

Il s'agit d'une étude transversale, cas témoins, basée sur une cohorte de 320 sujets adultes, âgés entre 35 et 60 ans, dont 212 hommes et 108 femmes. Elle a été menée dans le service de diabétologie du CHU Mustapha Pacha d'Alger entre janvier 2014 et décembre 2018. Toute l'étude a été menée sur quatre groupes de sujets appariés selon l'âge et le sexe conformément au protocole d'investigation :

- 1) 90 sujets témoins sains, volontaires, indemnes de toute pathologie, ne consommant pas d'alcool et non-fumeurs ;
- 2) 74 sujets stéatosiques sans diabète (groupe NAFLD) ;
- 3) 102 patients diabétiques (groupe DT2) sans stéatose ;
- 4) 54 patients diabétiques avec stéatose (groupe NAFLD+DT2).

Tous les sujets ont été recrutés séparément.

### *Critères d'inclusion/exclusion*

Dans cette étude, nous avons exclu tous les sujets diabétiques de type 1, DT2 traités aux sulfonyles (Glibenclamide<sup>®</sup> ou Glinide<sup>®</sup>), consommateurs d'alcool, atteints d'hépatites virales, porteurs d'un kyste hydatique, atteints de cirrhose, d'hépatocarcinome, d'hémochromatose, de maladie de Wilson, d'ictère, déficit en  $\alpha$ -1 antitrypsine et les sujets présentant une

endocrinopathie. De même, ont été exclus les sujets traités aux anti-inflammatoires stéroïdiens, antidépresseurs, les femmes enceintes et sous œstro-progestatifs. Les patients DT2 de l'étude étaient traités par metformine (Glucophage<sup>®</sup>) à raison de  $400 \pm 32$  mg/24h, en 1 à 3 prises/jour. Les doses médicamenteuses étaient stables durant toute l'étude. Aucun patient diabétique n'était insulino-requérant. L'ancienneté du diabète était variable, entre 6 et 11 ans. Les sujets stéatosiques sans DT2 n'étaient soumis à aucun traitement médicamenteux.

### *Fiches de renseignements et bilan clinique*

Le recrutement des sujets de l'étude a été effectué en hôpital de jour lors des consultations de diabétologie-gastroentérologie. La consultation avait pour but : 1) de procéder à un interrogatoire nutritionnel à l'aide d'un questionnaire de fréquence de consommation des aliments ; 2) de réaliser les mesures anthropométriques (poids corporel, tour de taille, tour de hanche) ; 3) de réaliser une mesure tensionnelle ; 4) de pratiquer une échographie abdominale pour le diagnostic de la stéatose et recherche d'hépatomégalie ; 5) de déceler l'existence de pathologies sous-jacentes pour trier les sujets selon les critères d'exclusion. Un formulaire de consentement éclairé a été signé par l'ensemble de la cohorte. Le protocole clinique a été accepté par le comité d'éthique du ministère de la Santé publique algérienne selon la déclaration d'Helsinki, tel que révisée à Edimbourg en 2000 ([www.icmje.org](http://www.icmje.org)).

### *Diagnostic radiologique de la NAFLD*

La NAFLD a été confirmée par l'échographie abdominale, l'examen histologique des biopsies hépatiques et par le profil biochimique de la fonction hépatique associée ou non à une hépatomégalie [22]. Tous les sujets de l'étude ont été diagnostiqués pour la recherche d'une NAFLD selon le protocole radiologique décrit par Saadeh *et al.* [23]. Les échographies ont été effectuées après un jeûne de 12 h dans un centre d'imagerie médicale par un seul médecin radiologue comme opérateur. Un transducteur de 3,5 MHz (Toosbee, Toshiba, Japan) est fixé à un Fibrosan, utilisé pour obtenir une vue sagittale du lobe droit du foie par rapport au rein droit. La sévérité de la stéatose a été évaluée à l'aide d'une échelle de test à 4 grades [24]. Grade 0 : échogénicité normale ; Grade 1 : légère augmentation diffuse des échos fins dans le parenchyme hépatique avec visualisation normale du diaphragme ; Grade 2 : augmentation diffuse moyenne à modérée des échos avec visualisation légèrement altérée du système vasculaire intra-hépatique et celui du diaphragme ; Grade 3 : augmentation marquée des échos fins avec mauvaise bordure du lobe postérieur droit ou non-visualisation de la vascularisation intra-hépatique et celle du diaphragme.

### *Diagnostic histo-pathologique de la NAFLD*

En complément de l'examen radiologique, les sujets de l'étude ont été soumis à une ponction-biopsie hépatique afin de distinguer la NAFLD de la NASH (stéatohépatite non alcoolique). Les lames histologiques étaient colorées à l'hématoxyline/éosine et au trichrome de Masson. La stéatose a été évaluée de manière semi quantitative par rapport au pourcentage d'hépatocytes contenant des gouttelettes lipidiques selon la classification de Kleiner. La chronicité de la NAFLD a été classée en score : absence de stéatose (< 5 % des hépatocytes affectés), stéatose inaugurale (5 % à 33 %), stéatose modérée (33 % à 66 %) et stéatose sévère (> 66 %) [25].

### *Dépistage du syndrome métabolique*

Étant donné que la stéatose hépatique est souvent associée au syndrome métabolique [26], et plus particulièrement à un état d'insulino-résistance [27], nous avons recherché ce syndrome selon les critères de la NCEP/ATPIII (*National cholesterol education program third adult treatment panel*) [28]. L'index Homa-IR (*homeostasis model assessment-insulinresistance*) nous a permis de déterminer un état d'insulinorésistance à jeun, évalué selon la formule : insuline plasmatique (mU/L) x glycémie (mmole/L)/22,5. L'IMC (indice de masse corporelle) a été calculé selon la formule de Quételet :  $IMC = \text{poids (kg)} / \text{taille}^2 \text{ (m}^2\text{)}$ . Le phénotype de l'obésité gynoïde ou androïde a été identifié par le rapport (RTH) = tour de taille (TT)/tour de hanche (TH). La masse grasse corporelle (MGC) a été estimée selon la formule :  $MGC (\%) = (1,2 \times IMC) + (0,23 \times \text{âge}) - (10,8 \times S) - 5,4$  où S représente le facteur de correction lié au sexe.

### *Prélèvements sanguins et analyses*

Les prélèvements sanguins ont été réalisés entre 8 h et 9 h du matin après un jeûne de 12 h. Les paramètres sériques suivants : glucose, triglycérides, cholestérol total, HDL-cholestérol (HDLc), LDL-cholestérol (LDLc), fer, ferritine et marqueurs de la fonction hépatique (ALAT (alanine aminotransférase), ASAT (aspartate aminotransférase), GGT (gamma-glutamyltranspeptidase), PA (phosphatase alcaline) et la bilirubine totale (BT)) ont été déterminés sur automate Cobas® (Roche Diagnostics, Meylan, France). L'insuline plasmatique a été dosée par ECL (électrochimiluminescence) sur Elecsys 2010. L'HbA1c a été déterminée par immunoturbidimétrie sur analyseur Labonacar HbA1C et la CRP sur analyseur Synchron LX®20 PRO. Les adipokines : leptine, adiponectine et résistine ont été dosées par méthode immuno-enzymatique sur lecteur Elisa human - Biotek ELX 800. Les kits Elisa ont été fournis par IBL International GmbH (Germany). La sensibilité du dosage était

donnée à 0,5 ng/mL pour la leptine, 0,012 ng/mL pour la résistine et 0,185 µg/mL pour l'adiponectine. Les cytokines pro-inflammatoires plasmatiques : TNFα (*tumor necrosis factor - alpha*) et l'interleukine IL-6 ont été mesurées sur tube EDTA par méthode Elisa, avec une sensibilité de 2 et 1 pg/mL, respectivement.

### *Détermination du glucagon-like peptide-1 (GLP-1)*

Le GLP-1 plasmatique a été dosé à jeun, mais également en post prandial quand la sécrétion des incrétines est maximale. Nous avons opté pour une stimulation nutritionnelle qui s'approche le plus du profil de sécrétion physiologique du GLP-1, par rapport au test oral au glucose. D'une part, plusieurs auteurs ne trouvent pas de différences entre les deux tests et, d'autre part, la charge glucosée peut aggraver l'hyperglycémie post-prandiale du sujet diabétique et en conséquence influencer l'incrétino-sécrétion. Étant donné que la sécrétion du GLP-1 est biphasique (2 pics de sécrétion, comme pour l'insuline), il a été dosé après 15 et 60 minutes de digestion d'une prise alimentaire de 820 kcalories renfermant glucides, lipides et protéines. Ce repas test standard est composé de 2 œufs, un verre de lait demi-écrémé (250 mL), 2 biscottes, 50 g de confiture et 1 verre de jus d'orange (250 mL). Le test est pratiqué après un jeûne de 12 heures et une abstention de traitement médicamenteux durant 24 heures. Les échantillons de sang ont été recueillis sur tubes EDTA contenant un inhibiteur de la DPP-IV pour une concentration finale de 0,01 mmol/L de tampon (Novo Nordisk A/S, Bagsværd, Denmark). Dans notre étude, nous avons opté pour le dosage du GLP-1 total renfermant les fragments les plus insulinotropes, particulièrement les fragments 7-36, 7-37 et 9-36 et très peu les fragments 1-36 et 1-37. Pour les calculs, nous avons retenu une valeur moyenne des mesures obtenues à 15 et à 60 minutes, exprimée en ΔGLP-1. Le GLP-1 a été mesuré par une méthode Elisa (avec une sensibilité de 0,6 pmol/L) selon les instructions du fournisseur (ALPCO Diagnostics, USA, <https://www.alpco.com/store/total-glp-1-elisa-7-36-and-9-36.html>).

### *Analyse statistique*

Les résultats ont été exprimés en moyenne ± erreur standard (SEM) avec un seuil de significativité  $p < 0,05$ . Le test Anova a été utilisé pour la comparaison des moyennes entre les groupes NAFLD, DT2 et NAFLD+DT2 versus sujets témoins. Le coefficient de corrélation ( $r$ ) de Spearman a été appliqué pour quantifier les associations entre le GLP-1 et les clusters du syndrome métabolique, les adipokines (leptine, adiponectine, résistine) et les marqueurs de l'inflammation (TNF-alpha, IL-6) dans les différents groupes. Les résultats ont été considérés significatifs (\*  $p < 0,05$ ), très significatifs (\*\*  $p < 0,05$ ).

< 0,01) ou hautement significatifs (\*\* $p < 0,001$ ). Le logiciel Statistica, version 10 a été utilisé pour l'analyse statistique.

## Résultats

### *Caractéristiques générales de la cohorte de l'étude*

Sur les 320 sujets explorés, on note une prédominance masculine dans les groupes NAFLD et NAFLD + DT2. En revanche, le rapport H/F s'inverse dans le groupe DT2 (*tableau 1*). Les patients des groupes DT2 et NAFLD+DT2 présentent une stéatose modérée, de grade 2, micro vésiculaire dont 45 % des hépatocytes sont surchargés en lipides, sans signes de fibrose (données non mentionnées).

### *Profil plasmatique du GLP-1*

La sécrétion du GLP-1 est nettement augmentée à l'état postprandial (PP) par rapport à l'état de jeûne (J) chez l'ensemble des groupes de l'étude (*tableau 2*). Cependant, si on considère chacun des états nutritionnels séparément, on constate que la production de GLP-1 diminue à la fois chez les sujets du groupe NAFLD et les patients du groupe DT2 par rapport aux sujets témoins (40 à 19 % de diminution respectivement,  $p < 0,001$ ). Cette déplétion en GLP-1 s'accroît lorsque la stéatose se greffe au diabète dans le groupe NAFLD+DT2 (concentrations de GLP-1 réduites de 43 et 68 %, respectivement à l'état de jeûne et en post-prandial). Dans le groupe NAFLD+DT2, nous avons retrouvé une corrélation négative entre les concentrations de GLP-1 et celles de l'HbA1c ( $r = -0,86$ ), du Homa-IR ( $r = -0,99$ ), de l'hypertriglycéridémie ( $r = -0,91$ ), du TT ( $r = -0,95$ ) et de la CRP-us ( $r = -0,49$ ).

### *Profils anthropométrique, métabolique et hémodynamique selon les critères de la NCEP*

#### **Profil anthropométrique corrélé à l'insulinorésistance**

Les valeurs du TT et du RTH, consignées dans le *tableau 1*, confirment que les sujets des groupes DT2 et NAFLD+DT2 présentent une adiposité abdominale de type androïde chez les hommes (RTH > 1), et de type gynoïde chez les femmes (RTH < 1). De même, le pourcentage de la MGC indique que l'hypertrophie du tissu adipeux est exacerbée dans les groupes NAFLD+ DT2 et dans une moindre mesure dans le groupe DT2. L'insulinémie est augmentée de 61 %, 78 % et 87 % versus témoin ( $p < 0,01$ ), dans les groupes NAFLD, DT2 et NAFLD+DT2, respectivement (*tableau 2*).

De manière similaire, l'index Homa-IR évolue dans le même sens que l'hyperinsulinisme. Si on se base sur l'utilisation du Homa-test comme outil de screening pour dépister une NAFLD chez un sujet diabétique [29], l'état d'insulinorésistance est plus important dans le groupe NAFLD+DT2 (+ 93 % vs témoins,  $p < 0,001$ ). Il en est de même, pour les groupes DT2 et NAFLD (+ 88 % et +70 %, respectivement vs sujet témoin). Une corrélation a été trouvée entre le Homa-IR et les paramètres anthropométriques : TT et le pourcentage MGC dans les groupes NAFLD et NAFLD+DT2 ( $r = +0,66$  et  $r = +0,65$ , respectivement). Cependant, cette association n'a pas été retrouvée avec l'IMC pour les deux groupes précédemment cités.

#### **Profil métabolique**

##### *Intolérance au glucose*

En se référant au dernier consensus de l'IDF (*International diabetes federation*) [30], les sujets du groupe NAFLD manifestent une intolérance au glucose et les patients des groupes DT2 et NAFLD+DT2, se caractérisant par une hyperglycémie patente > 7 mmol/L, mais sans que l'HbA1c soit > 7 % (*tableau 2*), ce qui indique leur bon équilibre glycémique. Nous avons trouvé une corrélation inverse entre GLP-1 et glycémie et entre GLP-1 et insulinémie dans le groupe NAFLD+DT2 ( $r = -0,99$ ,  $r = -0,85$ , respectivement,  $p < 0,001$ ).

##### *Dyslipidémies*

Une dyslipidémie mixte associant une hypertriglycéridémie et une hypercholestérolémie avec élévation du LDL-c et diminution du HDL-c a été observée dans tous les groupes (*tableau 2*). La corrélation est très positive entre l'hypertriglycéridémie et le pourcentage MGC dans le groupe NAFLD+DT2 ( $r = +0,87$ ,  $p < 0,001$ ). Par contre, la corrélation est négative entre l'hypertriglycéridémie et les concentrations de GLP-1 dans ce même groupe ( $r = -0,91$ ,  $p < 0,001$ ). Aucune corrélation n'a été observée entre le GLP-1 et l'hypercholestérolémie.

##### *Troubles métaboliques de la fonction hépatique*

Les données présentées dans le *tableau 2* montrent que la fonction hépatique est fortement altérée dans le groupe NAFLD+DT2 où les concentrations sériques en ALAT, ASAT et GGT sont élevées de 3 à 4 fois la valeur normale. L'hypertriglycéridémie observée dans les groupes NAFLD et NAFLD+DT2 est corrélée positivement à l'ALAT comme signe de nécrose du foie ( $r = +0,66$ ,  $r = +0,58$ , respectivement,  $p < 0,001$ ). Ceci se confirme également par le ratio ASAT/ALAT qui est effondré dans les groupes NAFLD et NAFLD+DT2 et normal dans le groupe DT2. En outre, dans le groupe NAFLD+DT2, on note qu'il existe un état inflammatoire aigu, objectivé par des concentrations de CRP-us et de ferritine élevées (*tableau 2*). Une

**Tableau 1.** Profil anthropométrique des patients NAFLD, DT2 et NAFLD+DT2.

P/G	Témoins	NAFLD	DT2	NAFLD+DT2
	N = 90	N = 74	N = 102	N = 54
H/F	59/31	49/25	35/67	35/19
Age	38 ± 3 <sup>(H)</sup>	48 ± 1 <sup>(H)</sup>	52 ± 3 <sup>(H)</sup>	57 ± 1 <sup>(H)</sup>
ans	35 ± 4 <sup>(F)</sup>	45 ± 2 <sup>(F)</sup>	50 ± 1 <sup>(F)</sup>	50 ± 1 <sup>(F)</sup>
IMC	21 ± 2 <sup>(H)</sup>	29 ± 1 <sup>(H)</sup>	28 ± 3 <sup>(H)</sup>	29 ± 1 <sup>(H)</sup>
kg/m <sup>2</sup>	22 ± 2 <sup>(F)</sup>	30 ± 1 <sup>(F)**</sup>	31 ± 1 <sup>(F)**</sup>	33 ± 1 <sup>(F)***</sup>
TT	85 ± 1 <sup>(H)</sup>	99 ± 2 <sup>(H)***</sup>	102 ± 3 <sup>(H)***</sup>	103 ± 4 <sup>(H)***</sup>
cm	77 ± 2 <sup>(F)</sup>	97 ± 1 <sup>(F)***</sup>	106 ± 1 <sup>(F)***</sup>	106 ± 2 <sup>(F)***</sup>
RTH	0,86 ± 0,05 <sup>(H)</sup>	1,05 ± 0,06 <sup>(H)***</sup>	1,06 ± 0,02 <sup>(H)***</sup>	1,07 ± 0,04 <sup>(H)***</sup>
	0,83 ± 0,03 <sup>(F)</sup>	0,91 ± 0,01 <sup>(F)***</sup>	0,89 ± 0,07 <sup>(F)***</sup>	0,93 ± 0,01 <sup>(F)***</sup>
MGC	2,22 ± 0,60 <sup>(H)</sup>	30,7 ± 1,81 <sup>(H)***</sup>	16,5 ± 1,91 <sup>(H)***</sup>	32,2 ± 1,65 <sup>(H)***</sup>
%	12,0 ± 0,41 <sup>(F)</sup>	42,0 ± 1,66 <sup>(F)***</sup>	18,7 ± 1,25 <sup>(F)***</sup>	44,1 ± 1,19 <sup>(F)***</sup>

P : paramètres. G : groupe. H : homme. F : femme. TT : tour de taille. N : effectif. IMC : indice de masse corporelle. RTH : rapport tour de taille/tour de hanche. % MGC : pourcentage de masse grasse corporelle. NAFLD : *non-alcoholic fatty liver disease* (stéatose hépatique non alcoolique). DT2 : diabète de type 2. Les valeurs moyennes sont affectées de l'erreur standard à la moyenne ( $X \pm \text{ESM}$ ). Le degré de significativité est calculé pour un risque d'erreur  $\alpha = 5\%$ . La comparaison de moyenne est établie entre les groupes NAFLD, DT2 et NAFLD +DT2 versus groupe témoin. \*\*\*  $p < 0,001$ .

corrélation est trouvée entre les concentrations d'ALAT et les marqueurs du syndrome métabolique chez les sujets NAFLD+DT2 : adiposité viscérale (TT), insulino-résistance (Homa-IR) et l'hypertriglycéridémie ( $r = +0,88$ ,  $r = +0,97$ ,  $r = +0,96$ , respectivement,  $p < 0,001$ ).

### Profil sérique des adipokines

#### Leptine

La leptinémie est élevée dans tous les groupes, associée à la fois à la stéatose et au diabète. Elle devient fortement augmentée lorsque la stéatose se greffe au diabète (groupe NAFLD+DT2). Elle augmente en moyenne de 45 %, 55 % et 71 % entre femmes et hommes, respectivement, pour les groupes cités (tableau 3). Il existe une corrélation positive entre la leptinémie et le pourcentage de MGC dans les trois groupes NAFLD, DT2 et NAFLD+DT2 ( $r = +0,77$  ;  $r = +0,95$  ;  $r = +0,68$ , respectivement, \*\*\*  $p < 0,001$ ). De même, la corrélation est positive entre la leptinémie et le Homa-IR dans les trois groupes ( $r = +0,88$  ;  $r = +0,91$  ;  $r = +0,99$ , respectivement, \*\*\*  $p < 0,001$ ). En revanche, nous avons trouvé une corrélation inverse entre la leptinémie et les concentrations de GLP-1, particulièrement dans les groupes NAFLD et NAFLD+DT2 ( $r = -0,77$ ,  $r = -0,69$ , respectivement, \*\*\*  $p < 0,001$ ).

#### Adiponectine

À l'opposé de la leptine, les concentrations sériques d'adiponectine sont effondrées chez l'ensemble des sujets NAFLD, DT2 et NAFLD+DT2, ce qui se répercute sur le ratio leptine/adiponectine (L/A) qui devient élevé (tableau 3). En outre, nous avons observé que la déplétion en adiponectinémie est associée à l'effondrement des

concentrations en GLP-1. Une corrélation positive existe entre les concentrations circulantes d'adiponectine et celles du GLP-1 dans le groupe NAFLD+DT2 ( $r = +0,95$ , \*\*\*  $p < 0,001$ ). Cette corrélation est modérée dans les groupes NAFLD et DT2 ( $r = +0,57$ ,  $r = +0,55$ , respectivement,  $p < 0,01$ ). En revanche, la corrélation est négative entre les concentrations d'adiponectine et le TT, l'insulinémie, l'hypertriglycéridémie et le Homa-IR dans les groupes de DT2 ( $r = -0,45$ ,  $r = -0,39$ ,  $r = -0,51$ ,  $r = -0,69$ , respectivement,  $p < 0,001$ ) et de NAFLD+DT2 ( $r = -0,44$ ,  $r = -0,38$ ,  $r = -0,50$ ,  $r = -0,68$ , respectivement,  $p < 0,001$ ).

#### Résistine

Les concentrations circulantes de résistine sont rehaussées chez l'ensemble des sujets diabétiques avec ou sans stéatose. La différence est très significative ( $p < 0,001$ ) pour les groupes NAFLD, DT2 et NAFLD+DT2 (tableau 3). La résistinémie évolue dans le même sens que l'insulino-résistance (Homa-IR) avec une corrélation fortement positive ( $r = +0,98$ ,  $p < 0,001$ ). Fait intéressant, les concentrations de GLP-1 sont inversement corrélées aux concentrations de résistine dans les groupes NAFLD, DT2 et NAFLD+DT2 ( $r = -0,85$ ,  $r = -0,92$ ,  $r = -0,95$ , respectivement,  $p < 0,001$ ).

### Profil sérique des cytokines pro-inflammatoires

Les concentrations sériques du TNF $\alpha$  et de l'IL-6 révèlent deux profils distincts (tableau 4) : le TNF $\alpha$  est rehaussé uniquement dans les groupes NAFLD et NAFLD+DT2 (32 % et 20 %, respectivement). En revanche, les concentrations en interleukine IL-6 tendent à s'accroître à la fois chez les sujets NAFLD, les patients NAFLD+DT2 et les

**Tableau 2.** Profil métabolique des patients NAFLD, DT2 et NAFLD+DT2.

P/G	Témoins	NAFLD	DT2	NAFLD+DT2
GLP-1 (pmole/L)	11,7 ± 1,71 <sup>(J)</sup> 34,5 ± 3,81 <sup>(PP)</sup>	9,50 ± 2,52 <sup>(J)*</sup> 20,7 ± 4,18 <sup>(PP)*</sup>	8,80 ± 1,52 <sup>(J)***</sup> 14,6 ± 2,25 <sup>(PP)***</sup>	6,62 ± 1,6 <sup>(J)***</sup> 10,9 ± 2,70 <sup>(PP)***</sup>
Glycémie (mmol/L)	4,67 ± 0,39	6,27 ± 0,09**	8,71 ± 0,33***	9,21 ± 0,42***
HbA <sub>1c</sub> (%)	5,53 ± 0,80	5,62 ± 0,70***	6,17 ± 0,18***	6,39 ± 0,11***
HbA <sub>1c</sub> (mmol/mol)	37 ± 5,35	38 ± 4,05***	44,1 ± 3,80***	46,1 ± 1,46***
Insulinémie (pmol/L)	63 ± 3,47	165 ± 5,62***	299 ± 21***	510 ± 38***
Index Homa-IR	1,98 ± 0,10	6,65 ± 0,26***	17,06 ± 1,54***	30,62 ± 2,48***
Triglycérides (mmol/L)	0,72 ± 0,049	1,50 ± 0,193***	1,76 ± 0,10***	2,22 ± 0,14***
Chol. Total (mmol/L)	3,98 ± 0,22	5,05 ± 0,40***	4,89 ± 0,57***	5,54 ± 0,93***
HDL- Chol (mmol/L)	1,24 ± 0,04 <sup>(H)</sup> 1,57 ± 0,08 <sup>(F)</sup>	1,10 ± 0,05 <sup>(H)</sup> 1,23 ± 0,05 <sup>(F)</sup>	1,05 ± 0,03 <sup>(H)</sup> 1,14 ± 0,06 <sup>(F)</sup>	1,00 ± 0,04 <sup>(H)</sup> 1,06 ± 0,02 <sup>(F)</sup>
LDL- Chol (mmol/L)	2,49 ± 0,02	3,21 ± 0,15	3,49 ± 0,12***	4,29 ± 0,06***
PAS (mm Hg)	125 ± 15	126 ± 16	129 ± 13	135 ± 17
PAD (mm Hg)	80,3 ± 3,81	79,8 ± 5,7	80,7 ± 6,3	81,3 ± 7,4
Bilirubine totale (µmol/L)	9,91 ± 0,68	11,4 ± 0,17	11,2 ± 0,68	12,1 ± 0,34
ASAT (UI/L)	21,7 ± 1,20	30,6 ± 2,61	26,4 ± 1,82	41,0 ± 4,68***
ALAT (UI/L)	26,8 ± 1,09	76,3 ± 5,90***	29,1 ± 1,58	82,1 ± 5,98***
Ratio ASAT/ALAT	0,81 ± 0,06	0,66 ± 0,04***	0,90 ± 0,05	0,63 ± 0,08***
GGT (UI/L)	21,9 ± 2,20	70,4 ± 4,42***	52,4 ± 3,66***	83,7 ± 5,24***
PA (UI/L)	79,3 ± 3,37	91,4 ± 5,11	86,5 ± 4,64	98,0 ± 6,92***
Fer (g/L)	1,28 ± 0,05	1,33 ± 0,02	1,55 ± 0,07*	1,95 ± 0,07*
Ferritine (pmol/L)	147 ± 11	204 ± 3***	172 ± 5	309 ± 4***
CRP us (mg/L)	3,5 ± 1,2	7,70 ± 0,6***	5,61 ± 0,1**	9,44 ± 0,8***

GLP1 : *glucagon-like peptide-1*. J : état de jeûne. PP : post-prandial ou état nourri. Δ GLP-1 : moyenne des valeurs à 15 et 60 minutes. Homa-IR : *homeostasis model assessment-insulinresistance*. Chol : cholestérol. HDL/LDL-C : *high-density/low-density lipoprotein cholesterol*. PAS : pression artérielle systolique. PAD : pression artérielle diastolique. ASAT : aspartate aminotransférase. ALAT : alanine aminotransférase. GGT : gamma-glutamyltranspeptidase. PA : phosphatase alcaline. CRP : protéine C réactive ultrasensible. Les valeurs moyennes sont affectées de l'erreur standard à la moyenne (X ± ESM). Le degré de significativité est calculé pour un risque d'erreur α = 5 %. La comparaison de moyenne est établie entre les groupes NAFLD, DT2 et NAFLD +DT2 versus groupe témoin. \*\*\*p < 0,001, \*\*p < 0,01.

**Tableau 3.** Profil des adipocytokines chez les patients NAFLD, DT2 et NAFLD+DT2.

P/G	Témoins	NAFLD	DT2	NAFLD+DT2
Leptine (ng/mL)	3,25 ± 0,43 <sup>(H)</sup> 5,22 ± 0,40 <sup>(F)</sup>	4,84 ± 0,6 <sup>(H)*</sup> 12,2 ± 2,6 <sup>(F)***</sup>	7,34 ± 1,57 <sup>(H)***</sup> 21,7 ± 3,18 <sup>(F)***</sup>	8,57 ± 0,99 <sup>(H)***</sup> 26,6 ± 0,28 <sup>(F)**</sup>
Adiponectine (µg/mL)	6,04 ± 0,12 <sup>(H)</sup> 8,07 ± 1,15 <sup>(F)</sup>	3,42 ± 0,24 <sup>(H)***</sup> 4,97 ± 0,76 <sup>(F)**</sup>	3,54 ± 0,33 <sup>(H)***</sup> 4,22 ± 0,48 <sup>(F)**</sup>	2,65 ± 0,51 <sup>(H)*</sup> 4,69 ± 0,36 <sup>(F)**</sup>
Résistine (ng/mL)	3,24 ± 0,81 <sup>(H)</sup> 3,80 ± 0,62 <sup>(F)</sup>	5,47 ± 0,63 <sup>(H)**</sup> 4,85 ± 0,37 <sup>(F)**</sup>	6,87 ± 0,73 <sup>(H)**</sup> 6,10 ± 0,91 <sup>(F)**</sup>	7,33 ± 0,58 <sup>(H)**</sup> 6,90 ± 0,45 <sup>(F)**</sup>
L/A	(0,53 ± 0,04)x10 <sup>-3(H)</sup> (0,64 ± 0,05)x10 <sup>-3(F)</sup>	(1,41 ± 0,01)x10 <sup>-3(H)*</sup> (2,54 ± 0,02)x10 <sup>-3(F)*</sup>	(2,07 ± 0,03)x10 <sup>-3(H)***</sup> (5,14 ± 0,04)x10 <sup>-3(F)***</sup>	(3,23 ± 0,01)x10 <sup>-3(H)**</sup> (5,67 ± 0,02)x10 <sup>-3(F)**</sup>

Les valeurs moyennes sont affectées de l'erreur standard à la moyenne (X ± ESM). P : paramètres. G : groupe. H : homme. F : femme. L/A : rapport leptine/adiponectine. La comparaison de moyenne est établie entre les groupes NAFLD, DT2 et NAFLD+DT2 versus groupe témoin. \*p < 0,05 ; \*\*p < 0,01 ; \*\*\* p < 0,001.

patients DT2. Nous avons enregistré une augmentation de 34 % ; 26 % et 21 %, respectivement (p < 0,02). En outre, il existe une corrélation positive entre les concentrations de CRP-us et celles du TNFα et de l'IL-6 dans le

groupe NAFLD+DT2 (r = +0,98 et r = +0,97, respectivement, p < 0,001). Dans le même sens, la corrélation est très positive entre le TNFα et l'IL-6 et le pourcentage MGC chez les sujets NAFLD (r = +0,66, r = +0,47, respectivement,

**Tableau 4.** Profil des cytokines pro-inflammatoires chez les patients NAFLD, DT2 et NAFLD+DT2.

P/G	Témoins	NAFLD	DT2	NAFLD+DT2
TNF- $\alpha$ (pg/mL)	6,06 $\pm$ 0,33	7,77 $\pm$ 0,15**	6,50 $\pm$ 0,23	8,92 $\pm$ 1,57***
IL-6 (pg/mL)	7,62 $\pm$ 1,43	11,6 $\pm$ 0,23***	9,66 $\pm$ 0,85*	10,3 $\pm$ 0,56***

TNF- $\alpha$  : *tumor necrosis factor – alpha*. IL-6 : interleukine-6. Les valeurs moyennes sont affectées de l'erreur standard à la moyenne (X  $\pm$  ESM). La comparaison de moyenne est établie entre les groupes NAFLD, DT2 et NAFLD+DT2 versus groupe témoin. \*\*p < 0,01 ; \*\*\*p < 0,001.

p < 0,001) et NAFLD+DT2 (r = +0,67, r = +0,49, respectivement, p < 0,001). En revanche, le GLP-1 est inversement corrélé aux concentrations de TNF $\alpha$  (r = -0,77, r = -0,59, p < 0,001) et l'IL-6 (r = -0,79, r = -0,60, p < 0,001) chez les patients des groupes DT2 et NAFLD+DT2, respectivement.

## Discussion

Ce travail démontre que les concentrations plasmatiques en GLP-1 sont significativement altérées dans la NAFLD, le DT2 et dans l'association des deux pathologies. Le profil de sa sécrétion révèle une diminution graduelle, pouvant être classée en trois stades : modérée dans la NAFLD sans diabète, sévère dans le DT2 sans stéatose et morbide dans la NAFLD diabétique. Le seuil de passage du stade morbide à sévère est reconnu lorsque la NAFLD est associée à des signes précoces de fibrose hépatique. Les facteurs qui peuvent influencer sa sécrétion ou sa biodisponibilité sont expliqués par trois mécanismes : insulino-résistance et dysfonction hépatique, hyperactivité du tissu adipeux viscéral et production des adipokines, inflammation et cytokines pro-inflammatoires.

Le premier point crucial de cette étude est en rapport avec le syndrome métabolique. Incontestablement, il se confirme que l'effet incrétine du GLP-1 est inhibé en présence d'un état d'insulino-résistance (Homa-IR), retrouvé le long de l'étude. L'insulino-résistance observée au cours de la stéatose sans diabète (groupe NAFLD) est une insulino-résistance hépatique due à une lipogénèse fortement active, marquée par l'augmentation de la synthèse *de novo* des acides gras (voie du malonyl coA), ce qui stimule une surproduction de lipoprotéines VLDL [31]. L'insulino-résistance hépatique est due également à une augmentation exacerbée de la lipolyse adipocytaire, conduisant à une infiltration lipidique intra-hépatocytaire [32]. Progressivement, cette infiltration grasseuse affecte le muscle squelettique lorsque la stéatose se complique en diabète (groupe NAFLD+DT2). À ce stade, l'insulino-résistance devient hépato-musculaire, et on assiste à une altération de la voie de signalisation insulinique via l'activation de la voie *protein kinase C epsilon* [33].

Ceci est expliqué par l'implication du tissu adipeux via la dyslipidémie à triglycérides que nous avons retrouvée dans les groupes stéatosiques avec et sans diabète. En effet, la lipolyse du tissu adipeux viscéral (TAV), fortement hypertrophié (TT, RTH, pourcentage MGC), riche en récepteurs  $\beta$  adrénergiques [34], libère un flux excessif de triglycérides à l'origine d'un pool important d'acides gras libres non estérifiés (AGNE) qui entretient l'insulino-résistance [35]. En outre, l'hyperactivité de la triglycéride lipase adipocytaire et l'inhibition de l'oxydation des AGNE expliquent en partie l'intolérance au glucose du sujet stéatosique (groupe NAFLD) et l'hyperglycémie du diabétique (groupe DT2) [36]. Le trouble de la glycorégulation observé dans les groupes NAFLD et DT2 n'est plus médié par les incrétones, vu l'absence d'effet du GLP-1, qui est un puissant inhibiteur de la sécrétion de glucagon.

Le GLP-1 agit par des effets paracrines en augmentant les concentrations de somatostatine et d'insuline [37]. Récemment, il a été prouvé qu'une libération élevée d'acides gras libres induite par un régime hyper-gras, particulièrement en AG saturés, mais pas en AG insaturés, conduit à une lipotoxicité duodénale qui inhibe la synthèse du GLP-1 [38]. Ces données expliquent l'hypoincrétinémie en GLP-1 dans la NAFLD [39] et devient effondrée dans le DT2 [40]. Dans ces travaux on retrouve une forte association entre la déplétion en GLP-1 et le dysfonctionnement des protéines G transmembranaires, particulièrement lorsqu'elles sont activées par l'augmentation des acides gras libres. Il s'agit essentiellement du GPR40 dans la cellule  $\beta$ . Cette dysrégulation affecte également d'autres protéines G, telles que le GPR119 et le GPR120. Il est décrit aussi que l'expression du GLP-1R est peu détectable (faible concentration d'ARNm) dans les hépatocytes provenant de biopsies hépatiques de sujets porteurs de NAFLD, et devient indétectable dans la NASH [41].

Le second point important de cette étude est relatif au profil des adipokines. Dans les deux groupes de diabétiques avec ou sans stéatose, nous avons mis en évidence une hypoadiponectinémie concomitante à une déplétion marquée des concentrations plasmatiques en GLP-1, avec augmentation de leptine et de résistine. L'hyperleptinémie ne semble pas être due uniquement à une hyperproduction de leptine par le tissu adipeux, car l'insulino-résistance fait augmenter les concentrations circulantes de leptine [42], mais parti-

culièrement à une situation de résistance à l'action de la leptine favorisée par les chutes de concentrations du GLP-1. En effet, il est décrit que le GLP-1 maintient un état de satiété après une prise alimentaire en régulant la sécrétion de leptine et de ghréline via le nerf vague [43]. Ceci est en faveur d'interactions majeures au niveau cérébral entre le GLP-1 et la leptine, car c'est au niveau des zones hypothalamiques (noyaux arqués et du tractus solitaire) que les récepteurs du GLP-1 (Glp-1R) et de la leptine sont répartis. Par ce biais, le GLP-1 et la leptine exercent leur effet satiétogène. Dans notre étude, il semble que le manque de GLP-1 entraîne une accumulation de la leptine dans le liquide céphalorachidien (LCR) qui inhibe son passage du sang vers le cerveau via la barrière hémato-encéphalique (HE). En effet, la leptine, transportée dans le LCR, accède au cerveau, plus précisément dans l'hypothalamus au niveau du noyau arqué, où elle sera reconnue par des récepteurs spécifiques (Lep-Rb) puis internalisée dans les neurones. Au niveau de l'hypothalamus, la fonction de sélectivité de la barrière HE est reprise par des cellules gliales, appelées tancytes, irriguées par des vaisseaux sanguins fenêtrés (capillaires perforés). C'est au niveau de ces tancytes que se fixe la leptine, puis accède aux neurones du noyau arqué. Dans notre étude, nous avons émis l'hypothèse d'un état de résistance à la pénétration de la leptine dans le cerveau (noyau arqué) où la leptine reste piégée dans les tancytes, ce qui va induire son accumulation dans le LCR. Par conséquent, elle s'accumulerait également dans le sang, ce qui expliquerait nos résultats. L'originalité de notre étude (hypothèse), sera que la déficience en GLP-1 peut être également associée à cette forme de résistance à la leptine [44].

Cet ensemble d'événements va représenter un frein sur les voies de signalisation de la leptine au niveau hypothalamique via l'inhibition de la voie de signalisation JAK-STAT3 (*Janus activated kinase-signal transducer and activator of transcription 3*) [45].

Les données obtenues avec l'adiponectine sont concomitantes à la déplétion du GLP-1, mais également à l'insulinorésistance. Plusieurs méta-analyses confirment que l'hypo-adiponectinémie s'associe le plus souvent à la NAFLD et contribue à l'apparition du DT2 chez un sujet stéatosique. Cependant l'administration d'un traitement mimétique du GLP-1 (exanatide) corrige ce trouble en augmentant les concentrations sériques d'adiponectine [46]. L'un des arguments qui explique l'hypo-adiponectinémie est lié à l'altération des mêmes voies de signalisation qui affectent à la fois l'insuline, l'adiponectine et le GLP-1 [47]. Ces voies sont médiées par l'activation de l'AMPK (*5'-AMP activated protein kinase*) et du PPAR $\alpha$  (*peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$* ). Concernant la résistine, à notre connaissance très peu d'études ont fait l'objet des effets du GLP-1 sur les sécrétions de résistine ou inversement. Les résultats que nous avons obtenus vont dans le

même sens que le Homa-IR et à l'opposé de celui du GLP-1. La littérature rapporte des faits controversés sur la résistine, car certains auteurs ne la considèrent pas comme une adipokine, mais plutôt comme une cytokine pro-inflammatoire, vu qu'elle est synergique au TNF $\alpha$  et que son rôle est plutôt corrélé au risque cardio-vasculaire qu'à l'insulinorésistance [48]. Aussi, les voies de signalisation de la résistine ne sont pas clairement élucidées. Il semble que la résistine utilise la voie du NF-kB (*nuclear factor-kB*) dans le foie, ce qui explique son niveau paroxystique chez les sujets NAFLD dans notre étude [49]. Il est intéressant de noter que le traitement par un agoniste du GLP-1 (liraglutide) fait rehausser les concentrations sériques d'adiponectine et diminue ceux de la résistine, comparativement au traitement classique par les sulfonyles (glibenclamide) [50].

Enfin, le dernier point pertinent de cette investigation est relatif au profil des cytokines pro-inflammatoires, TNF $\alpha$  et IL-6. Nous avons observé que la chute des concentrations plasmatiques en GLP-1 a été associée à une production modérée, voire excessive de ces deux cytokines. Le peu de données de la littérature laisse penser que les conclusions données à ces travaux sont souvent controversées sur cette question. Certains auteurs montrent que l'élévation des cytokines, en particulier l'IL-6, fait augmenter les concentrations de GLP-1 (données expérimentales) [51]. D'autres études, plutôt cliniques comme la nôtre, montrent l'inverse, avec une production élevée de cytokines qui entraîne une déplétion en GLP-1 [52]. Par ailleurs, des essais cliniques ont montré que la perfusion à court terme de concentrations supra physiologiques de GLP-1 dans le DT2 entraîne la diminution des concentrations d'IL-6 [53]. Cependant, ceci n'exclut pas que les sujets NAFLD+DT2 comme dans notre étude peuvent développer insidieusement une NASH. Il a été récemment décrit que la NAFLD évolue rapidement vers la NASH sans signes cliniques apparents et persiste asymptomatique dans le DT2 [54].

## Conclusion

Le changement du profil de sécrétion du GLP-1 est corrélé à un état d'insulinorésistance qui perturbe la fonction hépatique par une lipogénèse accrue et une infiltration lipidique intra-hépatocytaire, faisant le lit de la NAFLD. La dysfonction hépatique et l'hyperactivité du tissu adipeux viscéral modifient le profil des adipocytokines et altèrent la glyco-régulation, ce qui explique la coexistence d'un DT2 avec la NAFLD. Ces interactions entretiennent l'insulinorésistance et minimisent l'action bénéfique des incrétones via les effets du GLP-1. Enfin, une étude longitudinale sera souhaitable pour confirmer le rôle du GLP-1 comme véritable biomarqueur de transition entre la stéatose hépatique non alcoolique et l'intolérance au glucose du sujet diabétique.

**Liens d'intérêts :** les auteurs déclarent ne pas avoir de lien d'intérêts en rapport avec cet article.

**Remerciements.** Ce travail de recherche a été soutenu grâce aux subventions de la Direction générale de la recherche scientifique du développement technologique (DG-RSDT) du ministère de l'Enseignement supérieur algérien.

### Références

1. Yilmaz Y, Senates E, Yesil A, Ergelen R, Colak Y. Not only type 2 diabetes but also prediabetes is associated with portal inflammation and fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *J Diabetes Complications* 2014 ; 28 : 328-31.
2. Scheen AJ. Pharmacokinetics in patients with chronic liver disease and hepatic safety of incretin-based therapies for the management of type 2 diabetes mellitus. *Clin Pharmacokinet* 2014 ; 53 : 773-85.
3. Tian F, Zheng Z, Zhang D, He S, Shen J. Efficacy of liraglutide in treating type 2 diabetes mellitus complicated with non-alcoholic fatty liver disease. *Biosci Rep* 2018 ; 38 : pii : BSR20181304.
4. Kenny PR, Brady DE, Torres DM, Ragozzino L, Chalasani N, Harrison SA. Exenatide in the treatment of diabetic patients with non-alcoholic steatohepatitis : a case series. *Am J Gastroenterol* 2010 ; 105 : 2707-9.
5. Holz GG. Epac : a new cAMP-binding protein in support of glucagon-like peptide-1 receptor-mediated signal transduction in the pancreatic beta-cell. *Diabetes* 2004 ; 53 : 5-13.
6. Andersen A, Lund A, Knop FK, Vilsbøll T. Glucagon-like peptide 1 in health and disease. *Nat Rev Endocrinol* 2018 ; 14 : 390-403.
7. Lallukka S, Yki-Järvinen H. Non-alcoholic fatty liver disease and risk of type 2 diabetes. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2016 ; 30 : 385-95.
8. Gupta A, Jelinek HF, Al-Aubaidy H. Glucagon like peptide-1 and its receptor agonists : their roles in management of type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Metab Syndr* 2017 ; 11 : 225-30.
9. Armstrong MJ, Hull D, Guo K, Barton D, Hazlehurst JM, Gathercole LL, *et al.* Glucagon-like peptide 1 decreases lipotoxicity in non-alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol* 2016 ; 64 : 399-408.
10. Birkenfeld AL, Shulman GI. Non alcoholic fatty liver disease, hepatic insulin resistance and type 2 diabetes. *Hepatology* 2014 ; 59 : 713-23.
11. Tchernof A, Després JP. Pathophysiology of human visceral obesity : an update. *Physiol Rev* 2013 ; 93 : 359-404.
12. Zarrinpar A, Loomba R. Review article : the emerging interplay among the gastrointestinal tract, bile acids and incretins in the pathogenesis of diabetes and non-alcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2012 ; 36 : 909-21.
13. Bischoff SC. The intestinal microbiome and metabolic diseases : from obesity to diabetes and nonalcoholic steatohepatitis. *Internist (Berl)* 2017 ; 58 : 441-8.
14. Ranganath LR. The entero-insular axis : implications for human metabolism. *Clin Chem Lab Med* 2008 ; 46 : 43-56.
15. Visschers RG, Luyer MD, Schaap FG, Olde Damink SW, Soeters PB. The gut-liver axis. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2013 ; 16 : 576-81.
16. Musso G, Gambino R, Pacini G, De Michieli F, Cassader M. Prolonged saturated fat-induced, glucose-dependent insulinotropic polypeptide elevation is associated with adipokine imbalance and liver injury in non alcoholic steatohepatitis : dysregulated entero- adipocyte axis as a novel feature of fatty liver. *Am J Clin Nutr* 2009 ; 89 : 558-67.
17. Latorre R, Sternini C, De Giorgio R, Greenwood-Van Meerveld B. Enteroendocrine cells : a review of their role in brain-gut communication. *Neurogastroenterol Motil* 2016 ; 28 : 620-30.
18. Hui E, Xu A, Bo Yang H, Lam KS. Obesity as the common soil of non-alcoholic fatty liver disease and diabetes : role of adipokines. *J Diabetes Investig* 2013 ; 4 : 413-25.
19. Cox AJ, Zhang P, Bowden DW, Devereaux B, Davoren PM, Cripps AW, *et al.* Enteroendocrine and adipokine associations with type 2 diabetes : phenotypic risk scoring approaches. *J Gastroenterol Hepatol* 2018 ; 33 : 1357-64.
20. Nielsen ST, Lehrskov-Schmidt L, Krogh-Madsen R, Solomon TPJ, Lehrskov-Schmidt L, Holst JJ, *et al.* Tumour necrosis factor-alpha infusion produced insulin resistance but no change in the incretin effect in healthy volunteers. *Diabetes Metab Res Rev* 2013 ; 29 : 655-63.
21. Donath MY, Konrad D. IL-6-type cytokine signaling in adipocytes induces intestinal GLP-1 secretion. *Diabetes* 2018 ; 67 : 36-45.
22. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Charlton M, Cusi K, Rinella M, *et al.* The diagnosis and management of non alcoholic fatty liver disease : practice guidance from the American association for the study of liver diseases. *Hepatology* 2018 ; 67 : 328-57.
23. Saadeh S, Younossi ZM, Remer EM, Gramlich T, Ong JP, Hurley M, *et al.* The utility of radiological imaging in non- alcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2002 ; 123 : 745-50.
24. Tapper EB, Hunink MG, Afdhal NH, Lai M, Sengupta N. Cost-effectiveness analysis : risk stratification of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) by the primary care physician using the NAFLD fibrosis score. *PLoS One* 2016 23 ; 11(2) : e0147237.
25. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, Cummings OW, *et al.* Nonalcoholic steatohepatitis clinical research network. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2005 ; 41 : 1313-21.
26. Golabi P, Ogtogsuren M, de Avila L, Sayiner M, Rafiq N, Younossi ZM. Components of metabolic syndrome increase the risk of mortality in nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Medicine (Baltimore)* 2018 ; 97(13) : e0214.
27. Privitera G, Spadaro L, Alagona C, Calanna S, Piro S, Rabuazzo AM, *et al.* Hepatic insulin resistance in NAFLD : relationship with markers of atherosclerosis and metabolic syndrome components. *Acta Diabetol* 2016 ; 53 : 449-59.
28. Expert panel on detection evaluation, treatment of high blood cholesterol in adults. Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (adult treatment panel III). *JAMA* 2001 ; 285 : 2486-97.
29. Gutierrez-Buey G, Núñez-Córdoba JM, Llaverro-Valero M, Gargallo J, Salvador J, Escalada J. Is HOMA-IR a potential screening test for non-alcoholic fatty liver disease in adults with type 2 diabetes ? *Eur J Intern Med* 2017 ; 41 : 74-8.
30. Czupryniak L. Guidelines for the management of type 2 diabetes : is ADA and EASD consensus more clinically relevant than the IDF recommendations ? *Diabetes Res Clin Pract* 2009 ; 86(Suppl. 1) : S22-5.

31. Lucero D, Miksztowicz V, Gualano G, Longo C, Landeira G, Álvarez E, *et al.* Nonalcoholic fatty liver disease associated with metabolic syndrome : influence of liver fibrosis stages on characteristics of very low-density lipoproteins. *Clin Chim Acta* 2017; 473 : 1-8.
32. Mu W, Cheng XF, Liu Y, Lv QZ, Liu GL, Zhang JG, *et al.* Potential nexus of non-alcoholic fatty liver disease and type 2 diabetes mellitus : insulin resistance between hepatic and peripheral tissues. *Front Pharmacol* 2019; 9 : 1566.
33. Jornayvaz FR, Shulman GI. Diacylglycerol activation of protein kinase cepsilon and hepatic insulin resistance. *Cell Metab* 2012; 15 : 574-84.
34. Ibrahim MM. Subcutaneous and visceral adipose tissue : structural and functional differences. *Obes Rev* 2010; 11 : 11-8.
35. Samuel VT, Petersen KF, Shulman GI. Lipid-induced insulin resistance : unravelling the mechanism. *Lancet* 2010; 375 : 2267-77.
36. Xu S, Yang G, Yang M, Li S, Liu H, Li L. Elevated adipose triglyceride lipase in newly diagnosed type 2 diabetes mellitus with hypertension. *Am J Med Sci* 2011; 342 : 452-5.
37. Sandoval DA, D'Alessio DA. Physiology of proglucagon peptides: role of glucagon and GLP-1 in health and disease. *Physiol Rev* 2015; 95 : 513-48.
38. Martchenko A, Oh RH, Wheeler SE, Gurses P, Chalmers JA, Brubaker PL. Suppression of circadian secretion of glucagon-like peptide-1 by the saturated fatty acid, palmitate. *Acta Physiol (Oxford, England)* 2018; 222 : e13007.
39. Bernsmeier C, Meyer-Gerspach AC, Blaser LS, Jeker L, Steinert RE, Heim MH, *et al.* Glucose-induced glucagon-like Peptide 1 secretion is deficient in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *PLoS One* 2014; 9 : e87488.
40. Astiarraga B, Chueire VB, Souza AL, Pereira-Moreira R, Monte Alegre S, Natali A, *et al.* Effects of acute NEFA manipulation on incretin-induced insulin secretion in participants with and without type 2 diabetes. *Diabetologia* 2018; 61 : 1829-37.
41. Svegliati-Baroni G, Saccomanno S, Rychlicki C, Agostinelli L, De Minicis S, Candelaresi C, *et al.* Glucagon-like peptide-1 receptor activation stimulates hepatic lipid oxidation and restores hepatic signalling alteration induced by a high-fat diet in nonalcoholic steatohepatitis. *Liver Int* 2011; 31 : 1285-97.
42. Moonishaa TM, Nanda SK, Shamraj M, Sivaa R, Sivakumar P, Ravichandran K. Evaluation of leptin as a marker of insulin resistance in type 2 diabetes mellitus. *Int J Appl Basic Med Res* 2017; 7 : 176-80.
43. Ronveaux CC, Tomé D, Raybould HE. Glucagon-like peptide 1 interacts with ghrelin and leptin to regulate glucose metabolism and food intake through vagal afferent neuron signaling. *J Nutr* 2015; 145 : 672-80.
44. Hagan MM, Havel PJ, Seeley RJ, Woods SC, Ekhaton NN, Baker DG. Cerebrospinal fluid and plasma leptin measurements : covariability with dopamine and cortisol in fasting humans. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84 : 3579-85.
45. Bouret SG, Simerly RB. Development of leptin-sensitive circuits. *J Neuroendocrinol* 2007; 19 : 575-82.
46. Savvidou S, Karatzidou K, Tsakiri K, Gagalis A, Hytioglou P, Goulis J. Circulating adiponectin levels in type 2 diabetes mellitus patients with or without non-alcoholic fatty liver disease : results of a small, open-label, randomized controlled intervention trial in a subgroup receiving short-term exenatide. *Diabetes Res Clin Pract* 2016; 113 : 125-34.
47. Ben-Shlomo S, Zvibel I, Shnell M, Shlomai A, Chepurko E, Halpern Z, *et al.* Glucagon-like peptide-1 reduces hepatic lipogenesis via activation of AMP-activated protein kinase. *J Hepatol* 2011; 54 : 1214-23.
48. Reilly MP, Lehrke M, Wolfe ML, Rohatgi A, Lazar MA, Rader DJ. Resistin is an inflammatory marker of atherosclerosis in humans. *Circulation* 2005; 111 : 932-9.
49. Qi MM, Guan XQ, Zhu LR, Wang LJ, Liu L, Yang YP. The effect of resistin on nuclear factor-kB and tumor necrosis factor-alpha expression in hepatic steatosis. *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi* 2012; 20 : 40-4.
50. Li D, Xu X, Zhang Y, Zhu J, Ye L, Lee KO, *et al.* Liraglutide treatment causes upregulation of adiponectin and downregulation of resistin in Chinese type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 2015; 110 : 224-8.
51. Kahles F, Meyer C, Möllmann J, Diebold S, Findeisen HM, Leberherz C, *et al.* GLP-1 secretion is increased by inflammatory stimuli in an IL-6-dependent manner, leading to hyperinsulinemia and blood glucose lowering. *Diabetes* 2014; 63 : 3221-9.
52. Lehrskov-Schmidt L, Lehrskov-Schmidt L, Nielsen ST, Holst JJ, Møller K, Solomon TP. The effects of TNF- $\alpha$  on GLP-1 stimulated plasma glucose kinetics. *J Clin Endocrinol Metab* 2015; 100 : E616-22.
53. Daousi C, Pinkney JH, Cleator J, Wilding JP, Ranganath LR. Acute peripheral administration of synthetic human GLP-1 (7-36 amide) decreases circulating IL-6 in obese patients with type 2 diabetes mellitus : a potential role for GLP-1 in modulation of the diabetic pro-inflammatory state ? *Regulatory Peptides* 2013; 183 : 54-61.
54. Radaelli MG, Martucci F, Perra S, Accornero S, Castoldi G, Latuada G, *et al.* NAFLD/NASH in patients with type 2 diabetes and related treatment options. *J Endocrinol Invest* 2018; 41 : 509-21.