

**Université de Sherbrooke
Sherbrooke, Québec
Canada**

**Impact de la lipolyse intravasculaire des triglycérides (TG) sur
le métabolisme myocardique chez le rat**

**Sébastien Ménard
Département de physiologie et biophysique
Service d'endocrinologie**

**Mémoire présenté à la Faculté de médecine
En vue de l'obtention du grade de maître ès sciences (M.Sc.)**

Juillet 2008



Library and
Archives Canada

Bibliothèque et
Archives Canada

Published Heritage
Branch

Direction du
Patrimoine de l'édition

395 Wellington Street
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

395, rue Wellington
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

Your file *Votre référence*
ISBN: 978-0-494-49544-5
Our file *Notre référence*
ISBN: 978-0-494-49544-5

NOTICE:

The author has granted a non-exclusive license allowing Library and Archives Canada to reproduce, publish, archive, preserve, conserve, communicate to the public by telecommunication or on the Internet, loan, distribute and sell theses worldwide, for commercial or non-commercial purposes, in microform, paper, electronic and/or any other formats.

The author retains copyright ownership and moral rights in this thesis. Neither the thesis nor substantial extracts from it may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

AVIS:

L'auteur a accordé une licence non exclusive permettant à la Bibliothèque et Archives Canada de reproduire, publier, archiver, sauvegarder, conserver, transmettre au public par télécommunication ou par l'Internet, prêter, distribuer et vendre des thèses partout dans le monde, à des fins commerciales ou autres, sur support microforme, papier, électronique et/ou autres formats.

L'auteur conserve la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent cette thèse. Ni la thèse ni des extraits substantiels de celle-ci ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans son autorisation.

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms may have been removed from this thesis.

Conformément à la loi canadienne sur la protection de la vie privée, quelques formulaires secondaires ont été enlevés de cette thèse.

While these forms may be included in the document page count, their removal does not represent any loss of content from the thesis.

Bien que ces formulaires aient inclus dans la pagination, il n'y aura aucun contenu manquant.

■ ■ ■
Canada

Résumé

Notre alimentation et notre santé sont à la base du métabolisme des différents substrats. La sélection des substrats énergétiques principalement utilisés, soit le glucose ou les acides gras (AG), est modulée entre autre par l'insuline, les niveaux de glycémie et la disponibilité des lipides circulants. Un excès d'apport d'AG aux organes est associé à une série de phénomènes physiopathologiques collectivement désignés par le terme « lipotoxicité ». La lipotoxicité sous-tend le développement de la résistance à l'insuline et du diabète mellitus de type 2 (DMT2). Par ailleurs, il est à la base de dysfonctions organiques associées à cette pathologie, notamment la dysfonction du système cardiovasculaire et l'augmentation de la susceptibilité du myocarde diabétique au développement de l'insuffisance cardiaque. Une augmentation de l'apport myocardique d'AG pourrait être en cause dans la grande dépendance du cœur diabétique aux AG comme source pratiquement unique d'énergie. De plus, ceci pourrait mener à une diminution de l'utilisation du glucose au niveau cardiaque, augmentant la susceptibilité du myocarde diabétique aux dommages ischémiques.

L'apport tissulaire des AG est un processus très complexe. D'une part, les AG circulant liés à l'albumine plasmatique (acides gras libres - AGL) sont immédiatement disponibles aux tissus par diffusion simple ou facilitée, donc dépendant directement de la concentration circulante et du flot sanguin à l'organe. Le tissu adipeux est le siège du stockage et de la libération des AGL dans la circulation sanguine et ainsi régule la disponibilité de ces substrats aux autres organes. L'autre source d'AG disponible aux tissus, la lipolyse intravasculaire des triglycérides (LIVTG), est régulée par l'activité de la lipoprotéine lipase (LpL). Cette enzyme est présente à la surface luminale de

l'endothélium des capillaires des tissus et hydrolyse les TG des chylomicrons et des lipoprotéines de très basse densité (VLDL). Or, le rôle précis joué par la LIVTG dans la régulation de l'utilisation *in vivo* des substrats énergétiques cardiaques dans les différentes conditions physiologiques et pathologiques n'est pas bien connu. En particulier, la contribution de cette source à la lipotoxicité cardiaque observée dans les états de résistance à l'insuline doit être davantage investiguée.

Le but de ce présent mémoire est de mieux connaître le rôle que joue la LIVTG sur la sélection des substrats énergétiques cardiaques en condition normale et dans le DMT2. Nous avons utilisé le rat, un modèle animal chez lequel nous avons pu établir un DMT2 à l'aide d'une diète riche en fructose et en gras et d'une faible dose de streptozotocine. Nous avons inhibé la LIVTG à l'aide de l'injection intraveineuse de Triton WR1339, un détergent non-ionique inhibiteur de la LpL. Nous avons eu recours à des méthodes isotopiques conventionnelles mais aussi à la tomographie par émission de positrons (microTEP) afin de quantifier l'impact de la LIVTG sur le captage myocardique des AGL et des AG dérivés des TG, le flot sanguin coronarien, le métabolisme glucidique (MMRG) et oxydatif total (MVO₂) au niveau cardiaque.

Ce mémoire a pour rôle de suggérer que la disponibilité des AG via la LIVTG régule de façon complexe l'utilisation des substrats énergétiques myocardiques *in vivo* chez le rat. Par ailleurs, nous avons pu établir un excellent modèle de DMT2 chez le rat. La disponibilité de ce modèle pourra nous permettre dans un futur rapproché d'examiner le rôle potentiel de la LIVTG dans la régulation du métabolisme énergétique cardiaque dans le DMT2.

Mots-clés : Lipolyse intravasculaire des triglycérides, Diabète mellitus de type 2, Tomographie par émission de positrons, Métabolisme du glucose, Coeur

MEMBRES DU JURY

- ❖ **Dr. André Carpentier** Directeur de recherche principal

Professeur agrégé du département de physiologie et
biophysique de la faculté de médecine et des sciences
de la santé de l'université de Sherbrooke.

- ❖ **Dr. Philippe Sarret** Professeur adjoint du département de physiologie et

biophysique de la faculté de médecine et des sciences
de la santé de l'université de Sherbrooke.

- ❖ **Dr. Pedro D'Orleans-Juste** Professeur titulaire du département de pharmacologie

de la faculté de médecine et des sciences de la santé
de l'université de Sherbrooke.

Tables des matières

Liste des illustrations

Liste des tableaux

Liste des sigles, abréviations et symboles

Résumé

Contributions scientifiques

1. Introduction

1.1. Le métabolisme cardiaque

1.1.1. Le Glucose *p.1*

1.1.1.1. L'Utilisation Cellulaire du Glucose par le Cœur

1.1.1.1.1. Les Transporteurs Cellulaires du Glucose

1.1.1.1.2. La Glycolyse

1.1.1.1.3. La Glycogénogenèse

1.1.1.1.4. La Glycogénolyse

1.1.1.1.5. Le Métabolisme Mitochondrial

1.1.1.1.6. Le Cycle de Krebs

1.1.2. Les Acides Gras *p.9*

1.1.2.1. Caractéristiques Chimiques et Composition des Acides Gras chez l'Humain

1.1.2.1 L'utilisation Cellulaire des Acides Gras par le Cœur

1.1.2.1.1. Les Transporteurs Cellulaires des Acides Gras

1.1.2.1.2. Les Transporteurs Mitochondriaux

1.1.2.1.3. L'oxydation

1.1.2.1.4. L'estérification

1.1.3. Les Autres Substrats Énergétiques *p.16*

1.2. Régulation des Substrats Énergétiques au Niveau Cardiaque	
1.2.1. Régulation du Métabolisme du Glucose	<i>p.17</i>
1.2.1.1. Rôle de l'Insuline	
1.2.2. Régulation du Métabolisme Lipidique	<i>p.18</i>
1.2.2.1. Le Transport Sanguin et le Métabolisme des Lipoprotéines	
1.2.2.2. La Lipoprotéine Lipase dans le Métabolisme des Acides Gras	
1.2.3. Résumé du Métabolisme Cardiaque	<i>p.26</i>
1.3. Le métabolisme des AG, la résistance à l'insuline et le diabète de type 2	
1.3.1. Paradigmes expérimentaux diabétogéniques	<i>p.28</i>
1.3.1.1. Perfusion intraveineuse de lipides	
1.3.1.2. Diètes à haute teneur en lipides	
1.3.2. Niveaux circulants et tissulaires d'AGL augmentés dans le diabète et le pré-diabète	<i>p.31</i>
1.3.3. Augmentation de la captation des AG musculaires	<i>p.33</i>
1.3.4. Réduction de l'oxydation des AG musculaires	<i>p.33</i>
1.4. Désordre du métabolisme myocardique dans le diabète de type 2	
1.4.1. Epidémiologie de l'insuffisance cardiaque associée à la résistance à l'insuline et au diabète de type 2	<i>p.35</i>
1.4.2. Altération du métabolisme myocardique dans la résistance à l'insuline et le diabète de type 2	<i>p.39</i>
1.4.3. Rôle potentiel des lipoprotéines riches en triglycérides dans la pathogenèse des anomalies de la régulation du métabolisme myocardique	<i>p.41</i>
1.4.4. Méthodes expérimentales d'inhibition de la lipolyse intravasculaire des lipoprotéines riches en triglycérides	<i>p.43</i>

1.5. L'utilisation de traceurs pour la détermination du métabolisme cardiaque <i>in vivo</i>	
1.5.1. Principe de la tomographie par émission de positrons (TEP)	p.45
1.5.1.1. Traceurs utilisés lors de la TEP	
1.5.1.1.1. 2-deoxy-2-[¹⁸ F]-fluoro-D-glucose	
1.5.1.1.2. [¹³ N]-NH ₃	
1.5.1.1.3. [¹¹ C]-Acétate	
1.5.1.2. Le métabolisme et les traceurs radioactifs standards	
1.5.1.2.1. [³ H]-Trioléine	
1.5.1.2.2. [¹⁴ C]-Bromopalmitate	
2. <u>Objectifs de maîtrise</u>	p.58
3. <u>L'article accepté dans Molecular Imaging and Biology</u>	p.59
4. <u>Autres matériels et méthodes</u>	p.92
4.1. Développement d'un nouveau modèle murin de diabète de type 2	
4.2. Séparation des sous-types mitochondriaux : sous-sarcolemmales et les intramyofibrillaires	
4.3. Activité enzymatique de la carnitine-palmitoyl transférase 1	
5. <u>Autres Résultats</u>	p.95
5.1. Caractérisation des rats <i>High Fat – High Fructose + Streptozotocine</i>	
5.1.1. Données métaboliques suite à un clamp normoglycémique-hyperinsulinémique chez les rats <i>High Fat – High Fructose + Streptozotocine</i>	
5.1.2. Utilisation des AG par les mitochondries cardiaques chez les rats <i>High Fat – High Fructose + Streptozotocine</i>	
5.1.3. Effets de l'inhibition de la lipolyse intravasculaire	
5.1.3.1. Sur le captage lipidique tissulaire	

6. <u>Discussion et Perspectives</u>	<i>p.110</i>
6.1. L'effet de la modulation aigue de la lipolyse intravasculaire des triglycérides sur le métabolisme myocardique <i>in vivo</i>	
6.2. Le rat <i>High Fat – High Fructose + Streptozotocine</i> et le métabolisme myocardique	
7. <u>Conclusion</u>	<i>p.119</i>
8. <u>Remerciements</u>	<i>p.120</i>
9. <u>Références</u>	<i>p.121</i>

Liste des illustrations

Figure 1 : Transporteurs du glucose de type GLUT	p.2
Figure 2 : Voie de translocation de GLUT-4 à la membrane plasmique	p.3
Figure 3 : Voie de la glycolyse	p.4
Figure 4 : Voies de la glycogénèse et de la glycogénolyse	p.6
Figure 5 : Le cycle de Krebs	p.9
Figure 6 : Flux des AG au niveau cellulaire	p.11
Figure 7 : Type de transporteurs des AG	p.12
Figure 8 : Transport des acyl-CoA à travers la mitochondrie	p.14
Figure 9 : Signalisation cellulaire induite par l'insuline sur les cardiomyocytes	p.18
Figure 10 : Catabolisme et métabolisme des lipoprotéines	p.20
Figure 11 : Synthèse et translocation de la LpL	p.24
Figure 12 : Spill-over des AG vers les tissus périphériques chez le diabétique	p.32
Figure 13 : Captation et métabolisme des AG au niveau cardiaque	p.42
Figure 14 : TEP pour petits animaux au Centre de recherche clinique Étienne-Le Bel du Centre hospitalier universitaire de Sherbrooke	p.46
Figure 15 : Détection des photons gamma par les détecteurs à scintillation	p.47
Figure 16 : Reconstruction tomographique provenant d'un cœur de rat grâce à la TEP	p.48
Figure 17 : Structure d'un cœur à l'imagerie par TEP	p.48
Figure 18 : Représentation d'un cœur avec la délimitation des régions d'intérêts (ROI)	p.49
Figure 19 : Modèle multicompartimental de Sokoloff	p.50
Figure 20 : Exemple graphique de l'équation de PatLak	p.51
Figure 21 : Modèle cinétique à 3 compartiments du $^{13}\text{NH}_3$ -Ammoniac	p.54
Figure 22 : Modèle cinétique à 3 compartiments du ^{11}C -Acétate	p.56
Figure 23 : Activité de la CPT-1 des mitochondries myocardiques en réponse à des concentrations croissantes de malonyl CoA <i>in vitro</i>	p.98

Figure 24 : Inhibition de la CPT-1 par des concentrations croissantes de malonyl CoA chez des rats *High Fat – High Fructose + Streptozotocine* et sains

p.99

Figure 25 : Activité de la CPT-1 des mitochondries sous-sarcolemmales et intra-fibrillaires en réponse à des concentrations croissantes de malonyl CoA in vitro

p.100

Figure 26 : Inhibition de la CPT-1 par des concentrations croissantes de malonyl CoA dans les fractions sous-sarcolemmales et intra-fibrillaires de mitochondries chez des rats *High Fat – High Fructose + Streptozotocine*

p.101

Liste des tableaux

- Tableau 1** : Caractéristiques des rats nourris au fructose et au gras et traités à la streptozotocine vs. les rats contrôles (pendant 6 semaines) **p.96**
- Tableau 2** : Rats nourris au fructose et au gras et traités à la streptozotocine vs. contrôles durant un clamp normoglycémique hyperinsulinémique **p.97**
- Tableau 3** : Effets de la diète *High Fat – High Fructose* + *Streptozotocine* sur le captage mitochondrial du ^{14}C -bromopalmitate **p.102**
- Tableau 4** : Effets de la diète *High Fat – High Fructose* + *Streptozotocine* dans l'incorporation du ^{14}C -bromopalmitate dans les lipides cellulaires **p.103**
- Tableau 5** : Glucose plasmatique, insuline, AGL et TG au temps 0 et durant un clamp normoglycémique-hyperinsulinémique **p.105**
- Tableau 6** : Effets de l'inhibition de la lipolyse intravasculaire sur l'incorporation du ^{14}C -bromopalmitate dans les différentes fractions lipidiques du cœur **p.107**
- Tableau 7** : Effets de l'inhibition de la lipolyse intravasculaire sur le captage mitochondrial du ^{14}C -bromopalmitate dans différents tissus **p.108**

Liste des sigles, abréviations et symboles

[¹⁸ F]-FDG	[¹⁸ F]-2-deoxy-2-fluoro-2-D-glucose
ACC	Acetyl-CoA carboxylase
AG	Acide Gras
AGL	Acide gras libre
AGPAT	1-acylglycérol-3-phosphate acyltransférase
AMPK	Protéine Kinase AMP-dépendante
CACT	Carnitine acylcarnitine translocase
CAT	Carnitine-acyl transférase
CPT	Carnitine-Palmitoyl Transférase
DG	Diacylglycérol
DGAT	Diacylglycérol acyltransférase
DMT2	Diabète mellitus de type 2
FAT	Fatty acid translocase
FATP	Protéine de transport des acides gras
FABPpm	Protéine de liaison aux AG de la membrane plasmique
GPAT	Glycérol-3-phosphate acyltransférase
HDL	Lipoprotéines de haute-densité
HFHFS	<i>High Fat – High Fructose + Streptozotocine</i>
IFM	Mitochondrie intra-myofibrillaire
IMTG	Triglycérides intramyocellulaire
LDL	Lipoprotéines de basse densité
LDN	Lipogenèse <i>de novo</i>

LIVTG	Lipolyse intravasculaire des triglycérides
LpL	Lipoprotéine Lipase
LRT	Lipoprotéines riches en triglycérides
MMRG	Taux métabolique du glucose dans le myocarde
PDH	Pyruvate déshydrogénase
PPAR	Peroxisome proliferator-activator receptor
PPL	Phospholipides
RI	Résistant à l'insuline
STZ	Streptozotocine
SSM	Mitochondrie sous-sarcolemmale
TEP	Tomographie par émission de positrons
THL	Tétrahydrolipstatine
TG	Triglycérides ou Triacylglycérol
VLDL	Lipoprotéines de très basse densité

Contributions scientifiques du présent mémoire

Articles publiés ou soumis

- MECHANISM OF REDUCED MYOCARDIAL GLUCOSE UTILIZATION DURING ACUTE HYPERTRIGLYCERIDEMIA IN RATS. **SL. Ménard** et al., *Molecular Imaging & Biology*. In press

Articles en rédaction

- A NEW CLINICAL MODEL OF TYPE 2 DIABETES AND IMPACT OF INTRAVASCULAR LIPOLYSIS OF TRIGLYCERIDES (IVLTG) ON GLUCOSE METABOLISM IN DMT2 RATS. **SL. Ménard***, E. Croteau, J. Cadorette, JE. Van Lier, F. Bénard, M. Bentourkia, R. Lecomte, AC. Carpentier.

Résumés scientifiques publiés

- FATTY ACID DELIVERY FROM CIRCULATING TRIGLYCERIDES REDUCES MYOCARDIAL GLUCOSE UTILIZATION DURING EXOGENOUS FAT DELIVERY IN VIVO IN RATS. **SL. Ménard** et al., *Canadian Journal of Diabetes*. (September Supplement.):#26(2007).
- REGULATION OF MYOCARDIAL GLUCOSE UTILIZATION BY INTRAVASCULAR LIPOLYSIS OF TRIGLYCERIDES (IVTL) IN VIVO IN RATS. **SL. Ménard** et al., *Diabetes*. 56(June Supplement):A16, #59-OR(2007).
- IMPACT DE LA LIPOLYSE INTRAVASCULAIRE DES TRIGLYCERIDES (TG) SUR LE MÉTABOLISME MYOCARDIQUE DU GLUCOSE (MMRG) CHEZ LE RAT. **S. Ménard** et al., *Médecine Sciences*. 19(Supplément 1):14, #56(2007).

Présentations de type orales

- FATTY ACID DELIVERY FROM CIRCULATING TRIGLYCERIDES REDUCES MYOCARDIAL GLUCOSE UTILIZATION DURING EXOGENOUS FAT DELIVERY IN VIVO IN RATS. **SL. Ménard***, X. Ci, J. Cadorette, F. Frisch, F. Lavoie, JE. Van Lier, F. Bénard, M. Bentourkia, R. Lecomte, AC. Carpentier. *11th CDA/CSEM Conference and Annual Meetings*, Vancouver, BC, Canada, 20-24 octobre 2007.
- REGULATION OF MYOCARDIAL GLUCOSE UTILIZATION BY INTRAVASCULAR LIPOLYSIS OF TRIGLYCERIDES (IVTL) IN VIVO IN RATS. **SL. Ménard***, X. Ci, J. Cadorette, F. Frisch, F. Lavoie, JE. Van Lier, F. Bénard, M. Bentourkia, R. Lecomte, AC. Carpentier. *67th scientific session of American Diabetes Association (ADA)*, Chicago, IL, USA, 22-26 juin 2007.
- IMPACT DE LA LIPOLYSE INTRAVASCULAIRE DES TRIGLYCERIDES (TG) SUR LE MÉTABOLISME MYOCARDIQUE DU GLUCOSE (MMRG) CHEZ LE RAT. **SL. Ménard***, X. Ci, J. Cadorette, F. Frisch, F. Lavoie, JE. Van Lier, F. Bénard, M. Bentourkia, R. Lecomte, AC. Carpentier. *9^e Journée scientifique de l'axe des maladies endocriniennes et métaboliques (AMEM)*, Sherbrooke, QC, Canada, 22 mai 2007.

Présentation de type affiche

- IMPACT DE LA LIPOLYSE INTRAVASCULAIRE DES TRIGLYCERIDES (TG) SUR LE MÉTABOLISME MYOCARDIQUE DU GLUCOSE (MMRG) CHEZ LE RAT. **S. Ménard** et al., *8^e Congrès annuel de la Société Québécoise de Lipidologie, de Nutrition et de Métabolisme (SQLNM)*, Mai 2007.

Distinctions et prix

- Août 2007; Récipiendaire d'un Travel Award pour le congrès de la Canadian Diabetes Association (CDA). (500\$)
- Juin 2007; Bourse de valorisation 2007 du département de physiologie et biophysique de la faculté de médecine et des sciences de la santé de l'Université de Sherbrooke. (500\$)

1. Introduction

1.1. *Le métabolisme cardiaque*

Le cœur est un muscle dont la contraction se produit en moyenne ~80 fois toutes les minutes au lieu d'être intermittente comme pour les muscles squelettiques. Pour cette raison, le muscle cardiaque, excepté pour de courtes périodes d'activité intense, repose entièrement sur le métabolisme aérobie. Il est donc très riche en mitochondries qui représentent jusqu'à 40% de son volume cytoplasmique, alors que certains muscles en sont pratiquement dépourvus. Le cœur peut métaboliser les acides gras (AG), les corps cétoniques, le glucose, le pyruvate et le lactate. Au repos, le cœur consomme essentiellement les AG (70% de l'énergie produite) comme nutriments, suivi par le glucose (20% de l'énergie produite) et finalement, les autres substrats (10% de l'énergie produite).

1.1.1. *Le Glucose*

Entre les périodes de consommation alimentaire et de jeûne, le glucose sanguin se maintient entre les valeurs de 4 à 7 mmol/l. Cette balance, très étroitement contrôlée, est gouvernée par plusieurs mécanismes tels que l'absorption du glucose au niveau intestinal, la production de glucose par le foie (néoglucogenèse) et le captage/métabolisme par les tissus (SALTIEL A.R. et KAHN C.R., 2001). Dépendamment des périodes de la journée, le cœur tire entre 0 et 20% de son énergie du métabolisme du glucose.

1.1.1.1. L'utilisation cellulaire du glucose par le cœur

Une fois que le glucose se retrouve dans la circulation sanguine, une multitude de voies lui est possible, dépendamment des conditions métaboliques (hyperinsulinémie, hyperglycémie, à jeun et autres).

Le but de cette section est d'expliquer le processus général et sa finalité dans le cœur.

1.1.1.1.1. Les transporteurs cellulaires du glucose

Chez les mammifères, 6 isoformes de transporteurs du glucose ont été identifiés. Ce sont des transporteurs protéiques à 12 domaines transmembranaires (figure 1 : (NELSON D.L. et COX M.M., 2000)). Les gènes humains qui codent pour ces protéines sont nommés GLUT-1-5 et GLUT-7. Le transporteur GLUT-4 se retrouvant au niveau musculaire (squelettique et cardiaque) ainsi qu'au niveau du tissu adipeux sera discuté dans cette section.

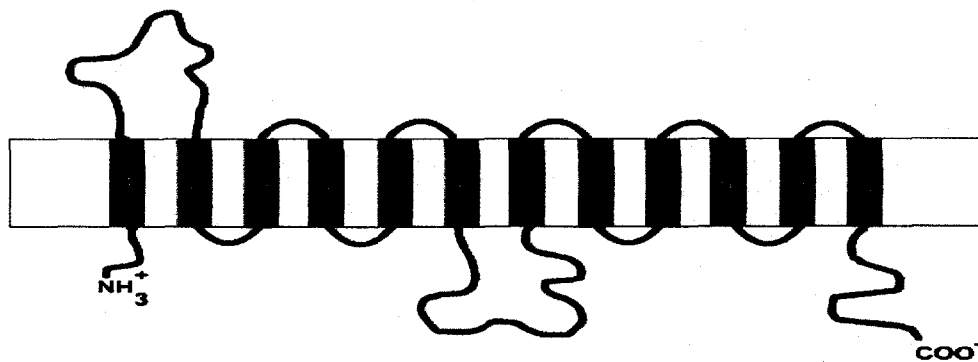


Figure 1. Structure générale des transporteurs de glucose de type GLUT, composés de 12 domaines transmembranaires et d'une boucle intra- et extra-cellulaire. Tiré de NELSON D.L. et COX M.M., 2000.

GLUT-4 est exprimé uniquement au niveau des adipocytes et des cellules musculaires (BIRNBAUM M.J. 1989, CHARRON M.J. et al, 1989, FUKUMOTO H. et al, 1989). Il est exprimé fortement dans le tissu adipeux brun, suivi de près par le cœur et ensuite par les muscles à combustion rapide, à combustion lente et en moindre quantité dans le tissu adipeux blanc (JAMES D.E. et al, 1989). Il est très sensible à l'insuline qui induit très rapidement sa translocation membranaire, augmentant ainsi le transport intracellulaire du glucose (Figure 2 : (CARTAILLER J.P., 2004)).

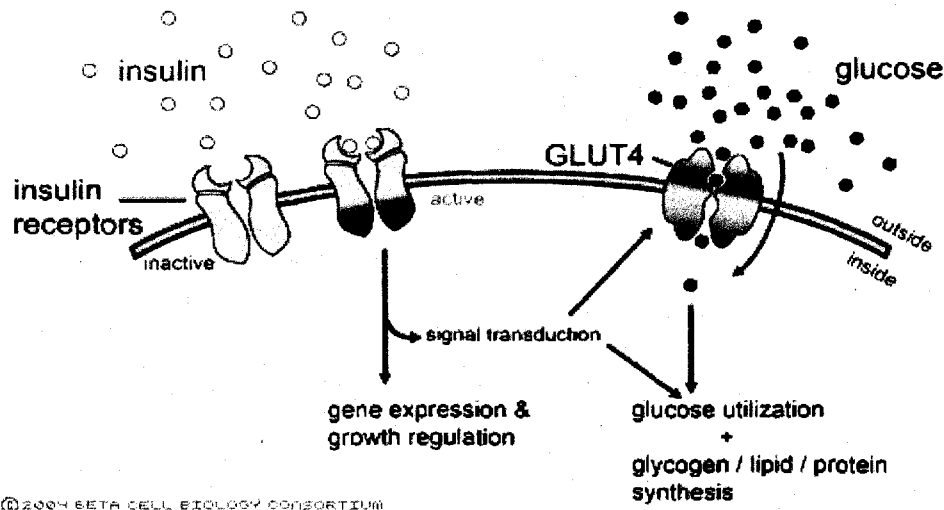


Figure 2. Interaction entre la signalisation de l'insuline et la translocation des vésicules GLUT4 à la surface membranaire pour permettre l'entrée du glucose dans la cellule cardiaque. Tiré de CARTAILLER J.P., 2004.

1.1.1.1.2. La Glycolyse

Le glucose est, à prime abord, un substrat énergétique. Sa glycolyse puis son oxydation va aboutir à la formation d'énergie (ATP) et de CO₂ ainsi que du H₂O. La

Figure 3 (BENLOT C. et al., 2007) illustre toutes les étapes de la glycolyse avec les cofacteurs nécessaires à sa réalisation.

La glycolyse constitue la première étape pourvoyeuse en énergie du métabolisme cellulaire tant en aérobose qu'en anaérobie: c'est un processus métabolique universel. La glycolyse se produit au niveau du cytoplasme et non au niveau mitochondrial. C'est la résultante de la glycolyse, le pyruvate, qui se transportera à la mitochondrie pour entrer dans le cycle de Krebs (Voir figure 12).

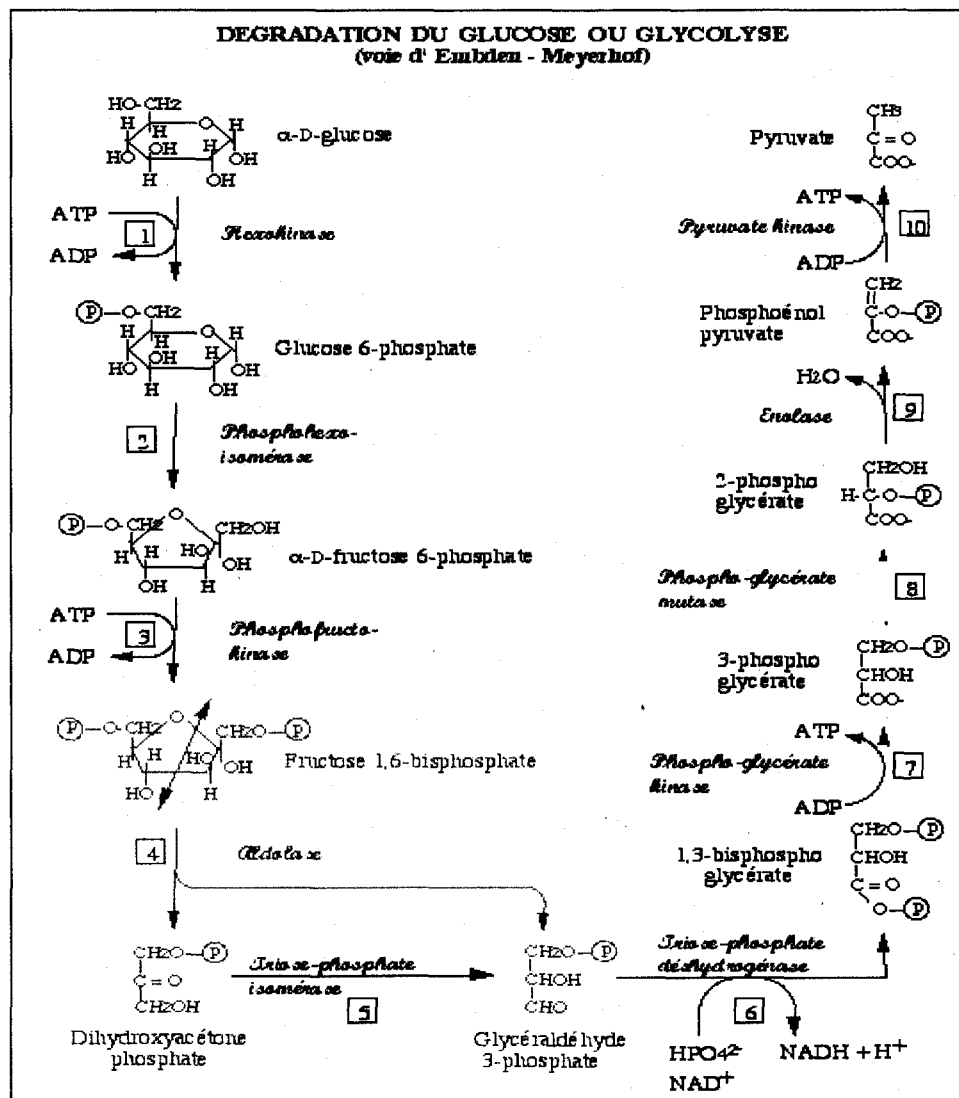


Figure 3. Voie de la glycolyse avec les différents intermédiaires. Tiré de BENLOT C. et al., 2007.

Le bilan net de la glycolyse nous permet de réaliser cette équation (VOET D. et VOET J.G., 1998) :



On constate qu'une molécule de glucose permet la formation nette de 2 ATP et de 2 molécules de pyruvate. Il faut aussi remarquer que la glycolyse est totalement anaérobie (pas d'oxygène utilisé). C'est la phase anaérobie du métabolisme du glucose.

1.1.1.1.3. La Glycogénèse

La Glycogénèse réfère à la synthèse du glycogène musculaire à partir du glucose. Cette voie métabolique se produit normalement lorsqu'il y a un excès de glucose dans le sang. Le surplus de glucose capté par le cœur se transformera en glycogène selon la voie illustré à la figure 4 (VOET D. et VOET J.G., 1998). Au niveau cardiaque, la proportion de stockage du glucose en glycogène est très faible, le cœur n'étant pas un organe destiné au stockage des substrats comme le sont le foie et les muscles squelettiques.

1.1.1.1.4. La Glycogénolyse

La glycogénolyse réfère à la production de glucose-6-phosphate dans les muscles (ou du glucose dans le foie) à partir du glycogène. Chez un être humain en

santé, les réserves de glycogène musculaire occupent 1-2% du poids humide. Par ce fait, le glucose provenant de la glycogénolyse musculaire sera très important dans les périodes d'exercice intense et dans les premières heures de jeûne (VOET D. et VOET J.G., 1998). Au niveau cardiaque, il a été montré que le cœur choisit préférentiellement le glycogène en période d'activité intense ou de stress (GOODWIN G.W. et al., 1996). L'épinéphrine en circulation activerait cette voie au dépend du captage du glucose en circulation.

La figure 4 montre les processus de glycogénèse (synthèse de glycogène) et de glycogénolyse (dégradation du glycogène). La glycogénolyse est une voie surtout impliquée quelques heures après les repas. Les réserves de glycogène diminuent énormément la nuit et après le déjeuner. Le glycogène est la première source de glucose lorsque la demande en glucose se fait importante

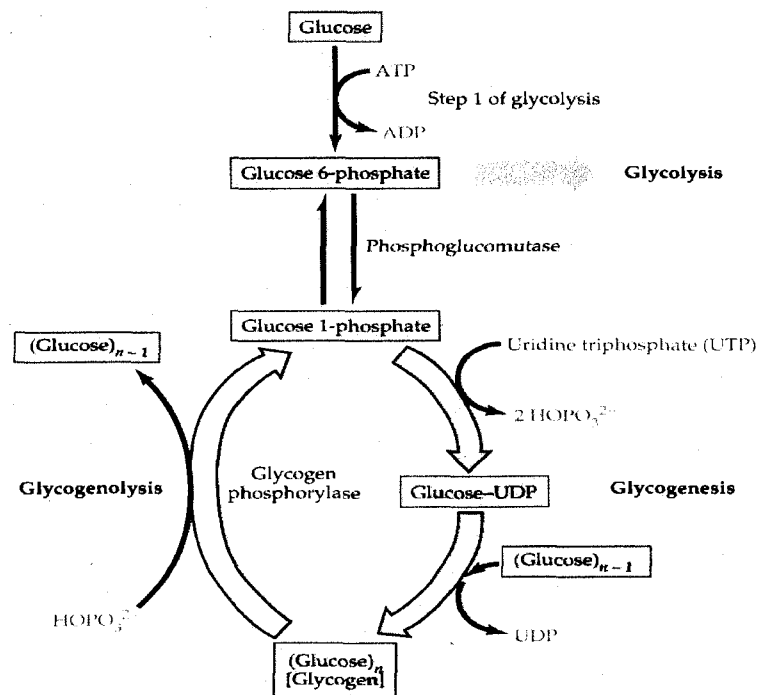


Figure 4. Voies de la glycogénèse et de la glycogénolyse avec les différents intermédiaires. Tiré de VOET D. et VOET J.G., 1998.

1.1.1.1.5. Le Métabolisme Mitochondrial

Les mitochondries sont des organelles intracellulaires d'une taille de l'ordre du micromètre (μm). Leur rôle physiologique est primordial puisque c'est dans les mitochondries que l'énergie fournie par les molécules organiques est récupérée et stockée sous forme d'ATP, la source principale d'énergie pour la cellule.

Elle est considérée comme le « poumon » de la cellule, car c'est là que se déroulent les dernières étapes du cycle respiratoire (en présence d'oxygène, aérobie) qui convertit l'énergie des molécules organiques issues de la digestion (AG et pyruvate) en énergie directement utilisable par la cellule (ATP). En cas d'absence d'oxygène, la cellule utilise la glycolyse dans le cytoplasme pour produire l'énergie nécessaire à son fonctionnement, mais c'est un système beaucoup moins efficace, qui dégrade de façon incomplète le substrat (production d'acide lactique donnant lieu, par exemple, à de crampes musculaires).

C'est dans la mitochondrie que se déroulent les 2 dernières phases de la respiration cellulaire : le cycle de Krebs (dans la matrice) et la chaîne de transport d'électrons (au niveau de la membrane interne). Via le cycle de Krebs (donc en condition d'aérobie), la mitochondrie permet, à partir d'une molécule organique, la production d'une molécule d'ATP et des substrats réducteurs (NADH et FADH_2) nécessaires à la phosphorylation oxydative pour la production d'ATP.

1.1.1.1.6. Le Cycle de Krebs

Le cycle de Krebs, ou cycle de l'acide citrique, constitue le carrefour principal du métabolisme : il prend en charge la majeure partie de l'oxydation des glucides, des AG, des acides aminés et fournit de nombreux précurseurs de biosynthèse.

La proposition du cycle de Krebs prit forme en 1937 lorsque Hans Krebs le présenta à la communauté scientifique et fut sans contredit l'une des découvertes les plus importantes de la biochimie. Le cycle de l'acide citrique, voie du métabolisme commun à la plupart des organismes aérobies, est sous la dépendance de huit enzymes qui transforment 1 acétyl-CoA en 2 molécules de CO₂ avec formation de 3 NADH, 1 FADH₂ et 1 GTP (ou ATP). La réoxydation des NADH et FADH₂ par O₂ via la chaîne respiratoire s'accompagne de la génération de 11 ATP (VOET D. et VOET J.G., 1998).

L'ensemble des enzymes du cycle de Krebs forme une unité fonctionnelle dont la vitesse est fonction de la demande métabolique cellulaire. Les enzymes qui contrôlent le flux sont : la citrate synthase, l'isocitrate déshydrogénase et l' α -cétoglutarate déshydrogénase. Leurs activités dépendent de la disposition en substrat, de l'inhibition par le produit et par certains intermédiaires du cycle, et de l'activation par le Ca²⁺. La figure 5 (SCIENCEBIO, 2007) illustre les étapes clés du cycle de Krebs en relation avec le glucose et les AG. Ces deux carburants énergétiques débutent dans le cycle de Krebs avec le même intermédiaire qui est, l'acétyl-CoA (VOET D. et VOET J.G., 1998).

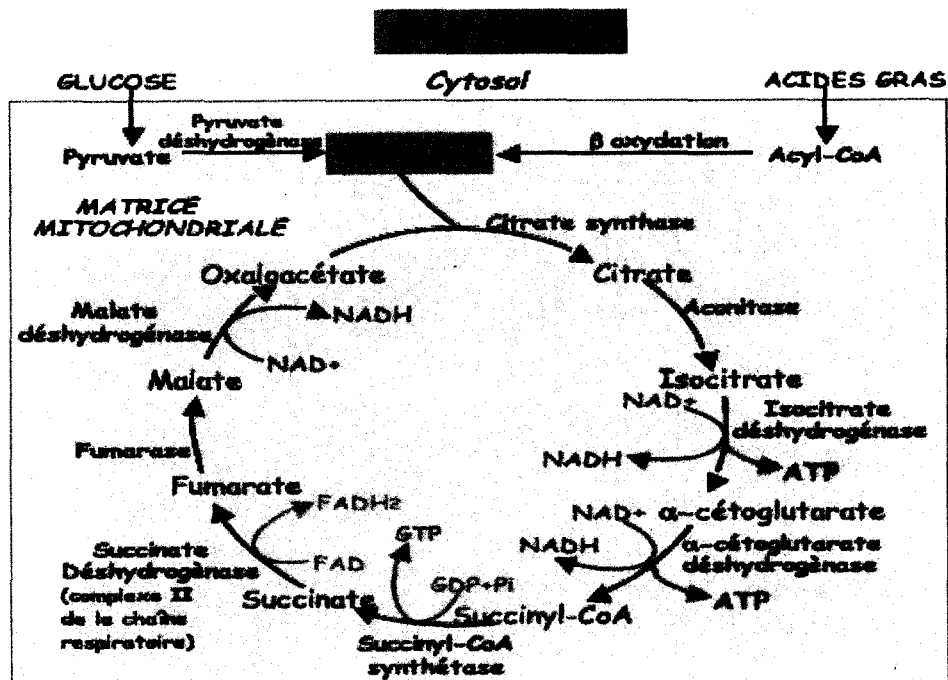


Figure 5. Le cycle de Krebs: La présence des intermédiaires, des enzymes, des cofacteurs et les sites de génération d'ATP. Tiré de SCIENCEBIO, 2007.

1.1.2. Les Acides Gras (AG)

Les AG sont composés de chaînes d'atomes de carbones avec un groupement carboxy terminal. Le nombre d'atomes de carbone varie typiquement entre 4 et 26 atomes, généralement alignés de façon linéaire, mais parfois aussi composant une chaîne de carbones méthylée. De plus, les AG sont catégorisés par la longueur de leur chaîne : les courtes chaînes contiennent moins de 10 atomes de carbone; les chaînes moyennes d'AG possèdent entre 10 et 14 atomes de carbone; et les longues chaînes d'AG contiennent plus de 14 atomes de carbone. Généralement et de façon naturelle, les AG contiennent un nombre pair d'atomes de carbone. Les AG peuvent aussi être classés d'après leur degré de saturation par des atomes d'hydrogène : les AG saturés

possèdent le nombre maximal d'atomes d'hydrogène, i.e. ils ne possèdent pas de double liaison entre les atomes de carbone; les AG mono-insaturés contiennent une double liaison; et les AG poly-insaturés possèdent plus d'une double liaison. Les AG saturés les plus abondants sont d'une longueur de 16 et 18 atomes de carbone et sont respectivement nommés acides palmitique et stéarique. Le plus commun des AG mono-insaturé est l'acide oléique et possède 18 atomes de carbone. Typiquement, les AG poly-insaturés sont d'une longueur variant entre 16 et 22 atomes de carbone. Le plus prévalent des AG poly-insaturés dans le plasma humain est l'acide linoléique qui compte 18 atomes de carbone avec deux doubles liaisons. Cependant, d'autres types d'AG poly-insaturés peuvent se retrouver dans les membranes cellulaires ou dans la circulation sanguine.

Les AG exercent un nombre important de fonctions. En plus de leur importance comme composants de la membrane phospholipidique, ils sont aussi des substrats, constituant la réserve énergétique la plus importante sous forme de triacylglycérols (triglycérides) intracellulaires. De plus, les AG sont impliqués dans la modification co- et post-translationnelle des protéines et dans la modulation de l'expression de gènes via leur interaction avec les membres de la famille des « Peroxisome Proliferator-Activator récepteur (PPAR) » (RESH M.D. 1999, VAN BILSEN M. et al, 1997). Puisque la plupart des organes, incluant le cœur, ont des besoins énergétiques dépassant leur capacité de synthèse *de novo* des AG (lipogenèse) et possèdent une quantité limitée de TG stockés dans les compartiments cytoplasmiques, ils sont donc énormément dépendants des AG provenant de la circulation sanguine.

1.1.2.1. L'utilisation cellulaire des AG par le cœur

La figure 6 (EATON S. 2002) illustre bien le processus intracellulaire et le devenir des AG : du captage cellulaire en passant par la translocation vers la mitochondrie jusqu'à la bêta oxydation pour terminer vers le cycle de Krebs.

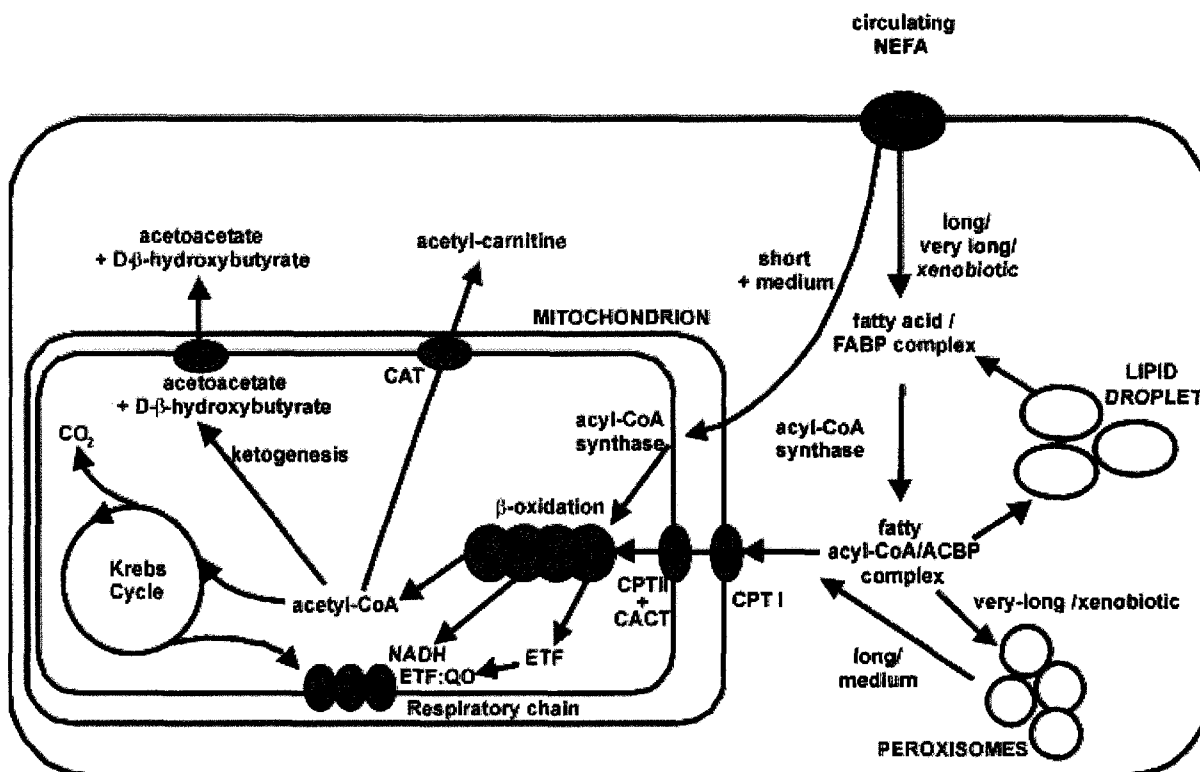


Figure 6 : Flux des AG au niveau cellulaire. Tiré de EATON S. 2002.

Par contre, avant que les AG puissent entrer dans les processus intracellulaires, ils doivent être captés par les cellulaires cardiaques via la circulation sanguine. Ce captage des AG est effectué grâce à des transporteurs spécifiques aux AG.

1.1.2.1.1. Les transporteurs cellulaires des AG

Les AG dans la circulation et doivent nécessairement traverser les cellules endothéliales de la circulation coronarienne pour atteindre l'espace interstitiel, se faire capter et métaboliser par les myocytes cardiaques (Figure 6). Ceci se faisant par une variété de transporteurs dont le rôle demeure encore controversé: la protéine CD36 (aussi désignée 'fatty acid translocase' – FAT) (ABUMRAD N.A. et al, 1993), la protéine de transport des AG (FATP) (SCHAFFER J.E. et LODISH H.F., 1994) et la protéine de liaison aux AG de la membrane plasmique (FABPpm) (ISOLA L.M. et al, 1995). FAT/CD36 et FATP sont des protéines de la membrane tandis que FABPpm est une protéine se situant près de la membrane. La figure 7 (LARGE V., 2004) illustre ces transporteurs.

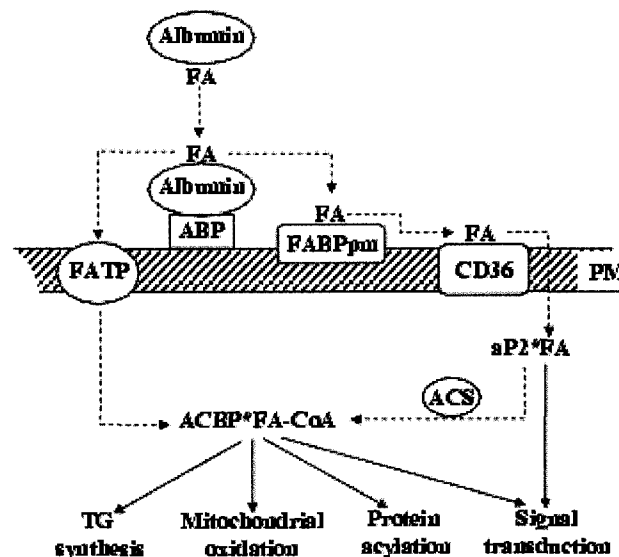


Figure 7. Type de transport des AG à longue chaîne à travers la membrane plasmique des cardiomyocytes. PM: membrane plasmique; ABP: protéine lié à l'albumine; FABPpm: Protéine de liaison aux AG de la membrane plasmique; CD36: homologue humain de l'AG translocase chez le rat; FATP: Protéine de transport des AG; aP2: aussi appelé AFABP pour protéine de liaison des AG adipocytaire; ACS: acylCoA synthétase; FA-CoA: acyl-Coenzyme A; ACBP: Protéine de liaison à l'acylCoA. Tiré de LARGE V., 2004.

Une fois dans la cellule cardiaque, la majorité des AG (90%) sera oxydée pour fournir l'énergie nécessaire aux diverses activités du cœur. Pour être oxydé, les AG doivent se rendre dans les mitochondries, lieu de la respiration cellulaire. Pour se rendre dans la mitochondrie, les AG doivent encore une fois utiliser des transporteurs.

1.1.2.1.2. Les transporteurs mitochondriaux

Les AG sont des substrats énergétiques très importants pour le cœur. Les transporteurs importants des AG dans la mitochondrie sont la carnitine-palmitoyl-transférase I et II (CPT-I et CPT-II) et la carnitine acylcarnitine translocase (CACT), tel que nous l'illustre la figure 8 (BARTLETT K. et EATON S., 2004).

CPT-I se situe sur la membrane externe de la mitochondrie (Figure 11). Le contrôle de l'activité de CPT-I semble être très important dans la régulation de la β -oxydation dans le cœur et le muscle squelettique (AWAN M.M. et SAGGERSON E.D., 1993, LOPASCHUK G.D. et al, 1994). Il y a différents isoformes de CPT-I présents dans le muscle squelettique (isoforme M) et qui possèdent des propriétés différentes de l'isoforme du foie (isoforme L); M-CPT-I est beaucoup plus susceptible que la L-CPT-I à l'inhibition causée par le malonyl-CoA (le principal régulateur cellulaire de l'activité de CPT-I) tandis que l'isoforme M a un K_m beaucoup plus élevé pour la carnitine que l'isoforme L (MCGARRY J.D. et BROWN N.F., 1997). Le tissu cardiaque possède les deux isoformes (BROWN N.F. et al, 1995) et donc les propriétés cinétiques moyennes de la CPT-I cardiaque se situent entre celle du foie et

celle du muscle squelettique. Le rôle physiologique de CPT-I est d'estérifier les AG à longue chaîne à la carnitine.

La carnitine-acyl-carnitine translocase n'est pas connue pour jouer un rôle limitant dans le contrôle du flux de la β -oxydation (KOHN M.C. et GARFINKEL D., 1983, RAMSAY R.R. et ARDUINI A., 1993). Ce transporteur est une protéine spécifique qui assure l'entrée de l'acyl-carnitine dans la matrice mitochondriale et la sortie de la carnitine libre en sens inverse (BARTLETT K. et al, 1989, EATON S. et al, 1999).

CPT-II se retrouve au niveau de la membrane interne de la mitochondrie. Son rôle prioritaire est de transférer le groupement acyl à une molécule de CoA du pool de la matrice mitochondriale. Contrairement à CPT-I, CPT-II ne semble pas être limitante dans le contrôle du flux oxydatif. Aucun effecteur allostérique physiologique ne semble être connu. Le seul contrôle de cette enzyme semble être l'effet d'action de masse dû à la concentration relative de substrats et de produits (EATON S. 2002).

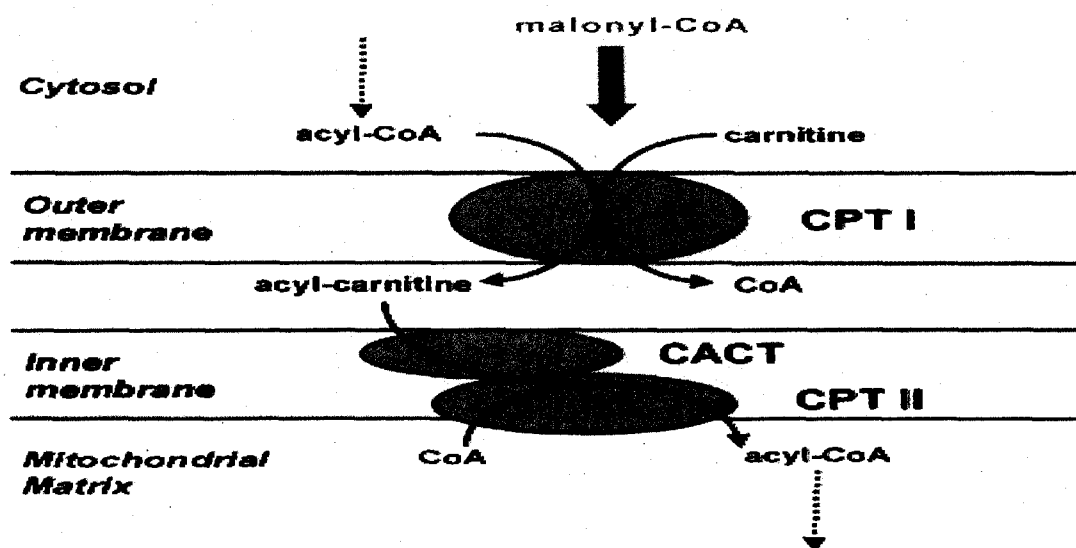


Figure 8. Transport des acyl-CoA à travers la mitochondrie : carnitine palmitoyl transférase I (CPT-I), carnitine acylcarnitine translocase (CACT) et carnitine palmitoyl transférase II (CPT-II). Tiré de BARTLETT K. et EATON S., 2004.

1.1.2.1.3. L'oxydation

La bêta-oxydation (β -oxydation) est le principal processus par lequel les AG sont oxydés par un retrait séquentiel de deux atomes de carbone à partir de la chaîne acyl de la molécule. Chez les mammifères, la β -oxydation fournit la majorité de l'ATP au cœur et aux muscles squelettiques (FELIG P. et WAHREN J., 1975).

L'oxydation des AG est spécialement importante durant le jeun, l'exercice continu et le stress. Bien que l'activation des AG (formation d'acyl-CoA) qui précède l'oxydation ait lieu dans le cytosol, leur oxydation a bel et bien lieu dans les mitochondries (KENNEDY E.P. et LEHNINGER A.L., 1950). Suite à l'oxydation, les résidus d'acétyl-CoA pourront entrer dans le cycle de Krebs pour former l'ATP nécessaire pour le fonctionnement continu du cœur.

1.1.2.1.4. L'estérification

L'estérification est un processus métabolique qui permet le stockage des AG en TG intracellulaires. Le tissu modèle en ce qui a trait à l'estérification est bien entendu le tissu adipeux. Dans le cœur, la biosynthèse des TG est rendue possible grâce à des estérifications successives des fonctions alcooliques du glycérol 3-P par différents enzymes respectivement nommés glycérol-3-phosphate acyltransférase (GPAT) (BELL R.M. et COLEMAN R.A., 1980), 1-acylglycérol-3-phosphate acyltransférase (AGPAT) (LEUNG D.W. 2001) et la diacylglycérol acyltransférase (DGAT) (CASES S. et al, 1998). Ce processus d'estérification par le cœur est un

phénomène qui se produit rarement puisque le cœur a tendance à utiliser tous les substrats pour les métaboliser. Il arrive, par contre après un repas riche en lipides, que le cœur soit exposé à plus grande concentration d'AG et c'est à ce moment qu'il va estérifier le surplus pour une utilisation future.

Il existe aussi, dans le cœur, une voie de synthèse des AG à partir de substrats non-lipidiques, surtout des carbohydrates, nommé lipogenèse *de novo* (LDN). Au niveau d'un cœur sain, la LDN n'a pas encore été reconnu. Par contre, cette voie métabolique semble contribuer à l'excès d'AG cardiaques à tout le moins chez les rats Zucker diabétiques qui sont extrêmement obèses et hyperglycémiques et possèdent une mutation du récepteur de la leptine (GUILLET-DENIAU I. et al., 2004; UNGER R.H. et ZHOU Y.T., 2001).

1.1.3. Les autres substrats énergétiques

Comme dit précédemment, le cœur d'un individu en santé peut tirer son énergie, dépendamment des conditions physiologiques, d'autres substrats métaboliques mineurs. En période d'activité physique intense, les niveaux sanguins de lactate augmentent considérablement. L'ATP produit par le métabolisme myocardique du lactate peut ainsi fournir l'énergie essentielle qui permettra de soutenir une fréquence cardiaque plus élevé.

D'autres substrats énergétiques importants pour le cœur sont les corps cétoniques. L'acétoacétate et le β -hydroxybutyrate sont des produits hydrosolubles de l'oxydation partielle des AG. En période de jeûne prolongé, ou lorsque qu'il y a

absence de sécrétion d'insuline (comme en cas de diabète de type 1), le foie produit ces métabolites qui permettront de fournir l'énergie au cœur et soutenir la fonction et la viabilité myocardique tout en épargnant le glucose pour les érythrocytes et le cerveau.

1.2. Régulation des substrats énergétiques au niveau cardiaque

1.2.1. Régulation du métabolisme du glucose

1.2.1.1. Rôle de l'insuline

L'insuline est une hormone peptidique hypoglycémisante sécrétée par les cellules β des îlots de Langerhans du pancréas. L'insuline agit sur la grande majorité des cellules de l'organisme en se fixant sur le récepteur à l'insuline, une protéine de signalisation transmembranaire. La fixation de l'insuline provoque le déclenchement d'une cascade d'évènements cellulaires qui aboutit à l'entrée et à la consommation du glucose dans les cellules cibles comme l'illustre la figure 9 (SALTIEL A.R. et KAHN C.R., 2001). L'activation du récepteur par l'insuline amène l'activation de la voie PI3-kinase, permettant ainsi le recrutement des vésicules de translocation à la membrane cellulaire des muscles et du tissu adipeux, celles-ci comportant les transporteurs spécifiques au glucose activés par l'insuline (GLUT4).

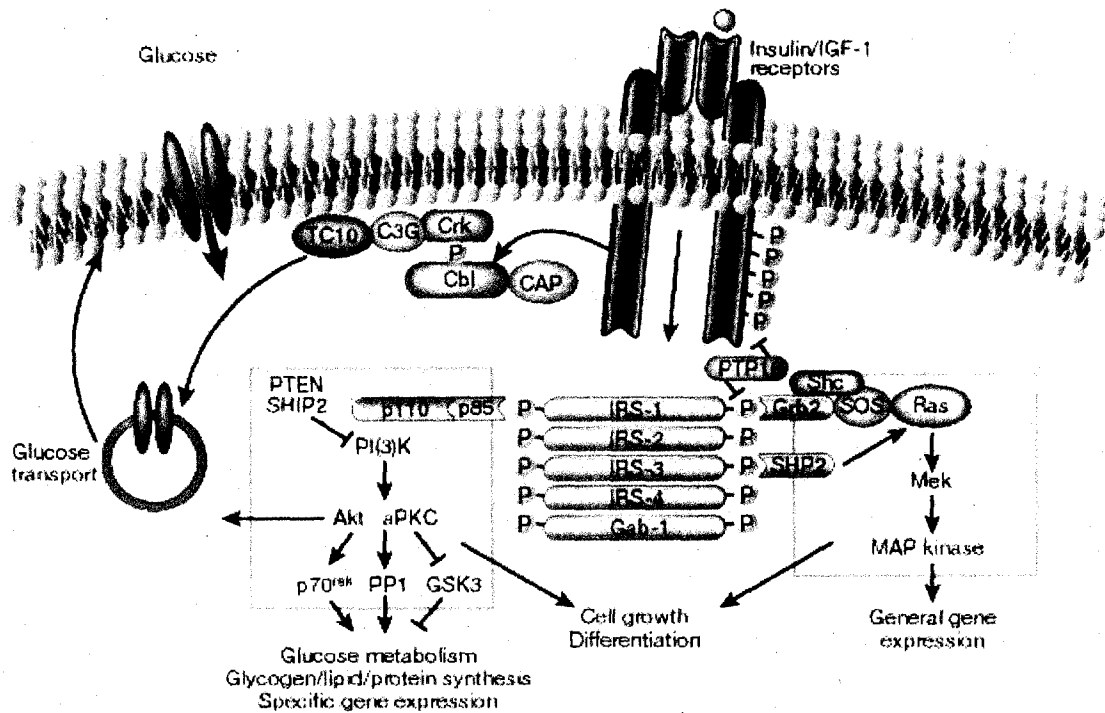


Figure 9. Signalisation cellulaire induite par l'insuline sur les cardiomyocytes. Tiré de SALTIEL A.R. et KAHN C.R., 2001.

1.2.2. Régulation du métabolisme lipidique

Il y a deux sources majeures d'AG pour le cœur. Premièrement, il y a les acides gras libres (AGL), qui proviennent de la lipolyse intracellulaires des pools de triglycérides des tissus adipeux. Les AGL circulent dans la circulation sanguine liée à une protéine, albumine. La deuxième source d'AG est les AG dérivés des triglycérides. Ces lipides proviennent des lipoprotéines, eux-mêmes provenant des lipides alimentaires. La section suivante contribue à la compréhension de la régulation de cette source lipidique pour l'utilisation cardiaque.

1.2.2.1. Le transport sanguin des AG et le métabolisme des lipoprotéines

Les entérocytes absorbent les produits de la digestion lipidique (AG, mono-glycérides, cholestérol libre, lysolécithines) et les utilisent pour synthétiser TG et phospholipides (PPL) (figure 10 (NUTRISAL., 2007)). Ces lipides sont sécrétés après avoir été incorporés dans les chylomicrons, lipoprotéines spécifiquement synthétisées par les entérocytes en période postprandiale (TSO P. et BALINT J.A., 1986). Ces lipoprotéines très volumineuses (100-1000 nm) confèrent au plasma sanguin un aspect opalescent ou lactescent lorsque leur concentration est excessive. Leur taille est variable et dépend en partie de la qualité des AG alimentaire : plus les AG sont saturés, plus les chylomicrons sont de petite taille.

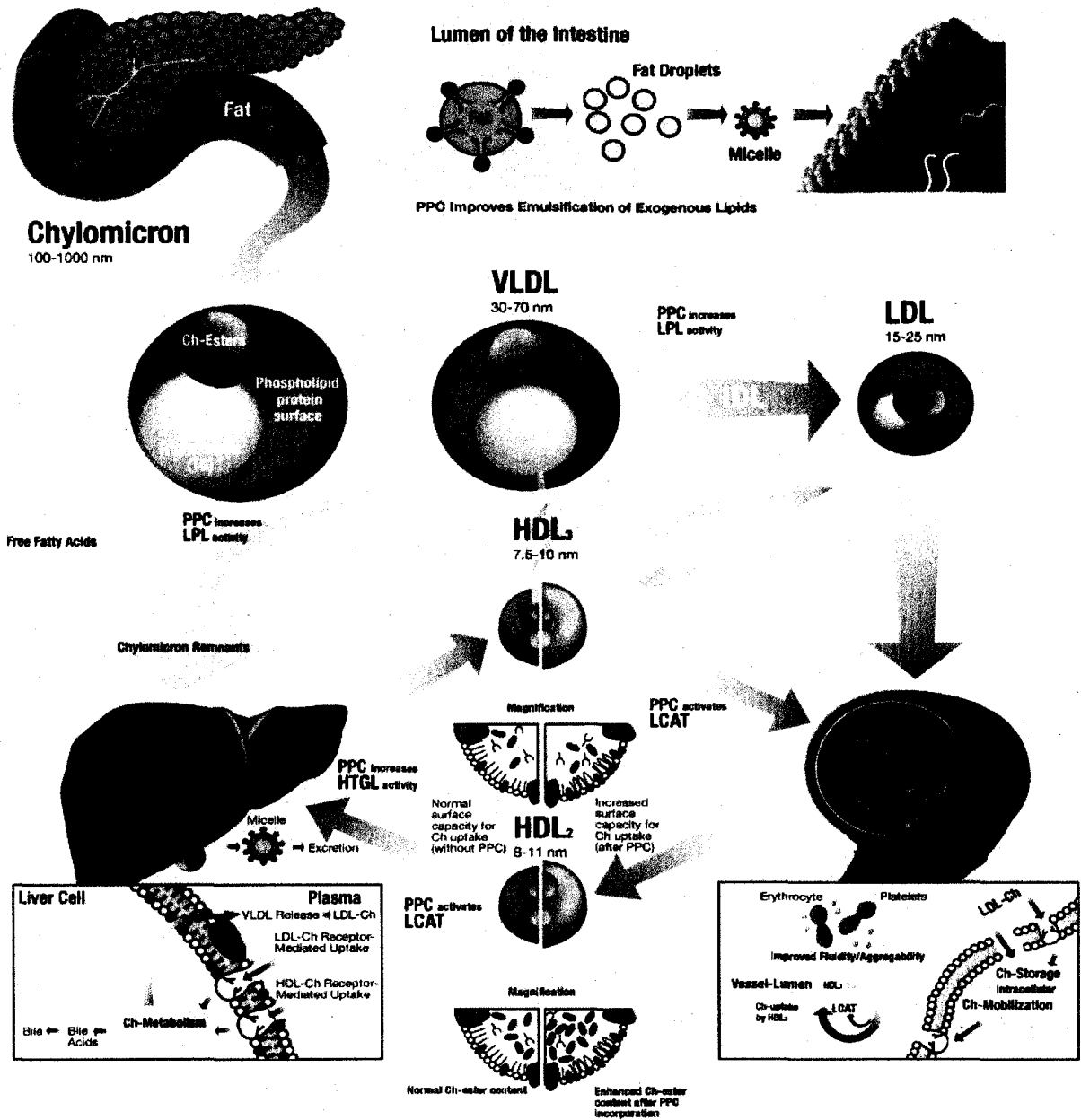


Figure 10. Catabolisme et Métabolisme des différents types de lipoprotéines. Tiré de NUTRISAL., 2007.

La formation des chylomicrons nécessite la synthèse d'apolipoprotéine B48, apolipoprotéine B d'origine intestinale (CHEN S.H. et al, 1987). Les entérocytes synthétisent aussi les apolipoprotéines A-I, A-II et A-IV qu'ils incorporent dans les chylomicrons.

Les chylomicrons natifs pénètrent dans les chylifères des villosités intestinales, lesquels sont plus perméables, suivent le conduit thoracique qui draine les viscères digestifs et rejoignent finalement le sang veineux au niveau de la jonction des veines jugulaire et sous-clavière gauche. Au cours de ce trajet, les chylomicrons acquièrent des apolipoprotéines C et E et du cholestérol estérifié au dépend des HDL.

Les TG et le cholestérol ne circulent pas librement dans le sang parce qu'ils sont très hydrophobes. Au lieu de cela, lorsqu'ils sont transportés vers les cellules ou en provenance de celles-ci dans les liquides de l'organisme, ils sont liés à de petits complexes lipides-protéines, les lipoprotéines. Ces complexes solubilisent les lipides, qui sont hydrophobes, et leur partie protéique contient des signaux (Apolipoprotéines) qui règlent l'entrée et la sortie de lipides particuliers dans les tissus spécifiques. On distingue donc les lipoprotéines de haute-densité (HDL) (d'origine hépatique et intestinale), les lipoprotéines de très basse densité (VLDL) (d'origine hépatique) et leur produit, les lipoprotéines de basse densité (LDL). Les chylomicrons sont des lipoprotéines d'origine intestinale. De plus, des lipoprotéines de densité intermédiaire entre les VLDL et les LDL, les IDL, proviennent de l'hydrolyse en circulation des chylomicrons et des VLDL; on les appelle aussi résidus de chylomicrons ou de VLDL. Nous classifions aussi les lipoprotéines selon leur composition en TG. Il y a les lipoprotéines riches en TG (LRT) dans lesquels se classent les chylomicrons et les VLDL; et les lipoprotéines faibles en TG où se classent les LDL, les IDL et les HDL.

Une heure après l'ingestion d'un repas riche en gras, les chylomicrons composent 1 à 2 % du plasma total. Les chylomicrons ont un temps de demi-vie de l'ordre de 10 minutes et sont rapidement épurés de leurs triglycérides par l'action de

la LpL liée à l'endothélium vasculaire. La présence d'apolipoprotéine C-II à la surface des chylomicrons est un cofacteur indispensable à l'action de cette enzyme qu'elle lie et active à proximité de son substrat (ILLINGWORTH D.R., 1993).

Suite à l'hydrolyse des TG des chylomicrons, ces lipoprotéines deviennent plus denses et petites et sont appelées résidus (ou lipoprotéines de densité intermédiaire – IDL). Ces résidus sont captés et éliminés par le foie via les récepteurs d'apolipoprotéine B :E. Le foie produit aussi les lipoprotéines de très basse densité (VLDL) qui sont également très riches en TG mais sont produites majoritairement durant le jeûne. La figure 10 montre le cheminement du catabolisme et du métabolisme des lipoprotéines.

Le foie est la principale source de VLDL; ces dernières transportent vers les tissus périphériques les TG qui ont été fabriqués ou transformés dans le foie. Lorsque tous ces TG ont été conduits à destination, les résidus des VLDL sont convertis en LDL, ceux-ci étant riches en cholestérol. La fonction principale des HDL, qui sont particulièrement riches en cholestérol et en PPL, est de transporter l'excédant de cholestérol des tissus périphériques (qui ne peuvent pas dégrader, ni excréter le cholestérol directement) vers le foie, où il est dégradé et devient une composante de la bile permettant l'émulsion des lipides alimentaires.

1.2.2.2. *La Lipoprotéine Lipase (LpL) dans le métabolisme des AG*

L'existence initiale de la LpL a été soupçonnée pour la première fois en 1943 lorsque Paul Hahn observa qu'une injection intraveineuse d'héparine pouvait abolir la lipémie associée à l'absorption d'un repas gras (HAHN P.F., 1943). Par la suite, d'autres expérimentations (AFINSEN C.B. et al, 1952, KORN E.D., 1955, KORN E.D. et QUIGLEY T.W.Jr, 1957, SCANU A. 1966) furent réalisées pour en déduire que l'enzyme impliquée dans la lipolyse intravasculaire et dans le catabolisme des LRT, la LpL, était localisée à la surface luminale du réseau vasculaire. Il a été démontré que cette enzyme était présente en forte concentration dans la microcirculation des tissus adipeux, et en second lieu, dans le lit capillaire des muscles squelettiques et cardiaques (FIELDING B.A. et FRAYN K.N., 1998). L'activité endogène de cette enzyme est régulée par une multitude de facteurs physiologiques. Au niveau cardiaque, la LpL peut être synthétisée par les cardiomyocytes et transloquée à partir de la surface cellulaire de protéoglycans héparinés-sulfatés des cardiomyocytes jusqu'à la surface des cellules endothéliales myocardiques (Figure 11 (PULINILKUNNIL T. et RODRIGUES B., 2006)). Cette translocation permet l'activation de la LpL qui hydrolyse les TG des LRT en circulation (la lipolyse intravasculaire des TG – LIVTG) et stimule le captage des AG dérivés des TG (LEVAK-FRANK S. et al, 1995, O'BRIEN K.D. et al, 1994). Des souris transgéniques avec une expression spécifique du gène de la LpL humaine cardiaque et Knock Out (KO) pour le gène de la LpL du muscle squelettique et du tissu adipeux ont démontré des niveaux de TG normaux.

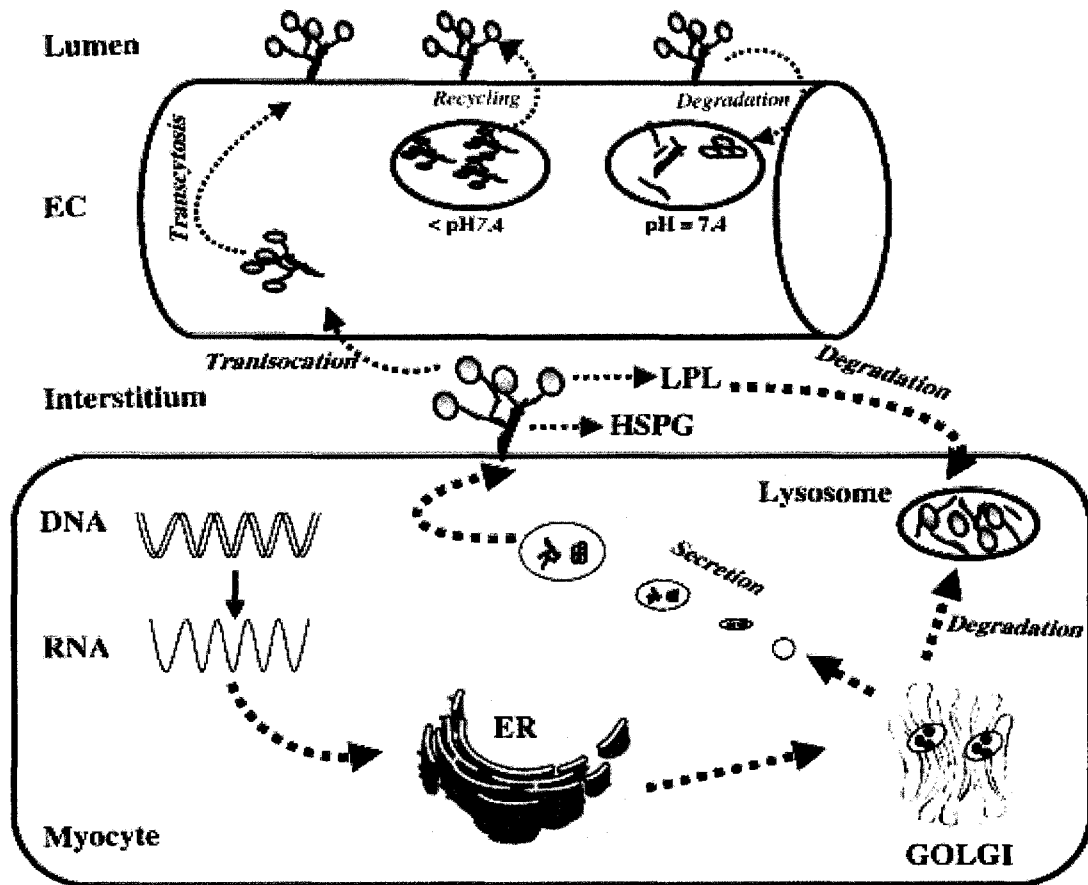


Figure 11 : Synthèse de la LpL et cascade de translocation à partir du réticulum endoplasmique (ER) vers la surface luminale des cellules endothéliales (EC). Tiré de PULINILKUNNIL T. et RODRIGUES B., 2006.

Cela suggère que les LRT peuvent être intensément hydrolysés dans la circulation cardiaque *in vivo* (LEVAK-FRANK S. et al, 1999). À cause des hauts niveaux circulants de LRT durant la période postprandiale, le débordement d'AGL dans la circulation systémique par le biais de la LIVTG dans la microcirculation cardiaque semble être substantiel en dépit de la réduction de l'activité de la LpL durant cette phase chez les rongeurs (TEUSINK B. et al, 2003). Cependant, le rôle relatif des AG myocardiques dérivés des TG circulants vs. les AGL circulants *in vivo* chez l'humain en conditions physiologiques et chez les sujets résistants à l'insuline est encore

inconnu. Il y a peu d'études qui ont comparé directement le métabolisme myocardique des AG dérivés de la LIVTG vs. des AGL plasmatiques *ex vivo* chez des modèles de cœur actif. Le taux d'oxydation des AG dérivés des chylomicrons dans le cœur murin est quantitativement similaire à l'oxydation des AGL plasmatiques lorsque infusés à des niveaux postprandiaux (MARDY K. et al, 2001). Lorsque les concentrations de palmitate liés à l'albumine dans le perfusat sont augmentées (augmentation des AGL), cela ne change pas le taux d'oxydation des AG dérivés des chylomicrons. Cela tend à suggérer aux auteurs que les AG dérivés de l'hydrolyse des TG par la LpL ne sont pas incorporés dans le même pool intracellulaire que les AGL (MARDY K. et al, 2001). Les AGL et les AG dérivés des chylomicrons sont captés de façon similaire et sont oxydés similairement dans des cœurs perfusés. Par contre, les AG dérivés des VLDL ne sont pas métabolisés complètement (HAUTON D. et al, 2001). Contrairement à Mardy et al., cette dernière étude de Hauton et al. ne supporte pas l'idée de l'existence de pool d'AG dérivés de LRT distinct de celui des AGL dans le cœur. Teusink et al., ont montré qu'*in vivo*, l'apport myocardique d'AG provenant de la LIVTG est trois fois plus important que ceux provenant des AGL plasmatiques chez la souris (TEUSINK B. et al, 2003). Une autre étude chez la souris a montré que l'inhibition de la LIVTG résultait en une diminution significative du captage des AG au niveau myocardique (AUGUSTUS A.S. et al, 2003). Ces études n'ont pas évalué si la sélection de substrats myocardiques est affectée par les AG dérivés de la LIVTG.

1.2.3. Résumé du métabolisme cardiaque

L'oxydation des AG représente le deux tiers de la consommation totale d'oxygène pour la production d'énergie dans un cœur normal (OPIE L.H. 1991). Par contre, cette valeur n'est pas réellement représentative du fonctionnement véritable de la cellule myocardique, qui doit adapter son métabolisme à chaque instant, en fonction des conditions physiologiques sanguines.

Après un repas riche en sucre, la glycémie augmente, amenant comme conséquence directe une sécrétion d'insuline qui active la translocation des vésicules de GLUT-4 responsables d'une entrée prononcée de glucose dans la cellule cardiaque, au détriment des AG (STEPHENS J.M. and PILCH P.F., 1995). De par ce fait, la concentration cytoplasmique en acyl-CoA diminue ainsi que la β -oxydation et ses produits susceptibles d'inhiber l'activation de la pyruvate déshydrogénase (PDH) (NADH et acétyl-CoA). La glycolyse, stimulée par l'apport de glucose, stimule l'oxydation du glucose par induction de la forme phosphorylée active de la PDH. Dans ces conditions, la contribution du glucose à la production d'ATP augmente et peut représenter jusqu'à 70% de la production d'énergie au niveau des myocytes cardiaques.

Au contraire, après un repas riche en lipides, la disponibilité plasmatique élevée des TG induit une augmentation du captage des AG par les cardiomyocytes. Cette augmentation du captage des AG est dirigée en partie par une augmentation d'activité de la LpL qui permet d'augmenter la LIVTG dans la circulation cardiaque. De par ce fait, la β -oxydation est favorisée par la disponibilité accrue de substrats. Ses

produits (NADH et acétyl-CoA) vont contribuer à réduire le ratio PDH active/PDH inactive. Le passage vers la forme inactive de la PDH amène un découplage de la glycolyse et des étapes d'oxydation qui la suivent. Cette activation massive de la β -oxydation augmente la contribution des AG à la production d'énergie du cœur, qui peut atteindre 100%. Cette situation métabolique, qui prévaut après un repas riche en gras et faible en sucres, est également celle qui caractérise le myocyte cardiaque en période de jeun à cause de la grande disponibilité des AGL, de la faible disponibilité du glucose et des faibles niveaux d'insuline (GRYNBERG A. 2001).

L'entrée du glucose dans la cellule est contrôlée par l'insuline, la glycémie et l'expression de GLUT-4. Le mécanisme d'entrée des AG est plus controversé. Quel que soit le mécanisme impliqué, il semble de toute évidence que le captage des AG par le myocyte cardiaque est étroitement lié à la concentration extra-cellulaire plutôt qu'à un pur processus de régulation cellulaire et hormonale comme pour le glucose.

En ce qui concerne l'utilisation énergétique des AG, l'enzyme clé du métabolisme est la CPT-1 qui, comme expliqué précédemment, permet le passage des acyl-CoA du cytoplasme vers la mitochondrie. La concentration en acyl-CoA n'étant pas limitante dans le cardiomyocyte, l'ampleur de la β -oxydation est liée à l'activité de CPT-1. La cellule possède son propre rétrocontrôle cytoplasmique de l'activité de CPT-1. Le citrate produit en excès par la mitochondrie lors d'un apport excessif de carbohydrates est reconduit dans le cytoplasme et y est transformé en acétyl-CoA par la citrate lyase. L'acétyl-CoA cytoplasmique est le substrat de l'acétyl-CoA carboxylase qui le transforme en malonyl-CoA, un inhibiteur physiologique de la CPT-1. Dans le myocyte fonctionnel, l'excès d'apport de glucose aboutit donc à

l'augmentation du malonyl-CoA cytoplasmique, qui provoque l'inhibition de la CPT-1 et donc la diminution de l'entrée des acyl-CoA dans la mitochondrie. L'acétyl-CoA carboxylase est par ailleurs inhibée par un apport élevé en AG qui augmente la concentration intracellulaire d'acyl-CoA (SADDIK M. et al, 1993). Ce processus est dû à une kinase AMP-dépendante stimulée par l'AMP (KIM K.H. et al, 1989) et inhibée par l'insuline (GAMBLE J. et LOPASCHUK G.D., 1997). Ainsi, un apport d'énergie sous forme de glucose mène à une réduction de la β -oxydation alors qu'un apport élevé d'AG s'accompagne d'une augmentation de la β -oxydation.

1.3. Le métabolisme des AG et la résistance à l'insuline et le DMT2

1.3.1. Paradigmes expérimentaux diabétogéniques

Il existe une multitude de modèles pour étudier le métabolisme des AG dans un contexte d'insulino-résistance et de DMT2. Il existe les modèles génétiques utilisant l'ablation d'un gène (KO) qui confère une pathologie à l'animal mimant les phénomènes de l'obésité. Cependant, nous n'utilisons pas ces modèles qui possèdent des caractéristiques extrêmes tant au niveau de l'hyperglycémie que de l'hypertriglycéridémie et ne reflètent pas les changements physiopathologiques habituellement rencontrés chez l'humain. Des manipulations nutritionnelles et/ou pharmacologiques peuvent être utilisées pour induire la résistance à l'insuline et des formes de DMT2 plus proche de celle rencontrée chez l'humain.

1.3.1.1. Perfusion intraveineuse de lipides et d'héparine

Cette stratégie nécessite la perfusion intraveineuse d'une solution d'Intralipid 20% et d'héparine. La solution d'Intralipid 20% est une émulsion de lipides composée d'huile de soja, de phospholipides d'œuf et de glycérol. Lorsqu'injecté de façon intraveineuse, la solution d'Intralipid 20% mime un état d'hyperchylomicronémie puisque la densité et la taille des particules d'émulsion sont similaires à celles des chylomicrons. L'héparine, quant à elle, permet de déloger la LpL des protéoglycans héparinés-sulfatés sur lesquels elle est attachée. Cela permet alors à la LpL d'être libérée de la surface luminale endothéliale et d'hydrolyser les TG circulants. Ceci a comme conséquence finale d'augmenter les AGL circulants.

Chez les sujets sains, une élévation des AGL circulants permet d'induire une résistance à l'insuline de manière transitoire. Une perfusion intraveineuse d'Intralipid et d'héparine cause une diminution du captage du glucose musculaire (BODEN G. 1998) après 3 à 4 heures d'infusion. De plus, au niveau hépatique, une accumulation d'AGL réduit l'action inhibitrice de l'insuline sur la gluconéogenèse, ce qui amène une augmentation de la glycémie chez les patients résistants à l'insuline.

1.3.1.2. Diètes à haute teneur en lipides ou en sucres

Chez l'animal, il est possible d'induire la résistance à l'insuline de manière chronique à l'aide d'une diète riche en lipides ou en fructose. Cependant, cette manipulation diététique ne résulte généralement pas en l'induction d'une

hyperglycémie (DMT2). La combinaison d'une diète riche en lipides et en fructose et l'injection d'une faible dose de streptozotocine, un agent toxique qui détruit ainsi partiellement les cellules bêta-pancréatiques responsable de la libération d'insuline, permet d'obtenir une résistance à l'insuline et une hyperglycémie chronique chez le rat. Le modèle de rats nourri avec une diète riche en lipides et avec injection de STZ 50 mg/kg à 2 semaine de la diète a démontré une hyperglycémie modérée et stable ainsi qu'un état hypertriglycéridémique modéré simulant parfaitement les caractéristiques métaboliques des patients atteints du DMT2 (REED M.J. et al, 2000).

De plus, il a été démontré que le modèle de STZ induisait une certaine cardiomyopathie avec une prédisposition au cœur à produire des niveaux d'interleukines-1 β plus élevés. La sévérité des infarctus des cœurs des rats traités avec STZ était augmentée au niveau du ventricule gauche (DI FILIPPO C. et al, 2005). Ces caractéristiques cardiaques se retrouvent aussi chez les humains atteints de DMT2 (TSCHOEPE D. et al, 1999).

Ces modèles de diète et de STZ ne sont pas parfaits. Cliniquement, la résistance à l'insuline ne se développe pas uniquement suite à un excès de lipides ou de sucres. C'est un excès alimentaire global et une mauvaise composition alimentaire combinée à un mode de vie sédentaire qui mène à un état d'obésité et de résistance à l'insuline. De plus, l'utilisation de la STZ n'aide pas à rendre ces modèles cliniquement représentatifs. Une trop forte dose va mener à un diabète de type 1. Alors tous ces modèles peuvent être critiqués lorsque le temps sera venu d'extrapoler les résultats des modèles animaux à l'humain. Ces critiques ont mené à un développement d'un nouveau modèle qui sera expliqué dans la section 4.1.

1.3.2. Niveaux circulants et tissulaires d'AGL augmentés dans le diabète et le pré-diabète

Les AGL plasmatiques à jeun sont généralement élevés lorsque examinés dans de grand échantillon de populations avec l'obésité et DMT2 (BALDEWEG S.E. et al, 2000, LAWS A. et al, 1997). Les résultats obtenus dans ces cohortes de près d'un millier de sujets a permis de démontrer qu'il existe bel et bien une relation entre la résistance à l'insuline, la régulation des AGL et la concentration plasmatique de TG. De plus, cette relation est indépendante de l'âge, du sexe, de l'indice de masse corporel (IMC) et de la situation géographique à travers l'Europe.

Le DMT2 est associé à une combinaison d'anomalies plasmatiques; une augmentation des niveaux de TG, de bas niveaux de cholestérol des HDL, et des niveaux relativement normaux de LDL (GINSBERG H.N. et al, 2005). Au niveau adipocytaire, la résistance à l'insuline favorise l'hydrolyse des pools de TG intracellulaires et une augmentation des niveaux circulants d'AGL. Au niveau des adipocytes, la clairance sanguine des AG contenus dans les LRT ne se fait pas puisque la stimulation de la LpL par l'insuline est incomplète ou même abolie. Par contre, au niveau musculaire, la résistance à l'insuline favorise l'expression de la LpL à la surface luminale des cellules endothéliales, ce qui permet le captage des AG contenu dans les LRT par les tissus musculaires, squelettiques et cardiaque (SADUR C.N. et al, 1984, YOST T.J. et al, 1995a). Ces conséquences auront pour effet d'augmenter les TG sanguins et d'augmenter les niveaux musculaires de lipides.

De plus, comme l'illustre très bien la figure 12 (LEWIS G.F. et al, 2002), le résultat net d'une augmentation des AGL provenant de la LIVTG et une diminution de l'estérification fractionnelle des AGL dans les adipocytes chez les patients DMT2 est un débordement (« spill over ») des AGL vers les tissus non-adipeux tel le foie, les muscles, le cœur et les cellules β pancréatiques. Cela favorise davantage l'augmentation des AG tissulaires. Outre cela, une augmentation du flux des AG va produire, au niveau hépatique, un stockage de TG et une synthèse accrue de VLDL qui seront sécrétées en plus grande quantité dans la circulation (Figure 8). Ces lipoprotéines seront hydrolysées par les LpL se retrouvant au niveau musculaire et augmenteront la biodisponibilité des AG comme substrat énergétique, contribuant potentiellement au stockage de TG au niveau tissulaire.

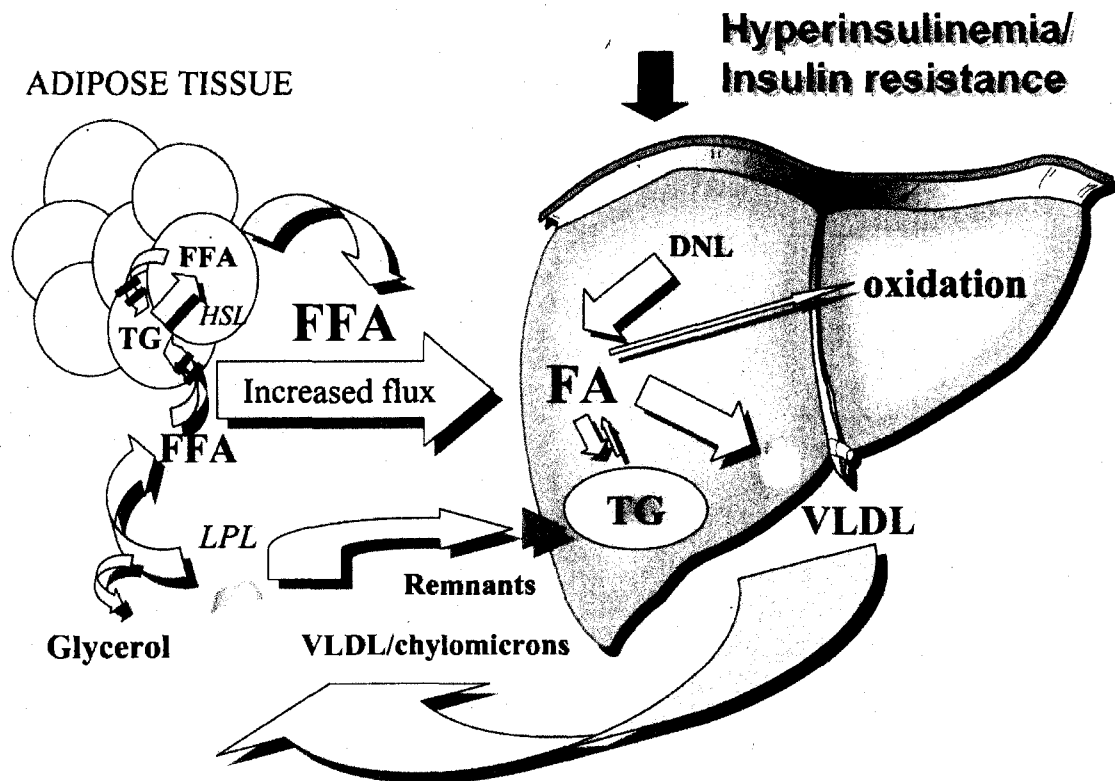


Figure 12 : Débordement des AG vers les tissus périphériques chez le diabétique. Tiré de LEWIS G.F. et al, 2002.

1.3.3. Augmentation du captage des AG musculaires

Une accumulation intramyocellulaire de TG (IMTG) est associée au développement d'une résistance à l'insuline musculaire chez l'humain (GOODPASTER B.H. et al, 1997, KRSSAK M. et al, 2000, PAN D.A. et al, 1997, PHILLIPS D.I. et al, 1996). Une constatation totalement paradoxale est que les TG sont aussi accumulés dans les tissus musculaires des athlètes hautement entraînés (HOPPELER H. et al, 1999). Par contre, comme démontré par le groupe de Kelley et Goodpaster (KELLEY D.E. et GOODPASTER B.H., 2001) les TG musculaires des athlètes ne procurent pas des effets métaboliques néfastes dans le muscle, mais uniquement une capacité métabolique pour une utilisation rapide lors d'un effort physique intense et soutenu. Il semble bien que ces différences d'impact des niveaux intramyocellulaires de TG soient en partie dues à l'expression différentielle de gènes impliqués dans le métabolisme des AG musculaires (RUSSELL A.P., 2004). L'accumulation intramyocellulaire de TG ne semble donc n'être qu'un marqueur de la résistance musculaire à l'insuline et non sa cause.

1.3.4. Réduction de l'oxydation des AG musculaires

Les mécanismes expliquant la relation entre l'accumulation des TG musculaires et la résistance à l'insuline sont multiples (CARPENTIER A.C., 2007). Cependant, la cause de l'accumulation ectopique de TG dans les tissus non-adipeux demeure débattue. L'une des hypothèses les plus en vogue veut que cette accumulation

soit due à une déféctuosité primaire de l'oxydation des AG (CAO H. et al., 2006, LOWELL B.B. et SHULMAN G.I., 2005) . Certaines études supportent aussi la contribution d'une augmentation de la lipogenèse *de novo* (LDN) notamment au foie dans l'accumulation ectopique de TG (VEDALA A. et al., 2006). Il est également possible qu'une augmentation du flux des AGL plasmatiques aux muscles ou une augmentation de leur captage soit responsable de cette accumulation (BONEN A. et al., 2006) .Finalement, un captage plus important des AG dérivés de la LIVTG pourrait aussi être une source importante menant à l'accumulation de TG ectopiques.

Les muscles des patients obèses, résistants à l'insuline et diabétiques de type 2 ont une capacité réduite du captage et à l'oxydation des AG dérivés du pool plasmatique d'AGL pendant le jeun ou pendant l'exercice (KELLEY D.E. et al, 1999, SIMONEAU J.A. et al, 1999, TURPEINEN A.K. et al, 1999). Ces changements pourraient être attribués à une diminution de l'oxydation des AG via une déféctuosité de la CPT-I (KIM J.Y. et al, 2000). De plus, une inhibition pharmacologique de la CPT-I musculaire, chez le rat, est associée à une accumulation de TG musculaire et au développement de la résistance à l'insuline (DOBBINS R.L. et al, 2001). Ce dérèglement de l'oxydation des AG musculaires, dans ces conditions pathologiques, pourrait aussi être le résultat d'une exposition chronique et excessive aux carbohydrates et aux AGL, puisqu'une élévation de la malonyl-CoA due à un excès en apport énergétique a été associée avec une réduction de l'oxydation des gras musculaire via l'inhibition de CPT-I (BAVENHOLM P.N. et al, 2000, CHIEN D. et al, 2000) (figure 8).

1.4. Désordre du métabolisme myocardique dans le diabète de type 2

La cellule musculaire cardiaque ne dispose que d'un stock d'ATP limité ne permettant que quelques contractions. La permanence de la fonction cardiaque dépend donc de la capacité instantanée du cardiomyocyte à produire la quantité d'ATP correspondant à la demande énergétique. C'est pourquoi le cœur doit s'adapter rapidement à toute variation de l'approvisionnement en substrat, ce qui lui vaut parfois, dans la littérature américaine, le qualificatif 'd'omnivore métabolique'. Le myocyte ventriculaire dispose en effet d'un équipement métabolique complexe qui lui permet de passer des substrats majeurs (AG et glucose) à des sources de moindre importance comme le lactate, le pyruvate, les corps cétoniques ou les acides aminés. L'intégrité de ce système métabolique constitue la base du maintien d'une fonction optimale, en fonction de la biodisponibilité des substrats, résultant en grande partie des conditions environnementales (apport nutritionnel, stress, état postprandial, exercice physique, activité hormonale, oxygénation), et des conditions physiopathologiques tel le DMT2 (GRYNBERG A. 2001).

1.4.1. Epidémiologie de l'insuffisance cardiaque associée à la résistance à l'insuline et au DMT2

La résistance à l'insuline et le DMT2 sont deux pathologies responsables du développement des problèmes coronariens, de cardiomyopathies et d'insuffisance cardiaque. Le risque relatif chez les patients atteint de ces pathologies de développer

des problèmes coronariens est augmenté de deux à quatre fois (GU K. et al, 1998, KULLER L.H. et al, 2000). Le risque absolu de problèmes cardiovasculaires chez la plupart des patients DMT2 est similaire aux patients qui ont déjà eu un infarctus du myocarde (HAFFNER S.M. et al, 1998, MALMBERG K. et al, 2000). De plus, des facteurs de risque cardiovasculaires sont habituellement présents et jouent un rôle crucial dans l'augmentation du risque cardiovasculaire chez les patients atteints de résistance à l'insuline et de DMT2. Les dyslipidémies jouent probablement un rôle prédominant dans cette augmentation du risque (SYVANNE M. et TASKINEN M.R., 1997). Les problèmes lipidiques les plus fréquents chez ces patients sont l'hypertriglycémie et la diminution des niveaux de cholestérol des lipoprotéines de haute densité (HDL-c) (SIEGEL R.D. et al, 1996). De récentes études ont démontré que l'augmentation du risque cardiovasculaire chez les patients DMT2 est grandement confinée aux patients présentant un syndrome de résistance à l'insuline (ALEXANDER C.M. et al, 2003, ISOMAA B. et al, 2001).

Le DMT2 est associé à des anomalies précoces de la contractilité myocardique indépendante de la présence d'événements ischémiques, d'hypertension et d'obésité (CELENTANO A. et al, 1995). Le diabète est aussi un facteur de mauvais pronostic chez les patients atteints d'insuffisance cardiaque, spécifiquement ceux avec des désordres ischémiques cardiaques (DRIES D.L. et al, 2001, MOSTERD A. et al, 2001). Il est très bien connu que l'augmentation de la mortalité et de la morbidité après un infarctus du myocarde chez les patients diabétiques peut être reliée à des lésions coronariennes distales et diffuses chez ces patients. Les patients diabétiques et ceux ayant une résistance à l'insuline ont une capacité réduite à l'exercice

comparativement à ceux qui ont une fonction ventriculaire similaire mais qui n'ont pas de résistance à l'insuline (SWAN J.W. et al, 1994a). La résistance à l'insuline est aussi associée à l'ischémie myocardique en l'absence de lésions coronariennes athérosclérotiques (SWAN J.W. et al, 1994b).

Les hauts niveaux de LRT chez les patients avec DMT2 pourraient probablement expliquer l'augmentation des taux de complications précoces suite à un événement coronarien. Il a été bien connu que les LRT sont capables de produire une dysfonction endothéliale *in vitro* et *in vivo* (DOI H. et al, 1998, GRIEVE D.J. et al, 1998) et peuvent induire des modifications pro-inflammatoires et un stress oxydatif dans les cellules endothéliales (DICHTL W. et al, 1999, HENNIG B. et al, 2000). Une infusion intraveineuse (IV) d'émulsion de TG chez l'humain augmente les niveaux du « Plasminogen-activator inhibitor-1 » (PAI-1), un autre marqueur du syndrome de résistance à l'insuline et un facteur de risque pour des événements coronariens (CALLES-ESCANDON J. et al, 1998). Un traitement avec des agents pharmacologiques permettant de réduire les lipides circulants pendant quelques semaines a démontré une amélioration de la fonction endothéliale (BALLER D. et al, 1999, DE MAN F.H. et al, 2000, DUPUIS J. et al, 1999, EVANS M. et al, 2000, HUGGINS G.S. et al, 1998) et de la fonction ventriculaire (DE LORGERIL M. et al, 1999). Le mécanisme précis par lequel les lipoprotéines sont toxiques pour l'endothélium est encore mal connu. L'élévation des AGL plasmatiques peut aussi produire une dysfonction endothéliale *in vitro* et *in vivo* chez les animaux et les humains (DAVDA R.K. et al, 1995, DE KREUTZENBERG S.V. et al, 2000, EGAN B.M. et al, 1999, STEINBERG H.O. et al, 2000). Cela soulève la possibilité que

l'effet néfaste des LRT sur l'endothélium soit causée par une lipolyse intravasculaire locale de ces lipoprotéines ayant comme résultante une forte concentration locale d'AGL.

L'introduction d'agents pharmacologiques capable de diminuer les niveaux de lipides sanguins pendant quelques jours après un événement ischémique du myocarde peut diminuer la mortalité et la morbidité à court terme (SCHWARTZ G.G. et al, 2001). Par contre, le mécanisme précis expliquant ces bénéfices est encore mal compris. Cette découverte supporte de plus en plus la toxicité accrue engendrée par les lipoprotéines circulantes durant la période entourant un événement ischémique myocardique aigu. Au-delà des effets potentiellement bénéfiques sur la dysfonction endothéliale et sur le flot sanguin coronarien, les agents hypolipémiants pourraient probablement exercer certaines de leurs actions bénéfiques via l'amélioration de l'utilisation des substrats énergétiques par les cellules myocardiques. Une oxydation élevée des AG par le myocarde au dépend de l'oxydation du glucose pourrait expliquer la prédisposition des patients DMT2 à l'insuffisance cardiaque et à la mortalité après un infarctus du myocarde (MALMBERG K. et al, 1999, RODRIGUES B. et al, 1995, STANLEY W.C. et al, 1997). Le résultat le plus intéressant de l'étude DIGAMI est la démonstration d'une réduction marquée de la mortalité et de la morbidité cardiaque suivant un événement ischémique chez les patients diabétiques traités avec de l'insuline. Ces patients ont démontré le potentiel thérapeutique de l'augmentation de l'utilisation du glucose durant une ischémie myocardique (MALMBERG K. et al, 1995). De plus, les agents pharmacologiques inhibant l'oxydation myocardique des AG et améliorant l'oxydation du glucose

semblent avoir des propriétés anti-ischémiques indépendamment du changement du flot sanguin coronarien (BAGGER J.P. et al, 1997, KANTOR P.F. et al, 2000, LOPASCHUK G.D. 1998, PEPINE C.J. et WOLFF A.A., 1999, ZACHAROWSKI K. et al, 2001).

1.4.2. Altération du métabolisme myocardique dans la résistance à l'insuline et le DMT2

1.4.2.1. Le métabolisme du cœur diabétique

Le myocyte du cœur diabétique présente un certain nombre de particularités, principalement liés au fait que la balance AG/glucose est largement déséquilibrée vers une sur-utilisation des AG. L'oxydation des AG passe de 70 à 90% de la production d'ATP dans le cœur diabétique (LOPASCHUK G.D. 1996) comparativement à un cœur en santé. Mais quels sont les mécanismes responsables de cette augmentation de l'utilisation des AG dans les cœurs diabétiques de type 2 ?

Plusieurs étapes clés du métabolisme des AG par les cardiomyocytes ont été investiguées comme cible responsable de l'augmentation de l'utilisation des AG. De façon importante, l'expression d'un bon nombre des transporteurs et enzymes des voies métaboliques des AG est modulée via l'activation de PPAR α (BRANDT J.M. et al, 1998, GILDE A.J. et al, 2003, HUSS J.M. and KELLY D.P., 2004). Bien que l'expression de PPAR α est inchangée dans le cœur des souris *db/db*, l'expression du co-activateur de PPAR α (PGC-1), est élevée (FINCK B.N. and KELLY D.P., 2002). De plus, l'activité de la PPAR α pourrait être stimulée dans les cœurs diabétiques en

réponse à une concentration plasmatique élevée en AG due à la résistance à l'insuline et à une lipolyse accélérée dans le tissu adipeux. Les AG étant des ligands naturels des PPAR α (FRANCIS G.A. et al, 2003), il est fort probable que leur plus grande disponibilité conditionne plusieurs des modifications métaboliques dépendantes de PPAR α dans le cœur diabétique.

De façon encore plus évidente, une diminution du transport membranaire cardiaque du glucose est liée à la résistance et éventuellement, à la carence en insuline. Cette diminution relative de la disponibilité du glucose peut rendre le myocarde diabétique encore plus dépendant de l'oxydation des AG pour sa production d'énergie. Mais la responsabilité majeure des perturbations observées doit être attribuée aux altérations du métabolisme des AG et des mécanismes contrôlant la β -oxydation. Chez le diabétique, il est bien connu que la concentration plasmatique en AG et en TG est élevée en tout temps, en lien avec la résistance à l'insuline du tissu adipeux et du foie. Une expérience réalisée avec des cœurs de rats diabétiques isolés perfusés avec du glucose comme unique substrat a amené une consommation d'oxygène qui provenait essentiellement de l'oxydation des AG endogènes (LOPASCHUK G.D. 1996). L'une des raisons mises en évidence dans la littérature est la diminution de la concentration en malonyl-CoA. Cette diminution est provoquée par la diminution de l'activité de l'acétyl-CoA carboxylase sous l'effet de l'activation de la kinase AMP-dépendante, probablement associée à la carence de la régulation par l'insuline. Ces particularités ne seraient pas liées à une altération de l'expression des enzymes impliqués, mais bien à un mécanisme impliquant la disponibilité des substrats. De plus, l'augmentation de l'expression et de l'activité de la malonyl-CoA

décarboxylase, l'enzyme responsable du catabolisme du malonyl-CoA, contribue à la réduction de la concentration de malonyl-CoA (SAKAMOTO J. et al, 2000).

En plus de la diminution de la glycolyse liée à la diminution du captage du glucose, l'oxydation excessive des AG amène des répercussions sur l'utilisation du glucose. La vitesse de la glycolyse est diminuée, probablement via l'inhibition de la phosphofructokinase par l'excès de citrate et l'augmentation du rapport NADH/NAD⁺ suite à la β-oxydation des AG. De plus, l'utilisation prédominante des AG entraîne une inactivation de la PDH caractéristique du cœur diabétique (GRYNBERG A. 2001).

1.4.3. Rôle potentiel des lipoprotéines riches en triglycérides dans la pathogenèse des anomalies de la régulation du métabolisme myocardique

In vivo, il y a deux sources d'AG pour le métabolisme myocardique, figure 13 (CARLEY A.N. and SEVERSON D.L., 2005): 1) les AGL, qui sont dérivés de la lipolyse intracellulaire dans les tissus adipeux et 2) les AG dérivés de la LIVTG par la LpL. Comme illustré à la figure 11, ce ne sont pas les cellules endothéliales qui sont responsables de la synthèse de la LpL, mais bel et bien les cellules parenchymateuses. Après la synthèse de l'enzyme, il y a translocation à la surface des cellules endothéliales.

En plus du captage cardiaque des AG produits par la LIVTG catalysée par la LpL, les LRT plasmatiques peuvent être saisis par endocytose dépendante du

récepteur lipoprotéique (NIU Y.G. et al, 2004). Le captage des TG provenant des chylomicrons (CM-TG) est contrôlé de façon prédominante par la dégradation catalytique de la LpL, en contraste avec le captage des TG-VLDL qui est dépendant à la fois de l'action de la LpL et du récepteur TG-lipoprotéine (TGLPR) (figure 13).

L'utilisation des LRT comme source d'AG cardiaque a été investiguée chez des cœurs perfusés et isolés tant chez la souris (MARDY K. et al, 2001) que chez le rat (HAUTON D. et al, 2001, NIU Y.G. et al, 2004). La disponibilité excessive des AGL ne réduit pas le métabolisme des TG-CM (MARDY K. et al, 2001) ou des VLDL-TG (HAUTON D. et al, 2001), ce qui suggère que les AGL et les AG produits par la LIVTG n'utilisent pas nécessairement les mêmes voies métaboliques.

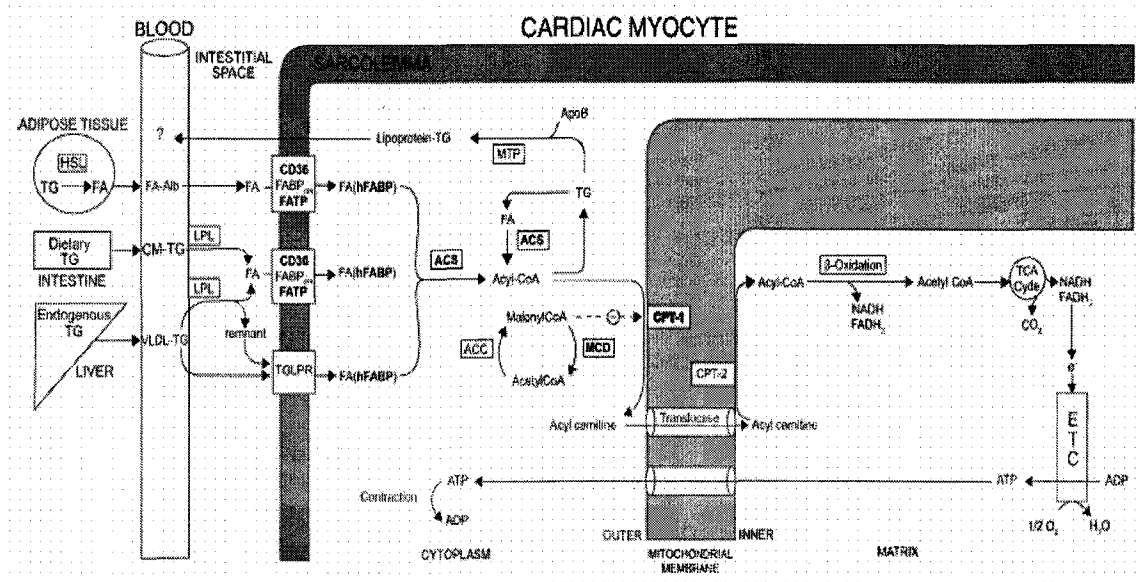


Figure 13. Captage et métabolisme des AG au niveau cardiaque avec tous les intermédiaires et les enzymes impliqués. Tiré de CARLEY A.N. and SEVERSON D.L., 2005.

1.4.4. Méthodes expérimentales d'inhibition de la lipolyse intravasculaire des lipoprotéines riches en triglycérides

Il existe une multitude de façons pour inhiber la lipolyse intravasculaire des LRT. Il existe des inhibiteurs pharmacologiques, des détergents et même des modèles de souris transgéniques ayant un déficit pour l'enzyme responsable de la lipolyse, la LpL.

Inhibiteurs pharmacologiques

Un agent pharmacologique couramment utilisé pour inhiber les lipases en biologie cellulaire est la tétrahydrolipstatine (THL). Cette substance est l'agent actif du médicament utilisé dans le traitement de l'obésité (Orlistat[®]) dont le mécanisme d'action mise sur la diminution de l'assimilation des TG au niveau du tube digestif. La THL, dérivée de la lipstatine produit par la bactérie *Streptomyces toxytricini*, est un inhibiteur général des lipases de mammifères, dont la LpL (LOOKENE A. et al, 1994). Le problème reste que le THL inhibe toutes les formes de lipases et non seulement la LpL (HADVARY P. et al, 1991, LOOKENE A. et al, 1994, NIU Y.G. et al, 2004). Un autre problème est sa solubilité. Malheureusement, cette substance se dissout uniquement dans l'alcool pur ou le DMSO. Donc, une injection d'une dose efficace nécessite un volume assez grand pour créer de l'hémolyse et même la mort chez les animaux *in vivo*.

Modèles transgéniques murins

Le modèle de souris KO de la LpL au niveau cardiaque est également utile pour évaluer le rôle de la LpL dans le métabolisme cardiaque. Un problème potentiel avec ce modèle est que ces animaux se développent et naissent privés de cette enzyme très importante dans le captage des AG au niveau cardiaque. Les animaux développent donc des mécanismes compensatoires pour réussir à maintenir une fonction cardiaque normale. Plusieurs études réalisées par le groupe d'Ira J. Goldberg ont montré qu'un KO spécifique au niveau myocardique du gène de la LpL amène une augmentation du métabolisme et de l'oxydation du glucose associée à une hypertrophie cardiaque (AUGUSTUS A. et al, 2004, AUGUSTUS A.S. et al, 2006, NOH H.L. et al, 2006b). Ce modèle n'est donc pas approprié pour l'étude du rôle physiologique et pathophysiologique des AG venant des LRT.

Les détergents

Le Triton Wr-1339 est un détergent anionique qui, lorsque injecté de façon intraveineuse, amène une accumulation progressive des TG plasmatiques. Une fois injecté, ce détergent englobe les lipoprotéines empêchant le site actif de la LpL d'hydrolyser les TG en AG. Ayant une demi-vie circulante assez longue, sa durée d'action est de plus de 3 heures. Malheureusement, comme dans le cas du THL, le Triton Wr-1339 empêche le métabolisme des TG dans les autres organes de l'organisme. Mais par contre, le Triton Wr-1339 est l'agent le plus communément utilisé dans les expériences où la lipolyse intravasculaire cardiaque doit être inhibée

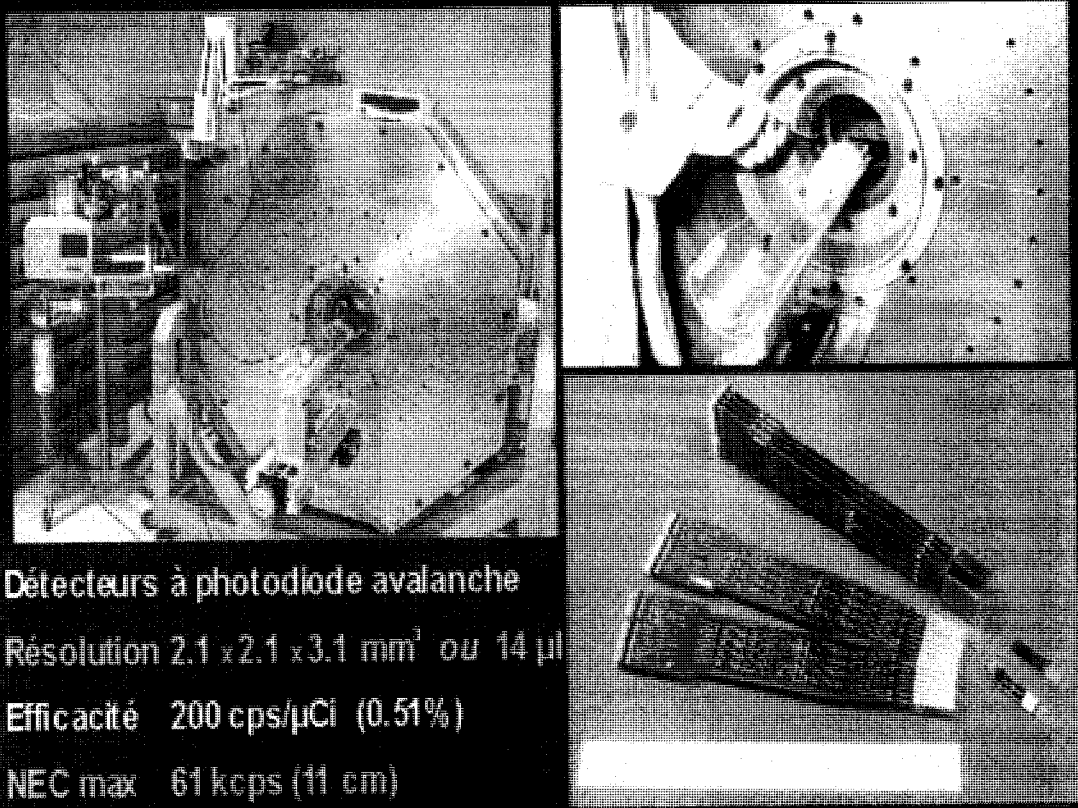
de manière aigue (BORENSZTAJN J. et al, 1976, MILLAR J.S. et al, 2005, OTWAY S. et ROBINSON D.S., 1967).

1.5. L'utilisation de traceurs pour la détermination du métabolisme cardiaque in vivo

1.5.1. Principe de la tomographie par émission de positrons (TEP)

La TEP a été introduite dans le milieu des années 1970. C'est une technique qui permet de mesurer la concentration de positrons émise par un radioisotope à l'intérieur d'un tissu même de sujets vivants. C'est une technique qui permet d'évaluer, de façon non-invasive et quantitative, un changement dans le métabolisme d'un organe ou d'un tissu en particulier. Cette caractéristique du TEP fait de cette méthode un complément à toutes les techniques qui sont actuellement utilisées pour les études des AG et du glucose autant chez les humains que chez les animaux dans le laboratoire du Dr. Carpentier. La présence et la disponibilité d'un centre TEP (Figure 14), incluant toute l'expertise requise pour la synthèse de traceurs et le développement des méthodes d'imagerie métabolique place notre laboratoire dans une position privilégiée pour développer de nouvelles méthodes d'investigation *in vivo* du métabolisme du glucose et des AG.

Scanner TEP animal de Sherbrooke



Détecteurs à photodiode avalanche
 Résolution $2.1 \times 2.1 \times 3.1 \text{ mm}^3$ ou $14 \mu\text{m}$
 Efficacité 200 cps/ μCi (0.51%)
 NEC max 61 kcps (11 cm)



 

Figure 14. TEP pour petits animaux au Centre de recherche clinique Etienne-Le Bel du Centre Hospitalier de l'Université de Sherbrooke.

Un traceur émetteur de positrons est en fait une molécule marquée avec un nucléide émettant des positrons permettant sa détection tomographique à l'intérieur d'un organe d'intérêt. Les isotopes émettant des positrons (^{11}C , ^{13}N , ^{15}O et ^{18}F) peuvent être produits grâce à un accélérateur de particules produisant des neutrons libres (Cyclotron). Ces particules de haute énergie sont utilisées immédiatement pour bombarder des cibles chimiques et produire les isotopes émetteurs de positrons. Ces isotopes sont très instables et leur désintégration est très rapide (demi-vie de 20 min

pour ^{11}C , 10 min pour ^{13}N , 2 min pour ^{15}O et 109 min pour le ^{18}F). Dans les tissus biologiques, les positrons émis sont annihilés avec leurs antiparticules (électrons), relâchant deux photons gamma en sens opposé et qui sont détectés à l'extérieur de l'organisme à l'aide d'un tomographe.

Le tomographe consiste en des anneaux de détecteurs à scintillation sensibles aux rayonnements gamma où les deux photons gamma pourront être 'visualisés' par détection coïncidentielle à partir de deux détecteurs à scintillation placés à 180° l'un de l'autre (Figure 15).

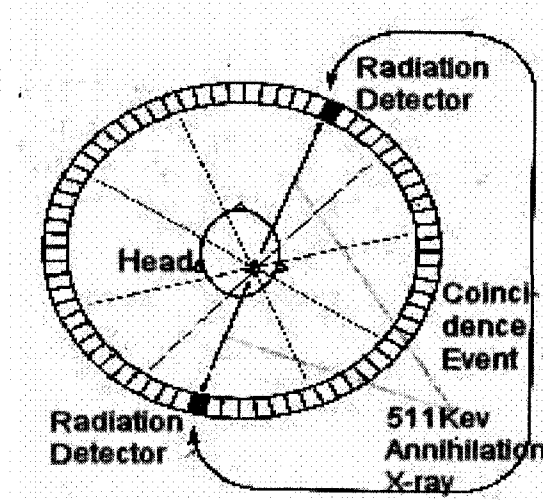


Figure 15. Détection des photons gamma par les détecteurs à scintillation permettant de déterminer l'emplacement de l'émission; Image provenant du site internet : A Review of the Universe - Structures, Evolutions, Observations, and Theories (<http://universe-review.ca/>).

Pour l'analyse des données, une région d'intérêt de notre organe cible est délimitée. Les décomptes par seconde de cette région sont alors convertis en concentration absolue de traceur (nCi/mL) par volume de tissu grâce à l'utilisation d'un fantôme cylindrique permettant de procéder à la calibration de l'appareil. En plus de l'activité tissulaire, la concentration de radioactivité du sang artérielle est calculée

avec un compteur permettant une calibration supplémentaire de l'activité circulante détectée par TEP. La mesure continue du déclin de la radioactivité dans les échantillons sanguins et la radioactivité tissulaire apparente mesurée par TEP permettent de déterminer le métabolisme tissulaire du traceur (Figure 16-18).

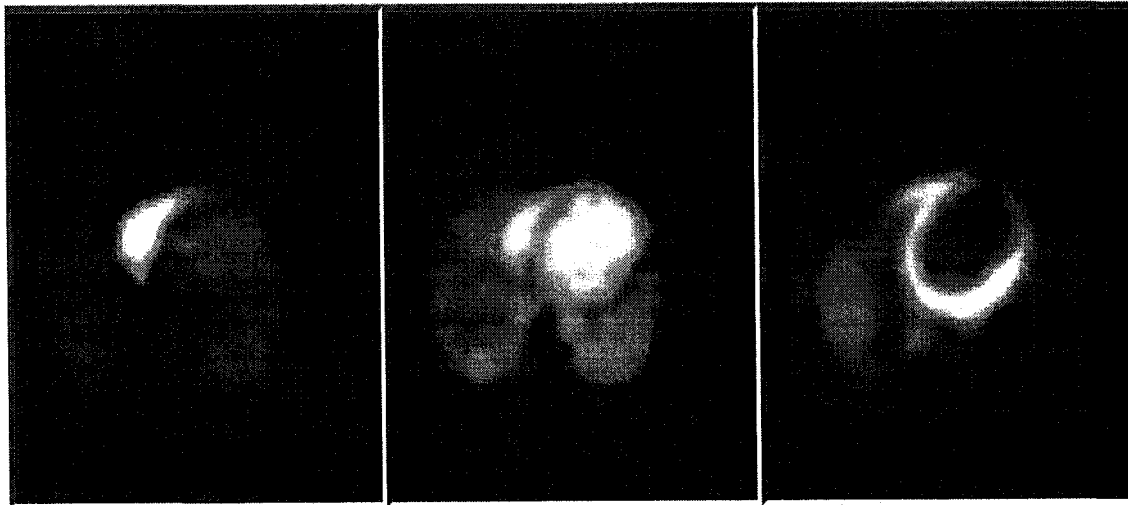


Figure 16. Reconstruction tomographique provenant d'un cœur de rat grâce à la TEP

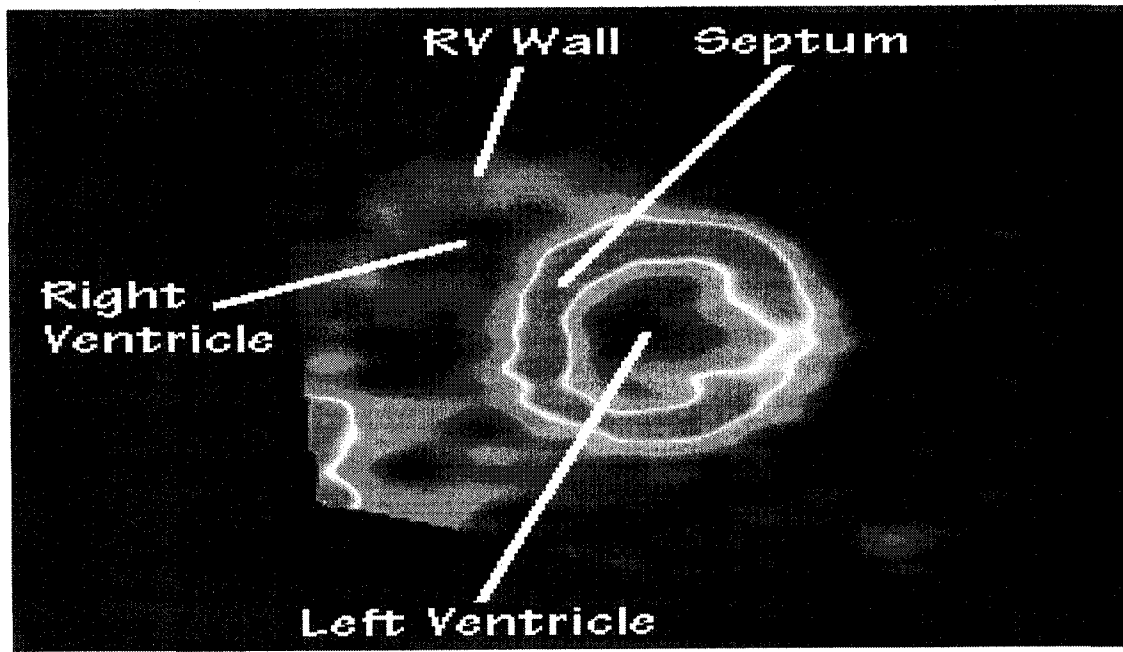


Figure 17. Structure d'un cœur grâce à l'imagerie par TEP.

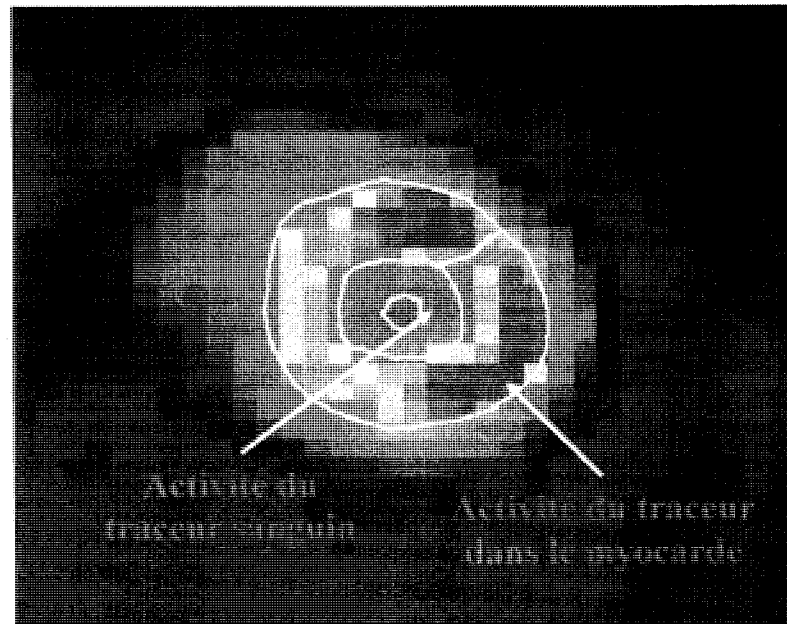


Figure 18. Représentation d'un cœur avec la délimitation des régions d'intérêts (ROI)

1.5.1.1. Traceurs utilisés lors de la TEP

1.5.1.1.1. 2-deoxy-2-[^{18}F]-fluoro-D-glucose (FDG)

Le 2-deoxy-2-[^{18}F]-fluoro-D-glucose (^{18}F -FDG) est utilisé conventionnellement comme traceur pour l'imagerie métabolique, pour l'évaluation du métabolisme du glucose dans le cerveau et dans le cœur, et pour identifier des pathologies néoplasiques.

Un modèle mathématique pour déterminer la cinétique du traceur peut estimer le glucose circulant utilisé à partir des données TEP. Le modèle du [^{18}F]-FDG est basé sur le fait que le déoxyglucose entre dans la cellule par les mêmes transporteurs que le glucose et y est phosphorylé tout comme le glucose. Le [^{18}F]-FDG phosphorylé est

piégé irréversiblement dans la cellule, tandis que le [¹⁸F]-FDG non-phosphorylé peut retourner dans la circulation. Deux manières sont possibles pour l'analyse des données : 1) Une analyse graphique des courbes temps-activité du sang et des tissus pour la détermination du taux métabolique myocardique du glucose (MMRG) en accord avec Patlak et al. (PATLAK C.S. et al, 1983); et 2) une analyse multicompartimentale (2 compartiments) des données ajustées en accord avec le modèle cinétique proposé par Sokoloff et al. (SOKOLOFF L. et al, 1977) pour analyser la constante du transport du glucose dans la cellule (K1), le retour du traceur de la cellule vers la circulation (k2), et la phosphorylation intracellulaire du FDG (k3) (figure 19).

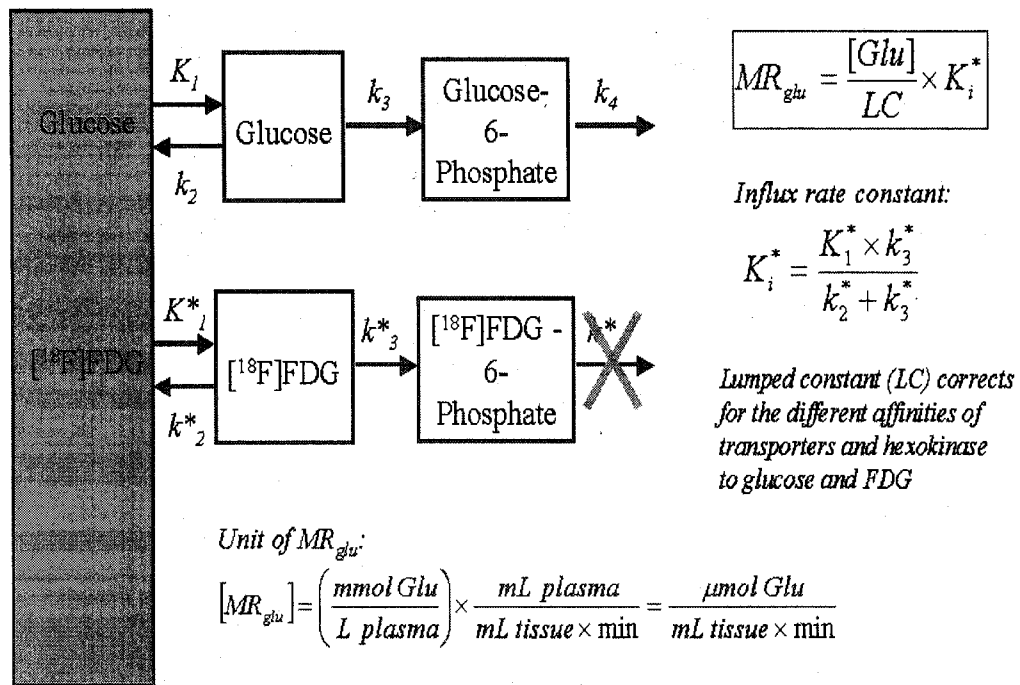


Figure 19. Modèle multicompartimental de Sokoloff pour la détermination du taux métabolique du glucose. La colonne rouge représente un capillaire, K1, k2, k3 et k4 représente respectivement les constantes pour le transport du glucose dans la cellule, le retour dans la circulation, la phosphorylation intracellulaire et le métabolisme subséquent du glucose (considéré égal à 0 dans le cas du FDG). Tiré de SOKOLOFF L. et al, 1977.

L'approche graphique de Patlak n'assume aucune connaissance spécifique du nombre de compartiments intracellulaires lors de la cinétique. Il requiert un échange réversible du traceur entre les différents compartiments et un compartiment final dans lequel le traceur est piégé de façon irréversible. Dans le tracé graphique de Patlak, le ratio entre la concentration de $[^{18}\text{F}]$ -FDG tissulaire et sanguin est mis en tracé en fonction de l'intégrale de la concentration sanguine artérielle de $[^{18}\text{F}]$ -FDG à partir du temps 0 jusqu'au temps t divisé par les niveaux de $[^{18}\text{F}]$ -FDG sanguins au temps t . Après une période initiale, la pente de la courbe, la constante de transfert K , devient linéaire et représente le taux fractionnel de captage du traceur de la circulation vers le tissu (Figure 20).

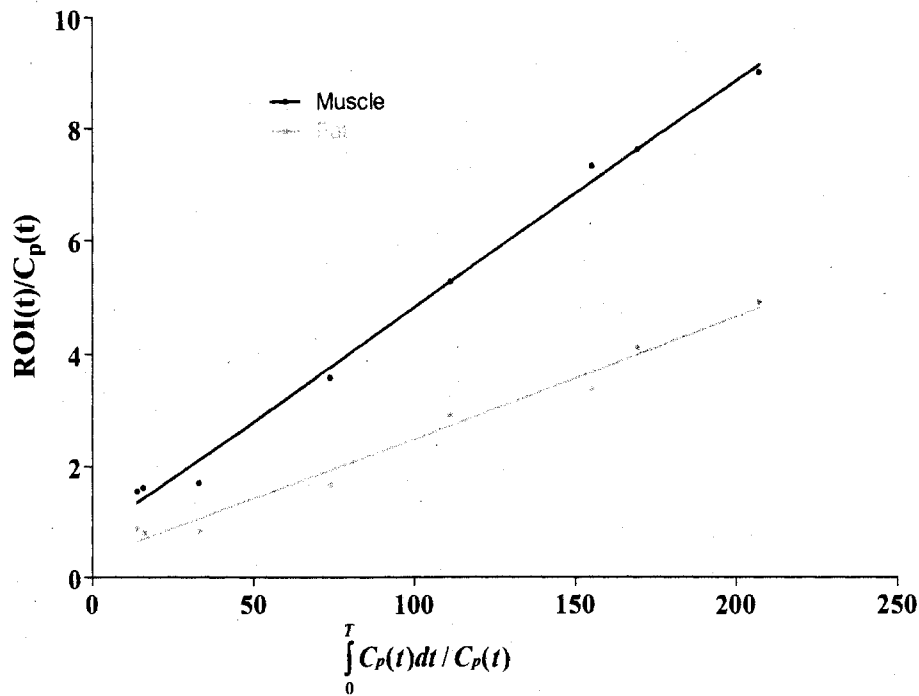


Figure 10 : Exemple graphique de l'équation de PatLak. ROI : Concentration du traceur dans la région d'intérêt. Cp : Concentration du traceur dans le plasma.

La multiplication de K par la concentration sanguine de glucose (qui doit idéalement rester constante pendant l'étude) donne un indice du métabolisme du glucose (dans le cas du cœur, le « *myocardial metabolic rate of glucose* », MMRG). Lorsque comparé avec la courbe de Patlak, le modèle tissulaire à 2 compartiments avec une correction pour le volume sanguin fractionnel (c.-à-d. le compartiment d'un tissu extravasculaire inclut des espaces interstitiels et cellulaires, et un compartiment cellulaire pour phosphoryler les substrats) permettant l'interprétation des constantes ajustées de K1 (le transport intracellulaire), k2 (le retour sanguin du traceur), k3 (la phosphorylation intracellulaire et le piégeage du [¹⁸F]-FDG) et k4 (souvent considéré égal à 0 pour le FDG).

Les valeurs des constantes peuvent être obtenues en ajustant la solution de l'équation différentielle du modèle [¹⁸F]-FDG à la mesure de la courbe temps-activité. La « Lump Constant (LC) » est utilisée pour corriger la différence dans le comportement métabolique du [¹⁸F]-FDG et du glucose. Ceci est très important puisqu'une différence dans l'affinité dans l'un des processus (transport ou phosphorylation) pourrait amener des aberrations dans les valeurs. Dans notre cas, le [¹⁸F]-FDG et le glucose ont une affinité comparable dans le cœur, d'où la LC = 1. Le MMRG peut être calculé à partir des analyses graphiques de Patlak ou à partir de la procédure multicompartmentale en accord avec l'équation suivante :

$$\text{MMRG} = (\text{Concentration artérielle de glucose} / \text{lumped constant}) \bullet K$$

Où $K = (K1 \times k3) / (k2 + k3)$. Il est évident que la valeur absolue du MMRG dépend de la LC, tandis que le calcul de la constante de transfert K est indépendante de LC et

peut être dérivée à partir de l'analyse du tracé provenant du graphique Patlak, ce qui génère les constantes de cinétique du métabolisme du glucose.

1.5.1.1.2. $[^{13}\text{N}]\text{-NH}_3$ (Ammoniaque)

Le $[^{13}\text{N}]\text{-NH}_3$ est un traceur normalement utilisé pour mesurer le flot sanguin dans le myocarde (« *myocardial blood flow* », MBF). Cette mesure peut être très intéressante afin de mesurer l'impact que peut avoir une thérapie expérimentale dans différentes pathologies tel le diabète, l'hypertension et les maladies coronariennes.

Bien que le $[^{13}\text{N}]\text{-NH}_3$ dans le sang existe sous la forme d'ion ammonium $[^{13}\text{N}]\text{-NH}_4^+$, il est généralement convenu que le $[^{13}\text{N}]\text{-NH}_3$ traverse la membrane cellulaire par diffusion passive à l'état de $[^{13}\text{N}]\text{-NH}_3$. Une fois à l'intérieur de la cellule, $[^{13}\text{N}]\text{-NH}_3$ est métaboliquement piégé en glutamine, avec un captage proportionnel au flot sanguin. Cette relation n'est pas tout à fait linéaire, mais des valeurs précises de MBF peuvent être obtenues avec modélisation cinétique du traceur.

Suite à la génération de courbes temps/activité grâce aux régions d'intérêt tracées, nous sommes capables d'obtenir une courbe d'entrée du traceur dans la cavité du ventricule gauche.

Un modèle cinétique avec trois compartiments est utilisé pour la modélisation du flot sanguin comme montré dans l'équation ci-dessous (Eq. 1) :

$$C_t(t) = \int_{t_2}^{t_1} \left\{ \left[a_1 \int_0^T C_p(u) du + a_2 \int_0^T C_p(u) \cdot \exp^{-(k_2+k_3) \cdot (T-u)} du \right] + a_3 \cdot C_p(T) \right\} dT,$$

$$a_1 = \frac{(1-v)\rho \cdot K_1 \cdot k_3}{t_2 - t_1 \cdot (k_2 + k_3)},$$

$$a_2 = \frac{(1-v)\rho \cdot K_1 \cdot k_2}{t_2 - t_1 \cdot (k_2 + k_3)},$$

$$a_3 = \frac{v}{t_2 - t_1},$$

Où C_t et C_p sont les courbes temps/activité tissulaire et plasmatique; K_1 , k_2 et k_3 sont les constantes de transfert entre les 3 compartiments (sang, non-métabolisée, et l'activité tissulaire métabolisée); v est le volume sanguin représenté par la fraction sanguine dans la région d'intérêt tissulaire; et $\rho = 1.04$ g/mL, étant la densité tissulaire. (Équation tiré de CROTEAU E. et al., 2004.)

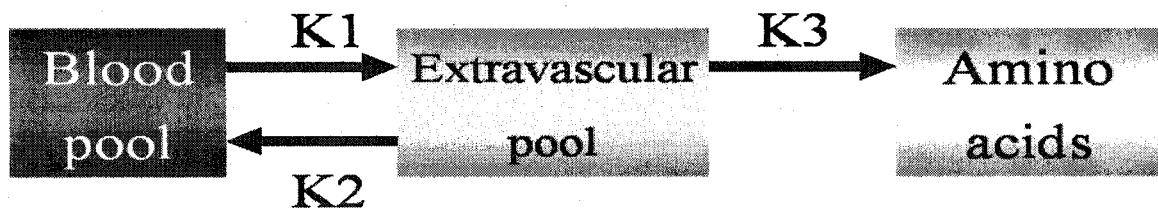


Figure 21. Modèle cinétique à 3 compartiments du $^{13}\text{NH}_3$ -Ammoniaque

La figure 21 montre le modèle à 3 compartiments de l'ammoniaque. Le MBF étant donné par la constante K_1 (mL/g/min) de la modélisation cinétique.

1.5.1.1.3. [¹¹C]-Acétate

Les premières publications sur la production et l'utilisation du ¹¹C-acétate datent du début des années 1980. Ce traceur étant directement incorporé dans les mitochondries sous forme d'acétyl-CoA et dégradé sous forme de ¹¹CO₂ produit en proportion de la respiration mitochondriale, il est utilisé pour quantifier la consommation d'oxygène par le myocarde (MVO₂).

Le modèle du ¹¹C-acétate est décrit selon l'équation suivante (Eq. 2) :

$$C_t(t) = [A_1 \exp(-(k_2+k_3)t) + A_2] \otimes C_p(t) + v C_{tot}(t)$$

$$A_1 = K_1 k_2 / (k_2 + k_3); \quad A_2 = K_1 k_3 / (k_2 + k_3);$$

Où C_t et C_p sont respectivement les courbes tissulaire et plasmatique, C_{tot} est la courbe sanguine totale incluant les métabolites. K₁, k₂ et k₃ sont les constantes, v étant le volume sanguin. K₁ (min⁻¹) est identifié comme un indice du flot sanguin du myocarde et k₂ (min⁻¹) représente l'index de la consommation d'oxygène (MVO₂).

L'activité due aux métabolites dans le plasma est estimée via (Eq. 3) :

$$C_p(t) = [1 - a_0(1 - \exp(-t \log 2/m))] C_{tot}(t)$$

Où a₀ et m sont des paramètres à ajuster dans le modèle

Le sinogramme dynamique est décomposé en fonction de base utilisant une analyse spectrale (Eq. 4).

$$f(t) = \sum_{i=1}^n c_i e^{-\lambda_i t}$$

Chaque fonction de base (fonction exponentielle) représente une structure tissulaire homogène contribuant à un sinogramme dynamique bin. f(t) est la fonction

équivalente de la mesure totale à $C_t(t)$ de l'Eq. 2. Le nombre de termes dans Eq. 4 est assumé étant $n = 50$, et b varie de 10^{-5} à 1 pour scanner les valeurs physiologique tissulaires possibles. En utilisant les Eq. 2 et 4, et en résolvant pour les coefficients c avec les algorithmes des moindres carrés, les constantes $K_1 - k_3$ peuvent être estimées à partir de c et b (Eq. 5):

$$V = c_0$$

$$K_1 \text{ (1/min)} = \frac{c_1 + c_2}{1 - c_0};$$

$$k_2 \text{ (1/min)} = \frac{b_2 c_2}{c_1 + c_2};$$

$$k_3 \text{ (1/min)} = \frac{b_2 c_1}{c_1 + c_2}$$

Les indices 0, 1 et 2 correspondent respectivement aux compartiments sanguin, libre et métabolisé. Les équations 2 à 5 sont tirées de BUCK A. et al., 1991.

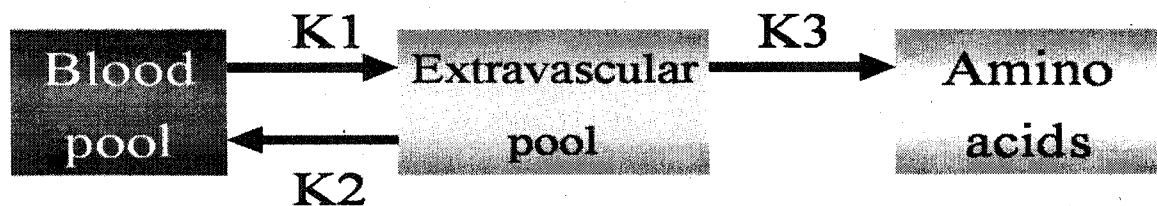


Figure 22: Modèle cinétique à 3 compartiments du ^{14}C -Acétate

La figure 22 montre le modèle à 3 compartiments de l'acétate. Le MVO_2 étant donné par la constante k_2 (mL/g/min) de la modélisation cinétique.

1.5.1.2. Le métabolisme et les traceurs radioactifs standards

1.5.1.2.1. [³H]-Trioléine

La trioléine est un TG fait de trois chaînes d'acide oléique (18 carbones). Par son marquage au tritium (³H), nous pouvons le détecter dans la circulation ou les tissus à l'aide d'un compteur à scintillation.

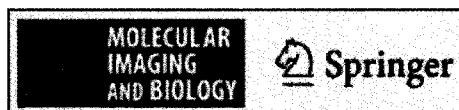
1.5.1.2.2. [¹⁴C]-Bromopalmitate

Le Bromopalmitate est un AG sur lequel est lié un atome de brome. Par son marquage au ¹⁴C, il nous est possible de suivre et de détailler davantage le métabolisme des AG dans diverses situations physiologiques. Une fois dans la mitochondrie, le brome reste piégé dans celle-ci. De ce fait, il nous est possible, par mesure de scintillation, de détecter quantitativement les AG métabolisés au niveau mitochondrial. Ce traceur offre l'avantage de mesurer le captage total (oxydé + non oxydé) des AG dans un tissu donné.

2. Objectifs de maîtrise

- Valider le modèle utilisant l'injection de Triton WR1339 chez le rat afin de moduler l'accès au myocarde des AG produits par la LIVTG *in vivo*.
- Évaluer le rôle de la LIVTG sur le métabolisme cardiaque dans la sélection des substrats métaboliques dans un modèle de rat sain et atteint de résistance à l'insuline et de DMT2.
- Développer un nouveau modèle de rats DMT2 plus représentatif des caractéristiques cliniques de la pathologie.

3. Article soumis à Molecular Imaging and Biology (In review)



Mechanism of reduced myocardial glucose utilization during acute hypertriglyceridemia in rats

Journal:	<i>Molecular Imaging & Biology</i>
Manuscript ID:	MIB-08-026-Feb-OA.R3
Manuscript Categories:	Original Article
Date Submitted by the Author:	n/a
Complete List of Authors:	Menard, Sebastien; University of Sherbrooke, Department of Medicine, Division of Endocrinology Ci, Xiuli; University of Sherbrooke, Department of Medicine, Division of Endocrinology Frisch, Frédérique; University of Sherbrooke, Department of Medicine, Division of Endocrinology Lauziere, Francois; University of Sherbrooke, Department of Medicine, Division of Endocrinology Cadorette, Jules; University of Sherbrooke, Nuclear medicine and Radiobiology Ouellet, René; University of Sherbrooke, Nuclear medicine and Radiobiology Bénard, François; Université de Sherbrooke, Nuclear Medicine and Radiobiology Bentourkia, M'hamed; University of Sherbrooke, Nuclear medicine and Radiobiology van Lier, Johan; University of Sherbrooke, Nuclear medicine and Radiobiology Lecomte, Roger; University of Sherbrooke, Nuclear Medicine and Radiobiology Carpentier, André; University of Sherbrooke, Department of Medicine, Division of Endocrinology
Keywords:	Intravascular lipolysis, triglyceride-rich lipoproteins, fatty acid metabolism, myocardial metabolism, lipoprotein lipase, Triton WR-1339, FDG



ABSTRACT

Purpose: To study the effect of acute inhibition of intravascular lipolysis on myocardial substrate selection during hypertriglyceridemia using *in vivo* radiotracer analysis and positron emission tomography.

Procedures: We induced acute hypertriglyceridemia *in vivo* using an intravenous infusion of Intralipid 20% (IL) without and with acute inhibition of fatty acid delivery from circulating triglycerides with injection of Triton WR-1339 (TRI) during a euglycemic hyperinsulinemic clamp in Wistar rats. We determined the effect of TRI on myocardial uptake of circulating triglycerides and free fatty acids using intravenous injection of [³H]-triolein and [¹⁴C]-bromopalmitate, respectively. Myocardial blood flow, oxidative metabolism and metabolic rate of glucose (MMRG) were determined using micro-positron emission tomography (μPET) with [¹³N]-ammonia, [¹¹C]-acetate and 2-deoxy-2-[¹⁸F]fluoro-D-glucose (FDG). **Results:** TRI reduced myocardial incorporation of [³H]-triolein but not [¹⁴C]-bromopalmitate showing that it selectively reduces myocardial fatty acid delivery from circulating triglycerides but not from free fatty acids. IL reduced myocardial blood flow and MMRG by 37 and 56%, respectively, but did not affect myocardial oxidative metabolism. TRI did not abolish the effect of IL on myocardial blood flow and MMRG. **Conclusions:** Hypertriglyceridemia acutely reduces myocardial blood flow and MMRG in rats, but this effect is not explained by increased myocardial fatty acid delivery through intravascular triglyceride lipolysis.

INTRODUCTION:

Approximately 60 to 70% of energy is derived from oxidation of fatty acids in the adult heart while the rest is being provided mostly by glucose and lactate. Insulin resistant states and type 2 diabetes are associated with increased circulatory free fatty acid (FFA) and triglyceride fluxes [1] and with a very important increase in myocardial fatty acid utilization at the expense of reduced glucose utilization [2]. More reliance on fatty acid oxidation with reduced oxidation of glucose is associated with reduced energetic efficiency, more oxygen being required from the same cardiac workload [3]. This may pose problem in critical situations such as during ischemia.

Increased FFA delivery to lean tissues, including the heart, reduces glucose utilisation [4] (see [1] for review). Another potentially very important source of fatty acids to the heart is circulating triglyceride-rich lipoproteins. Because triglycerides circulate in the millimolar range and contain three fatty acids per molecule and because the heart highly expresses lipoprotein lipase (LpL) [5], this has been proposed as the major source of fatty acids to the heart [6]. Experimental evidence in perfused heart models [7;8] and from *in vivo* studies in rodents [9;10] have suggested that the heart is a major user of fatty acids derived from circulating triglycerides. Several genetically modified mouse models with either reduced [11-13] or increased [14;15] myocardial LpL activity have demonstrated the potential of chronic modulation of myocardial fatty acid delivery from circulating triglycerides to change substrate selection and induce cardiomyopathy. However, changes in circulating triglyceride levels occur acutely after dietary fat intake. The impact of very acute changes in fatty

acid delivery from circulating triglycerides on myocardial energy substrate selection is currently unknown.

The aim of the present study was to study the impact of myocardial fatty acid delivery from circulating triglycerides on myocardial glucose utilization in the presence or absence of intravenous infusion of Intralipid, a triglyceride emulsion, to simulate a hypertriglyceridemic state. Our hypothesis was that inhibition of myocardial fatty acid delivery from circulating triglycerides would lead to reversal of Intralipid-induced reduction of myocardial glucose utilization if this is a major source of fatty acid delivery to the heart *in vivo* (**Figure 1**).

MATERIALS AND METHODS

Animals

Male Wistar rats (Charles River, Quebec, Canada) weighting 350-400 g were acclimatized to 12 hours/day light cycle at constant temperature (22°C) for seven days. A total of 63 rats were used for the experiments described herein. After a 12-hour fasting period, animals were anaesthetized with Isoflurane (Abbott laboratories, Montreal, Canada) delivered through a nose cone at a concentration of 2.0% (volume:volume). Anaesthesia was maintained for the duration of the *in vivo* experiments. Catheters were placed into a carotid artery for blood sampling and into a jugular and two tail veins for intravenous infusions. The catheters were kept open with infusion of 0.9% saline. All animal protocols were approved by the Animal Ethics Committee of the Faculty of Medicine of the *Université de Sherbrooke* in accordance with the guidelines of the Canadian Council on Animal Care.

Experimental Protocols

All *in vivo* experiments described herein were initiated 60-min after insertion of catheters and performed under euglycemic hyperinsulinemic conditions, as previously described [4]. At time 0 of the experiment, a primed (180 mU/kg) constant insulin infusion (12 mU/kg/min in 0.1% BSA in normal saline) (Novolin®ge, Toronto, Canada) was started and continued for two hours to standardize the metabolic condition in all *in vivo* protocols. Whole-blood glucose level was maintained using a variable 20% dextrose intravenous infusion according to the glucose level, determined every 10 minutes using a blood glucose monitor (Accusoft Advantage™, Roche, USA) [16]. Also at time 0, Triton WR-1339 (Tylaxapol, Sigma Chemicals, 400 mg/kg) (referred to as the TRI group) vs. normal saline (referred to as the SAL group) was injected intravenously to inhibit intravascular triglyceride lipolysis during the experiment [17]. Our first set of *in vivo* experiments (**Fig. 2A**) was performed to validate the use of Triton WR-1339 to reduce fatty acid availability to tissues specifically derived from circulating triglycerides and not from plasma FFA. 5 µCi of [1-¹⁴C]-2-bromopalmitate (a FFA tracer – injected in n = 18 animals) in 5% BSA (Moravek Biochemicals, California) and 60 µCi of [1-³H]-triolein (a triglyceride tracer – injected in n = 15 animals) sonicated in 0.5 ml of Intralipid 20% were given intravenously at time 120 and 125 min, respectively, during the euglycemic hyperinsulinemic clamp, as previously described [16], with and without intravenous administration of Triton WR-1339 as described above. Arterial blood samples were taken at time -10 and 0 min and at times 90, 100, 110 and 120 min to determine blood glucose and plasma insulin, FFA and triglyceride levels. Blood samples were also

taken at times 121, 123 and 125 to determine plasma [1-¹⁴C]-2-bromopalmitate and at times 126, 128 and 130 to determine plasma [1-³H]-triolein radioactivity and organs were removed and processed to determine tissue tracer uptake as described below.

Imaging Protocols

Figure 2B depicts the imaging protocol used in our second set of *in vivo* experiments. To determine whether our *in vivo* imaging methods could detect change in myocardial metabolism with change in circulating lipids, we performed experiments using intravenous infusion of Intralipid 20% (20 μ l/min) (IL) vs. saline (SAL) from time 0 and continued for the two hours of the experiment. Intralipid is a chylomicron-like emulsion that may be employed to increase plasma triglyceride levels *in vivo* [18] and has been shown by others to be metabolized similarly as endogenous lipoproteins by the heart in rodents [6;15]. In a third group of rats, we administered intravenous injection of Triton WR-1339 together with IL infusion (IL+TRI group) to determine the role of intravascular triglyceride lipolysis on any effect of IL on myocardial metabolism. Imaging experiments were performed with the avalanche photodiode-based small animal PET scanner (μ PET) of the *Sherbrooke molecular imaging centre* [19]. Before imaging, the heart position was localized with a Doppler probe (0.64 cm [$\frac{1}{4}$ in], 9 MHz; Parks Medical Electronics). During imaging, the animals rested supine on the scanner bed and were kept warm with a heating pad. At time 50-min, approximately 5 mCi [¹³N]-ammonia in 0.5 ml of saline was administered intravenously over a period of 30 sec using an automated injection system to determine myocardial blood flow [20]. This method had been shown to give

similar estimates of myocardial blood flow when compared to the [^{15}O]-water technique [21]. Image acquisition was performed using a 10-min list-mode dynamic acquisition. At time 70-min, an intravenous injection of approximately 3 mCi [^{11}C]-acetate in 0.5 ml of saline was administered over 30 seconds to determine myocardial oxidative metabolic rate [22]. Image acquisition was also performed using a 10-min list-mode dynamic acquisition. At time 90-min, an intravenous injection of approximately 1 mCi FDG in 0.5 ml of saline was given over a period of 30 seconds to determine myocardial glucose utilization. Image acquisition was performed using a 30-min list-mode dynamic acquisition. The PET imaging protocols were previously validated in other studies [23;24]. Blood samples were taken at time 90, 100, 110 and 120-minutes to determine blood glucose and plasma FFA and TG.

Incorporation of Tracers into Plasma, Intracellular Lipids and Mitochondria

Determination of uptake of plasma [$1\text{-}^3\text{H}$]-triolein and [$1\text{-}^{14}\text{C}$]-2-bromopalmitate into tissue lipids was performed as described previously [16]. Briefly, the heart was removed immediately and snap-frozen after thorough washing with 0.9% NaCl and blotting to remove excess water. Samples of heart (100 mg) were homogenized in a 0.9% NaCl solution. Plasma and tissue lipids were extracted according to the method described by Folch et al. [25] and were applied onto thin-layer chromatography plates (Silica Gel 60, F-254, Selecto Scientific, Suwanee, GA, USA) with standards for free fatty acids (FFA), triglycerides (TG), diglycerides (DG), monoglycerides (MG), cholesterol esters and phospholipids. The plates were eluted in a hexane/diethyl ether/acetic acid (80:20:2) solution and stained with

dichlorofluorescein (1mg/mL ethanol). Relative uptake (%) of [^{14}C] and [^3H] in different tissue lipids was calculated by dividing the activity in each fraction by the total recovered in all fractions multiplied by 100.

Mitochondria from the heart were extracted by using the method previously described in [16;25]. Briefly, 500 mg of the heart were homogenized on ice (PowerGen 125, Fisher Scientific International Inc., USA) in an ice-cold homogenization solution (0.075 M sucrose, 0.225 M sorbitol, 1mM EGTA, 0.1% fatty-acid-free BSA, and 10 mM Tris-HCl, pH 7.4). The homogenates were centrifuged at 1,000 \times g for 10-min at 4°C and the supernatants were centrifuged again at 12,000 \times g for 10-min at 4°C. The supernatants were then removed and 1000 μL of an incubation solution (10 mM Tris-HCl, 25 mM sucrose, 75 mM sorbitol, 100 mM KCl, 10 mM K_2HPO_4 , 0.05 mM EDTA, 5 mM MgCl_2 , and 1 mg/mL FFA-free BSA) was added to the pellet containing mitochondria. 50 μl of the mitochondrial samples was kept frozen at -80°C for the measurement of glutamate deshydrogenase (GDH) activity to correct for the fractional recovery of mitochondria extracts from tissues [25]. The GDH activity was measured according to the Sigma quality control test procedure (EC 1.4.1.3, Enzymatic Assay of L-GDH) modified as previously described [16]. The fractional recovery of mitochondria was then calculated by dividing mitochondrial GDH activity (units per gram of tissue) by whole-tissue GDH activity (units per gram of tissue). Mitochondrial [^{14}C] and [^3H] activity were corrected by dividing by the fractional recovery to determine mitochondrial uptake of [1- ^{14}C]-2-bromopalmitate and [1- ^3H]-oleate from labeled triolein, respectively.

Imaging data analysis

For [^{13}N]-ammonia and [^{11}C]-acetate, dynamic series of 23 frames each were sorted out from the list mode data, using the following sequence: 1×30 s, 12×5 s, 8×30 s, 2×150 s. For FDG, a dynamic sequence series of 29 frames was sorted out using the following sequence: 1×30 s, 12×5 s, 8×30 s, 6×150 s, 2×300 s. Image planes were reconstructed on a 128×128 matrix with a 0.475×0.475 mm pixel size using the maximum likelihood expectation maximization algorithm with 15 iterations [26;27]. Regions of interest (ROI) were drawn manually over the myocardium in the left ventricle and on left ventricular cavity from the best frame image acquired with [^{13}N]-ammonia acquisition and then used on all frames of the three tracers. Tissue time-activity curves were generated from the ROI on the myocardium and the arterial tracer activity curve was obtained from the ROI drawn over the left ventricular cavity. The PET kinetic parameter values were assessed with the input function derived from the images. We used a 3-compartment kinetic model for [^{13}N]-ammonia that provides an estimate of blood flow from k_1 value [27]. For [^{11}C]-acetate, we used a 3-compartment kinetic model that estimates the generation of CO_2 from the citric cycle in the myocardium using k_2 value [26]. For the modeling of myocardial uptake of FDG, we used the classical 3-compartments model of Sokoloff [28]. According to this model, K_1 is an index of membrane glucose transport, k_2 is an index of FDG escape, k_3 is an index of glucose phosphorylation. The myocardial metabolic rate of glucose (MMRG) can be derived from these constants, the arterial blood glucose concentration, and the lumped constant (LC):

$$MMRG = \left(\frac{\text{glycemia (mmol/l)}}{LC} \right) \times Km \quad \text{Eq.1}$$

$$Km = \frac{(K_1 \times k_3)}{(k_2 + k_3)} \quad \text{Eq.2}$$

where LC is a term made up of six constants that relate the transport and phosphorylation kinetics of FDG to that for glucose [29].

Statistical Analysis

All data are reported as mean \pm SE. Plasma glucose, insulin, FFA and TG levels at steady state (baseline and between 90 to 120min during the euglycemic clamp) were averaged for statistical analysis. Unpaired Student t test or one-way ANOVA with Tukey's post-hoc test were performed using GraphPad Prism version 5.00 for Windows (San Diego California USA). A P value of less than 0.05 was considered significant.

RESULTS

Triton WR-1339 selectively reduces myocardial uptake of circulating triglycerides but not circulating FFA

Blood glucose and plasma insulin, FFA and triglyceride levels at baseline and during euglycemic hyperinsulinemic clamp in rats injected with SAL vs. TRI are shown in **Table 1**. There was no significant difference in these parameters at baseline between the two groups. During the clamp, blood glucose and plasma FFA levels were similar between the two groups. As expected, plasma triglyceride levels were

significantly increased ~4-fold in TRI ($P < 0.001$). However, plasma insulin levels were lower in TRI vs. SAL ($P = 0.04$). This effect was explained by an *in vitro* interference of Triton WR1339 with the insulin immunoassay. This was further suggested by glucose infusion rates (GINF) that were virtually identical with and without TRI injection (**Table 1**).

Table 2 depicts the effect of injection of Triton WR-1339 on area under curve (AUC) of plasma ^3H -triolein activity and on myocardial uptake and incorporation of ^3H -triolein-derived ^3H in cellular lipids and in mitochondria. TRI was associated with a ~168% increase of plasma ^3H -triolein activity AUC ($P = 0.02$) and with ~48% ($P = \text{NS}$) and ~44% ($P = 0.03$) reductions in myocardial ^3H -triolein-derived label uptake in cellular lipids and in mitochondria, respectively. However, TRI had no effect on relative uptake of ^3H -triolein in the various cellular lipid fractions. Thus, Triton WR-1339 reduced myocardial fatty acid uptake from circulating triglycerides without change in partitioning into the different intracellular lipids.

In contrast, TRI had no significant effect on plasma [$1\text{-}^{14}\text{C}$]-2-bromopalmitate AUC activity and on myocardial uptake of this tracer in cellular lipids and in mitochondria (**Table 3**). Furthermore, TRI did not affect relative uptake of [$1\text{-}^{14}\text{C}$]-2-bromopalmitate into the various cellular lipid fractions.

μPET studies

Weight of the animals was similar in SAL, IL, and IL+TRI experiments (387 ± 12 , 387 ± 11 , and 418 ± 14 g, respectively, $P = 0.14$). After surgery, heart rate and body temperature were also similar in all three groups (heart rate: 354 ± 14 , 350 ± 21 ,

and 303 ± 14 beats/min, respectively, $P = 0.09$; body temperature: 33.9 ± 0.7 , 34.5 ± 0.4 , and $35.1 \pm 0.4^\circ\text{C}$, respectively, $P = 0.30$). Baseline blood glucose and plasma FFA levels were not significantly different between SAL, IL, and IL+TRI (blood glucose: 6.5 ± 0.7 , 6.4 ± 0.7 , and 5.9 ± 0.4 mmol/l, respectively, $P = 0.81$; baseline plasma FFA: 0.68 ± 0.12 , 0.78 ± 0.06 , and 0.72 ± 0.10 mmol/l, respectively, $P = 0.81$). Baseline plasma triglyceride levels were also not significantly different between the three groups (0.21 ± 0.02 , 0.37 ± 0.09 , and 0.25 ± 0.04 mmol/l, respectively, $P = 0.17$).

Table 4 shows the metabolic parameters of interest during the euglycemic-hyperinsulinemic clamp and μPET study. By design, plasma glucose levels were similar between the three experimental groups. Plasma FFA levels were significantly higher in IL and IL+TRI vs. SAL. Plasma triglyceride levels in IL and IL+TRI experiments were also significantly higher than SAL ($P < 0.001$). FDG K_1 and k_2 were similar in all three groups, whereas k_3 was significantly reduced in IL and IL+TRI compared with SAL ($P = 0.02$). MMRG (**Figure 3A**) was significantly lower in IL and IL+TRI vs. SAL ($P < 0.05$). IL also significantly reduced myocardial blood flow ($[^{13}\text{N}]$ -ammonia k_1 – **Figure 3B**) vs. SAL ($P < 0.05$) whereas TRI did not significantly improve this IL-mediated reduction in blood flow. Total myocardial oxidative rate (^{11}C -acetate k_2 – **Figure 3C**) was not significantly different between the three groups ($P = 0.06$), although it tended to be lower in the IL+TRI group vs. the two others. **Figure 4** shows representative μPET scans after FDG injection in the three groups of rats.

DISCUSSION

In the present study, IL resulted in increased plasma triglyceride and FFA levels together with significant reduction in MMRG and reduction in myocardial blood flow but no change in myocardial oxidative capacity, heart rate, or body temperature. In contrast to our initial hypothesis, we found no significant reversal of IL-induced reduction in MMRG with Triton WR-1339. Triton WR-1339 also did not reverse IL-induced reduction in myocardial blood flow. We demonstrated that Triton WR-1339 reduced clearance of circulating triglycerides and reduced myocardial uptake of triglycerides without significantly changing plasma FFA clearance and myocardial uptake. Thus, our results suggest that IL-induced reduction in blood flow and MMRG is not primarily caused by increased fatty acid delivery through increased intravascular triglyceride lipolysis during euglycemic hyperinsulinemia in rats. Triton WR-1339 was not associated with change in insulin sensitivity, as assessed by lack of change in glucose infusion rates during euglycemic hyperinsulinemic clamps. Plasma insulin levels were lower after injection of Triton WR-1339, but this effect was caused by interference of Triton WR-1339 with the insulin immunoassay used in the present study.

Our results are consistent with those of other investigators showing reduced myocardial glucose utilization with intravenous infusion of Intralipid *in vivo* [4;30]. Intravenous infusion of lipids has also been previously shown to alter myocardial blood flow in other animal models [31;32]. This lipid-induced reduction in myocardial blood flow could also be mediated by increased blood viscosity [33]. Interestingly, human LpL overexpression in aorta vascular smooth muscles in mice

alters vascular reactivity [34], suggesting that lipolysis of triglycerides leads to endothelial dysfunction *in vivo*. However, injection of Triton WR-1339 did not blunt IL-induced reduction in myocardial blood flow. The lack of Intralipid-induced change in total myocardial oxidative metabolism that we observed in the present study is also consistent with results from other investigators [35].

One possible explanation for this finding may be compensatory increase in myocardial plasma FFA utilization in the presence of inhibition of myocardial utilization of fatty acids derived from circulating triglycerides. Indeed, this phenomenon has been shown to occur in mice using Langendorff *ex vivo* myocardial perfusion protocols in some [6;15] but not all studies [7]. We found that blocking myocardial availability of fatty acids from circulating triglycerides did not affect myocardial ¹⁴C-bromopalmitate cellular and mitochondrial uptake. Thus, elevation of FFA levels seen with IL infusion may have been the primary cause of IL-mediated reduction in myocardial blood flow and MMRG. It is also possible that the hyperinsulinemic condition in our experiments reduced myocardial LpL activity [36] thus minimizing the relative contribution of fatty acid uptake from circulating triglycerides. Finally, it is also possible that fatty acids delivered from circulating triglycerides do not acutely mix into the same intracellular fatty acid pool than that from plasma FFA [10], with different acute metabolic consequences. Intriguingly, total myocardial oxidative rate tended to be lower in the IL+TRI vs. IL group, an effect that may have been expected on the basis of reduced myocardial fatty acid delivery from circulating triglycerides in the face of no significant change in myocardial FFA uptake and similar MMRG.

Cardiac specific LpL knockout and cardiac-specific LpL overexpression mouse models have illustrated the potential importance of prolonged lack or excess of fatty acid delivery from circulating triglycerides for the development of cardiomyopathy associated with change in myocardial glucose utilization [11-15]. However, the relative contribution of fatty acids derived from circulating triglycerides vs. plasma FFA pool as a substrate for the heart is controversial in physiological conditions. Results from some investigators have suggested that utilization rate of circulating triglyceride-derived fatty acids in the mouse heart is quantitatively lower [37], similar [7], or greater [6] to plasma FFA. These disparities are likely explained by different experimental and physiological conditions since myocardial fatty acid delivery from circulating triglycerides may depend on its lipoprotein source and cardiac LpL function is modified in various conditions [38]. Interestingly, a recent human study has shown that plasma FFA contribute to more than 80% of fatty acids utilized by the heart *in vivo* in humans with coronary artery disease during the fasting state whereas circulating triglycerides contribute to less than 20% [39].

CONCLUSION

In conclusion, the results from the present study show that intravenous infusion of fat emulsion acutely reduces myocardial glucose utilization and blood flow *in vivo* during euglycemic hyperinsulinemia in rats. However, these effects do not result from increased delivery of fatty acids from intravascular triglyceride lipolysis. Future studies will be needed to determine whether myocardial fatty acid

delivery from circulating triglycerides may play a role in reduced myocardial glucose utilization in pathophysiological states such as type 2 diabetes.

ACKNOWLEDGEMENTS

A.C.C. was supported by a Junior 2 Scholarship from the *Fonds de la recherche en santé du Québec* (FRSQ). The *Centre de recherche clinique Etienne-Le Bel* is a FRSQ-funded research centre. This work was supported by grants from *Association Diabète Québec*, from the Heart and Stroke Foundation of Canada (the Jonathan-Ballon Award), and from the Canadian Institutes of Health Research (MOP 53094 and MOP 15348).

REFERENCES

1. Carpentier,AC: Postprandial fatty acid metabolism in the development of lipotoxicity and type 2 diabetes. *Diabetes Metab* 34:97-107, 2008
2. Zhou,YT, Grayburn,P, Karim,A, Shimabukuro,M, Higa,M, Baetens,D, Orci,L, Unger,RH: Lipotoxic heart disease in obese rats: implications for human obesity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97:1784-1789, 2000
3. Chandler,MP, Stanley,WC, Morita,H, Suzuki,G, Roth,BA, Blackburn,B, Wolff,A, Sabbah,HN: Short-term treatment with ranolazine improves mechanical efficiency in dogs with chronic heart failure. *Circ Res* 91:278-280, 2002
4. Nuutila,P, Koivisto,VA, Knuuti,J, Ruotsalainen,U, Teras,M, Haaparanta,M, Bergman,J, Solin,O, Voipio-Pulkki,LM, Wegelius,U, .: Glucose-free fatty acid cycle operates in human heart and skeletal muscle in vivo. *J Clin Invest* 99:1767-1774, 1992
5. O'Brien,KD, Ferguson,M, Gordon,D, Deeb,SS, Chait,A: Lipoprotein lipase is produced by cardiac myocytes rather than interstitial cells in human myocardium. *Arterioscler Thromb* 14:1445-1451, 1994
6. Augustus,AS, Kako,Y, Yagyu,H, Goldberg,IJ: Routes of FA delivery to cardiac muscle: modulation of lipoprotein lipolysis alters uptake of TG-derived FA. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 284:E331-E339, 2003
7. Mardy,K, Belke,DD, Severson,DL: Chylomicron metabolism by the isolated perfused mouse heart. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 281:E357-E364, 2001

8. Hauton,D, Bennett,MJ, Evans,RD: Utilisation of triacylglycerol and non-esterified fatty acid by the working rat heart: myocardial lipid substrate preference. *Biochim Biophys Acta* 1533:99-109, 2001
9. Augustus,A, Yagyu,H, Haemmerle,G, Bensadoun,A, Vikramadithyan,RK, Park,SY, Kim,JK, Zechner,R, Goldberg,IJ: Cardiac-specific knock-out of lipoprotein lipase alters plasma lipoprotein triglyceride metabolism and cardiac gene expression. *J Biol Chem* 279:25050-25057, 2004
10. Teusink,B, Voshol,PJ, Dahlmans,VE, Rensen,PC, Pijl,H, Romijn,JA, Havekes,LM: Contribution of fatty acids released from lipolysis of plasma triglycerides to total plasma fatty acid flux and tissue-specific fatty acid uptake. *Diabetes* 52:614-620, 2003
11. Augustus,AS, Yagyu,H, Haemmerle,G, Bensadoun,A, Vikramadithyan,RK, Park,SY, Kim,JK, Zechner,R, Goldberg,IJ: Cardiac-specific knockout of lipoprotein lipase alters plasma lipoprotein triglyceride metabolism and cardiac gene expression. *J Biol Chem* 2004
12. Augustus,AS, Buchanan,J, Park,TS, Hirata,K, Noh,HL, Sun,J, Homma,S, D'armiento,J, Abel,ED, Goldberg,IJ: Loss of lipoprotein lipase-derived fatty acids leads to increased cardiac glucose metabolism and heart dysfunction. *J Biol Chem* 281:8716-8723, 2006
13. Noh,HL, Okajima,K, Molkentin,JD, Homma,S, Goldberg,IJ: Acute lipoprotein lipase deletion in adult mice leads to dyslipidemia and cardiac dysfunction. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 291:E755-E760, 2006

14. Yagyu,H, Chen,G, Yokoyama,M, Hirata,K, Augustus,A, Kako,Y, Seo,T, Hu,Y, Lutz,EP, Merkel,M, Bensadoun,A, Homma,S, Goldberg,IJ: Lipoprotein lipase (LpL) on the surface of cardiomyocytes increases lipid uptake and produces a cardiomyopathy. *J Clin Invest* 111:419-426, 2003
15. Pillutla,P, Hwang,YC, Augustus,A, Yokoyama,M, Yagyu,H, Johnston,TP, Kaneko,M, Ramasamy,R, Goldberg,IJ: Perfusion of hearts with triglyceride-rich particles reproduces the metabolic abnormalities in lipotoxic cardiomyopathy. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 288:E1229-E1235, 2005
16. Ci,X, Frisch,F, Lavoie,F, Germain,P, Lecomte,R, van Lier,JE, Benard,F, Carpentier,AC: The Effect of Insulin on the Intracellular Distribution of 14(R,S)-[(18)F]Fluoro-6-thia-heptadecanoic Acid in Rats. *Mol Imaging Biol* 8:237-244, 2006
17. Taghibiglou, C., Carpentier, A., Rudy, D., Aiton, A., Lewis, G. F., and Adeli, K. Mechanisms of Hepatic VLDL Overproduction in Insulin Resistance: Evidence for Enhanced Lipoprotein Assembly, Reduced Intracellular ApoB Degradation, and Increased Microsomal Triglyceride Transfer Protein in a Fructose-Fed Hamster Model. *Journal of Biological Chemistry* 275, 8416-8425. 2000.
Ref Type: Journal (Full)
18. Carpentier,A, Frisch,F, Cyr,D, Genereux,P, Patterson,BW, Giguere,R, Baillargeon,JP: On the suppression of plasma non-esterified fatty acids by insulin during enhanced intravascular lipolysis in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 289:E849-E856, 2005

19. Lecomte,R, Cadorette,J, Rodrigue,S, Lapointe,D, Rouleau,D, Bentourkia,M, Yao,R, Msaki,P: Initial results from the Sherbrooke avalanche photodiode positron tomograph. *IEEE Trans Nucl Sci* 43:1952-1957, 1996
20. Chen,BC, Huang,SC, Germano,G, Kuhle,W, Hawkins,RA, Buxton,D, Brunken, RC, Schelbert,HR, Phelps,ME: Noninvasive quantification of hepatic arterial blood flow with nitrogen-13-ammonia and dynamic positron emission tomography [see comments]. *Journal of Nuclear Medicine* 32:2199-2206, 1991
21. Nitzsche,EU, Choi,Y, Czernin,J, Hoh,CK, Huang,SC, Schelbert,HR: Noninvasive quantification of myocardial blood flow in humans. A direct comparison of the [13N]ammonia and the [15O]water techniques. *Circulation* 93:2000-2006, 1996
22. Ng,CK, Huang,SC, Schelbert,HR, Buxton,DB: Validation of a model for [1-11C]acetate as a tracer of cardiac oxidative metabolism. *American Journal of Physiology* 266:H1304-H1315, 1994
23. Bentourkia,M, Croteau,E, Langlois,R, Aliaga,A, Cadorette,J, Bénard,F, Lesur,O, Lecomte,R: Cardiac studies in rats with [11C]Acetate and PET: A comparison with [13N]Ammonia. *IEEE Trans Nucl Sci* 49:2322-2327, 2002
24. Lecomte,R, Croteau,E, Gauthier,ME, Archambault,M, Aliaga,A, Rousseau,J, Cadorette,J, Leroux,JD, Lepage,MD, Bénard,F, Bentourkia,M: Cardiac PET imaging of blood flow, metabolism and function in normal and infarcted rats. *IEEE Trans Nucl Sci* 51:696-704, 2004
25. Takala,TO, Nuutila,P, Pulkki,K, Oikonen,V, Gronroos,T, Savunen,T, Vahasilta,T, Luotolahti,M, Kallajoki,M, Bergman,J, Forsback,S, Knuuti,J: 14(

- R, S)-[(18)F]Fluoro-6-thia-heptadecanoic acid as a tracer of free fatty acid uptake and oxidation in myocardium and skeletal muscle. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 29:1617-1622, 2002
26. Bentourkia,M: PET kinetic modeling of 11C-acetate from projections. *Comput Med Imaging Graph* 27:373-379, 2003
27. Croteau,E, Benard,F, Bentourkia,M, Rousseau,J, Paquette,M, Lecomte,R: Quantitative myocardial perfusion and coronary reserve in rats with 13N-ammonia and small animal PET: impact of anesthesia and pharmacologic stress agents. *J Nucl Med* 45:1924-1930, 2004
28. Sokoloff,L, Reivich,M, Kennedy,C, Des Rosiers,MH, Patlak,CS, Pettigrew,KD, Sakurada,O, Shinohara,M: The [14C]deoxyglucose method for the measurement of local cerebral glucose utilization: theory, procedure, and normal values in the conscious and anesthetized albino rat. *J Neurochem* 28:897-916, 1977
29. Krivokapich,J, Huang,SC, Selin,CE, Phelps,ME: Fluorodeoxyglucose rate constants, lumped constant, and glucose metabolic rate in rabbit heart. *Am J Physiol* 252:H777-H787, 1987
30. Vettor,R, Fabris,R, Serra,R, Lombardi,AM, Tonello,C, Granzotto,M, Marzolo,MO, Carruba,MO, Ricquier,D, Federspil,G, Nisoli,E: Changes in FAT/CD36, UCP2, UCP3 and GLUT4 gene expression during lipid infusion in rat skeletal and heart muscle. *Int J Obes Relat Metab Disord* 26:838-847, 2002
31. Liedtke,AJ, Nellis,SH, Mjos,OD: Effects of reducing fatty acid metabolism on mechanical function in regionally ischemic hearts. *Am J Physiol* 247:H387-H394, 1984

32. Prinzen,FW, Van der Vusse,GJ, Coumans,WA, Kruger,R, Verlaan,CW, Reneman,RS: The effect of elevated arterial free fatty acid concentrations on hemodynamics and myocardial metabolism and blood flow during ischemia. *Basic Res Cardiol* 76:197-210, 1981
33. Rim,SJ, Leong-Poi,H, Lindner,JR, Wei,K, Fisher,NG, Kaul,S: Decrease in coronary blood flow reserve during hyperlipidemia is secondary to an increase in blood viscosity. *Circulation* 104:2704-2709, 2001
34. Esenabhalu,VE, Cerimagic,M, Malli,R, Osibow,K, Levak-Frank,S, Frieden,M, Sattler,W, Kostner,GM, Zechner,R, Graier,WF: Tissue-specific expression of human lipoprotein lipase in the vascular system affects vascular reactivity in transgenic mice. *Br J Pharmacol* 135:143-154, 2002
35. Brown,MA, Myears,DW, Bergmann,SR: Validity of estimates of myocardial oxidative metabolism with carbon-11 acetate and positron emission tomography despite altered patterns of substrate utilization. *J Nucl Med* 30:187-193, 1989
36. Sambandam,N, Abrahani,MA, St Pierre,E, Al Atar,O, Cam,MC, Rodrigues,B: Localization of lipoprotein lipase in the diabetic heart: regulation by acute changes in insulin. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 19:1526-1534, 1999
37. Neitzel,AS, Carley,AN, Severson,DL: Chylomicron and palmitate metabolism by perfused hearts from diabetic mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 284:E357-E365, 2003
38. Ruge,T, Wu,G, Olivecrona,T, Olivecrona,G: Nutritional regulation of lipoprotein lipase in mice. *Int J Biochem Cell Biol* 36:320-329, 2004

39. Nelson,RH, Prasad,A, Lerman,A, Miles,JM: Myocardial uptake of circulating triglycerides in nondiabetic patients with heart disease. *Diabetes* 56:527-530, 2007

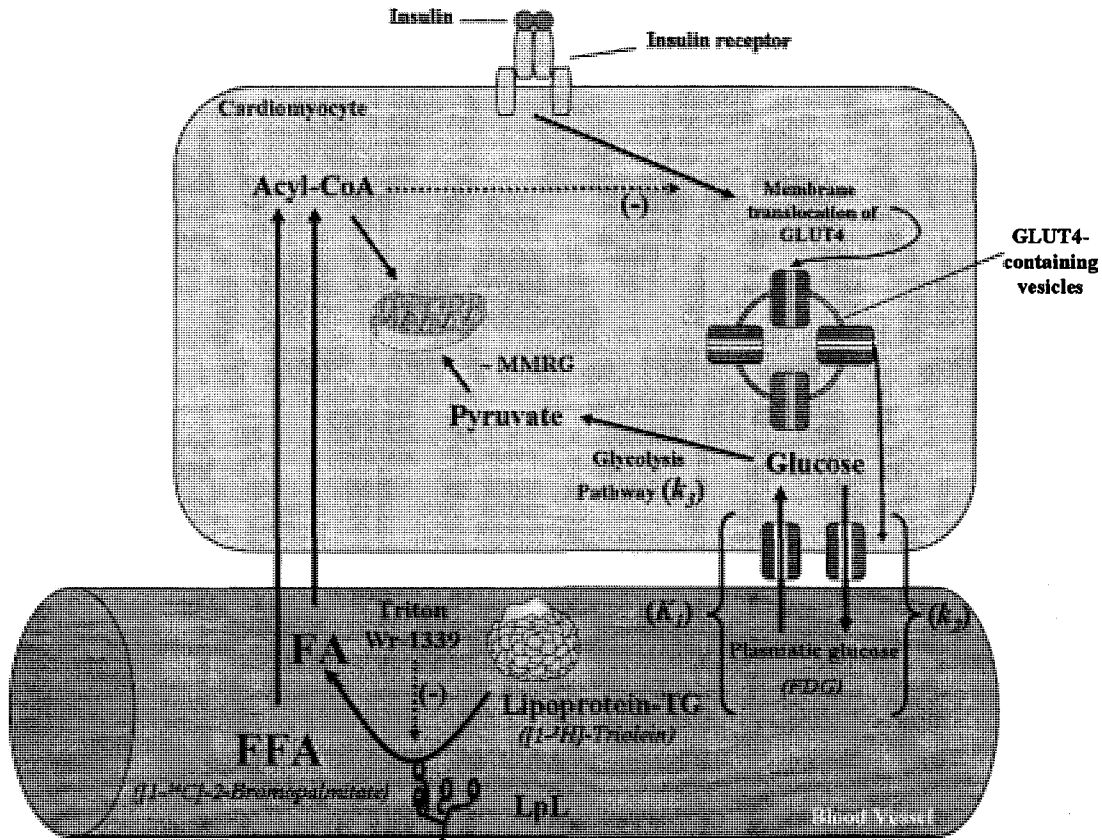


Figure 1. Myocardial fatty acid uptake from circulating triglycerides (TG) vs. circulating free fatty acids (FFA). TG contained in lipoproteins are hydrolyzed by lipoprotein lipase (LpL), a process that may contribute to myocardial fatty acid delivery with consequent reduction in myocardial glucose metabolism during acute hypertriglyceridemia. Triton WR-1339 is a detergent that binds circulating TG and prevents LpL-mediated triglyceride hydrolysis (intravascular lipolysis). The physiological processes that are described by the multi-compartmental analysis of fluoro-deoxyglucose (FDG) (i.e. K_1 , k_2 , k_3 and myocardial metabolic rate of glucose – MMRG) are also depicted.

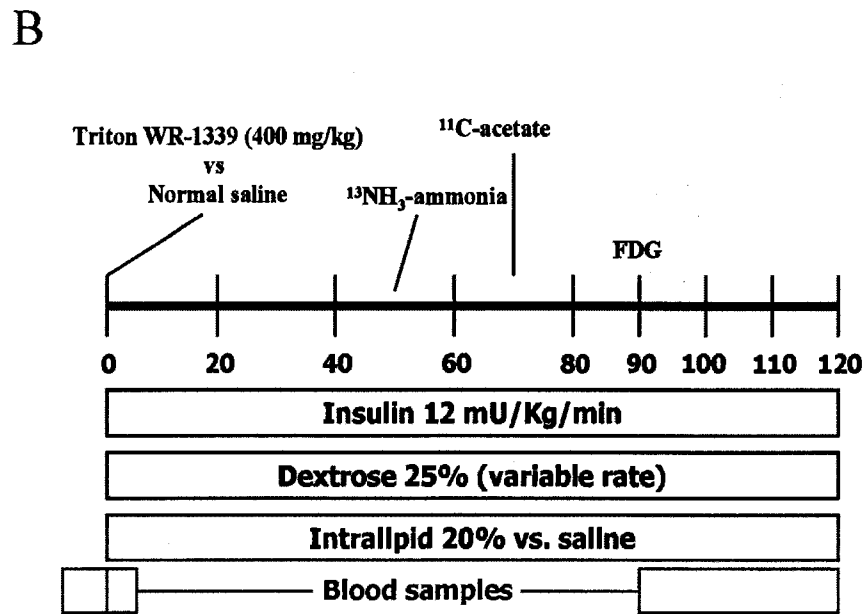
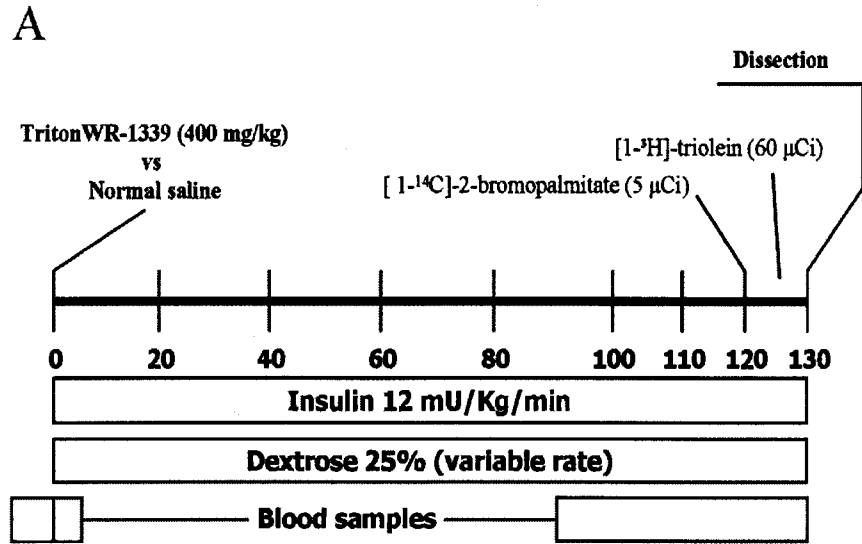


Figure 2. (A) Experimental protocol for the *in vivo* validation of Triton WR-1339 method. (B) Experimental protocol of the *in vivo* experiments using micro-positron emission tomography (μ PET).

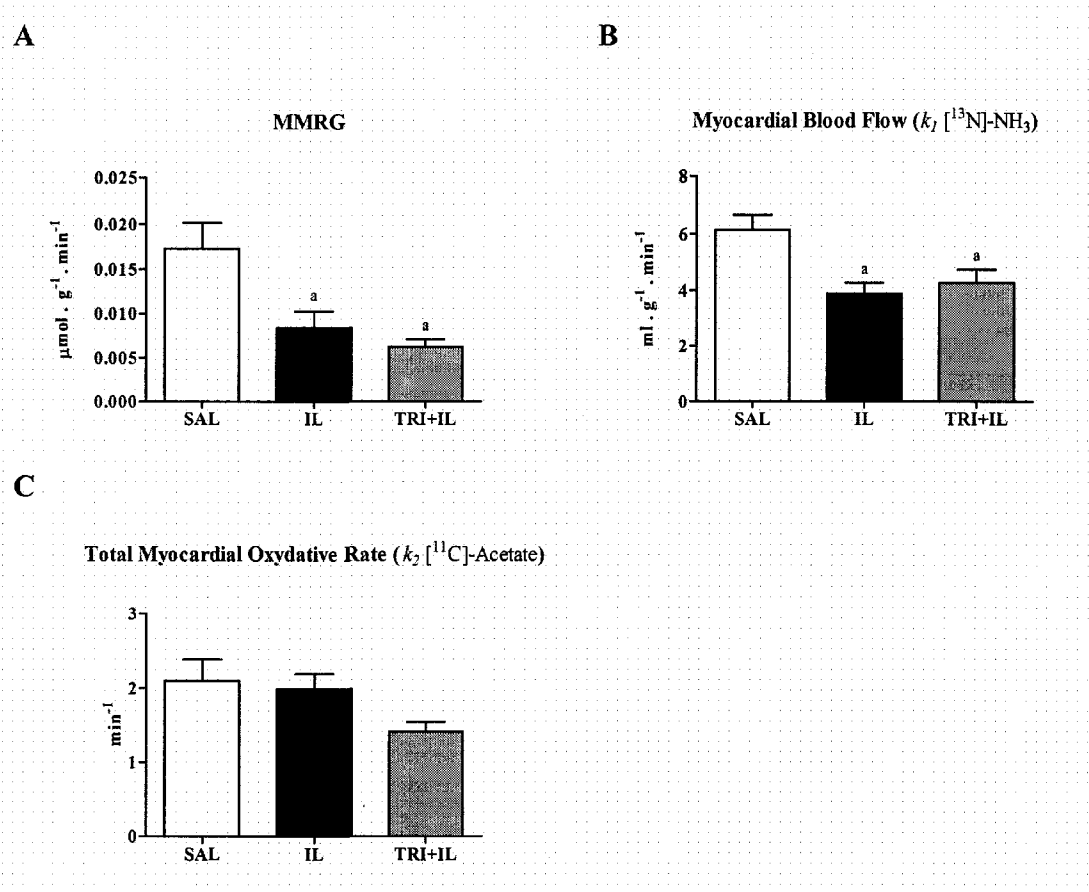
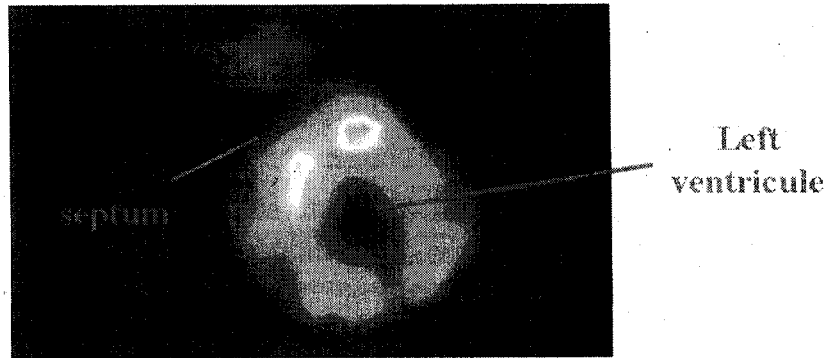
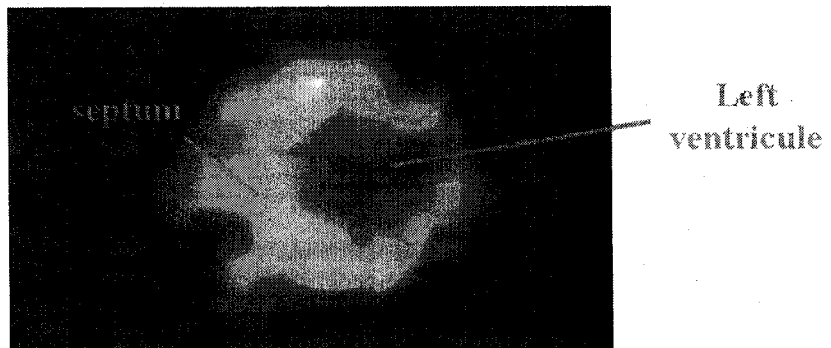


Figure 3. (A) Myocardial metabolic rate of glucose (MMRG), (B) myocardial blood flow and (C) total myocardial oxidative rate during euglycemic clamp in rats treated with saline (SAL, open bars), Intralipid 20% (IL, closed bars), and Intralipid 20% + Triton WR-1339 (IL+TRI, grey bars). ^a $P < 0.05$ vs. SAL group by ANOVA with Tukey's post-hoc test. Data are mean \pm SE.

A



B



C

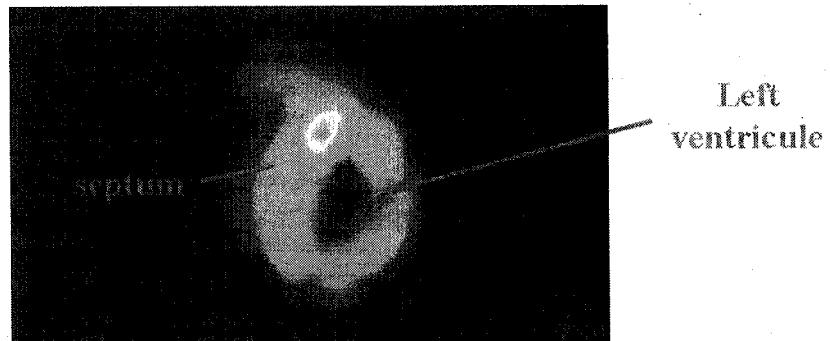


Figure 4. Representative myocardial transaxial μ PET scan images after injection of [18 F]FDG in the (A) saline (SAL), (B) Intralipid 20% (IL) and (C) Intralipid 20% + Triton WR-1339 (IL+TRI) groups.

Table 1 - Plasma glucose, insulin, FFA and TG levels at baseline and during the normoglycemic hyperinsulinemic clamp

	Saline (SAL) (n = 11)	Triton WR-1339 (TRI) (n = 9)	<i>P</i>^a
Baseline			
Glucose (mmol/l)	7.4 ± 0.3	7.2 ± 0.6	0.77
Insulin (pmol/l)	329 ± 76	373 ± 144	0.77
FFA (mmol/l)	1.23 ± 0.13	1.23 ± 0.14	0.97
TG (mmol/l)	0.45 ± 0.06	0.34 ± 0.08	0.30
Normoglycemic hyperinsulinemic clamp			
Glucose (mmol/l)	4.1 ± 0.5	4.7 ± 0.4	0.44
Insulin (pmol/l)	4140 ± 616	1941 ± 713	0.04
FFA (mmol/l)	0.67 ± 0.06	0.79 ± 0.24	0.56
TG (mmol/l)	0.26 ± 0.07	1.40 ± 0.13	<0.001
GINF (μmol/min)	42.3 ± 3.4	40.4 ± 1.9	0.68

^a These *P* values are from unpaired Student *t* tests; a *P* value of less than 0.05 is considered significant. GINF: glucose infusion rate during the clamp; FFA: free fatty acids; TG: triglycerides. Data are mean ± SE.

Table 2 – Effect of Triton WR-1339 on plasma AUC of ³H-triolein activity and on myocardial uptake of ³H-triolein

	Saline (SAL) (n = 4)	Triton WR-1339 (TRI) (n = 3)	<i>P</i> ^a
AUC _{plasma} (dpm/ml•5min)	3898 ± 1078	10433 ± 1859	0.02
Cellular lipid uptake (dpm/g•5min)	31838 ± 14913	16689 ± 10342	0.44
Mitochondrial uptake (dpm/g•5min)	3502 ± 259 ^b	1953 ± 540 ^c	0.03
RU _{PPL heart} (% total lipids)	25.3 ± 11.6	25.8 ± 9.2	0.97
RU _{MG heart} (%total lipids)	19.3 ± 6.0	19.5 ± 5.1	0.98
RU _{DG heart} (%total lipids)	2.8 ± 0.3	2.5 ± 0.3	0.54
RU _{TG heart} (%total lipids)	28.5 ± 7.7	29.3 ± 6.6	0.94
RU _{FFA heart} (%total lipids)	24.0 ± 4.9	22.3 ± 4.8	0.81
RU _{CHOL heart} (%total lipids)	0.3 ± 0.3	0.3 ± 0.3	1.0

^a *P* values are from unpaired Student *t* tests. ^b n = 7. ^c n = 8. AUC: area under curve; CHOL: cholesterol esters; DG: diglycerides; MG: monoglycerides; FFA: free fatty acids; PPL: phospholipids; RU: relative uptake; TG: triglycerides. Data are mean ± SE. Plasma and tissue lipid ³H-triolein activity was determined only in a subset of the animals because of error in the dual label counting procedure in n = 8 rats at the time of these experiments.

Table 3 – Effect of Triton WR-1339 on plasma AUC of [1-¹⁴C]-2-bromopalmitate activity and on myocardial uptake of [1-¹⁴C]-2-bromopalmitate

	Saline (SAL) (n = 9)	Triton WR-1339 (TRI) (n = 9)	<i>P</i> ^a
AUC _{plasma} (dpm/ml•5min)	6453 ± 915	4649 ± 819 ^b	0.81
Cellular lipid uptake (dpm/g•5min)	5887 ± 1109	3935 ± 723	0.17
Mitochondrial uptake (dpm/g•5min)	5811 ± 1976 ^b	3450 ± 987 ^c	0.36
RU _{PPL heart} (% total lipids)	40.0 ± 6.1	44.0 ± 7.0	0.67
RU _{MG heart} (%total lipids)	4.8 ± 1.6	4.3 ± 1.7	0.85
RU _{DG heart} (%total lipids)	10.6 ± 1.6	5.8 ± 2.3	0.11
RU _{TG heart} (%total lipids)	15.3 ± 4.9	14.1 ± 3.0	0.83
RU _{FFA heart} (%total lipids)	28.9 ± 2.4	30.0 ± 2.8	0.77
RU _{CHOL heart} (%total lipids)	0.8 ± 0.1	1.6 ± 0.6	0.24

^a *P* values are from unpaired Student *t* tests. ^b n = 8. ^c n = 6; AUC: area under curve; CHOL: cholesterol esters; DG: diglycerides; MG: monoglycerides; FFA: free fatty acids; PPL: phospholipids; RU: relative uptake; TG: triglycerides. Data are mean ± SE.

Table 4 – Metabolic parameters during the μ PET imaging protocol with euglycemic hyperinsulinemic clamp

	Saline (SAL) (n = 12)	Intralipid (IL) (n = 11)	Intralipid+Triton (IL+TRI) (n = 14)	<i>P</i> ^a
Glucose (mmol/l)	6.3 ± 0.1	6.4 ± 0.2	6.3 ± 0.1	0.69
Insulin (pmol/l)	4407 ± 558 ^d	3277 ± 546	1962 ± 161 ^b	<0.001
FFA (mmol/l)	1.41 ± 0.49 ^{cd}	3.10 ± 0.20 ^b	3.91 ± 0.41 ^b	<0.001
TG (mmol/l)	1.57 ± 0.69 ^{cd}	5.09 ± 0.32 ^{bd}	10.11 ± 0.67 ^{cd}	<0.001
Heart rate (beats/min)	339 ± 4 ^d	327 ± 5	313 ± 6 ^b	0.005
Body temperature (°C)	33.6 ± 0.2 ^d	34.2 ± 0.2	34.8 ± 0.2 ^b	<0.001
FDG <i>K</i> ₁ (ml/g/min)	0.073 ± 0.014	0.060 ± 0.011	0.082 ± 0.021	0.67
FDG <i>k</i> ₂ (min ⁻¹)	1.143 ± 0.291	1.011 ± 0.291	1.153 ± 0.183	0.89
FDG <i>k</i> ₃ (min ⁻¹)	0.042 ± 0.007 ^{cd}	0.020 ± 0.003 ^b	0.017 ± 0.006 ^b	0.02
<i>K</i> _m FDG (ml/g/min)	0.0033 ± 0.0008 ^{cd}	0.0012 ± 0.0002 ^b	0.0012 ± 0.0003 ^b	0.009
MMRG (μmol/g/min)	0.017 ± 0.003 ^{cd}	0.008 ± 0.002 ^b	0.006 ± 0.001 ^b	0.002
[¹³ N]-NH ₃ <i>k</i> ₁ (ml/g/min)	6.16 ± 0.52 ^{cd}	3.90 ± 0.38 ^b	4.28 ± 0.47 ^b	0.005
[¹¹ C]-Acetate <i>k</i> ₂ (min ⁻¹)	2.09 ± 0.29	1.99 ± 0.20	1.42 ± 0.13	0.06

^a These *P* values are from one factor ANOVAs with Tukey's post-hoc tests. ^b *P* < 0.05 vs. Salin by Tukey's post-hoc test. ^c *P* < 0.05 vs. Intralipid by Tukey's post-hoc test; ^d *P* < 0.05 vs. Intralipid+Triton by Tukey's post-hoc test. MMRG: myocardial metabolic rate of glucose; FFA: free fatty acids; TG: triglycerides. Data are mean ± SE.

4. Autres Matériels et Méthodes

4.1. Développement d'un nouveau modèle murin de DMT2

Nous avons voulu développer un modèle de rat qui représente bien les caractéristiques physiopathologiques et métaboliques du DMT2. Pour ce faire, nous avons demandé à Harlan Teklad de fabriquer une nouvelle composition alimentaire pour rat. Cette composition spéciale, nommé TD 05482, comporte 46.5% ^(m/m) de carbohydrates et 25.7% ^(m/m) de gras. Quotidiennement alimenté *ad libitum* avec cette nourriture, cela représente l'équivalent d'une consommation quotidienne de « fast food » par un humain. Les rats sont nourris par cette nourriture pendant 6 semaines, temps nécessaire pour que les rats développent la résistance à l'insuline. De plus, nous avons injecté une légère dose sous-cutanée de STZ (25 mg/kg) à la deuxième semaine de la diète afin de léser partiellement les cellules β du pancréas et ainsi contribuer à la création d'un état chronique d'hyperglycémie légère à modérée. Pour les animaux contrôles, les rats ont reçus une diète normale avec une injection sous-cutanée de volume identique (1 ml/kg) de la solution utilisée pour dissoudre la STZ, une solution de citrate de sodium. Au cours des prochaines sections, l'abréviation HFHFS sera utilisé pour décrire notre modèle de rat nourri avec une diète riche en gras et en fructose (**High Fat / High Fructose**) avec injection de streptozotocin (STZ). Ce modèle induit donc une résistance à l'insuline via un excès calorique et une dysfonction de sécrétion d'insuline, reproduisant ainsi les caractéristiques physiopathologiques principales du DMT2.

4.2. Séparation des sous-types mitochondriaux : sous-sarcolemmales (SSM) et les intra-myofibrillaires (IFM)

Après la publication d'un article montrant une altération plus spécifique de la fonction mitochondriale sous-sarcolemmale comparée à celle des mitochondries interfibrillaires chez les diabétiques (RITOV V.B. et al, 2005), il nous est apparu essentiel de mesurer l'activité de la CPT-1 dans les différentes fractions mitochondriales dans le muscle cardiaque de nos rongeurs. L'isolation des sous-types mitochondriaux du cœur a été effectuée selon la méthode décrite par Palmer et al. (1977) avec quelques modifications effectuées par le groupe de Fannin et al. (1999). En résumé, après que le cœur ait été nettoyé du gras et de ces oreillettes, il fut émincé et homogénéisé avec un homogénéisateur (PowerGen 125, Fisher Scientific) sur glace dans une solution de Chappell-Perry (100 mM KCl, 50 mM MOPS, 1 mM EDTA, 5 mM MgSO₄ · 7H₂O, 1 mM ATP, pH 7.4) dans une proportion de 1:10 (poids/volume). L'homogénat fut centrifugé à 500 g pendant 10 minutes à 4°C. Le surnageant fut transféré dans un nouveau tube et le culot resuspendu et centrifugé à nouveau à 500 g pendant 10 minutes à 4°C. Le deux surnageants furent mixés et centrifugés à 3000 g pendant 10 minutes à 4°C pour obtenir la fraction SSM dans le culot. Ce culot étant suspendu dans 1 mL de la solution Chappell-Perry. Pour la fraction IFM, le culot de la deuxième centrifugation à 500g fut suspendu dans 2 mL de solution Chappell-Perry et homogénéisé une seconde fois. L'homogénat a été centrifugé à 5000 g pendant 5 minutes à 4°C. On garda le culot dans lequel on ajouta

le même volume initial de solution Chappell-Perry. La suspension fut centrifugée à 500 g pendant 10 minutes à 4°C. Le surnageant fut centrifugé à 3000 g pendant 10 minutes à 4°C pour obtenir le culot d'IFM qui fut suspendu dans 1 mL de solution Chappell-Perry.

4.3. Activité enzymatique de la carnitine-palmitoyl transférase 1 (CPT1)

L'activité de la CPT 1 des mitochondries cardiaques a été mesurée en suivant le protocole de Drynan et al. (1996). Cet essai est basé sur la mesure du taux de formation de [³H]-palmitoylcarnitine à partir du [³H]-carnitine et du palmitoyl-CoA. La solution expérimentale (1 mL) contenait 150 mM KCl, 1 mM EGTA, 5 mM Tris/HCl (pH 7.4), 5 mM ATP, 1% (w/v) BSA, 1.6 mM dithiothreitol, 4 µg roténone/mL, 2 µg antimycine A/mL, 0.52 mM L-[³H]-carnitine (activité spécifique de 770 dpm/nmol). Lorsque l'activité maximale de la CPT1 a été obtenue, des concentrations croissantes de malonyl-CoA (0.2-100 µM), un inhibiteur physiologique de la CPT-1, ont été ajoutées. Cette expérience fut réalisée à 37°C sur des échantillons contenant 0.5 mg de protéines mitochondriales. La réaction débute par l'ajout de [³H]-carnitine après deux minutes d'équilibration et se termine par l'ajout de 0.3 mL de HCL 6 M.

Le [³H]-palmitoylcarnitine fut extrait par l'ajout de 1 mL de *n*-butanol et sa quantification fut établie par un compteur à scintillation (CoulterTM, Beckman Co.).

5. Autres Résultats

5.1. Caractérisation des rats HFHFS

Nous avons mesuré l'apport calorique et hydrique ainsi que le poids tout au cours des 6 semaines de diète chez 45 rats. Nous avons également mesuré les niveaux de glucose, d'insuline, des AGL ainsi que des TG plasmatiques au terme des 6 semaines de traitement. Dans le tableau 1, on s'aperçoit que malgré l'absence de différence de prise de poids, les animaux HFHFS ont eu un apport calorique plus élevé. Au niveau sanguin, ces animaux sont caractérisés par une hyperglycémie légère accompagnée d'une légère hyperinsulinémie et d'une hypertriglycémie.

Tableau 1. Caractéristiques des rats nourris au fructose et au gras et traités à la streptozotocine vs. les rats contrôles (pendant 6 semaines).

	HFHFS (n = 23)	CONT (n = 22)	P a
Apport calorique (kcal)	3844 ± 76	3644 ± 55	0.05
Apport hydrique (ml)	1670 ± 77	1656 ± 61	0.89
Poids de départ (g)	323 ± 3	320 ± 3	0.51
Poids final (g)	450 ± 6	459 ± 7	0.33
Changement de poids (g)	129 ± 4	140 ± 6	0.11
Glucose (mmol/l)	9.9 ± 0.6	7.3 ± 0.3	< 0.001
Insuline (pmol/l)	457 ± 58	330 ± 59	0.13
AGL (µmol/l)	966 ± 61	1177 ± 82	0.05
TG (mmol/l)	0.58 ± 0.07	0.40 ± 0.04	0.05

^a Les valeurs *P* proviennent d'un test *t* non-pairé de Student. CONT: rat contrôle; HFHFS: Rats nourris avec la diète riche en gras et en fructose + injection de streptozotocine faible dose; AGL: acides gras libres; TG: triglycérides. Les données sont les moyennes ± erreurs standards.

5.1.1. Données métaboliques suite à un clamp normoglycémique-hyperinsulinémique chez les rats HFHFS.

Dans le tableau 2, on peut voir les données sanguines suite à un clamp normoglycémique-hyperinsulinémique de 2 heures. Ce protocole permet de mesurer la sensibilité à l'insuline des animaux, qui est proportionnelle au taux d'infusion de glucose (Ginf).

Tableau 2. Rats nourris au fructose et au gras et traités à la streptozotocine vs. contrôles durant un clamp normoglycémique hyperinsulinémique.

	CONT (n = 11)	HFHFS (n = 13)	P^a
<i>Baseline</i>			
Glucose (mmol/l)	7.4 ± 0.3	9.5 ± 0.9	0.02
Insuline (pmol/l)	329 ± 76	497 ± 82	0.14
AGL (μmol/l)	1226 ± 127	982 ± 103	0.17
TG (mmol/l)	0.45 ± 0.06	0.74 ± 0.10	0.05
<i>Clamp normoglycémique-Hyperinsulinémique</i>			
Glucose (mmol/l)	4.1 ± 0.5	4.2 ± 0.4	0.85
Insuline (pmol/l)	4140 ± 616	6575 ± 1056	0.07
AGL (μmol/l)	671 ± 58	713 ± 56	0.63
TG (mmol/l)	0.26 ± 0.07	0.39 ± 0.14	0.38
Ginf (μmol/min)	42.3 ± 3.4	26.5 ± 4.4	0.007

^a Les valeurs P proviennent d'un test t non-pairé de Student. CONT: rat contrôle; HFHFS: Rats nourris avec la diète riche en gras et en fructose + injection de streptozotocine faible dose; AGL: acides gras libres; Ginf: taux d'infusion de glucose; TG: triglycérides. Les données sont les moyennes ± erreurs standards.

Ces données nous indiquent clairement que les rats HFHFS sont résistants à l'insuline puisque le niveau de Ginf est significativement plus bas en présence d'une insulinémie plus élevée durant le clamp, et ce malgré une glycémie maintenue au même niveau dans les deux groupes.

5.1.2. Utilisation des AG par les mitochondries cardiaques chez les rats
HFHFS

Étant donné que le DMT2 est caractérisé par une sur-utilisation des AG pour la production d'énergie du myocarde, nous nous sommes attardés au transport des AG dans les mitochondries cardiaques chez les rats HFHFS. Nous avons mesuré l'activité de la CPT-1 des mitochondries, l'enzyme limitant le transport intra-mitochondrial des AG, ainsi que son inhibition par le malonyl-CoA, son inhibiteur physiologique.

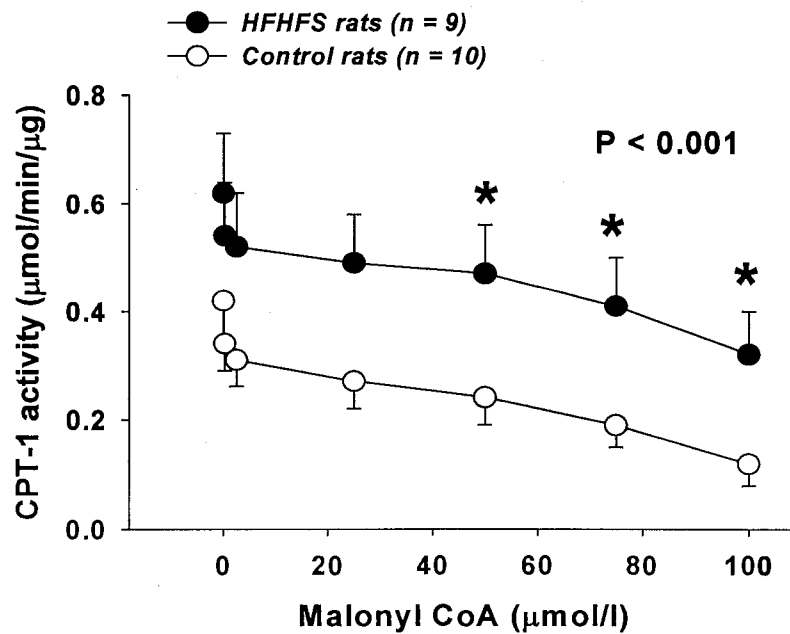


Figure 23. Activité de la CPT-1 des mitochondries myocardiques en réponse à des concentrations croissantes de malonyl CoA *in vitro*. * $P < 0.05$ par test *t* non-pairé de Student. La valeur *P* indiquée est celle de l'effet du groupe dans un modèle d'analyse de variance (ANOVA) incluant le groupe, les doses de malonyl-CoA ainsi que l'interaction comme variables indépendantes et l'activité de CPT-1 comme variable dépendante.

On peut clairement remarquer sur la figure 23 que l'activité basale de la CPT-1 mitochondriale cardiaque des rats HFHFS est augmentée et son activité demeure plus élevée en présence de concentrations croissantes de malonyl CoA. De plus, la CPT-1 de ces animaux est plus difficilement inhibée par des concentrations croissantes de malonyl CoA (figure 24).

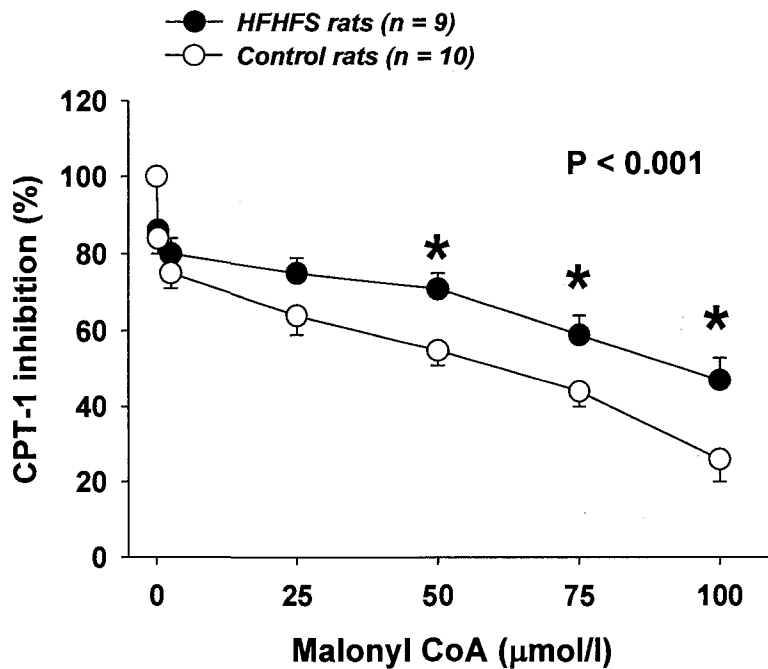


Figure 24. Inhibition de la CPT-1 par des concentrations croissantes de malonyl CoA chez des rats HFHFS et Contrôles. * $P < 0.05$ par test *t* non-pairé de Student. La valeur *P* indiquée est celle de l'effet du groupe dans un modèle d'analyse de variance (ANOVA) incluant le groupe, les doses de malonyl-CoA ainsi que l'interaction comme variables indépendantes et l'activité de CPT-1 comme variable dépendante.

La figure 25 illustre l'activité de la CPT-1 dans les mitochondries sous-sarcolemmales et interfibrillaires. Notons que l'activité de la CPT-1 est identique dans les deux fractions mitochondriales chez les rats HFHFS.

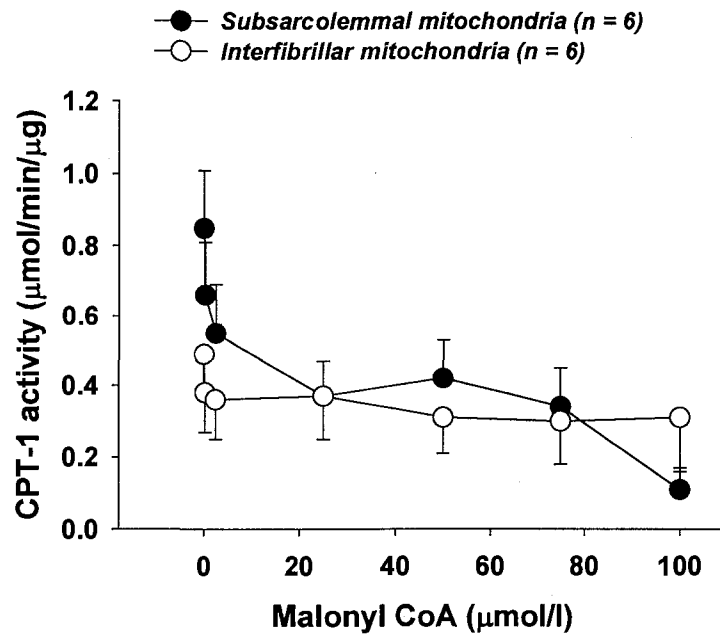


Figure 25. Activité de la CPT-1 des mitochondries sous-sarcolemmales et intra-fibrillaires en réponse à des concentrations croissantes de malonyl CoA in vitro.

Par contre, la figure 26 démontre que la CPT-1 des mitochondries sous-sarcolemmales est inhibée plus rapidement que celle des mitochondries intra-fibrillaires par le malonyl CoA. Ces résultats suggèrent que les deux types de mitochondries pourraient être modulés différemment en présence d'un surplus calorique chronique menant à une augmentation des niveaux cellulaires de malonyl-CoA souvent retrouvée chez les DMT2.

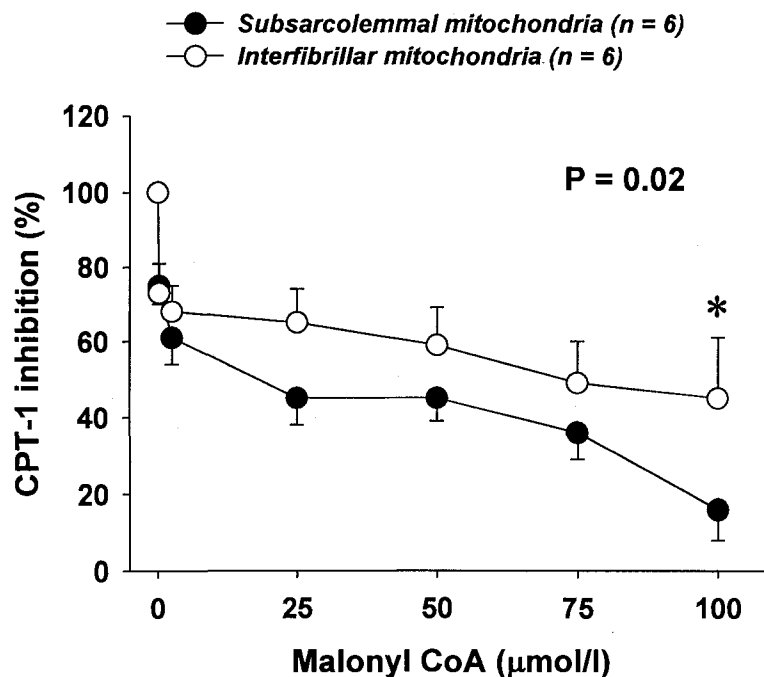


Figure 26. Inhibition de la CPT-1 par des concentrations croissantes de malonyl CoA dans les fractions sous-sarcolemmales et intra-fibrillaires de mitochondries chez des rats HFHFS. La valeur *P* indiquée est celle de l'effet du groupe dans un modèle d'analyse de variance (ANOVA) incluant le groupe, les doses de malonyl-CoA ainsi que l'interaction comme variables indépendantes et l'activité de CPT-1 comme variable dépendante.

Afin de mesurer le transport intra-mitochondrial cardiaque des AGL *in vivo* chez les rats HFHFS, nous avons réutilisé l'injection intraveineuse de ^{14}C -bromopalmitate. Dans cette série d'expériences, nous avons ainsi mesuré le captage mitochondrial des AGL dans des conditions hyperinsulinémiques. Comme on peut le voir dans le tableau 3, la clairance du traceur est semblable chez les rats HFHFS et les contrôles, tel que démontré par l'aire sous la courbe plasmatique du ^{14}C -bromopalmitate similaire entre les deux groupes. Au niveau des mitochondries cardiaques, hépatiques et musculaires, l'extraction plasmatique et le captage du bromopalmitate est identique dans les deux groupes.

Tableau 3. Effets de la diète HFHFS sur le captage mitochondrial du ¹⁴C-bromopalmitate.

	CONT/SAL (n = 9)	HFHFS/SAL (n = 6)	P ^a
AUC _{plasma} (dpm/ml•5min)	6453 ± 915	6254 ± 819	0.87
K _{f coeur} (ml/g•5min)	16.7 ± 6.6	15.8 ± 4.8	0.92
R _{f coeur} (µmol/g•5min)	12.7 ± 6.0	11.5 ± 4.9	0.88
K _{f foie} (ml/g•5min)	9.2 ± 1.3	10.6 ± 1.4	0.49
R _{f foie} (µmol/g•5min)	6.1 ± 1.1	8.2 ± 1.6	0.29
K _{f muscle} (ml/g•5min)	1.1 ± 0.3	0.9 ± 0.3	0.67
R _{f muscle} (µmol/g•5min)	0.7 ± 0.2	0.4 ± 0.2	0.37

^a La valeur *P* provient d'un test *t* non-pairé de student AUC : aire sous la courbe; K_f: extraction plasmatique du bromopalmitate vers les mitochondries; R_f: captage mitochondrial des acides gras libres plasmatiques. Les données sont les moyennes ± erreurs standards.

Pour ce qui est de l'incorporation dans les lipides cellulaires myocardiques du bromopalmitate, le tableau 4 démontre que notre modèle de DMT2 n'est pas associé à une augmentation du captage des AGL au niveau cardiaque. Dans ce même tableau, on peut voir le captage relatif pour différentes fractions lipidiques et on constate très bien qu'il n'y pas de différence dans l'incorporation du ¹⁴C-bromopalmitate dans l'une ou l'autre de ces fractions dans le cœur.

Tableau 4. Effets de la diète HFHFS dans l'incorporation du ^{14}C -bromopalmitate dans les lipides cellulaires cardiaques.

	CONT/SAL (n = 9)	HFHFS/SAL (n = 10)	P ^a
Uptake lipids (dpm/g•5min)	5887 ± 1109	4148 ± 558	0.17
K _f coeur (ml/g•5min)	1.3 ± 0.4	0.7 ± 0.2	0.27
R _f coeur (μmol/g•5min)	0.8 ± 0.3	0.6 ± 0.2	0.78
RU _{PPL} coeur (% total lipids)	40.0 ± 6.1	41.9 ± 5.9	0.83
RU _{MG} coeur (% total lipids)	4.8 ± 1.6	3.8 ± 1.0	0.60
RU _{DG} coeur (% total lipids)	10.6 ± 1.6	9.6 ± 1.1	0.63
RU _{TG} coeur (% total lipids)	15.3 ± 4.9	19.0 ± 4.7	0.60
RU _{NEFA} coeur (% total lipids)	28.9 ± 2.4	25.3 ± 1.2	0.19
RU _{CHOL} coeur (% total lipids)	0.8 ± 0.1	0.4 ± 0.3	0.30

^a La valeur P provient d'un test t non-pairé de student. CONT: rats contrôles; CHOL: cholestérol; DG: diglycérides; HFHFS: Rats nourris avec la diète riche en gras et en fructose + streptozotocine; MG: monoglycérides; NEFA: acides gras libres; PPL: phospholipides; RU: captage relatif; SAL: protocole saline; TG: triglycérides. Les données sont les moyennes ± erreurs standard.

5.1.3. Effets de l'inhibition de la lipolyse intravasculaire

Maintenant que nous avons bien décrit le modèle de DMT2, nous pouvons nous attarder sur l'effet de l'inhibition de la lipolyse dans notre modèle. Le tableau 5 indique les valeurs sanguines lors des études chez nos rats HFHFS utilisant le Triton Wr-1339.

Comme on l'a déjà constaté dans le tableau 2, en conditions basales, les rats HFHFS sont hyperglycémiques et légèrement hypertriglycéridémiques. Dans les deux

groupes d'animaux durant l'infusion d'insuline (clamp), on voit très bien que le Triton Wr-1339 diminue les valeurs d'insuline. On discutera de ce problème dans la section 6.2.

Tableau 5. Glucose, insuline, AGL et TG plasmatiques au temps 0 et durant un clamp normoglycémique-hyperinsulinémique.

	CONT /SAL (n = 11)	CONT/ Triton (n = 7)	HFHFS/ SAL (n = 13)	HFHFS/ Triton (n = 4)	P ^a	P ^b	P ^c	P ^d
<i>État basal</i>								
Glucose (mmol/l)	7.4 ± 0.3	7.2 ± 0.6	9.5 ± 0.9	10.7 ± 1.9	0.07	-	-	-
Insuline (pmol/l)	329 ± 76	373 ± 144	497 ± 82	504 ± 158	0.54	-	-	-
AGL (µmol/l)	1226 ± 127	1232 ± 142	982 ± 103	945 ± 76	0.27	-	-	-
TG (mmol/l)	0.45 ± 0.06	0.34 ± 0.08	0.74 ± 0.10	0.38 ± 0.13	0.02	0.03	0.04	0.25
<i>Clamp normoglycémique-hyperinsulinémique</i>								
Glucose (mmol/l)	4.1 ± 0.5	4.7 ± 0.4	4.2 ± 0.4	4.3 ± 1.0	0.88	-	-	-
Insuline (pmol/l)	4140 ± 616	1941 ± 713	6575 ± 1056	3279 ± 758	0.009	0.01	0.02	0.61
AGL (µmol/l)	671 ± 58	790 ± 236	713 ± 56	581 ± 238	0.80	-	-	-
TG (mmol/l)	0.26 ± 0.07	1.40 ± 0.13	0.39 ± 0.14	1.65 ± 0.26	<0.001	0.90	<0.001	0.71
GINF (µmol/min)	42.3 ± 3.4	40.4 ± 1.9	26.5 ± 4.4	28.3 ± 6.3	0.02	0.002	0.93	0.70

^a La valeur *P* provient d'une analyse de variance (ANOVA) incluant le groupe (HFHFS vs. CONT), le protocole expérimental (Triton vs. SAL), et l'interaction comme variables indépendantes. ^b valeur *P* pour l'effet du groupe. ^c Valeur *P* l'effet du protocole expérimental. ^d Valeur *P* pour l'interaction. CONT: rats contrôle; GINF: taux d'infusion de glucose durant un clamp; HFHFS: Rats avec la diète high fat, high fructose + streptozotocine; NEFA: acides gras libres; SAL: protocole saline; TG: triglycérides. Les données sont les moyennes ± erreurs standard.

Tel qu'attendu, le Triton Wr-1339 augmente énormément les niveaux sanguins de TG.

Comme noté précédemment, les rats HFHFS sont moins sensibles à l'insuline (Ginf plus bas) que les rats contrôles. Le Triton Wr-1339 n'affecte pas la sensibilité à l'insuline des animaux.

5.1.3.1. Effet du Triton WR1339 sur le captage lipidique tissulaire

Comme le tableau 6 l'indique, l'injection intraveineuse du Triton Wr-1339 n'affecte pas significativement le captage du ¹⁴C-bromopalmitate dans les lipides cellulaires cardiaques. De plus, l'extraction plasmatique du traceur par le tissu cardiaque n'est pas différente chez les rats HFHFS vs. les rats contrôles.

Tableau 6. Effets de l'inhibition de la lipolyse intravasculaire sur l'incorporation du ¹⁴C-bromopalmitate dans les différentes fractions lipidiques dans le cœur.

	CONT/ SAL (n = 9)	CONT/ Triton (n = 9)	HFHFS/ SAL (n = 10)	HFHFS/ Triton (n = 5)	P ^a
Captage dans les lipides totaux (dpm/g•5min)	5887 ± 1109	3935 ± 723	4148 ± 558	5610 ± 850	0.26
RU _{PPL coeur} (% total lipids)	40.0 ± 6.1	44.0 ± 7.0	41.9 ± 5.9	43.2 ± 6.0	0.97
RU _{MG coeur} (% total lipids)	4.8 ± 1.6	4.3 ± 1.7	3.8 ± 1.0	3.0 ± 1.5	0.89
RU _{DG coeur} (% total lipids)	10.6 ± 1.6	5.8 ± 2.3	9.6 ± 1.1	7.2 ± 1.8	0.21
RU _{TG coeur} (% total lipids)	15.3 ± 4.9	14.1 ± 3.0	19.0 ± 4.7	17.6 ± 8.7	0.88
RU _{NEFA coeur} (% total lipids)	28.9 ± 2.4	30.0 ± 2.8	25.3 ± 1.2	28.6 ± 5.3	0.57
RU _{CHOLcoeur} (% total lipids)	0.8 ± 0.1	1.6 ± 0.6	0.4 ± 0.3	0.4 ± 0.2	0.16

^a La valeur P provient d'une analyse de variance (ANOVA) incluant le groupe (HFHFS vs. CONT), le protocole expérimental (Triton vs. SAL), et l'interaction comme variables indépendantes. CONT: rats contrôles; CHOL: cholestérol; DG: diglycérides; HFHFS: Rats nourris avec la diète riche en gras et en fructose + injection de streptozotocine; MG: monoglycérides; NEFA: acides gras libres; PPL: phospholipides; RU: captage relatif; SAL: protocole saline; TG: triglycérides. Les données sont les moyennes ± erreurs standard.

5.1.3.2. Effet du Triton WR1339 sur le captage lipidique mitochondriale

Tableau 7. Effets de l'inhibition de la lipolyse intravasculaire sur le captage mitochondriale du ¹⁴C-bromopalmitate dans différents tissus.

	CONT/ SAL (n = 9)	CONT/ Triton (n = 8)	HFHFS/ SAL (n = 6)	HFHFS/ Triton (n = 3)	P ^a
AUC _{plasma} (dpm/ml•5min)	6453 ± 915	4649 ± 819	6254 ± 819	5845 ± 718	0.44
K _{f coeur} (ml/g•5min)	16.7 ± 6.6	9.4 ± 2.9	15.8 ± 4.8	9.6 ± 4.3	0.71
R _{f coeur} (µmol/g•5min)	12.7 ± 6.0	11.5 ± 5.0	11.5 ± 4.9	7.9	0.99
K _{f foie} (ml/g•5min)	9.2 ± 1.3	12.4 ± 4.4	10.6 ± 1.4	8.0 ± 1.4	0.74
R _{f foie} (µmol/g•5min)	6.1 ± 1.1	10.3 ± 4.2	8.2 ± 1.6	4.3 ± 0.5	0.57
K _{f muscle} (ml/g•5min)	1.1 ± 0.3	2.4 ± 0.5	0.9 ± 0.3	1.8 ± 1.0	0.07
R _{f muscle} (µmol/g•5min)	0.7 ± 0.2	2.0 ± 1.0	0.4 ± 0.2	1.1 ± 1.0	0.36

^a La valeur P provient d'une analyse de variance (ANOVA) incluant le groupe (HFHFS vs. CONT), le protocole expérimental (Triton vs. SAL), et l'interaction comme variables indépendantes. AUC : aire sous la courbe; CONT: rats contrôle; HFHFS: Rats avec la diète high fat, high fructose + streptozotocine; K_f: extraction plasmatique du bromopalmitate vers les mitochondries; R_f: captage mitochondrial des acides gras libres plasmatiques. SAL: protocole salin; Les données sont les moyennes ± erreurs standards.

Le tableau 7 affiche l'effet de l'inhibition aigue de la LIVTG sur la clairance plasmatique du ¹⁴C-bromopalmitate et sur l'utilisation mitochondriale de ce traceur analogue des AGL. On constate que le Triton Wr-1339 n'affecte pas la clairance, ceci étant mesuré par l'aire sous la courbe plasmatique du ¹⁴C-bromopalmitate. Au niveau des mitochondries cardiaques, hépatiques et musculaires, l'extraction plasmatique du

bromopalmitate vers les mitochondries et le captage mitochondriale des acides gras libres plasmatiques est similaire dans les différentes conditions.

6. Discussion et Perspectives

6.1. *L'effet de la modulation aiguë de la lipolyse intravasculaire des triglycérides sur le métabolisme myocardique in vivo*

Durant ma maîtrise, mon projet a surtout porté sur l'investigation de l'effet d'une inhibition aiguë de la LIVTG *in vivo* sur l'utilisation myocardique du glucose, du flot sanguin et du métabolisme oxydatif à l'aide d'une injection intraveineuse d'un détergent anionique, le Triton Wr-1339, chez le rat.

Une injection intraveineuse de Triton Wr-1339 chez un modèle animal résulte en une augmentation progressive de la concentration des TG sanguins (TAGHIBIGLOU C. et al, 2000). Cet effet est dû à la capacité du détergent à s'associer aux LpL, diminuant ainsi le taux d'hydrolyse induit par la LpL et réduisant le captage des TG sanguins par les tissus (MILLAR J.S. et al, 2005). Dans notre modèle expérimental, nous avons démontré, comme attendu, que le Triton Wr-1339 diminuait la clairance des TG circulants suggéré par une augmentation des niveaux plasmatiques de TG et par une augmentation de l'aire sous la courbe du [1-³H]-trioléine plasmatique après une injection intraveineuse de Triton WR1339. Nous avons aussi démontré que le Triton Wr-1339 réduisait le captage de la [1-³H]-trioléine injectée en intraveineux dans les lipides tissulaires totaux et les mitochondries, sans affecter le captage relatif de ce traceur dans les différentes fractions lipidiques des tissus. À l'opposé, le Triton Wr-1339 n'affecte aucunement la clairance des AGL plasmatiques ni leur captage tissulaire ou mitochondrial, tel que supporté par l'absence d'effet du Triton Wr-1339 sur le captage du [1-¹⁴C]-2-bromopalmitate. Par ailleurs, le Triton Wr-1339 ne semble

pas affecter la sensibilité à l'insuline *in vivo*, tel qu'indiqué par l'absence de changement du taux d'infusion de glucose durant un clamp euglycémique-hyperinsulinémique. Tous ces résultats nous permettent de conclure qu'une injection intraveineuse de Triton Wr-1339 est une bonne méthode pour réduire de manière aigue, l'accessibilité des AG dérivés spécifiquement des TG circulants au cœur chez le rat dans des conditions euglycémiques-hyperinsulinémiques.

En utilisant cette méthode d'inhibition de la LIVTG, nous avons déterminé si une réduction aigue de la disponibilité des AG provenant des TG circulants pouvait mener à une utilisation accrue de glucose dans le myocarde du rat. Contrairement à notre hypothèse de départ, nous avons découvert qu'il n'y avait aucun changement significatif dans l'utilisation du glucose dans le myocarde deux heures après une injection de Triton Wr-1339. De plus, le Triton Wr-1339 n'a causé aucun changement significatif du flot sanguin coronarien et de la capacité oxydative totale du myocarde. Ainsi, nos résultats suggèrent qu'en absence de lipides exogènes, une réduction significative de la disponibilité des TG circulants n'était pas suffisante pour augmenter l'utilisation du glucose au niveau cardiaque chez le rat en condition euglycémique-hyperinsulinémique. Une explication possible pour ces résultats serait une augmentation compensatoire de l'utilisation des AGL plasmatiques par le myocarde en présence d'une inhibition dans l'utilisation des AG dérivés de la LIVTG. En effet, ce phénomène a été démontré chez la souris en utilisant le modèle expérimental de perfusion myocardique *ex vivo* de Langendorff (AUGUSTUS A.S. et al, 2003, PILLUTLA P. et al, 2005). Cependant, une autre étude a démontré le contraire (MARDY K. et al, 2001). Dans nos études *in vivo*, nous avons découvert

que le blocage de la disponibilité des AG provenant de la LIVTG n'affectait pas le captage cellulaire et mitochondrial du ^{14}C - bromopalmitate du le myocarde. Les AG dérivés des VLDL sont considérablement moins métabolisés que les AG provenant des chylomicrons dans le cœur des souris (AUGUSTUS A.S. et al, 2003, MARDY K. et al, 2001). Ainsi, nous ne pouvons pas exclure la possibilité qu'à l'état de jeûne, caractérisé par la quasi absence de TG des chylomicrons, le captage myocardique plus faible des AG dérivés des VLDL ne serait pas suffisant pour moduler significativement l'utilisation du glucose. Il est également possible que l'hyperinsulinémie que nous avons dû induire lors de nos expériences afin de standardiser les conditions métaboliques ait réduit l'activité de la LpL myocardique (SAMBANDAM N. et al, 1999) réduisant ainsi la contribution relative du captage des AG provenant des TG circulants.

Contrastant avec les études évoquées ci-haut, nos expériences utilisant une perfusion intraveineuse d'Intralipid (mimant une augmentation des chylomicrons circulants qu'on peut observer à l'état postprandial) ont résulté en une augmentation significative des niveaux plasmatiques de TG et d'AGL associée à une réduction significative du métabolisme myocardique du glucose et une réduction du flot sanguin coronarien mais sans aucun changement dans la capacité oxydative du myocarde, du rythme cardiaque et de la température corporelle. Nos résultats reflètent ceux obtenus par d'autres investigateurs montrant une réduction de l'utilisation du glucose par le myocarde avec une perfusion intraveineuse d'Intralipid *in vivo* (NUUTILA P. et al, 1992, VETTOR R. et al, 2002). Une perfusion intraveineuse de lipides semble aussi altérer le flot sanguin coronarien dans d'autres modèles animaux (LIEDTKE A.J. et

al, 1984, PRINZEN F.W. et al, 1981). Bien qu'une étude ait suggéré que la réduction du flot sanguin coronarien induite par les lipides serait due à une augmentation de la viscosité sanguine (RIM S.J. et al, 2001), l'absence de réduction du flot sanguin en présence du Triton Wr-1339, qui est associé à une forte augmentation des niveaux de TG et de la viscosité sanguine suggère que cet effet serait plutôt dû à une augmentation de l'accessibilité des AG venant de la LIVTG. Une augmentation de l'accessibilité des AGL peut produire la dysfonction endothéliale *in vivo* (DE KREUTZENBERG S.V. et al, 2000, STEINBERG H.O. et al, 2000). De manière plus intéressante, une surexpression de la LpL humaine dans les muscles lisses vasculaires aortiques chez la souris altère la réactivité vasculaire (ESENABHALU V.E. et al, 2002), suggérant que la lipolyse des TG par la LpL mène à la dysfonction endothéliale *in vivo*. En support de ces observations, notons que dans nos études une injection de Triton Wr-1339 avant une perfusion d'Intralipid émousse tant la réduction du métabolisme myocardique du glucose que la réduction du flot sanguin myocardique causée par l'apport exogène de lipides. Ces résultats suggèrent que les effets métaboliques induits par l'Intralipid sont partiellement dépendants de l'accessibilité au myocarde des AG provenant de la LIVTG. L'absence de changement de la capacité oxydative du myocarde en présence d'Intralipid que l'on observe dans notre étude est aussi consistante avec les résultats observés par d'autres investigateurs (BROWN M.A. et al, 1989).

Chez la souris, le cœur est l'organe qui utilise le plus les AG provenant de la LIVTG (AUGUSTUS A.S. et al, 2003). Des souris transgéniques ayant une surexpression spécifique cardiaque du gène de la LpL humaine avec une invalidation

(knoutout) du gène de la LpL dans les muscles squelettiques et les tissus adipeux ont des niveaux de TG normaux, suggérant que les TG plasmatiques peuvent être hydrolysés très efficacement dans la circulation cardiaque (LEVAK-FRANK S. et al, 1999). Cependant, la contribution relative des AG dérivés de la LIVTG versus le pool plasmatique d'AGL comme substrat énergétique pour le cœur en conditions physiologiques reste encore controversée. Le taux d'utilisation *ex vivo* des AG dérivés de la LIVTG par le cœur des souris était plus petit (NEITZEL A.S. et al, 2003), similaire (MARDY K. et al, 2001), ou plus grand (AUGUSTUS A.S. et al, 2003) que celui des AGL selon les études. Cette disparité est probablement explicable par les différentes conditions expérimentales de ces études. En effet, l'accessibilité des AG provenant de la LIVTG doit être vue comme un processus dynamique. Premièrement, le degré d'accessibilité myocardique des AG provenant de la LIVTG dépend de la concentration plasmatique des TG transportés par les chylomicrons et les VLDL (AUGUSTUS A.S. et al, 2003). Deuxièmement, l'expression et l'activité de la LpL myocardique augmentent dans plusieurs conditions physiologiques et physiopathologiques comme le jeun (KAMATAKI A. et al, 2002, RUGE T. et al, 2004), le stress (RICART-JANE D. et al, 2005), une augmentation du travail cardiaque (VAZIRI N.D. et al, 1999), l'hypoinsulinémie (PULINILKUNNIL T. et al, 2003a, PULINILKUNNIL T. et al, 2003b, SAMBANDAM N. et al, 1999), un excès de glucocorticoïdes (QI D. et al, 2004), et dans le diabète (NEITZEL A.S. et al, 2003, RODRIGUES B. et al, 1997). De manière encore plus intéressante, une étude humaine récente a montré que les AGL contribuaient à plus de 80% de l'utilisation des AG par le cœur *in vivo* chez des humains avec coronaropathie durant la période de

jeûne tandis que les TG circulants contribuaient à moins de 20% de l'apport des AG (NELSON R.H. et al, 2007).

L'importance physiopathologique d'une régulation normale de l'accessibilité des AG dérivant de la LIVTG a été illustrée par des modèles de souris knock-out spécifique de la LpL cardiaque ou de surexpression spécifique de la LpL cardiaque. En utilisant une stratégie d'inactivation spécifique de la LpL cardiaque avec un traitement à la tamoxifène des souris MerCreMer/LpLfloxed/floxed, Noh et al (NOH H.L. et al, 2006a) montrèrent une diminution de l'expression des gènes des voies de l'oxydation des AG au cœur après une semaine d'inactivation de la LpL cardiaque. Cette inactivation fut associée à une dysfonction mécanique cardiaque après quelques semaines. Similairement, une inhibition chronique de l'oxydation cardiaque des AG a été associée au développement de dysfonction cardiaque chez la souris (CHENG L. et al, 2004, LITWIN S.E. et al, 1990, LOICHOT C. et al, 2006, LUPTAK I. et al, 2005) tandis qu'une inhibition partielle de l'oxydation des AG durant une période d'ischémie fut associée avec une augmentation de l'utilisation du glucose et à la diminution de l'insuffisance cardiaque post-infarctus dans des modèles expérimentaux (DYCK J.R. et al, 2004, WAMBOLT R.B. et al, 2000). Une dérégulation chronique de l'accessibilité et de l'utilisation myocardique des AG provenant de la LIVTG pourrait donc contribuer au développement de cardiomyopathies associées au DMT2 (ZHOU Y.T. et al, 2000).

6.2. *Le rat HFHFS et le métabolisme myocardique*

Les modèles animaux de DMT2 actuellement utilisés comportent souvent des anomalies sévères du métabolisme du glucose et des lipides qui peuvent être considérés comme des conditions extrêmes rencontrées très rarement en clinique. Par ailleurs, les modèles génétiques (ex. rat diabétique Zucker) comportent aussi des anomalies métaboliques et hormonales ne reflétant pas les circonstances physiopathologiques classiques du DMT2. L'utilisation d'agents toxiques à haute dose afin de détruire les cellules β pancréatiques et ainsi empêcher la sécrétion d'insuline simulent davantage un diabète de type 1 (insulinopénique) qu'un DMT2 (DI FILIPPO C. et al, 2005, HUANG B.W. et al, 2004, REED M.J. et al, 2000). D'autres modèles qui utilisent uniquement des manipulations nutritionnelles induisent certes le développement d'une résistance à l'insuline mais la survenue d'une hyperglycémie n'est pas invariablement présente (RIBEIRO R.T. et al, 2005). Dans notre cas, nous avons voulu développer un modèle présentant une résistance à l'insuline induite par la diète combinée à une dysfonction légère de sécrétion d'insuline s'associant à une hyperglycémie et une hyperlipidémie légères à modérées, telles que rencontrées dans le DMT2 chez l'humain. Nous avons utilisé une diète riche en fructose et en gras, ce qui représente l'apport calorique d'une nutrition type malbouffe. Nous avons aussi ajouté à ce modèle nutritionnel une injection d'une dose faible de streptozotosine (STZ, 25 mg/kg) à la deuxième semaine du début de la diète. Ce modèle est caractérisé par une hyperglycémie et une hypertriglycéridémie modérées, une insulïnémie normale à légèrement augmentée, et une prise de poids

identique aux animaux contrôles malgré une augmentation de l'apport calorique total. À l'aide d'un clamp normoglycémique-hyperinsulinémique, nous avons pu démontrer par la technique de clamp euglycémique-hyperinsulinémique la présence d'une résistance à l'insuline dans ce modèle. De plus, ce modèle est caractérisé par une activité plus élevée de la CPT-1 mitochondriale myocardique ainsi que par une plus faible inhibition de cette enzyme par la malonyl-CoA comparé aux rats contrôles. Ces résultats montrent que la CPT-1 diabétique est moins sensible que la CPT-1 chez les animaux non diabétiques suggérant une adaptation mitochondriale afin de compenser le manque d'entrée du glucose dans la cellule cardiaque. Il est également possible que l'augmentation des TG plasmatiques et de l'apport d'AG au myocarde via cette source active chroniquement les PPAR α , stimulant ainsi l'expression et l'activité de CPT-1 (BRANDT JM, J Biol Chem 1998; Mascaro C, J Biol Chem 1998).

Nos études indiquent clairement que, malgré une augmentation de l'activité de la CPT-1, le myocarde des rats HFHFS ne consomment pas davantage d'AGL plasmatiques. Cependant, nous n'avons pu jusqu'à maintenant mesurer la consommation totale des AG venant de la LIVTG et le métabolisme du glucose par le myocarde *in vivo* dans notre modèle. Ceci reste à faire dans le cadre de nos études futures. Il est possible que la condition d'hyperinsulinémie induite lors de nos études ait pu biaiser le captage des AGL. Notre laboratoire a récemment démontré que l'insuline stimule le captage mitochondrial des AGL au niveau du myocarde chez le rat (CI X. et al., 2006). Ceci a peut-être amoindri une augmentation relative du captage mitochondrial des AGL dans le myocarde des rats HFHFS comparé aux contrôles.

A l'aide de notre nouveau modèle de DMT2, nous avons voulu déterminer l'impact d'une inhibition aigue de la LIVTG sur le métabolisme cardiaque diabétique. Bien que ces études soient encore incomplètes, nos résultats préliminaires suggèrent, tel que prévu, l'absence d'effet du Triton WR-1339 sur le métabolisme myocardique des AGL circulants. Le Triton WR-1339 ne semble pas affecter le degré de résistance à l'insuline de notre modèle, tel que jugé par les niveaux de perfusion de glucose lors du clamp euglycémique hyperinsulinémique. Cependant, les niveaux d'insuline sont significativement moindres après injection de Triton WR-1339 et ce dans les deux groupes de rats. Ce phénomène est attribuable à une interférence du Triton WR-1339 avec le radio immuno-essai (RIA) utilisé pour le dosage de l'insuline. Le Triton Wr-1339 étant un détergent, il semblerait que celui-ci vienne interférer avec les anticorps du RIA et sous-estimerait les valeurs sanguines d'insuline. D'autres études seront nécessaires afin de parer à ce problème méthodologique. De la même manière, d'autres études seront nécessaires afin de vérifier l'impact de la LIVTG sur la sélection des substrats cardiaques dans ce modèle. A cette fin, des études TEP utilisant le FDG sont en cours.

7. Conclusion

Nos études démontrent, chez le rat normal, qu'une infusion intraveineuse d'émulsion de gras réduit de façon aigüe l'utilisation myocardique du glucose et le flot sanguin coronarien *in vivo* durant un clamps hyperinsulinémique-euglycémique. Cependant, ces effets ne résultent aucunement à une augmentation de l'apport des acides gras dérivés de la lipolyse intravasculaire des triglycérides. D'autres études seront essentielles pour déterminer si l'apport d'acides gras au myocarde provenant des triglycérides circulants joue un rôle dans la réduction du métabolisme du glucose cardiaque dans des états physiopathologiques tel que le diabète de type 2.

Suite à ces expériences, nous avons pu bien caractériser un nouveau modèle animal de DMT2 beaucoup plus représentatif des anomalies observées couramment chez les patients DMT2. Bien qu'encore incomplète, la caractérisation métabolique du myocarde de notre nouveau modèle suggère que les AGL plasmatiques ne sont pas la source principale de la diminution potentielle de consommation de glucose et d'augmentation de consommation des AG du myocarde diabétique. Nos études futures devront quantifier la contribution des AG dérivés des LRT ainsi que le métabolisme du glucose dans le myocarde de ce modèle de DMT2.

8. Remerciements

J'aimerais tout d'abord remercier le Dr André Carpentier pour m'avoir donné la chance de travailler dans son laboratoire et d'étudier le métabolisme des acides gras et dans le diabète de type 2. J'aimerais aussi le remercier pour son aide dans l'élaboration des protocoles, des analyses et de sa grande expertise scientifique.

De plus, j'aimerais remercier tous les membres du laboratoire que j'ai pu côtoyer de près ou de loin tout au cours de ma maîtrise : François Lavoie, François Normand-Lauzière, Lizabeth Villeneuve, Dr. Pascal Brassard, Frédérique Frisch, Xiuli Ci et Thomas Grenier-Larouche.

Et pour terminer, je veux remercier tous les membres du Centre de recherche en imagerie métabolique du Centre de recherche Étienne-Le Bel qui m'ont permis de me familiariser avec les techniques de TEP, d'analyses et d'interprétation des images obtenues. Et en dernier lieu, un grand merci à tous les techniciens de l'animalerie centrale du Centre hospitalier universitaire de Sherbrooke qui m'ont fourni une aide considérable dans les soins et la préparation des animaux utilisés tout au long des recherches faites dans le cadre de ma maîtrise.

9. Références

ABUMRAD N.A., EL-MAGHRABI M.R., AMRI E.Z., LOPEZ E. et GRIMALDI P.A. Cloning of a rat adipocyte membrane protein implicated in binding or transport of long-chain fatty acids that is induced during preadipocyte differentiation. Homology with human CD36. *J.Biol.Chem.* 268(24):17665-17668(1993).

AFINSEN C.B., BOYLE E. et BROWN R.K. The role of heparin in lipoprotein metabolism. *Science.* 115():583-586(1952).

ALEXANDER C.M., LANDSMAN P.B., TEUTSCH S.M., HAFFNER S.M., THIRD NATIONAL HEALTH AND NUTRITION EXAMINATION SURVEY (NHANES III) et NATIONAL CHOLESTEROL EDUCATION PROGRAM (NCEP). NCEP-defined metabolic syndrome, diabetes, and prevalence of coronary heart disease among NHANES III participants age 50 years and older. *Diabetes.* 52(5):1210-1214(2003).

ANDREWS R.C. et WALKER B.R. Glucocorticoids and insulin resistance: old hormones, new targets. *Clin.Sci.(Lond).* 96(5):513-523(1999).

ANGEL A. et BRAY G.A. Synthesis of fatty acids and cholesterol by liver, adipose tissue and intestinal mucosa from obese and control patients. *Eur.J.Clin.Invest.* 9(5):355-362(1979).

AUGUSTUS A., YAGYU H., HAEMMERLE G., et al. Cardiac-specific knock-out of lipoprotein lipase alters plasma lipoprotein triglyceride metabolism and cardiac gene expression. *J.Biol.Chem.* 279(24):25050-25057(2004).

AUGUSTUS A.S., BUCHANAN J., PARK T.S., et al. Loss of lipoprotein lipase-derived fatty acids leads to increased cardiac glucose metabolism and heart dysfunction. *J.Biol.Chem.* 281(13):8716-8723(2006).

AUGUSTUS A.S., KAKO Y., YAGYU H. et GOLDBERG I.J. Routes of FA delivery to cardiac muscle: modulation of lipoprotein lipolysis alters uptake of TG-derived FA. *Am.J.Physiol.Endocrinol.Metab.* 284(2):E331-9(2003).

AWAN M.M. et SAGGERSON E.D. Malonyl-CoA metabolism in cardiac myocytes and its relevance to the control of fatty acid oxidation. *Biochem.J.* 295 (Pt 1)(Pt 1):61-66(1993).

BAGGER J.P., BOTKER H.E., THOMASSEN A. et NIELSEN T.T. Effects of ranolazine on ischemic threshold, coronary sinus blood flow, and myocardial metabolism in coronary artery disease. *Cardiovasc.Drugs Ther.* 11(3):479-484(1997).

BALDEWEG S.E., GOLAY A., NATALI A., BALKAU B., DEL PRATO S. et COPPACK S.W. Insulin resistance, lipid and fatty acid concentrations in 867 healthy Europeans. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR). *Eur.J.Clin.Invest.* 30(1):45-52(2000).

BALLER D., NOTOHAMIPRODJO G., GLEICHMANN U., HOLZINGER J., WEISE R. et LEHMANN J. Improvement in coronary flow reserve determined by positron emission tomography after 6 months of cholesterol-lowering therapy in patients with early stages of coronary atherosclerosis. *Circulation*. 99(22):2871-2875(1999).

BARTLETT K. et EATON S. Mitochondrial beta-oxidation. *Eur.J.Biochem*. 271(3):462-469(2004).

BARTLETT K., BHUIYAN A.K., AYNSLEY-GREEN A., BUTLER P.C. et ALBERTI K.G. Human forearm arteriovenous differences of carnitine, short-chain acylcarnitine and long-chain acylcarnitine. *Clin.Sci.(Lond)*. 77(4):413-416(1989).

BAVENHOLM P.N., PIGON J., SAHA A.K., RUDERMAN N.B. et EFENDIC S. Fatty acid oxidation and the regulation of malonyl-CoA in human muscle. *Diabetes*. 49(7):1078-1083(2000).

BELL R.M. et COLEMAN R.A. Enzymes of glycerolipid synthesis in eukaryotes. *Annu.Rev.Biochem*. 49():459-487(1980).

BENLOT C. et BLANCHOIN N. Les Corps Cétoniques . 2007.

BENLOT C., BLANCHOIN N. et DENOULET P. Le Métabolisme. Réaction de rupture/Synthèse de squelette carboné.. 2007.

BERNLHOR D.A., RIBARIK-COE N. et LICATA V.J. Fatty acid trafficking in the adipocyte. *Cell & Development Biology*. 10():43-49(1999).

BIRNBAUM M.J. Identification of a novel gene encoding an insulin-responsive glucose transporter protein. *Cell*. 57(2):305-315(1989).

BODEN G. Free fatty acids (FFA), a link between obesity and insulin resistance. *Front.Biosci*. 3():d169-75(1998).

BONEN A., TANDON N.N., GLATZ J.F., LUIKEN J.J. et HEIGENHAUSER G.J. The fatty acid transporter FAT/CD36 is upregulated in subcutaneous and visceral adipose tissues in human and obesity and type 2 diabetes. *Int. J. Obes. (Lond)*. 30(6):877-883(2006)

BORENSZTAJN J., RONE M.S. et KOTLAR T.J. The inhibition in vivo of lipoprotein lipase (clearing-factor lipase) activity by triton WR-1339. *Biochem.J*. 156(3):539-543(1976).

BRANDT J.M., DJOUADI F. et KELLY D.P. Fatty acids activate transcription of the muscle carnitine palmitoyltransferase I gene in cardiac myocytes via the peroxisome proliferator-activated receptor alpha. *J.Biol.Chem*. 273(37):23786-23792(1998).

BROWN M.A., MYEARS D.W. et BERGMANN S.R. Validity of estimates of myocardial oxidative metabolism with carbon-11 acetate and positron emission tomography despite altered patterns of substrate utilization. *J.Nucl.Med*. 30(2):187-193(1989).

BROWN N.F., WEIS B.C., HUSTI J.E., FOSTER D.W. et MCGARRY J.D. Mitochondrial carnitine palmitoyltransferase I isoform switching in the developing rat heart. *J.Biol.Chem*. 270(15):8952-8957(1995).

BUCK A., WOLPERS H.G., HUTCHINS G.D, et al. Effect of Carbon-11-acetate recirculation on estimates of myocardial oxygen consumption by PET. *J. Nucl. Med.* 32(10):1950-57(1991).

BURCELIN R., KANDE J., RICQUIER D. et GIRARD J. Changes in uncoupling protein and GLUT4 glucose transporter expressions in interscapular brown adipose tissue of diabetic rats: relative roles of hyperglycaemia and hypoinsulinaemia. *Biochem.J.* 291(Pt 1):109-113(1993).

CALLES-ESCANDON J., MIRZA S.A., SOBEL B.E. et SCHNEIDER D.J. Induction of hyperinsulinemia combined with hyperglycemia and hypertriglyceridemia increases plasminogen activator inhibitor 1 in blood in normal human subjects. *Diabetes.* 47(2):290-293(1998).

CAO H., MAEDA K., GORGUN C.Z., KIM H.J., PARK S.Y., SHULMAN G.I. et al. Regulation of metabolic responses by adipocyte/macrophage Fatty Acid-binding proteins in leptin-deficient mice. *Diabetes* 55(7):1915-1922(2006).

CARLEY A.N. et SEVERSON D.L. Fatty acid metabolism is enhanced in type 2 diabetic hearts. *Biochim.Biophys.Acta.* 1734(2):112-126(2005).

CARPENTIER A.C. Postprandial fatty acid metabolism in the development of lipotoxicity and type 2 diabetes. *Diabetes & Metabolism.* In Review

CARTAILLER J.P. How insulin works.. 2007.

CASES S., SMITH S.J., ZHENG Y.W., et al. Identification of a gene encoding an acyl CoA:diacylglycerol acyltransferase, a key enzyme in triacylglycerol synthesis. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 95(22):13018-13023(1998).

CELENTANO A., VACCARO O., TAMMARO P., et al. Early abnormalities of cardiac function in non-insulin-dependent diabetes mellitus and impaired glucose tolerance. *Am.J.Cardiol.* 76(16):1173-1176(1995).

CHARRON M.J., BROSIUS F.C.,3RD, ALPER S.L. et LODISH H.F. A glucose transport protein expressed predominately in insulin-responsive tissues. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 86(8):2535-2539(1989).

CHEN S.H., HABIB G., YANG C.Y., et al. Apolipoprotein B-48 is the product of a messenger RNA with an organ-specific in-frame stop codon. *Science.* 238(4825):363-366(1987).

CHENG L., DING G., QIN Q., et al. Cardiomyocyte-restricted peroxisome proliferator-activated receptor-delta deletion perturbs myocardial fatty acid oxidation and leads to cardiomyopathy. *Nat.Med.* 10(11):1245-1250(2004).

CHIEN D., DEAN D., SAHA A.K., FLATT J.P. et RUDERMAN N.B. Malonyl-CoA content and fatty acid oxidation in rat muscle and liver in vivo. *Am.J.Physiol.Endocrinol.Metab.* 279(2):E259-65(2000).

CHONG E.W., SINCLAIR A.J. et GUYMER R.H. Facts on fats. *Clin.Experiment.Ophthalmol.* 34(5):464-471(2006).

COPPACK S.W., YOST T.J., FISHER R.M., ECKEL R.H. et MILES J.M. Periprandial systemic and regional lipase activity in normal humans. *Am.J.Physiol.* 270(4 Pt 1):E718-22(1996).

COPPACK S.W., JENSEN M.D. et MILES J.M. In vivo regulation of lipolysis in humans. *J.Lipid Res.* 35(2):177-193(1994).

COPPACK S.W., EVANS R.D., FISHER R.M., et al. Adipose tissue metabolism in obesity: lipase action in vivo before and after a mixed meal. *Metabolism.* 41(3):264-272(1992).

CROTEAU E., BENARD F., BENTOURKIA M., et al. Quantitative myocardial perfusion and coronary reserve in rats with ¹³N-ammonia and small animal PET: Impact of anesthesia and pharmacological stress agents. *J. Nucl. Med.* 45(11):1924-30(2004).

DAVDA R.K., STEPNIAKOWSKI K.T., LU G., ULLIAN M.E., GOODFRIEND T.L. et EGAN B.M. Oleic acid inhibits endothelial nitric oxide synthase by a protein kinase C-independent mechanism. *Hypertension.* 26(5):764-770(1995).

DE KREUTZENBERG S.V., CREPALDI C., MARCHETTO S., et al. Plasma free fatty acids and endothelium-dependent vasodilation: effect of chain-length and cyclooxygenase inhibition. *J.Clin.Endocrinol.Metab.* 85(2):793-798(2000).

DE LORGERIL M., SALEN P., BONTEMPS L., BELICHARD P., GEYSSANT A. et ITTI R. Effects of lipid-lowering drugs on left ventricular function and exercise

tolerance in dyslipidemic coronary patients. *J.Cardiovasc.Pharmacol.* 33(3):473-478(1999).

DE MAN F.H., WEVERLING-RIJNSBURGER A.W., VAN DER LAARSE A., SMELT A.H., JUKEMA J.W. et BLAUW G.J. Not acute but chronic hypertriglyceridemia is associated with impaired endothelium-dependent vasodilation: reversal after lipid-lowering therapy by atorvastatin. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 20(3):744-750(2000).

DI FILIPPO C., MARFELLA R., CUZZOCREA S., et al. Hyperglycemia in streptozotocin-induced diabetic rat increases infarct size associated with low levels of myocardial HO-1 during ischemia/reperfusion. *Diabetes.* 54(3):803-810(2005).

DICHTL W., NILSSON L., GONCALVES I., et al. Very low-density lipoprotein activates nuclear factor-kappaB in endothelial cells. *Circ.Res.* 84(9):1085-1094(1999).

DIRAISON F., YANKAH V., LETEXIER D., DUSSEYRE E., JONES P. et BEYLOT M. Differences in the regulation of adipose tissue and liver lipogenesis by carbohydrates in humans. *J.Lipid Res.* 44(4):846-853(2003).

DIRAISON F. et BEYLOT M. Role of human liver lipogenesis and reesterification in triglycerides secretion and in FFA reesterification. *Am.J.Physiol.* 274(2 Pt 1):E321-7(1998).

DOBBINS R.L., SZCZEPANIAK L.S., BENTLEY B., ESSER V., MYHILL J. et MCGARRY J.D. Prolonged inhibition of muscle carnitine palmitoyltransferase-1

promotes intramyocellular lipid accumulation and insulin resistance in rats. *Diabetes*. 50(1):123-130(2001).

DOI H., KUGIYAMA K., OHGUSHI M., et al. Remnants of chylomicron and very low density lipoprotein impair endothelium-dependent vasorelaxation. *Atherosclerosis*. 137(2):341-349(1998).

DRIES D.L., SWEITZER N.K., DRAZNER M.H., STEVENSON L.W. et GERSH B.J. Prognostic impact of diabetes mellitus in patients with heart failure according to the etiology of left ventricular systolic dysfunction. *J.Am.Coll.Cardiol.* 38(2):421-428(2001).

DRYNAN L., QUANT P.A. et ZAMMIT V.A. The role of changes in the sensitivity of hepatic mitochondrial overt carnitine palmitoyltransferase in determining the onset of the ketosis of starvation in the rat. *Biochem. J.* 318:767-770(1996).

DUPUIS J., TARDIF J.C., CERNACEK P. et THEROUX P. Cholesterol reduction rapidly improves endothelial function after acute coronary syndromes. The RECIFE (reduction of cholesterol in ischemia and function of the endothelium) trial. *Circulation*. 99(25):3227-3233(1999).

DYCK J.R., CHENG J.F., STANLEY W.C., et al. Malonyl coenzyme a decarboxylase inhibition protects the ischemic heart by inhibiting fatty acid oxidation and stimulating glucose oxidation. *Circ.Res.* 94(9):e78-84(2004).

EATON S. Control of mitochondrial beta-oxidation flux. *Prog.Lipid Res.* 41(3):197-239(2002).

EATON S., BARTLETT K. et POURFARZAM M. Intermediates of myocardial mitochondrial beta-oxidation: possible channelling of NADH and of CoA esters. *Biochim.Biophys.Acta.* 1437(3):402-408(1999).

ECKEL R.H., JENSEN D.R., SCHLAEPFER I.R. et YOST T.J. Tissue-specific regulation of lipoprotein lipase by isoproterenol in normal-weight humans. *Am.J.Physiol.* 271(5 Pt 2):R1280-6(1996).

EGAN B.M., LU G. et GREENE E.L. Vascular effects of non-esterified fatty acids: implications for the cardiovascular risk factor cluster. *Prostaglandins Leukot.Essent.Fatty Acids.* 60(5-6):411-420(1999).

ESENABHALU V.E., CERIMAGIC M., MALLI R., et al. Tissue-specific expression of human lipoprotein lipase in the vascular system affects vascular reactivity in transgenic mice. *Br.J.Pharmacol.* 135(1):143-154(2002).

EVANS M., ANDERSON R.A., GRAHAM J., et al. Ciprofibrate therapy improves endothelial function and reduces postprandial lipemia and oxidative stress in type 2 diabetes mellitus. *Circulation.* 101(15):1773-1779(2000).

EXTON J.H., MALLETT L.E., JEFFERSON L.S., et al. The hormonal control of hepatic gluconeogenesis. *Recent Prog.Horm.Res.* 26():411-461(1970).

EXTON J.H. et PARK C.R. Control of gluconeogenesis in liver. I. General features of gluconeogenesis in the perfused livers of rats. *J.Biol.Chem.* 242(11):2622-2636(1967).

FAIX D., NEESE R., KLETKE C., et al. Quantification of menstrual and diurnal periodicities in rates of cholesterol and fat synthesis in humans. *J.Lipid Res.* 34(12):2063-2075(1993).

FANNIN S.W., LESNEFSKY E.J., SLABE T.J., HASSAN M.O. et HOPPEL C.L. Aging selectively decreases oxidative capacity in rat heart interfibrillar mitochondria. *Arch. Biochem. Biophys.* 372:399-407(1999).

FARESE R.V.,JR, YOST T.J. et ECKEL R.H. Tissue-specific regulation of lipoprotein lipase activity by insulin/glucose in normal-weight humans. *Metabolism.* 40(2):214-216(1991).

FELIG P. et WAHREN J. Fuel homeostasis in exercise. *N.Engl.J.Med.* 293(21):1078-1084(1975).

FIELDING B.A. et FRAYN K.N. Lipoprotein lipase and the disposition of dietary fatty acids. *Br.J.Nutr.* 80(6):495-502(1998).

FINCK B.N. et KELLY D.P. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPARalpha) signaling in the gene regulatory control of energy metabolism in the normal and diseased heart. *J.Mol.Cell.Cardiol.* 34(10):1249-1257(2002).

FORCHERON F., CACHEFO A., THEVENON S., PINTEUR C. et BEYLOT M. Mechanisms of the triglyceride- and cholesterol-lowering effect of fenofibrate in hyperlipidemic type 2 diabetic patients. *Diabetes*. 51(12):3486-3491(2002).

FRANCIS G.A., ANNICOTTE J.S. et AUWERX J. PPAR-alpha effects on the heart and other vascular tissues. *Am.J.Physiol.Heart Circ.Physiol*. 285(1):H1-9(2003).

FRAYN K.N., HUMPHREYS S.M. et COPPACK S.W. Net carbon flux across subcutaneous adipose tissue after a standard meal in normal-weight and insulin-resistant obese subjects. *Int.J.Obes.Relat.Metab.Disord*. 20(9):795-800(1996).

FRAYN K.N., SHADID S., HAMLANI R., et al. Regulation of fatty acid movement in human adipose tissue in the postabsorptive-to-postprandial transition. *Am.J.Physiol*. 266(3 Pt 1):E308-17(1994).

FUKUMOTO H., KAYANO T., BUSE J.B., et al. Cloning and characterization of the major insulin-responsive glucose transporter expressed in human skeletal muscle and other insulin-responsive tissues. *J.Biol.Chem*. 264(14):7776-7779(1989).

FUKUMOTO H., SEINO S., IMURA H., et al. Sequence, tissue distribution, and chromosomal localization of mRNA encoding a human glucose transporter-like protein. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A*. 85(15):5434-5438(1988).

GAMBLE J. et LOPASCHUK G.D. Insulin inhibition of 5' adenosine monophosphate-activated protein kinase in the heart results in activation of acetyl coenzyme A carboxylase and inhibition of fatty acid oxidation. *Metabolism*. 46(11):1270-1274(1997).

GARRISON J.C. et HAYNES R.C.,JR. Hormonal control of glycogenolysis and gluconeogenesis in isolated rat liver cells. *J.Biol.Chem.* 248(15):5333-5343(1973).

GILDE A.J., VAN DER LEE K.A., WILLEMSSEN P.H., et al. Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) alpha and PPARbeta/delta, but not PPARgamma, modulate the expression of genes involved in cardiac lipid metabolism. *Circ.Res.* 92(5):518-524(2003).

GINSBERG H.N., ZHANG Y.L. et HERNANDEZ-ONO A. Regulation of plasma triglycerides in insulin resistance and diabetes. [Review] [53 refs]. *Arch.Med.Res.* 36(3):232-240(2005).

GOODPASTER B.H., THAETE F.L., SIMONEAU J.A. et KELLEY D.E. Subcutaneous abdominal fat and thigh muscle composition predict insulin sensitivity independently of visceral fat. *Diabetes.* 46(10):1579-1585(1997).

GOODWIN G.W., AHMAD F. et TAEGTMEYER H. Preferential oxidation of glycogen in isolated working rat heart. *J Clin. Invest.* 97(6):1409-1416(1996).

GRIEVE D.J., AVELLA M.A., ELLIOTT J. et BOTHAM K.M. The influence of chylomicron remnants on endothelial cell function in the isolated perfused rat aorta. *Atherosclerosis.* 139(2):273-281(1998).

GRYNBERG A. Modifications in myocardial energy metabolism in diabetic patients]. *Diabetes Metab.* 27(5 Pt 2):S12-9(2001).

GUILLET-DENIAU I., PICHARD, A.-L., KONE A., ESNOUS C., NIERUCHALSKY M., GIRARD J. et PRIP-BUUS C. Glucose induces de novo lipogenesis in rat muscle satellite cells through a sterol-regulatory-element-binding-protein-1c-dependent pathway. *J. Cell Sc.* 117:1937-1944(2004).

GU K., COWIE C.C. et HARRIS M.I. Mortality in adults with and without diabetes in a national cohort of the U.S. population, 1971-1993. *Diabetes Care.* 21(7):1138-1145(1998).

HADVARY P., SIDLER W., MEISTER W., VETTER W. et WOLFER H. The lipase inhibitor tetrahydrolipstatin binds covalently to the putative active site serine of pancreatic lipase. *J.Biol.Chem.* 266(4):2021-2027(1991).

HAFFNER S.M., LEHTO S., RONNEMAA T., PYORALA K. et LAAKSO M. Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without prior myocardial infarction. *N.Engl.J.Med.* 339(4):229-234(1998).

HAHN P.F. Abolishment of alimentary lipemia following injection of heparin. *Science.* 98():19-20(1943).

HAUTON D., BENNETT M.J. et EVANS R.D. Utilisation of triacylglycerol and non-esterified fatty acid by the working rat heart: myocardial lipid substrate preference. *Biochim.Biophys.Acta.* 1533(2):99-109(2001).

HELLERSTEIN M.K., CHRISTIANSEN M., KAEMPFER S., et al. Measurement of de novo hepatic lipogenesis in humans using stable isotopes. *J.Clin.Invest.* 87(5):1841-1852(1991).

HEMS D.A. et WHITTON P.D. Stimulation by vasopressin of glycogen breakdown and gluconeogenesis in the perfused rat liver. *Biochem.J.* 136(3):705-709(1973).

HENNIG B., MEERARANI P., RAMADASS P., WATKINS B.A. et TOBOREK M. Fatty acid-mediated activation of vascular endothelial cells. *Metabolism.* 49(8):1006-1013(2000).

HERS H.G. et HUE L. Gluconeogenesis and related aspects of glycolysis. *Annu.Rev.Biochem.* 52():617-653(1983).

HOPPELER H., BILLETER R., HORVATH P.J., LEDDY J.J. et PENDERGAST D.R. Muscle structure with low- and high-fat diets in well-trained male runners. *Int.J.Sports Med.* 20(8):522-526(1999).

HUANG B.W., CHIANG M.T., YAO H.T. et CHIANG W. The effect of high-fat and high-fructose diets on glucose tolerance and plasma lipid and leptin levels in rats. *Diabetes Obes.Metab.* 6(2):120-126(2004).

HUGGINS G.S., PASTERNAK R.C., ALPERT N.M., FISCHMAN A.J. et GEWIRTZ H. Effects of short-term treatment of hyperlipidemia on coronary vasodilator function and myocardial perfusion in regions having substantial impairment of baseline dilator reserve. *Circulation.* 98(13):1291-1296(1998).

HUSS J.M. et KELLY D.P. Nuclear receptor signaling and cardiac energetics. *Circ.Res.* 95(6):568-578(2004).

ILLINGWORTH D.R. Lipoprotein metabolism. *Am.J.Kidney Dis.* 22(1):90-97(1993).

ISOLA L.M., ZHOU S.L., KIANG C.L., STUMP D.D., BRADBURY M.W. et BERK P.D. 3T3 fibroblasts transfected with a cDNA for mitochondrial aspartate aminotransferase express plasma membrane fatty acid-binding protein and saturable fatty acid uptake. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 92(21):9866-9870(1995).

ISOMAA B., HENRICSSON M., ALMGREN P., TUOMI T., TASKINEN M.R. et GROOP L. The metabolic syndrome influences the risk of chronic complications in patients with type II diabetes. *Diabetologia.* 44(9):1148-1154(2001).

JAMES D.E., STRUBE M. et MUECKLER M. Molecular cloning and characterization of an insulin-regulatable glucose transporter. *Nature.* 338(6210):83-87(1989).

JOHNSON M.E., DAS N.M., BUTCHER F.R. et FAIN J.N. The regulation of gluconeogenesis in isolated rat liver cells by glucagon, insulin, dibutyryl cyclic adenosine monophosphate, and fatty acids. *J.Biol.Chem.* 247(10):3229-3235(1972).

KAMATAKI A., TAKAHASHI S., MASAMURA K., et al. Remnant lipoprotein particles are taken up into myocardium through VLDL receptor--a possible

mechanism for cardiac fatty acid metabolism. *Biochem.Biophys.Res.Commun.* 293(3):1007-1013(2002).

KANTOR P.F., LUCIEN A., KOZAK R. et LOPASCHUK G.D. The antianginal drug trimetazidine shifts cardiac energy metabolism from fatty acid oxidation to glucose oxidation by inhibiting mitochondrial long-chain 3-ketoacyl coenzyme A thiolase. *Circ.Res.* 86(5):580-588(2000).

KELLEY D.E. et GOODPASTER B.H. Skeletal muscle triglyceride. An aspect of regional adiposity and insulin resistance. *Diabetes Care.* 24(5):933-941(2001).

KELLEY D.E., GOODPASTER B., WING R.R. et SIMONEAU J.A. Skeletal muscle fatty acid metabolism in association with insulin resistance, obesity, and weight loss. *Am.J.Physiol.* 277(6 Pt 1):E1130-41(1999).

KENNEDY E.P. et LEHNINGER A.L. The products of oxidation of fatty acids by isolated rat liver mitochondria. *J.Biol.Chem.* 185(1):275-285(1950).

KIM J.Y., HICKNER R.C., CORTRIGHT R.L., DOHM G.L. et HOUMARD J.A. Lipid oxidation is reduced in obese human skeletal muscle. *Am.J.Physiol.Endocrinol.Metab.* 279(5):E1039-44(2000).

KIM K.H., LOPEZ-CASILLAS F., BAI D.H., LUO X. et PAPE M.E. Role of reversible phosphorylation of acetyl-CoA carboxylase in long-chain fatty acid synthesis. *FASEB J.* 3(11):2250-2256(1989).

KIMBALL C. et MURLIN C. Aqueous extracts of pancreas III. Some precipitation reactions of insulin. *J. Biol. Chem.* 58():337-348(1923).

KING M.W. Glycolysis.. 2007(a).

KOHN M.C. et GARFINKEL D. Computer simulation of metabolism in palmitate-perfused rat heart. I. Palmitate oxidation. *Ann.Biomed.Eng.* 11(5):361-384(1983).

KORN E.D. et QUIGLEY T.W.,JR. Lipoprotein lipase of chicken adipose tissue. *J.Biol.Chem.* 226(2):833-839(1957).

KORN E.D. Clearing factor, a heparin-activated lipoprotein lipase. I. Isolation and characterization of the enzyme from normal rat heart. *J.Biol.Chem.* 215(1):1-14(1955).

KRSSAK M., PETERSEN K.F., BERGERON R., et al. Intramuscular glycogen and intramyocellular lipid utilization during prolonged exercise and recovery in man: a ¹³C and ¹H nuclear magnetic resonance spectroscopy study. *J.Clin.Endocrinol.Metab.* 85(2):748-754(2000).

KULLER L.H., VELENTGAS P., BARZILAY J., BEAUCHAMP N.J., O'LEARY D.H. et SAVAGE P.J. Diabetes mellitus: subclinical cardiovascular disease and risk of incident cardiovascular disease and all-cause mortality. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 20(3):823-829(2000).

LANGIN D., HOLM C. et LAFONTAN M. Adipocyte hormone-sensitive lipase: a major regulator of lipid metabolism. *Proc.Nutr.Soc.* 55(1B):93-109(1996).

LARGE V., PERONI O., LETEXIER D., RAY H. et BEYLOT M. Metabolism of lipids in human white adipocyte. *Diabetes Metab.* 30(4):294-309(2004).

LAWS A., HOEN H.M., SELBY J.V., SAAD M.F., HAFFNER S.M. et HOWARD B.V. Differences in insulin suppression of free fatty acid levels by gender and glucose tolerance status. Relation to plasma triglyceride and apolipoprotein B concentrations. Insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS) Investigators. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 17(1):64-71(1997).

LETEXIER D., PINTEUR C., LARGE V., FRERING V. et BEYLOT M. Comparison of the expression and activity of the lipogenic pathway in human and rat adipose tissue. *J.Lipid Res.* 44(11):2127-2134(2003).

LEUNG D.W. The structure and functions of human lysophosphatidic acid acyltransferases. *Front.Biosci.* 6():D944-53(2001).

LEVAK-FRANK S., HOFMANN W., WEINSTOCK P.H., et al. Induced mutant mouse lines that express lipoprotein lipase in cardiac muscle, but not in skeletal muscle and adipose tissue, have normal plasma triglyceride and high-density lipoprotein-cholesterol levels. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 96(6):3165-3170(1999).

LEVAK-FRANK S., RADNER H., WALSH A., et al. Muscle-specific overexpression of lipoprotein lipase causes a severe myopathy characterized by proliferation of mitochondria and peroxisomes in transgenic mice. *J.Clin.Invest.* 96(2):976-986(1995).

LEWIS G.F., CARPENTIER A., ADELI K. et GIACCA A. Disordered fat storage and mobilization in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes. *Endocr.Rev.* 23(2):201-229(2002).

LIEDTKE A.J., NELLIS S.H. et MJOS O.D. Effects of reducing fatty acid metabolism on mechanical function in regionally ischemic hearts. *Am.J.Physiol.* 247(3 Pt 2):H387-94(1984).

LITHELL H., BOBERG J., HELLSING K., LUNDQVIST G. et VESSBY B. Lipoprotein-lipase activity in human skeletal muscle and adipose tissue in the fasting and the fed states. *Atherosclerosis.* 30(1):89-94(1978).

LITWIN S.E., RAYA T.E., GAY R.G., et al. Chronic inhibition of fatty acid oxidation: new model of diastolic dysfunction. *Am.J.Physiol.* 258(1 Pt 2):H51-6(1990).

LOICHOT C., JESEL L., TESSE A., et al. Deletion of peroxisome proliferator-activated receptor-alpha induces an alteration of cardiac functions. *Am.J.Physiol.Heart Circ.Physiol.* 291(1):H161-6(2006).

LOOKENE A., SKOTTOVA N. et OLIVECRONA G. Interactions of lipoprotein lipase with the active-site inhibitor tetrahydrolipstatin (Orlistat)^R. *Eur.J.Biochem.* 222():395-403(1994).

LOPASCHUK G.D. Treating ischemic heart disease by pharmacologically improving cardiac energy metabolism. *Presse Med.* 27(39):2100-2104(1998).

LOPASCHUK G.D. Abnormal mechanical function in diabetes: relationship to altered myocardial carbohydrate/lipid metabolism. *Coron.Artery Dis.* 7(2):116-123(1996).

LOPASCHUK G.D., BELKE D.D., GAMBLE J., ITOI T. et SCHONEKESS B.O. Regulation of fatty acid oxidation in the mammalian heart in health and disease. *Biochim.Biophys.Acta.* 1213(3):263-276(1994).

LOWELL B.B. et SHULMAN G.I. Mitochondrial dysfunction and type 2 diabetes. *Science.* 307(5708):384-387(2005).

LUPTAK I., BALSCHI J.A., XING Y., LEONE T.C., KELLY D.P. et TIAN R. Decreased contractile and metabolic reserve in peroxisome proliferator-activated receptor-alpha-null hearts can be rescued by increasing glucose transport and utilization. *Circulation.* 112(15):2339-2346(2005).

MALMBERG K., YUSUF S., GERSTEIN H.C., et al. Impact of diabetes on long-term prognosis in patients with unstable angina and non-Q-wave myocardial infarction: results of the OASIS (Organization to Assess Strategies for Ischemic Syndromes) Registry. *Circulation.* 102(9):1014-1019(2000).

MALMBERG K., NORHAMMAR A., WEDEL H. et RYDEN L. Glycometabolic state at admission: important risk marker of mortality in conventionally treated patients with diabetes mellitus and acute myocardial infarction: long-term results from the Diabetes and Insulin-Glucose Infusion in Acute Myocardial Infarction (DIGAMI) study. *Circulation.* 99(20):2626-2632(1999).

MALMBERG K., RYDEN L., EFENDIC S., et al. Randomized trial of insulin-glucose infusion followed by subcutaneous insulin treatment in diabetic patients with acute myocardial infarction (DIGAMI study): effects on mortality at 1 year. *J.Am.Coll.Cardiol.* 26(1):57-65(1995).

MARDY K., BELKE D.D. et SEVERSON D.L. Chylomicron metabolism by the isolated perfused mouse heart. *Am.J.Physiol.Endocrinol.Metab.* 281(2):E357-64(2001).

MCGARRY J.D. et BROWN N.F. The mitochondrial carnitine palmitoyltransferase system. From concept to molecular analysis. *Eur.J.Biochem.* 244(1):1-14(1997).

MEAD J.R., IRVINE S.A. et RAMJI D.P. Lipoprotein lipase: structure, function, regulation, and role in disease. *J.Mol.Med.* 80(12):753-769(2002).

MILLAR J.S., CROMLEY D.A., MCCOY M.G., RADER D.J. et BILLHEIMER J.T. Determining hepatic triglyceride production in mice: comparison of poloxamer 407 with Triton WR-1339. *J.Lipid Res.* 46(9):2023-2028(2005).

MOSTERD A., COST B., HOES A.W., et al. The prognosis of heart failure in the general population: The Rotterdam Study. *Eur.Heart J.* 22(15):1318-1327(2001).

NEENO-ECKWALL E. Gluconeogenesis. 2007.

NEITZEL A.S., CARLEY A.N. et SEVERSON D.L. Chylomicron and palmitate metabolism by perfused hearts from diabetic mice. *Am.J.Physiol.Endocrinol.Metab.* 284(2):E357-65(2003).

NELSON D.L. and COX M.M. *Principles of Biochemistry*. (2000).

NELSON R.H., PRASAD A., LERMAN A. et MILES J.M. Myocardial uptake of circulating triglycerides in nondiabetic patients with heart disease. *Diabetes*. 56(2):527-530(2007).

NIU Y.G., HAUTON D. et EVANS R.D. Utilization of triacylglycerol-rich lipoproteins by the working rat heart: routes of uptake and metabolic fates. *J.Physiol*. 558(Pt 1):225-237(2004).

NOH H.L., OKAJIMA K., MOLKENTIN J.D., HOMMA S. et GOLDBERG I.J. Acute lipoprotein lipase deletion in adult mice leads to dyslipidemia and cardiac dysfunction. *Am.J.Physiol.Endocrinol.Metab*. 291(4):E755-60(2006a).

NOH H.L., YAMASHITA H. et GOLDBERG I.J. Cardiac metabolism and mechanics are altered by genetic loss of lipoprotein triglyceride lipolysis. *Cardiovasc.Drugs Ther*. 20(6):441-444(2006b).

NUTRISAL. Lipoprotein Metabolism. . 2007.

NUUTILA P., KOIVISTO V.A., KNUUTI J., et al. Glucose-free fatty acid cycle operates in human heart and skeletal muscle in vivo. *J.Clin.Invest*. 89(6):1767-1774(1992).

O'BRIEN K.D., FERGUSON M., GORDON D., DEEB S.S. et CHAIT A. Lipoprotein lipase is produced by cardiac myocytes rather than interstitial cells in human myocardium. *Arterioscler.Thromb*. 14(9):1445-1451(1994).

- OPIE L.H. The heart. Physiology and metabolism. (1991).
- OTWAY S. et ROBINSON D.S. The use of a non-ionic detergent (Triton WR 1339) to determine rates of triglyceride entry into the circulation of the rat under different physiological conditions. *J.Physiol.* 190(2):321-332(1967).
- PALMERJ.W., TANDLER B. et HOPPEL C.L. Biochemical properties of subsarcolemmal and interfibrillar mitochondria isolated from rat cardiac muscle. *J. Biol. Chem.* 252:8731-8739(1977).
- PAN D.A., LILLIOJA S., KRIKETOS A.D., et al. Skeletal muscle triglyceride levels are inversely related to insulin action. *Diabetes.* 46(6):983-988(1997).
- PATLAK C.S., BLASBERG R.G. et FENSTERMACHER J.D. Graphical evaluation of blood-to-brain transfer constants from multiple-time uptake data. *J.Cereb.Blood Flow Metab.* 3(1):1-7(1983).
- PEPINE C.J. et WOLFF A.A. A controlled trial with a novel anti-ischemic agent, ranolazine, in chronic stable angina pectoris that is responsive to conventional antianginal agents. Ranolazine Study Group. *Am.J.Cardiol.* 84(1):46-50(1999).
- PHILLIPS D.I., CADDY S., ILIC V., et al. Intramuscular triglyceride and muscle insulin sensitivity: evidence for a relationship in nondiabetic subjects. *Metabolism.* 45(8):947-950(1996).

PILLUTLA P., HWANG Y.C., AUGUSTUS A., et al. Perfusion of hearts with triglyceride-rich particles reproduces the metabolic abnormalities in lipotoxic cardiomyopathy. *Am.J.Physiol.Endocrinol.Metab.* 288(6):E1229-35(2005).

POSTIC C., BURCELIN R., RENCUREL F., et al. Evidence for a transient inhibitory effect of insulin on GLUT2 expression in the liver: studies in vivo and in vitro. *Biochem.J.* 293 (Pt 1)(Pt 1):119-124(1993).

PRINZEN F.W., VAN DER VUSSE G.J., COUMANS W.A., KRUGER R., VERLAAN C.W. et RENEMAN R.S. The effect of elevated arterial free fatty acid concentrations on hemodynamics and myocardial metabolism and blood flow during ischemia. *Basic Res.Cardiol.* 76(2):197-210(1981).

PULINILKUNNIL T. et RODRIGUES B. Cardiac lipoprotein lipase: metabolic basis for diabetic heart disease. *Cardiovasc.Res.* 69(2):329-340(2006).

PULINILKUNNIL T., ABRAHANI A., VARGHESE J., et al. Evidence for rapid "metabolic switching" through lipoprotein lipase occupation of endothelial-binding sites. *J.Mol.Cell.Cardiol.* 35(9):1093-1103(2003a).

PULINILKUNNIL T., QI D., GHOSH S., et al. Circulating triglyceride lipolysis facilitates lipoprotein lipase translocation from cardiomyocyte to myocardial endothelial lining. *Cardiovasc.Res.* 59(3):788-797(2003b).

QI D., PULINILKUNNIL T., AN D., et al. Single-dose dexamethasone induces whole-body insulin resistance and alters both cardiac fatty acid and carbohydrate metabolism. *Diabetes.* 53(7):1790-1797(2004).

QUANT P.A. The role of mitochondrial HMG-CoA synthase in regulation of ketogenesis. *Essays Biochem.* 28():13-25(1994).

RAMSAY R.R. et ARDUINI A. The carnitine acyltransferases and their role in modulating acyl-CoA pools. *Arch.Biochem.Biophys.* 302(2):307-314(1993).

REED M.J., MESZAROS K., ENTES L.J., et al. A new rat model of type 2 diabetes: the fat-fed, streptozotocin-treated rat. *Metabolism.* 49(11):1390-1394(2000).

RESH M.D. Fatty acylation of proteins: new insights into membrane targeting of myristoylated and palmitoylated proteins. *Biochim.Biophys.Acta.* 1451(1):1-16(1999).

RESHEF L., OLSWANG Y., CASSUTO H., et al. Glyceroneogenesis and the triglyceride/fatty acid cycle. *J.Biol.Chem.* 278(33):30413-30416(2003).

RIBEIRO R.T., LAUTT W.W., LEGARE D.J. et MACEDO M.P. Insulin resistance induced by sucrose feeding in rats is due to an impairment of the hepatic parasympathetic nerves. *Diabetologia.* 48(5):976-983(2005).

RICART-JANE D., CEJUDO-MARTIN P., PEINADO-ONSURBE J., LOPEZ-TEJERO M.D. et LLOBERA M. Changes in lipoprotein lipase modulate tissue energy supply during stress. *J.Appl.Physiol.* 99(4):1343-1351(2005).

RIM S.J., LEONG-POI H., LINDNER J.R., WEI K., FISHER N.G. et KAUL S. Decrease in coronary blood flow reserve during hyperlipidemia is secondary to an increase in blood viscosity. *Circulation.* 104(22):2704-2709(2001).

RITOV V.B., MENSHIKOVA E.V., HE J., FERRELL R.E., GOODPASTER B.H. et KELLEY D.E. Deficiency of subsarcolemmal mitochondria in obesity and type 2 diabetes. *Diabetes*. 54(1):8-14(2005).

ROBINSON A.M. et WILLIAMSON D.H. Physiological roles of ketone bodies as substrates and signals in mammalian tissues. *Physiol.Rev.* 60(1):143-187(1980).

RODRIGUES B., CAM M.C., JIAN K., LIM F., SAMBANDAM N. et SHEPHERD G. Differential effects of streptozotocin-induced diabetes on cardiac lipoprotein lipase activity. *Diabetes*. 46(8):1346-1353(1997).

RODRIGUES B., CAM M.C. et MCNEILL J.H. Myocardial substrate metabolism: implications for diabetic cardiomyopathy. *J.Mol.Cell.Cardiol.* 27(1):169-179(1995).

ROSS B.D., HEMS R. et KREBS H.A. The rate of gluconeogenesis from various precursors in the perfused rat liver. *Biochem.J.* 102(3):942-951(1967).

RUGE T., WU G., OLIVECRONA T. et OLIVECRONA G. Nutritional regulation of lipoprotein lipase in mice. *Int.J.Biochem.Cell Biol.* 36(2):320-329(2004).

RUSSELL A.P. Lipotoxicity: the obese and endurance-trained paradox. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* 28(S4):S66-71(2004).

SADDIK M., GAMBLE J., WITTERS L.A. et LOPASCHUK G.D. Acetyl-CoA carboxylase regulation of fatty acid oxidation in the heart. *J.Biol.Chem.* 268(34):25836-25845(1993).

SADUR C.N., YOST T.J. et ECKEL R.H. Insulin responsiveness of adipose tissue lipoprotein lipase is delayed but preserved in obesity. *J.Clin.Endocrinol.Metab.* 59(6):1176-1182(1984).

SAKAMOTO J., BARR R.L., KAVANAGH K.M. et LOPASCHUK G.D. Contribution of malonyl-CoA decarboxylase to the high fatty acid oxidation rates seen in the diabetic heart. *Am.J.Physiol.Heart Circ.Physiol.* 278(4):H1196-204(2000).

SALTIEL A.R. et KAHN C.R. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature.* 414(6865):799-806(2001).

SAMBANDAM N., ABRAHANI M.A., ST PIERRE E., AL-ATAR O., CAM M.C. et RODRIGUES B. Localization of lipoprotein lipase in the diabetic heart: regulation by acute changes in insulin. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 19(6):1526-1534(1999).

SCANU A. Serum high-density lipoprotein: effect of change in structure on activity of chicken adipose tissue lipase. *Science.* 153(736):640-641(1966).

SCHAFFER J.E. et LODISH H.F. Expression cloning and characterization of a novel adipocyte long chain fatty acid transport protein. *Cell.* 79(3):427-436(1994).

SCHWARTZ G.G., OLSSON A.G., EZEKOWITZ M.D., et al. Effects of atorvastatin on early recurrent ischemic events in acute coronary syndromes: the MIRACL study: a randomized controlled trial. *JAMA.* 285(13):1711-1718(2001).

SCIENCEBIO. Intégration de l'acétyl-CoA dans le cycle de Krebs. 2007.

SHRAGO E., GLENNON J.A. et GORDON E.S. Comparative aspects of lipogenesis in mammalian tissues. *Metabolism*. 20(1):54-62(1971).

SHRAGO E., SPENNETTA T. et GORDON E. Fatty acid synthesis in human adipose tissue. *J.Biol.Chem.* 244(10):2761-2766(1969).

SHULMAN G.I., ROTHMAN D.L., JUE T., STEIN P., DEFRONZO R.A. et SHULMAN R.G. Quantitation of muscle glycogen synthesis in normal subjects and subjects with non-insulin-dependent diabetes by ¹³C nuclear magnetic resonance spectroscopy. *N.Engl.J.Med.* 322(4):223-228(1990).

SIEGEL R.D., CUPPLES A., SCHAEFER E.J. et WILSON P.W. Lipoproteins, apolipoproteins, and low-density lipoprotein size among diabetics in the Framingham offspring study. *Metabolism*. 45(10):1267-1272(1996).

SIMONEAU J.A., VEERKAMP J.H., TURCOTTE L.P. et KELLEY D.E. Markers of capacity to utilize fatty acids in human skeletal muscle: relation to insulin resistance and obesity and effects of weight loss. *FASEB J.* 13(14):2051-2060(1999).

SOKOLOFF L., REIVICH M., KENNEDY C., et al. The [¹⁴C]deoxyglucose method for the measurement of local cerebral glucose utilization: theory, procedure, and normal values in the conscious and anesthetized albino rat. *J.Neurochem.* 28(5):897-916(1977).

STANLEY W.C., LOPASCHUK G.D. et MCCORMACK J.G. Regulation of energy substrate metabolism in the diabetic heart. *Cardiovasc.Res.* 34(1):25-33(1997).

STEINBERG H.O., PARADISI G., HOOK G., CROWDER K., CRONIN J. et BARON A.D. Free fatty acid elevation impairs insulin-mediated vasodilation and nitric oxide production. *Diabetes.* 49(7):1231-1238(2000).

STEPHENS J.M. et PILCH P.F. The metabolic regulation and vesicular transport of GLUT4, the major insulin-responsive glucose transporter. *Endocr.Rev.* 16(4):529-546(1995).

SWAN J.W., WALTON C., GODSLAND I.F., CLARK A.L., COATS A.J. et OLIVER M.F. Insulin resistance in chronic heart failure. *Eur.Heart J.* 15(11):1528-1532(1994a).

SWAN J.W., WALTON C., GODSLAND I.F., CROOK D., OLIVER M.F. et STEVENSON J.C. Insulin resistance syndrome as a feature of cardiometabolic syndrome X in non-obese men. *Br.Heart J.* 71(1):41-44(1994b).

SYVANNE M. et TASKINEN M.R. Lipids and lipoproteins as coronary risk factors in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Lancet.* 350 Suppl 1:SI20-3(1997).

TACKEN P.J., HOFKER M.H., HAVEKES L.M. et VAN DIJK K.W. Living up to a name: the role of the VLDL receptor in lipid metabolism. *Curr.Opin.Lipidol.* 12(3):275-279(2001).

TAGHIBIGLOU C., CARPENTIER A., VAN IDERSTINE S.C., et al. Mechanisms of hepatic very low density lipoprotein overproduction in insulin resistance. Evidence for enhanced lipoprotein assembly, reduced intracellular ApoB degradation, and increased microsomal triglyceride transfer protein in a fructose-fed hamster model. *J.Biol.Chem.* 275(12):8416-8425(2000).

TEUSINK B., VOSHOL P.J., DAHLMANS V.E., et al. Contribution of fatty acids released from lipolysis of plasma triglycerides to total plasma fatty acid flux and tissue-specific fatty acid uptake. *Diabetes.* 52(3):614-620(2003).

THORENS B., WU Y.J., LEAHY J.L. et WEIR G.C. The loss of GLUT2 expression by glucose-unresponsive beta cells of db/db mice is reversible and is induced by the diabetic environment. *J.Clin.Invest.* 90(1):77-85(1992).

TSCHOEPE D., ROESEN P. et SCHERBAUM W.A. The heart and metabolic syndrome. *Z.Kardiol.* 88(3):215-224(1999).

TSO P. et BALINT J.A. Formation and transport of chylomicrons by enterocytes to the lymphatics. *Am.J.Physiol.* 250(6 Pt 1):G715-26(1986).

TURPEINEN A.K., TAKALA T.O., NUUTILA P., et al. Impaired free fatty acid uptake in skeletal muscle but not in myocardium in patients with impaired glucose tolerance: studies with PET and 14(R,S)-[18F]fluoro-6-thia-heptadecanoic acid. *Diabetes.* 48(6):1245-1250(1999).

UNGER R.H. et ZHOU Y.T. Lipotoxicity of beta-cells in obesity and in other causes of fatty acid spillover. *Diabetes.* 50(S1):S118-S121(2001).

VAN BILSEN M., DE VRIES J.E. et VAN DER VUSSE G.J. Long-term effects of fatty acids on cell viability and gene expression of neonatal cardiac myocytes. *Prostaglandins Leukot.Essent.Fatty Acids*. 57(1):39-45(1997).

VAZIRI N.D., LIANG K. et BARTON C.H. Effect of increased afterload on cardiac lipoprotein lipase and VLDL receptor expression. *Biochim.Biophys.Acta*. 1436(3):577-584(1999).

VEDALA A., WANG W., NEESE R.A., CHRISTIANSEN M.P. et HELLERSTEIN M.K. Delayed secretory pathway contribution to VLDL-triglycerides from plasma NEFA, diet, and de novo lipogenesis in humans. *J. Lipid Res*. 47(11):2562-2574(2006).

VETTOR R., FABRIS R., SERRA R., et al. Changes in FAT/CD36, UCP2, UCP3 and GLUT4 gene expression during lipid infusion in rat skeletal and heart muscle. *Int.J.Obes.Relat.Metab.Disord*. 26(6):838-847(2002).

VOET D. et VOET J.G. *Biochimie*. (1998).

WAMBOLT R.B., LOPASCHUK G.D., BROWNSEY R.W. et ALLARD M.F. Dichloroacetate improves postischemic function of hypertrophied rat hearts. *J.Am.Coll.Cardiol*. 36(4):1378-1385(2000).

WHITTON P.D., RODRIGUES L.M. et HEMS D.A. Stimulation by vasopressin, angiotensin and oxytocin of gluconeogenesis in hepatocyte suspensions. *Biochem.J*. 176(3):893-898(1978).

WILLIAMSON J.R., BROWNING E.T., THURMAN R.G. et SCHOLZ R. Inhibition of glucagon effects in perfused rat liver by (+)decanoylcarnitine. *J.Biol.Chem.* 244(18):5055-5064(1969).

YOST T.J., FROYD K.K., JENSEN D.R. et ECKEL R.H. Change in skeletal muscle lipoprotein lipase activity in response to insulin/glucose in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Metabolism.* 44(6):786-790(1995a).

YOST T.J., JENSEN D.R. et ECKEL R.H. Weight regain following sustained weight reduction is predicted by relative insulin sensitivity. *Obes.Res.* 3(6):583-587(1995b).

ZACHAROWSKI K., BLACKBURN B. et THIEMERMANN C. Ranolazine, a partial fatty acid oxidation inhibitor, reduces myocardial infarct size and cardiac troponin T release in the rat. *Eur.J.Pharmacol.* 418(1-2):105-110(2001).

ZHOU Y.T., GRAYBURN P., KARIM A., et al. Lipotoxic heart disease in obese rats: implications for human obesity. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 97(4):1784-1789(2000).