

Université de Sherbrooke

**La stimulation de la cétogénèse chez l'humain par une supplémentation en triglycérides de moyennes chaînes**

Par

Alexandre Courchesne-Loyer

Département de Physiologie et biophysique

Mémoire présenté à la Faculté de médecine et des sciences de la santé en vue de l'obtention du grade de maître ès science (M. Sc.) en Physiologie

Sherbrooke, Québec, Canada

août, 2011

Membre du jury d'évaluation

Dr. Stephen C. Cunnane Ph.D., Département de Physiologie et biophysique

Dr. Jean-Patrice Baillargeon Ph.D., Département de Physiologie et biophysique

Dr. Isabelle Dionne Ph.D., Faculté d'éducation physique et sportive



Library and Archives  
Canada

Published Heritage  
Branch

395 Wellington Street  
Ottawa ON K1A 0N4  
Canada

Bibliothèque et  
Archives Canada

Direction du  
Patrimoine de l'édition

395, rue Wellington  
Ottawa ON K1A 0N4  
Canada

*Your file Votre référence*

*ISBN: 978-0-494-93334-3*

*Our file Notre référence*

*ISBN: 978-0-494-93334-3*

#### 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.

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

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

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

Canada

# **La stimulation de la cétonèse chez l'humain par une supplémentation en triglycérides de moyennes chaînes**

Par

Alexandre Courchesne-Loyer  
Département de Physiologie et biophysique

Mémoire présenté à la Faculté de médecine et des sciences de la santé en vue de l'obtention du diplôme de maître ès sciences (M.Sc.) en physiologie, Faculté de médecine et des sciences de la santé, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Québec, Canada, J1H 5N4

Le vieillissement de la population est relié à l'augmentation de la présence de certaines maladies comme les déclin cognitif ou les démences de type Alzheimer. Chez les personnes à risques de développer ces démences, une diminution précoce du métabolisme cérébral du glucose peut être observée avant même l'apparition des premiers symptômes. Ce déficit énergétique pourrait expliquer la cascade qui mène au développement des déclin cognitif. Les cétones sont des molécules produites par le corps à partir de la lipolyse des acides gras qui ont déjà démontré leur efficacité comme substrat énergétique de substitution pour le cerveau. L'utilisation de triglycérides de moyennes chaînes (MCT), des acides gras facilement absorbables et oxydables, est un moyen efficace pour augmenter les cétones rapidement mais transitoirement. Notre objectif était de voir s'il était possible d'augmenter les cétones plasmatiques et de maintenir une concentration modérée sur 24 h avec une supplémentation quotidienne en MCT. Dix participants ont d'abord reçu une supplémentation de 2 semaines d'une émulsion de MCT (3 fois par jour). Leur concentration plasmatique de cétones mais aussi de glucose, de cholestérol, de triglycérides et d'acides gras libres était mesurée au début et à la fin de la supplémentation. Huit participants ont par la suite reçu une supplémentation de 4 semaines de l'émulsion de MCT (4 fois par jour). En plus des paramètres mentionnés précédemment, des mesures d'oxydation de MCT, à l'aide d'un traceur  $^{13}\text{C}$ -trioctanoate, d'oxydation des cétones, à l'aide d'un traceur de  $^{13}\text{C}$ -bêta-hydroxybutyrate ( $\beta\text{OHb}$ ), et des mesures de composition corporelle étaient effectuées. Dans les deux études, les analyses plasmatiques ont démontré une augmentation significative des cétones plasmatiques (jusqu'à  $0,47 \pm 0,15$  mM), qui semblait plus soutenue lors de la deuxième étude. Aucune autre modification n'a été observée dans les analyses plasmatiques. Une diminution de l'oxydation du traceur  $^{13}\text{C}$ -trioctanoate dans les heures suivant la prise puis une hausse à 24 h suivant la supplémentation montre un changement dans l'utilisation des MCT, donc une plus grande conversion en cétones. Aucun changement n'a été observé avec le traceur  $^{13}\text{C}$ - $\beta\text{OHb}$ . Aucune variation de la composition corporelle n'a été observée. Ces études montrent la capacité des MCT à augmenter et à maintenir une concentration de cétones durant 24 h à des niveaux légers chez un adulte en santé.

Mots clés : Métabolisme, cétones, triglycérides de moyennes chaînes, acides gras

## Abstract

Aging leads to the development of many diseases among which is cognitive decline associated with dementia and Alzheimer's disease (AD). In populations who are at risk of developing cognitive decline, it has been noted that a marked brain glucose hypometabolism precedes the onset of other clinical symptoms such as  $\beta$ -amyloid accumulation. This hypometabolism could therefore be responsible for the development of AD. Ketone bodies are energetic molecules that are produced by the liver following the  $\beta$ -oxidation of fatty acids. They already have been showed to be able to sustain brain metabolism as the principal energy source. Medium chain triglycerides (MCT) are easily absorbed and metabolised fatty acids. They can raise plasma ketones rapidly but transiently. Our objective was to determine whether it was possible to raise and maintain a moderate plasma ketone concentration over 24 h in healthy adults. Ten participants were first given a 2 week supplementation of MCT (3 times a day). Plasma ketone, glucose, cholesterol, triglyceride and free fatty acids were measured. Another 8 participants were given a 4 week supplementation of MCT (4 times a day). In addition to the measures taken in the first project, MCT oxidation; with  $^{13}\text{C}$ -trioctanoate, ketone oxidation; with  $^{13}\text{C}$ -beta-hydroxybutyrate and body composition were measured. In both projects, plasma ketone concentration were raised (to a maximum of  $0.48 \pm 0.15$  mM) and appeared to be more stable in the second project. All other plasma measures were unchanged. Significantly lower  $^{13}\text{C}$ -trioctanoate oxidation was detected during the 2 to 5 hours following the tracer absorption after the supplementation and a marked augmentation was detected 24 h following the supplementation. This indicates a shift in MCT utilization by the body from immediate energy source to ketone precursor. No changes were noted in  $\beta\text{OHb}$  oxidation or in body composition. These studies show the ability of MCT to raise and maintain a moderate level of ketones in plasma when taken daily in healthy adults.

**Key words:** Metabolism, ketone, medium chain triglyceride, fatty acids

## Table des matières

Liste des tableaux.....	vi
Liste des figures .....	vii
Liste des abréviations.....	ix
1. Introduction.....	10
1.1 Vieillessement cérébral .....	10
1.1.1 Contexte.....	10
1.1.2 Pathologie.....	10
1.2 Métabolisme cérébral.....	11
1.3 Les cétones.....	14
1.4 Les triglycérides de moyennes chaînes (MCT) .....	19
Résumé de la littérature .....	23
Rationalité du projet .....	23
2. Matériel et méthodes .....	24
2.1 Étude Liquigen 1 (L1).....	24
2.1.1 Sujets.....	24
2.1.2 Supplémentation .....	25
2.1.3 Déroulement .....	27
2.2 Étude Liquigen 2 (L2).....	29
2.2.1 Sujets.....	29
2.2.2 Supplémentation .....	29
2.2.3 Déroulement .....	29
2.3 Approbation éthique .....	34
2.4 Techniques analytiques.....	34
2.4.1 Paramètres métaboliques .....	34
2.4.2 Dosage de l'insuline .....	35
2.4.3 Analyse des profils en acides gras.....	35
2.4.4 Analyses des échantillons d'haleine .....	37
2.5 Analyses statistiques.....	38
3. Résultats .....	39

3.1 Étude L1 .....	39
3.1.1 Données anthropométriques.....	39
3.1.2 Résultats plasmatiques .....	42
3.2 Étude L2.....	46
3.2.1 Données anthropométriques.....	46
3.2.2 Résultats plasmatiques .....	49
3.2.3 Études traceur.....	55
4. Discussion et conclusions .....	58
4.1 Étude L1 .....	58
4.1.1 Effet cétogénique .....	58
4.1.2 Effets secondaires .....	59
4.2 Étude L2.....	60
4.2.1 Effet cétogénique .....	60
4.2.2 Métabolisme des MCT .....	63
4.2.3 Les MCT, les cétones et l'insuline.....	64
4.2.4 Les MCT et la prise de poids .....	65
4.2.5 Autres effets.....	65
4.2.6 Limites de l'étude .....	66
4.3 Conclusion .....	66
4.4 Perspectives.....	67
5. Remerciements .....	69
6. Liste des publications .....	70

## Liste des tableaux

Tableau 1 : Information nutritionnelle du Liquigen®. ....	26
Tableau 2 : Information nutritionnelle des repas servis lors du projet Liquigen 1. .	28
Tableau 3: Organisation du projet Liquigen 2.....	30
Tableau 4 : Information nutritionnelle des repas servis lors du projet L2.....	33
Tableau 5 : Paramètres démographiques et biochimiques des participants de l'étude Liquigen 1 avant le début de la supplémentation en MCT*. ....	40
Tableau 6 : Valeurs plasmatiques à jeun des participants au projet Liquigen 1 avant et après une supplémentation en MCT <sup>a</sup> .....	41
Tableau 7 : Profil en acides gras totaux* dans le plasma des participants du projet Liquigen 1 analysé par chromatographie en phase gazeuse. ....	45
Tableau 8 : Paramètres démographiques et biochimiques des participants à l'étude Liquigen 2 avant le début de la supplémentation en MCT*. ....	47
Tableau 9 : Valeurs plasmatiques à jeun des participants au projet L2 avant et après une supplémentation en MCT <sup>a</sup> . ....	48

## Liste des figures

Figure 1: Comparaison du TEP-PIB (A), d'un IRM (B) et d'un TEP-FDG (C) chez une personne âgée avec cognition normale et atteinte de MA (modifié de Blennow, 2006) .....	12
Figure 2: Sources d'énergie du cerveau en situation normale et en situation de jeûne prolongé (modifié de Owen, 1967).....	13
Figure 3 : La céto-genèse.....	15
Figure 4 : La céto-lyse .....	16
Figure 5 : Représentation schématique de la localisation des transporteurs du glucose (GLUT) et des transporteurs monocarboxylate (MCT) dans le cerveau des mammifères adapté de (Simpson et al. 2007).....	18
Figure 6 : Digestion, absorption et transport des gras. Adapté de (Bach et Babayan 1982) .....	21
Figure 7 : Métabolisme hépatique des acides gras. Adapté de (Bach et Babayan 1982). .....	22
Figure 8: Déroulement des journées métaboliques 2 et 29 de l'étude L2. * : prise de sang; ↑ : prise d'haleine.....	34
Figure 9 : Concentrations plasmatiques de (A) l'acétoacétate, (B) du β-hydroxybutyrate et (C) des deux cétones combinées durant les journées métaboliques de l'étude Liquigen 1 avant (■) et après (Δ) la supplémentation de 2 semaines au Liquigen® (3 fois par jour).....	43
Figure 10 : Concentrations plasmatiques du glucose, du cholestérol, des triglycérides et des acides gras libres durant les journées métaboliques de l'étude Liquigen 1 avant (—) et après (- - -) la supplémentation de 2 semaines au Liquigen® (3 fois par jour) .....	44
Figure 11 : Concentrations plasmatiques de (A) l'acétoacétate, (B) du β-hydroxybutyrate et (C) des deux cétones combinées durant les journées métaboliques de l'étude Liquigen 2 avant (■) et après (Δ) la supplémentation de 4 semaines au Liquigen® (4 fois par jour). M : moyenne de la journée métabolique. ....	50
Figure 12 : Concentration plasmatiques de (A) l'acétoacétate, (B) du β-hydroxybutyrate et (C) des deux cétones combinées durant les journées métaboliques de l'étude Liquigen 2 avant (■) et après (Δ) la supplémentation de 4 semaines au Liquigen® (4 fois par jour). M : moyenne de la journée métabolique. ....	51
Figure 13 : Rapport des concentrations plasmatiques du β-hydroxybutyrate sur celles de l'acétoacétate chez les participants du projet Liquigen 2 avant (■) et après (Δ) la supplémentation de 4 semaines au Liquigen®. M : moyenne de la journée métabolique. ....	52
Figure 14 : Concentrations plasmatiques de l'insuline (A) et du glucose (B) durant les journées métaboliques de l'étude Liquigen 2 avant (■) et après (Δ) la supplémentation de 4 semaines au Liquigen® (4 fois par jour). M : moyenne de la journée métabolique.....	53

Figure 15 : Concentrations plasmatiques des triglycérides (A), des acides gras libres (B) et du cholestérol (C) durant les journées métaboliques de l'étude Liquigen 2 avant (■) et après (Δ) la supplémentation de 4 semaines au Liquigen® (4 fois par jour). M : moyenne de la journée métabolique.....	54
Figure 16 : Pourcentage de dose récupéré par heure (A) et oxydation cumulative (B) du traceur <sup>13</sup> C- β-hydroxybutyrate avant (■) et après (Δ) la supplémentation de 4 semaines au Liquigen® (4 fois par jour).....	56
Figure 17 : Pourcentage de dose récupéré par heure (A) et oxydation cumulative (B) du traceur <sup>13</sup> C-trioctanoate avant (■) et après (Δ) la supplémentation de 4 semaines au Liquigen® (4 fois par jour).....	57

## Liste des abréviations

<sup>13</sup> C	Carbone 13
AcAc	Acétoacétate
AGL	Acides gras libre
AGLC	Acides gras à longues chaînes
ALT	Alanine aminotransférase
AST	Aspartate aminotransférase
ApoE4	Apolipoprotéine E epsilon 4
AUC	<i>Area under the curve</i> (Aire sous la courbe)
βOHb	β-D-Hydroxybutyrate
BHBDH	β-Hydroxybutyrate déshydrogénase
CE	<i>Cholesterol ester</i> (Ester de cholestérol)
DXA	Dual energy X-ray absorbometry
CDRV	Centre de recherche sur le vieillissement
CSSS-IUGS	Centre de santé et de services sociaux-institut universitaire de gériatrie de Sherbrooke
FDG	Fluorodésoxyglucose
HDL	<i>High density lipoprotein</i> (Lipoprotéine de haute densité)
IRM	Imagerie par résonance magnétique
LCT	<i>Long chain triglycerides</i> (Triglycérides de longues chaînes)
LDL	<i>Low density lipoprotein</i> (Lipoprotéine de faible densité)
MA	Maladie d'Alzheimer
MCT	<i>Medium chain triglycerides</i> (Triglycérides de moyennes chaînes)
PAE	Pourcentage d'atomes en excès
PDR	Pourcentage de dose récupérée
PIB	Pittsburgh compound B
RPM	Rotations par minute
TEP	Tomographie par émission de positrons
TG	Triglycéride
TSH	<i>Thyroid-Stimulating hormone</i> (Hormone stimulatrice de la thyroïde)

## 1. Introduction

### 1.1 Vieillessement cérébral

#### 1.1.1 Contexte

Alors que les premiers *baby-boomers* atteignent l'âge de 65 ans en 2011, on compte au Canada environ 5,2M de personnes dans cette seule tranche d'âge (statistiques mondiales 2011). Le vieillissement du corps est associé au développement de plusieurs troubles de santé. Il constitue d'ailleurs le premier facteur de risque de développer une démence de type d'Alzheimer (MA).

Bien que certains facteurs héréditaires semblent influencer le développement de la MA, il est à noter que seulement 10 % des cas de MA sont héréditaires (Blennow et al. 2006). Les autres cas sont dits sporadiques et ne sont reliés à aucune histoire familiale de la maladie. Il devient donc très complexe de « prévoir » l'apparition de la maladie et ce même avec toutes les études visant à trouver un dénominateur commun et précoce au développement de la maladie.

#### 1.1.2 Pathologie

Que la maladie soit d'origine héréditaire ou sporadique, les manifestations cliniques sont les mêmes dans les 2 cas, soit pertes de mémoire, difficultés de langage et changements comportementaux.

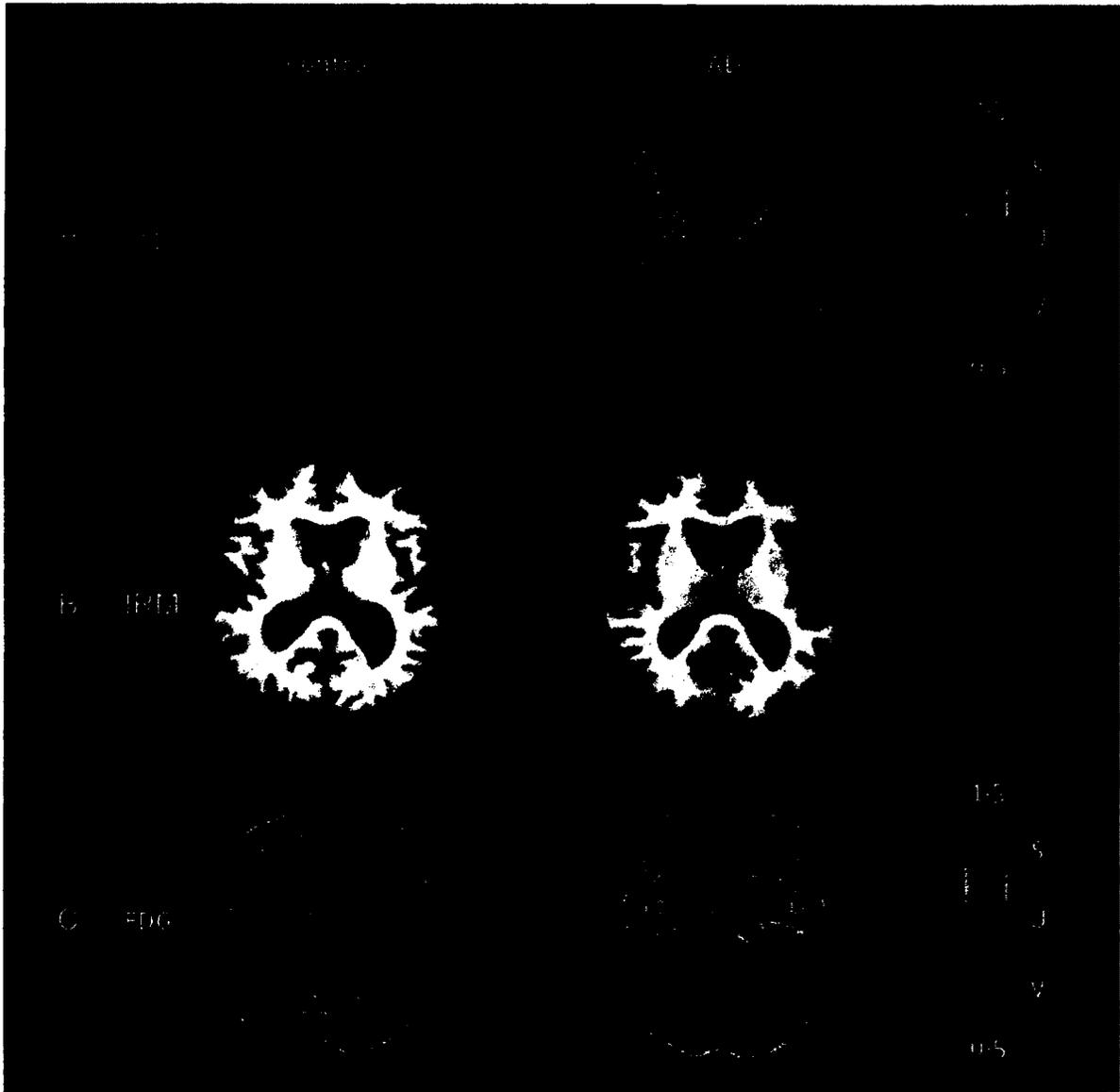
L'apparition de ces signes cliniques ne correspond toutefois pas à l'initiation de la MA. Lorsque de tels symptômes apparaissent, la MA est déjà bien entamée et plusieurs modifications biologiques se sont déjà opérées. Parmi celles-ci, on note l'apparition de plaques séniles (Fig. : 1A), formées d'agrégats de la protéine  $\beta$ -amyloïde sous sa forme insoluble, une perte de volume cérébral (Fig. : 1B) et un hypométabolisme marqué du glucose au cerveau (Fig. : 1C) (Blennow et al. 2006). La diminution du captage du glucose au cerveau est particulièrement marquée au

niveau des régions temporales internes (hippocampe) et frontales ce qui entraîne d'importantes pertes neuronales dans ces régions (Alexander et al. 2002; Buckner et al. 2005; Mosconi et al. 2005). L'hypométabolisme est observé avant même l'apparition des premiers signes cliniques de déclin cognitif ce qui laisse penser qu'il pourrait contribuer au développement de la MA (Cunnane et al. 2011).

Lorsque cet hypométabolisme cérébral s'installe, les neurones se retrouvent dans une situation de déficit énergétique. En temps normal, le corps pallie à un tel déficit en augmentant la lipolyse et la production de cétones (Cahill 2006). Toutefois, quand un neurone ou un groupe de neurones se retrouvent dans une situation de déficit énergétique (par manque de glucose), ces neurones vont augmenter leur utilisation de cétone (Owen et al. 1967). Comme le problème est limité à ces neurones dans les états de déclin cognitif, par exemple, le corps ne va pas compenser en augmentant la lipolyse et la production de cétone. Les sujets en déclin cognitif n'étant pas en déficit énergétique au niveau de tout le corps. Puisque les neurones sont des cellules qui nécessitent un grand apport énergétiques pour fonctionner, cette carence mène ultimement à une mort neuronale, altérant ainsi les fonctions cognitives des personnes atteintes (Costantini et al. 2008).

## 1.2 Métabolisme cérébral

Le glucose fournit la presque totalité de l'énergie utilisée par le cerveau. Dans des conditions normales, 99 % de cette énergie est fournie par le glucose. Les autres sources d'énergie sont le lactate, le pyruvate et les cétones. En période de jeûne prolongée (40 jours) le glucose disponible est nettement diminué et les réserves de glycogène du cerveau sont très restreintes et ne peuvent servir que quelques minutes de source d'énergie au cerveau (Koizumi 1974). Dans cette situation, les cétones assurent jusqu'à 70 % de l'apport énergétique du cerveau (Owen et al. 1967) (Fig. : 2).

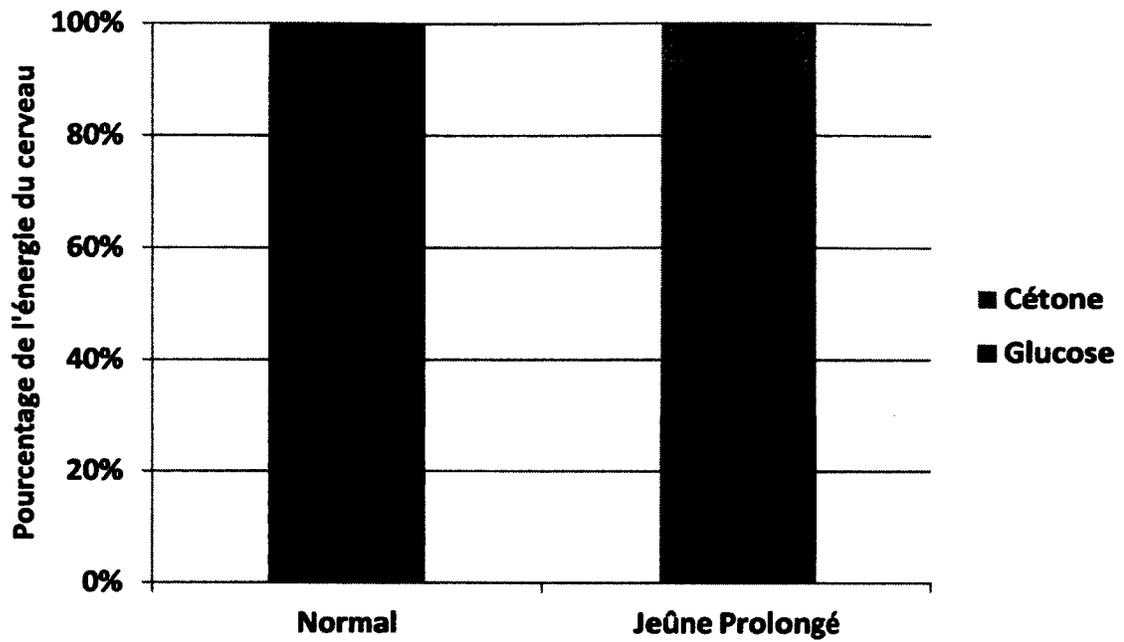


**Figure 1:** Comparaison du TEP-PIB (A), d'un IRM (B) et d'un TEP-FDG (C) chez une personne âgée avec cognition normale et atteinte de MA (modifié de Blennow, 2006)

TEP-PIB : Tomographie par émission de positrons avec le traceur Pittsburgh compound B

IRM : Imagerie par résonance magnétique

TEP-FDG : Tomographie par émission de positrons avec le traceur 18F-Fluorodéoxyglucose.



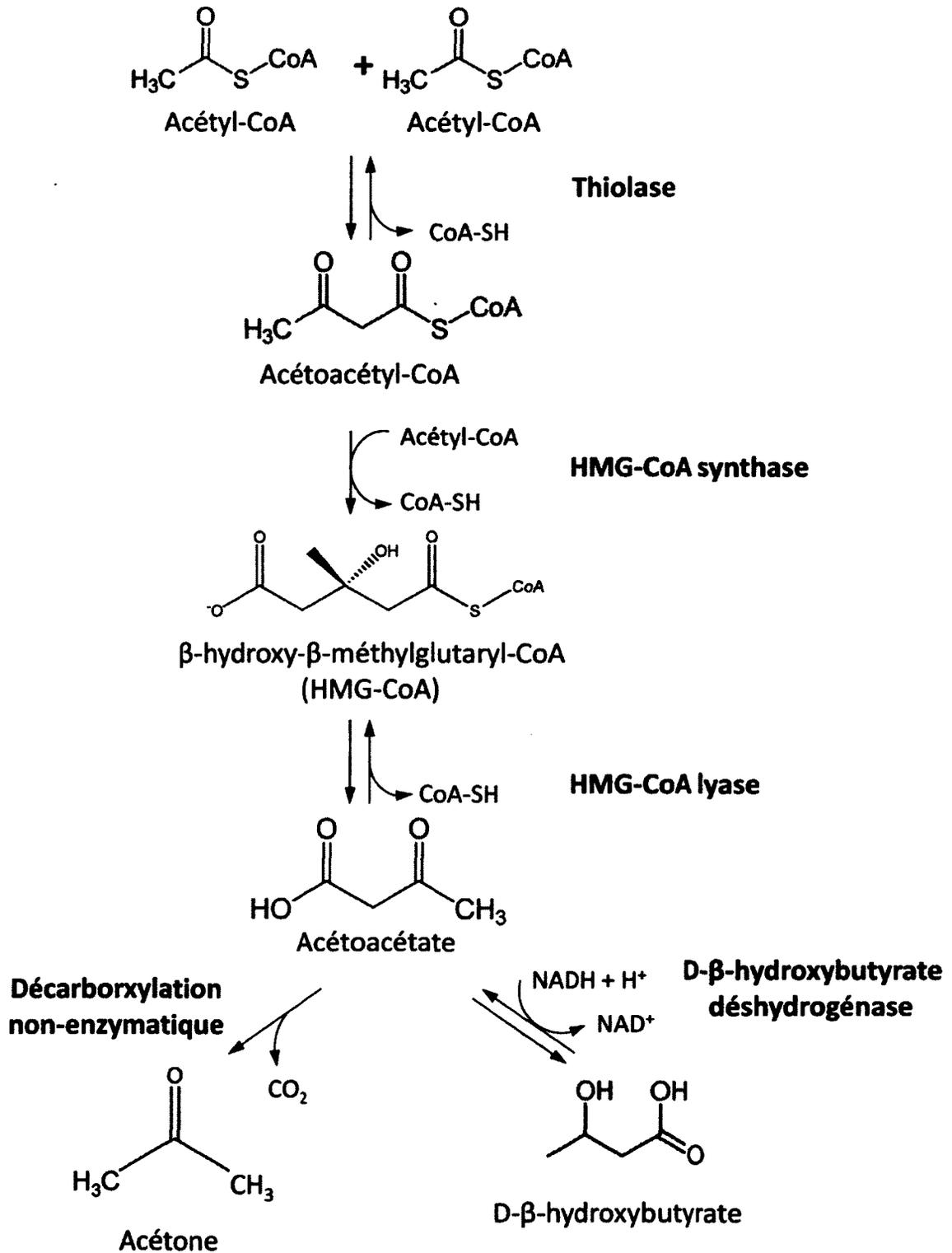
**Figure 2:** Sources d'énergie du cerveau en situation normale et en situation de jeûne prolongé (modifié de Owen, 1967)

### 1.3 Les cétones

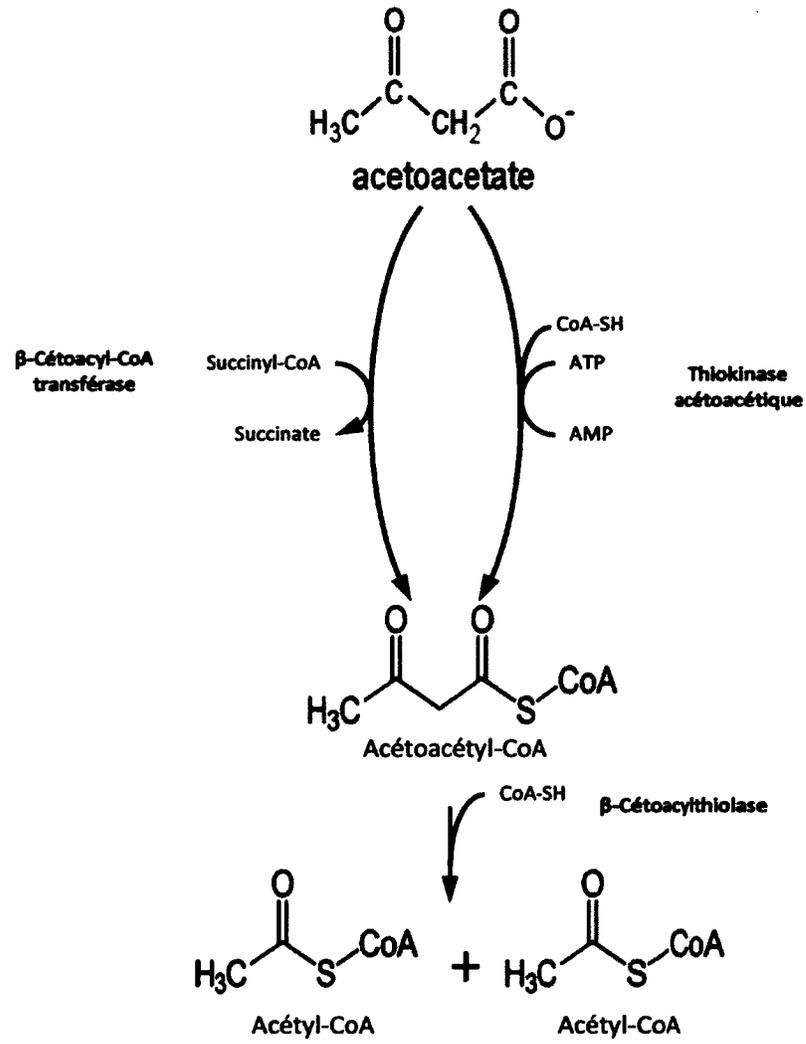
Chez l'humain, on retrouve trois principaux corps cétoniques; soit l'acétone, l'acétoacétate (AcAc) et le  $\beta$ -hydroxybutyrate ( $\beta$ OHb). Les cétones sont synthétisées par le corps en conditions de déficits énergétiques, soit lors de jeûnes par exemple, où le corps se tourne vers la lipolyse et la  $\beta$ -oxydation des acides gras par manque d'apport en glucose. Chez l'adulte, les cétones sont donc produites à de très faibles niveaux en temps normal puisqu'une hausse des taux plasmatique de glucose ou d'insuline inhibe la cétogenèse et la lipolyse au profit de la lipogénèse.

Les cétones sont principalement le résultat de la  $\beta$ -oxydation des acides gras au niveau du foie (Fukao et al. 2004). Des études ont montré que les astrocytes auraient eux aussi la possibilité de produire des cétones afin de répondre au besoin du cerveau (Auestad et al. 1991). La beta-oxydation des acides gras comme le palmitate, produit 8 acétyl-CoA comparativement au glucose qui en produit 3. Les acétyl-CoA qui n'arrivent pas à entrer dans le cycle de Krebs sont donc transformés en cétones afin qu'ils soient acheminés vers d'autres organes.

Deux enzymes clés régulent la production des cétones soit la 3-hydroxy-3-méthyl-glutaryl-CoA synthase (HMG-CoA synthase) et la 3-hydroxy-3-méthyl-glutaryl-CoA lyase (HMG-CoA lyase) (Fig. : 3). Ces deux enzymes permettent de convertir successivement l'acétoacetyl-CoA en HMG-CoA puis ce HMG-CoA en AcAc. L'AcAc peut par la suite être converti en acétone par décarboxylation ou en  $\beta$ OHb par déshydrogénation. Le principal facteur génétique qui régule la transcription de l'HMG-CoA synthase et de l'HMG-CoA lyase est le *peroxisome proliferator activated receptor alpha* (PPAR $\alpha$ ) qui lui-même est activé par plusieurs molécules dont les acides gras polyinsaturés oméga-3 et les fibrates, une classe de médicaments hypotriglycéridémiants (Desvergne et Wahli 1999).



**Figure 3 : La cétonèse**



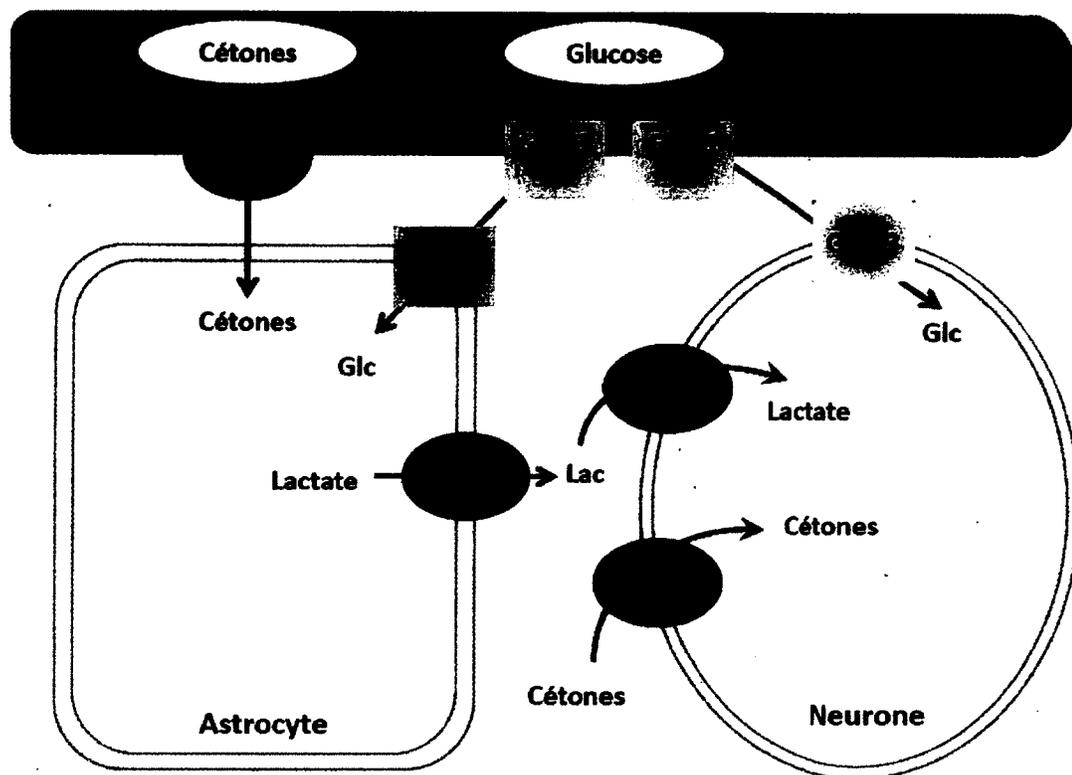
**Figure 4 : La cétolyse**

Une fois arrivées à leur tissu cible, les cétones peuvent être retransformées en acétyl-CoA par la thiokinase acétoacétique ou par la  $\beta$ -cétocoacyl-CoA transférase (Fig. : 4). Il est important de noter que les hépatocytes ne possèdent pas ces enzymes, c'est pourquoi le foie est incapable d'utiliser les cétones comme substrat énergétique.

Au cerveau, les cétones ont la capacité de traverser la barrière-hémato-encéphalique et ainsi se rendre au cerveau. Ce processus s'effectue via les *Monocarboxylate transporter* (MCT) présents à la surface des vaisseaux sanguins (MCT1), des astrocytes (MCT1) et des neurones (MCT2) (Halestrap et Price 1999; Simpson et al. 2007) (Fig. : 5). Il a été démontré qu'une hausse des cétones plasmatiques par une diète cétogène augmente l'expression du transporteur MCT1 au cerveau (Leino et al. 2001; Pifferi et al. 2011). Ces transporteurs ne sont toutefois pas exclusifs aux cétones et servent aussi au transport du lactate et du pyruvate qui peuvent aussi servir, à un degré moindre, de substrat pour le cerveau.

Plusieurs évidences montrent que les cétones sont importantes dans le développement de l'être humain, les niveaux retrouvés chez les nouveaux nés sont nettement plus élevés que chez l'adulte et atteignent environ 1 à 2 mM alors que chez l'adulte les niveaux plasmatiques dépassent rarement les 0,2 mM (Bougnères et al. 1986). Chez l'enfant, les cétones sont surtout importantes pour le développement du cerveau qui monopolise la majeure partie de l'énergie utilisée par le corps à ce stade du développement (environ 75% de l'énergie consommée) (Cunnane et al. 2011). Aussi, le lait maternel est très riche en acides gras ce qui favorise la cétogenèse.

Les cétones ont aussi démontré des effets protecteurs dans quelques maladies neurodégénératives (Veech et al. 2001; Baliatti et al. 2010) comme l'épilepsie (Rho et al. 2002), le parkinson (Kashiwaya et al. 2000) et les troubles cognitifs de type démence (Reger et al. 2004; Henderson 2008; Page et al. 2009).



**Figure 5 :** Représentation schématique de la localisation des transporteurs du glucose (GLUT) et des transporteurs monocarboxylate (MCT) dans le cerveau des mammifères adapté de (Simpson et al. 2007)

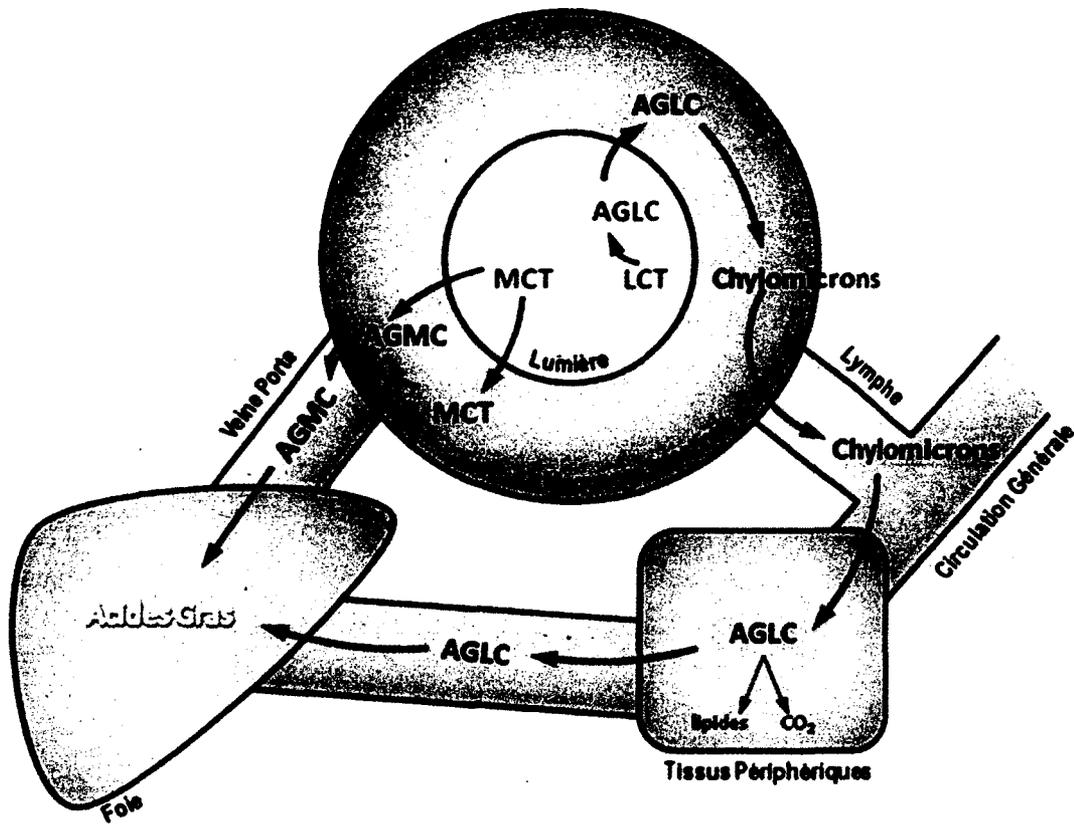
de cétones et une amélioration du score cognitif à différents tests. Ces études ont été faites chez des personnes atteintes d'un léger déclin cognitif (MCI) (Reger et al. 2004; Henderson et al. 2009) et chez des diabétiques en crise hypoglycémique, un état qui est caractérisé par un déclin cognitif temporaire (Page et al. 2009). Kashiwaya et al (2000) ont montré que le D- $\beta$ OHb protège des neurones de l'hippocampe en culture contre la toxicité de la protéine  $\beta$ -amyloïde 1-42, retrouvée sous forme de plaques dans la MA. Cet effet protecteur serait en partie dû au fait que les cétones ne nécessitent pas l'action de l'enzyme pyruvate déshydrogénase (PDH) qui est affectée par l'effet toxique de la protéine  $\beta$ -amyloïde mais qui est aussi indispensable pour la conversion du glucose en énergie.

#### 1.4 Les triglycérides de moyennes chaînes (MCT)

Les MCT sont des triglycérides composés d'acides gras saturés de 6 à 12 carbones, donc de moyennes chaînes. Ce type d'acides gras est très peu présent dans l'alimentation nord-américaine et européenne. Les sources majeures de MCT sont principalement l'huile de noix de coco et l'huile de palme. Ils constituent aussi environ 15% des gras du lait maternel de certains mammifères, dont l'être humain (Agence canadienne d'inspection des aliments 2008).

Les MCT ont un métabolisme bien différent des triglycérides de longues chaînes (LCT), ceux principalement retrouvés dans notre alimentation. Tout d'abord, leur absorption se fait sous forme d'acide gras libre lié à l'albumine et entre dans la veine porte hépatique au niveau de l'intestin grêle. L'absorption par la veine porte hépatique les amène directement au foie où ils seront immédiatement métabolisés, ce qui explique leur faible présence dans la circulation systémique (Fig. : 6). Cette particularité fait que les MCT sont beaucoup plus rapidement absorbés et métabolisés que les acides gras de longues chaînes (AGLC) qui, eux, sont absorbés sous forme de triglycérides et incorporés à l'intérieur de chylomicrons puis transportés au tissu adipeux, ou à d'autres organes cibles comme le foie, où ils pourront d'être recrutés et utilisés lors d'une situation de besoin énergétique.

Au foie, les MCT sont aussi métabolisés plus efficacement et plus rapidement que les LCT. Puisque que l'acyl-CoA synthétase spécifique aux MCT se situe au niveau de la matrice mitochondriale des hépatocytes et non au niveau de leur réticulum endoplasmique, comme c'est le cas pour les AGLC, les MCT participent beaucoup moins à la synthèse lipidique *de novo* dans le foie. Les MCT ne nécessitent pas non plus l'implication de la carnitine palmitoyltransferase pour traverser la membrane mitochondriale, à l'opposé des AGLC (McGarry et Foster 1980). Ces deux facteurs expliquent pourquoi les MCT sont plus rapidement et efficacement métabolisés et permettent donc une synthèse accrue de cétones (Fig. : 7).



**Figure 6 :** Digestion, absorption et transport des gras. Adapté de (Bach et Babayan 1982)

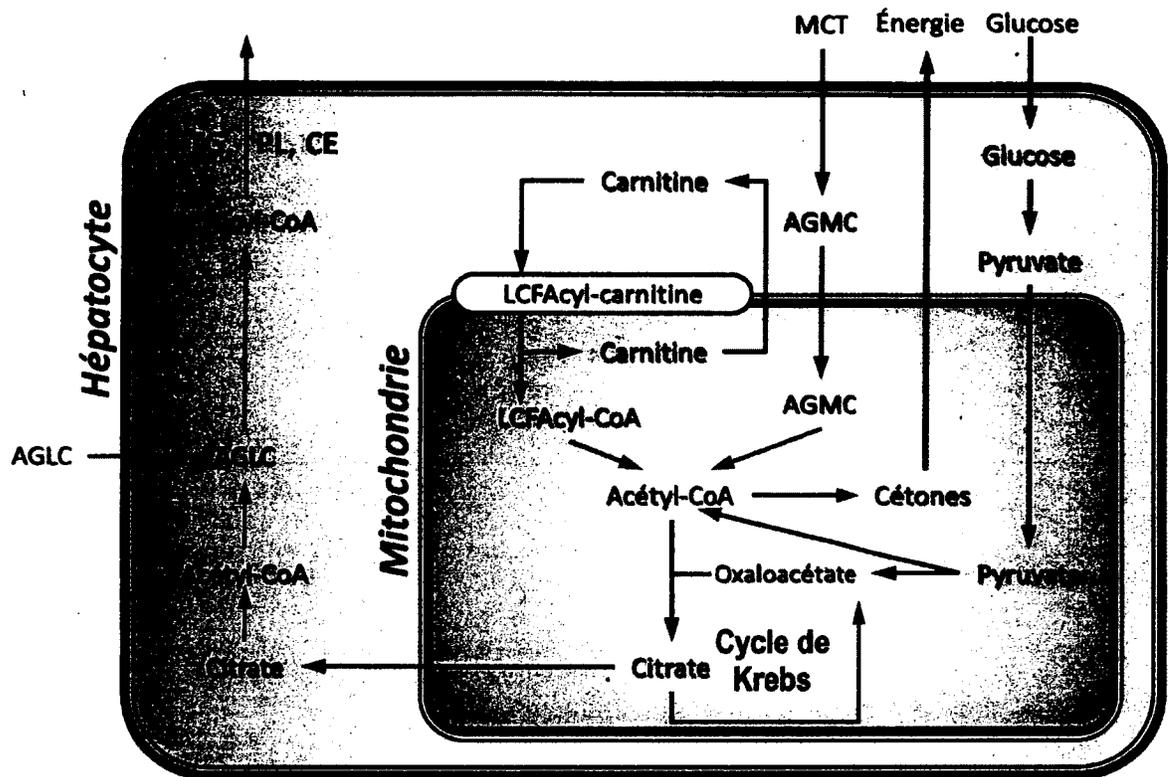


Figure 7 : Métabolisme hépatique des acides gras. Adapté de (Bach et Babayan 1982).

## Résumé de la littérature

Le déclin cognitif est de plus en plus présent dans la société moderne. Plusieurs études ont démontré que chez les personnes atteintes, un hypométabolisme du glucose s'installe dans plusieurs zones plus sensibles aux déficits énergétiques du cerveau comme l'hippocampe et semble s'étendre avec l'évolution de la maladie. Une stratégie potentielle pour contourner ce déficit énergétique est d'augmenter les cétones disponibles pour le cerveau. Certaines études de courte durée montrent qu'une augmentation des cétones au niveau plasmatique serait corrélée directement avec une augmentation des fonctions cognitives chez des personnes présentant des troubles cognitifs. Toutefois, il est très difficile de maintenir une cétonémie modérée chez des personnes ayant une alimentation normale. Un des moyens envisageable est l'utilisation des MCT qui peuvent augmenter rapidement et transitoirement les concentrations de cétones plasmatiques.

## Rationalité du projet

Suite à ces informations, nous avons décidé de mettre au point un projet qui étudierait une supplémentation à moyen terme en MCT pour induire une cétonémie modérée mais sécuritaire chez des adultes en santé sans changements drastiques de l'alimentation. Nous avons aussi utilisé des traceurs métaboliques de cétones et de MCT afin d'observer comment le corps adapte sa production et son utilisation de ces molécules.

## **2. Matériel et méthodes**

### **2.1 Étude Liquigen 1 (L1)**

L'étude L1 avait pour objectif de regarder à moyen terme si le supplément de MCT utilisé, le Liquigen<sup>®</sup>, pouvait induire une cétonémie modérée sur une période de 2 semaines. Cette première phase nous permettait aussi de s'assurer que les doses choisies étaient bien tolérées.

#### **2.1.1 Sujets**

Pour les fins de cette étude, nous avons recruté dix sujets, hommes et femmes, âgés de 18 ans et plus en bonne santé et non fumeurs. Le recrutement c'est fait à l'aide d'affiches disposées au Centre de recherche sur le vieillissement (CDRV) du Centre de santé et services sociaux - Institut universitaire de gériatrie (CSSS-IUGS), au CHUS Fleurimont et à l'Université de Sherbrooke. Les personnes désirant participer au projet devaient se présenter au CDRV du CSSS-IUGS pour une visite de présélection où un bilan sanguin complet était effectué afin de s'assurer de leur bon état de santé. Ils ne devaient présenter aucun des signes suivants :

- **Diabète, hyperglycémie de jeûne ou intolérance au glucose;**
  - **Glycémie à jeun supérieure à 6,1 mM**
  - **Hémoglobine A1c supérieure à 6,0%**
- **Formule sanguine complète, fonctions hépatiques (AST/ALT) et fonctions rénales (niveau de créatinine plasmatique, et clairance estimée de la créatinine) anormales**
- **Bilan lipidique hors des limites (cholestérol, HDL, LDL, TG)**
- **Tension artérielle anormale sauf si contrôlé par la médication depuis plus de 6 mois;**
- **Maladie thyroïdienne sauf si contrôlé par la médication depuis plus de 6 mois;**

- Utilisation de médication connue pour affecter le métabolisme des lipides et des glucides, ex : stéroïdes, bêtabloqueurs, diurétiques, agents hypolipémiants ou antidiabétiques;
- Infections sévères ou inflammation (protéine C-réactive supérieure à : 8.0);
- Grossesse ou allaitement;

### 2.1.2 Supplémentation

La supplémentation en MCT des sujets était assurée par la prise, 3 fois par jour, d'une dose de Liquigen® (SHS International Inc., Liverpool, UK). Le Liquigen® est un aliment médical produit par la compagnie SHS International, appartenant à la division Nutrition Médicale de Danone qui est sur le marché depuis 5 ans. Le Liquigen® est composé d'une émulsion de 50 % d'huile MCT et 50% d'eau. Liquigen® est disponible en Europe et conforme aux directives de l'Union européenne pour l'Alimentation à Fins Médicales Spéciales (Commission Directive 1999/21/EC du 25 March 1999). Il a été conçu comme supplément pour des conditions métaboliques nécessitant un haut apport d'énergie lorsque l'absorption des gras est diminuée. Il est couramment utilisé pour la diète cétogène des enfants épileptiques et dans plusieurs maladies métaboliques. Le tableau 1 montre la composition exacte en acides gras du Liquigen®. Afin de rendre l'expérience plus agréable pour les participants, une saveur artificielle (du Cristal Light® de Kraft®) était ajoutée aux bouteilles de Liquigen®. Le produit est principalement composé d'aspartame, il ne contient donc pas de sucre. Dans le cadre du projet, il devait être pris en même temps que le repas et au coucher à raison de 20 ml par repas pour les jours 1 à 5, de 30 ml par repas pour les jours 6 à 10 et de 40 ml par repas pour les jours 11 à 14. La supplémentation ne comprenait aucune modification de la diète normale du sujet.

**Tableau 1 : Information nutritionnelle du Liquigen®.**

<b>INFORMATION NUTRITIONNELLE</b>	<b>par 100 ml</b>
Énergie (kJ)	1850
(kcal)	450
Protéine (g)	0
Carbohydrate (g)	0
Lipides (g)	50
saturés (g)	50
monoinsaturées (g)	0
Polyinsaturées (g)	0
% MCT	97
Fibres (g)	0
<b>Profil d'acides gras</b>	<b>g par 100 g d'acides gras</b>
C6 :0	0.97
C8 :0	80.37
C10 :0	14.52
C12 :0	0.97
C14 :0	0.03
C16 :0	1.59
C18 :0	1.52
C20 :0	0.03
<b>Minéraux</b>	<b>par 100 ml</b>
Sodium (mg)	15
(mmol)	0.65

### 2.1.3 Déroulement

Cette étude pilote se déroulait sur 2 semaines et impliquait 2 journées métaboliques (section 2.1.3.1). La première visite avait lieu au début de l'étude, pour observer la réponse cétonémique suite à la prise d'une dose de Liquigen® de façon aigue. La deuxième visite se déroulait après 14 jours de supplémentation et servaient à évaluer l'évolution de la production des cétones suite à une prise de MCT pendant 2 semaines.

#### 2.1.3.1 Journée Métabolique

Lors des visites de l'étude, chaque sujet devait se présenter au CDRV, le matin, à jeun depuis 12 h. L'infirmier de recherche installait un cathéter intraveineux (Becton Dickinson Infusion Therapy Systems Inc., Sandy, Utah, USA) et une première prise de sang était effectuée. Le sang était récupéré dans des tubes de 4 ml BD Vacutainer® enduit de K2-EDTA (Becton Dickinson, Franklin Lakes, New Jersey, USA) et était gardé sur glace. Ensuite, le sujet devait manger un petit déjeuner composé de rôties au beurre d'arachide et de 30 ml de Liquigen® aromatisé (voir composition des repas Tableau 2). Des prises de sang avaient ensuite lieu à toutes les heures durant 6 h. À la fin de la journée, les échantillons de sang étaient centrifugés à 3500 rpm, pendant 18 min, à 4°C. Le plasma était ensuite séparé et placé à -80°C.

**Tableau 2 : Information nutritionnelle des repas servis lors du projet Liquigen 1.**

<b>Déjeuner</b>			
	<b>Repas</b>	<b>Liquigen®</b>	<b>Total</b>
<b>Calories (kcal)</b>	400	135	535
<b>Lipides (g)</b>	19	15	34
Saturés (g)	3,8	15	18,8
Monoinsaturés et polyinsaturés (g)	15,2	0	15,2
Trans (g)	0	0	0
<b>Cholestérol (mg)</b>	0	0	0
<b>Sodium (mg)</b>	460	2,1	462,1
<b>Potassium (mg)</b>	170	0	170
<b>Glucides (g)</b>	46	0	46
Fibres (g)	8	0	8
Sucres (g)	6	0	6
Sucres complexes (g)	32	0	32
<b>Protéines (g)</b>	16	0	16

## 2.2 Étude Liquigen 2 (L2)

Cette étude, qui fait suite au projet pilote avait pour but d'observer les effets à plus long terme (28 jours au lieu de 14 jours) du Liquigen® sur la cétonémie. Elle devait aussi nous permettre d'étudier le métabolisme des cétones et des MCT ainsi que l'influence du produit sur la composition corporelle et les autres composantes métaboliques tels que les acides gras libres, les triglycérides, le cholestérol, le glucose et l'insuline.

### 2.2.1 Sujets

Pour les fins de cette étude, nous avons recruté huit sujets, homme et femmes, âgées de 18 à 35 ans en bonne santé et non fumeurs. Le recrutement s'est fait de la même manière que lors du projet L1 (section 2.1.1) et les critères de sélection étaient les mêmes.

### 2.2.2 Supplémentation

Le même supplément que celui utilisé lors du projet L1 (section 2.1.2) était utilisé. Toutefois, il était pris en même temps que les repas et au coucher à raison de 20 ml par repas pour les jours 1 à 6 et 30 ml par repas pour les jours 6 à 28. La dose de 40 ml par repas utilisée dans le projet L1 a été éliminée dû aux maux d'estomac que celle-ci causait chez quelques participants. Comme dans le projet L1, la supplémentation ne comprenait aucune modification de la diète normale du sujet.

### 2.2.3 Déroulement

Cette étude se déroulait sur un total de 4 semaines. Elle impliquait 2 visites « traceurs » (section 2.2.3.1), 2 journées métaboliques (section 2.2.3.2) et 3 visites de contrôle. La première visite « traceur » ainsi que la première journée métabolique avait pour but de nous donner les valeurs de base de cétonémie et d'oxydation avant la supplémentation.



### 2.2.3.1 Visites jours 1 & 28

Lors des visites « traceur »  $^{13}\text{C}$ - $\beta\text{OHb}$  les sujets devaient se présenter au CDRV à jeun depuis 12h. À leur arrivée, 4 échantillons d'haleine étaient récoltés dans des tubes préalablement mis sous vide à l'aide d'un collecteur d'échantillons d'haleine (BreathTrackers Inc., Milwaukee, Wisconsin, USA). Un déjeuner composé de 2 rôties avec beurre d'arachide et confiture de fraises et d'un jus d'orange contenant 50mg de traceur  $^{13}\text{C}$ - $\beta\text{OHb}$  (Cambridge Isotope Laboratories, Inc, Andover, Massachusetts, USA) leur était ensuite fourni. La visite durait environ 30 min puis les sujets étaient libres de retourner à la maison. Suite à la prise du traceur les sujets devaient prendre des échantillons d'haleine toutes les 30 min, durant les premières 6 h, et toutes les heures pour les 6 h suivantes. Ils devaient aussi prendre un échantillon le lendemain soit 24 h après la prise du traceur. Les sujets nous rapportaient les tubes lors de leur prochaine visite.

### 2.2.3.2 Journées métaboliques (jours 2 & 29)

Pour les 2 journées métaboliques de l'étude, chaque sujet devait se présenter au CDRV à jeun depuis 12 h. L'infirmier de recherche installait alors un cathéter intraveineux (Becton Dickinson Infusion Therapy Systems Inc., Sandy, Utah, USA) et une première prise de sang était effectuée. Le sang était récupéré dans des tubes de 4 ml BD Vacutainer® enduits de K2-EDTA (Becton Dickinson, Franklin Lakes, New Jersey, USA) et était gardé sur glace. Ensuite, le sujet devait manger un petit déjeuner composé de rôties au beurre d'arachide et confiture de fraises sur lesquelles avait été déposés 50 mg de traceur  $^{13}\text{C}$ -MCT (Cambridge Isotope Laboratories, Inc, Andover, Massachusetts, USA), d'un jus d'orange et lors du jour 29 seulement (après le traitement), de 30 ml de Liquigen aromatisé. Des prises de sang avaient ensuite lieu à toutes les 15 min durant la première heure et aux heures durant 8 h. Après 4 h, un dîner composé d'un repas congelé, un jus de légumes, une barre tendre et une compote de pomme leur était servi (voir composition des repas tableau 3). Une heure après la fin du dîner, les sujets passaient un test de composition corporelle par ostéodensitométrie « dual energy X-ray absorptometry » (DXA, GE Prodigy Lunar, Madison, Wisconsin, USA) (voir

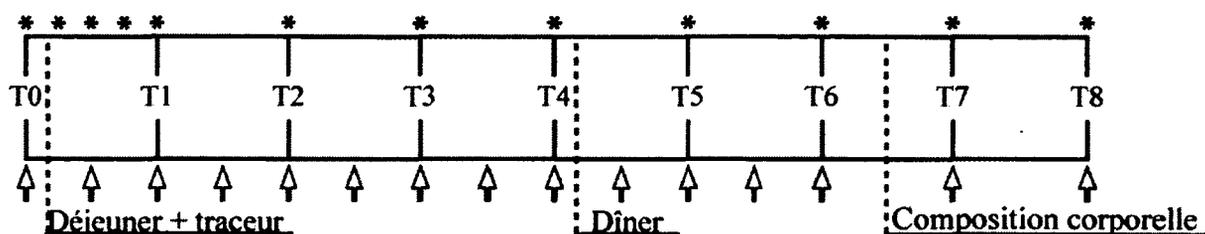
déroulement de la journée figure 8). À la fin de la journée, les échantillons de sang étaient centrifugés à 3500 rpm, pendant 18 min, à 4°C, et le plasma était séparé et placé à -80°C. La supplémentation débutait le lendemain matin et se continuait durant quatre semaines jusqu'à la journée métabolique après traitement (jour 29).

**Tableau 4 : Information nutritionnelle des repas servis lors du projet L2.**

	<b>Déjeuner</b>			<b>Dîner</b>		
	<b>Repas</b>	<b>Liquigen®</b>	<b>Total</b>	<b>Repas</b>	<b>Liquigen®</b>	<b>Total</b>
<b>Calories (kcal)</b>	550	135	685	620	135	755
<b>Lipides (g)</b>	19	15	34	14	15	29
Saturés (g)	3,8	15	18,8	7,5	15	22,5
Mono insaturés et polyinsaturés (g)	15,2	0	15,2	6	0	6
Trans (g)	0	0	0	0,5	0	0,5
<b>Cholestérol (mg)</b>	0	0	0	41,7	0	41,7
<b>Sodium (mg)</b>	466	2,1	468,1	1005	2,1	1007,1
<b>Potassium (mg)</b>	640	0	640	330	0	330
<b>Glucides (g)</b>	83	0	83	101	0	101
Fibres (g)	8	0	8	11,3	0	11,3
Sucres (g)	34	0	34	39	0	39
<b>Protéines (g)</b>	18,1	0	18,1	22	0	22

### 2.2.3.3 Visites de contrôle (jour 7, 14 & 21)

Aux jours 7, 14 et 21 de l'étude, les sujets devaient se présenter au CDRV à jeun depuis 12 h pour une visite de contrôle impliquant une prise de sang. Cette visite avait pour but de s'assurer de l'absence d'effets secondaires et que les niveaux de cétones ne s'élèvent pas au-delà des niveaux sécuritaires. Elles nous servaient aussi à suivre les niveaux de cétones et de glucose à jeun.



**Figure 8:** Déroulement des journées métaboliques 2 et 29 de l'étude L2. \* : prise de sang; ↑ : prise d'haleine.

## 2.3 Approbation éthique

Le Comité d'éthique de la recherche sur le vieillissement du CSSS-IUGS a approuvé ce projet de recherche et en assure le suivi annuel administratif. Tous les participants ont signé le formulaire de consentement après avoir été informés de tous les détails du projet.

## 2.4 Techniques analytiques

### 2.4.1 Paramètres métaboliques

Les analyses sanguines des échantillons prélevés lors de la visite de sélection ont été effectuées par le laboratoire du CHUS (Sherbrooke, QC, Canada). Les échantillons obtenus lors des 2 journées métaboliques et des 3 visites de sécurité étaient analysés dans notre laboratoire. Le dosage du  $\beta$ OHb, de l'AcAc, des acides gras libres, des triglycérides et du glucose ont été effectués par l'analyseur biochimique clinique Dimension<sup>®</sup> Xpand<sup>®</sup> plus (Siemens, Deerfield, IL, USA). Des trousse commerciales de dosage ont été utilisées pour le dosage des acides gras libres, des triglycérides et du glucose (Siemens, Deerfield, IL, USA). Un protocole a été mis au point dans le laboratoire pour mesurer, avec l'analyseur

biochimique, l'AcAc (100 mM tris; 0,15 mM NADH; 1 U/ml BHBDH; 19,7 mM oxamate de sodium) et le  $\beta$ OHb (100 mM tris; 1 mM NAD; 1 U/ml BHBDH; 19,7 mM oxamate de sodium).

#### 2.4.2 Dosage de l'insuline

L'insuline a été dosée par essai immunoenzymatique (Alpco Diagnostcs, Salem, New Hampshire, USA) avec un lecteur de microplaque (modèle 3550, BioRad, Hercules, California, USA).

#### 2.4.3 Analyse des profils en acides gras

##### 2.4.3.1 Extraction et purification

Les lipides étaient extraits du plasma obtenu par la méthode de Folch (Folch, 1957). Un 200  $\mu$ l de standard interne composé d'un mélange (acide heptadécaénoïque (17 :0), de triheptadécaénoate, de cholestéryl heptadecanoate et de 1,2-Diheptadecanoyl-sn-glycero-3-phosphocoline) était ajouté à 500  $\mu$ l de plasma. La quantité de chaque standard devait correspondre à 20% de sa classe respective. Ensuite, 10 ml de chloroforme-méthanol (2 :1; v/v) étaient ajoutés et les échantillons étaient placés à l'obscurité à température pièce pour une heure. Par la suite, 2 ml de saline 0,9% étaient ajoutés et le tout était centrifugé pour 10 min à 1500 rpm. La phase organique était récoltée et ensuite évaporée à 40°C sous azote.

Pendant l'évaporation, le solvant de migration (éther de pétrole/éther/acide acétique/méthanol, 85 :15 :2,5 :1) était préparée et ajouté dans une chambre de migration avec des papiers filtres (Whatman, Maidstone, UK) afin de saturer la chambre. Suite à l'évaporation, 60  $\mu$ l de chloroforme étaient ajoutés aux échantillons et ceux-ci étaient déposés sur une plaque de silice (Whatman, Maidstone, UK) qui était ensuite placée dans la chambre de migration saturée jusqu'à ce que le solvant ait migré jusqu'à 1 cm du bord supérieur de la plaque de silice. Suite à la migration, les plaques étaient sorties de la chambre, séchées et aspergées avec du 2',7'-dichloro-fluorescine (Acros organics, New Jersey, USA).

Les bandes étaient ensuite révélées sous UV. Les bandes correspondant aux phospholipides, aux acides gras libres, aux esters de cholestérol et aux triglycérides étaient grattées et la silice placée dans des tubes.

Trois millilitres de KOH/méthanol (1 M) ont ensuite été ajoutés dans les tubes contenant les portions phospholipides et esters de cholestérol afin de les saponifier. Les tubes ont ensuite été fermés sous azote et chauffés à 90°C pendant 1 h. Suite au chauffage, 2 ml de saline 0,9% et 5 ml d'hexane étaient ajoutés aux échantillons qui sont ensuite agités et centrifugés pendant 4 min à 1500 rpm. Cette opération permettait de retirer tous les éléments insaponifiables. Cinq millilitres d'hexane et 300 µl d'acide chloridrique concentrée étaient ensuite ajoutés aux échantillons qui sont de nouveau centrifugés durant 4 min à 1500 rpm. Le solvant de la partie récupérée était ensuite évaporé sous azote à 40°C. Par la suite, 3 ml de trifluorure de bore dans le méthanol 14% (Sigma Chemical, St-Louis, Missouri, USA) ont été ajoutés à tous les échantillons afin qu'ils soient transméthylés. Les tubes étaient ensuite fermés sous azote et chauffés à 90°C pendant 30 min. Deux millilitres de saline 0,9% et 5 ml d'hexane ont ensuite été ajoutés et le tout était centrifugé pendant 4 min à 1500 rpm. Les acides gras méthylés étaient ensuite récupérés et placés à -20°C jusqu'à l'analyse par chromatographie en phase gazeuse.

#### 2.4.3.2 Chromatographie en phase gazeuse

Les esters méthyliques d'acide gras ont été analysés avec un chromatographe en phase gazeuse (Agilent model 6890, Palo Alto, Can) équipé d'une colonne capillaire BPX-70 de 50 m (SGE, Melbourne, Australie; 0,25 mm de diamètre interne, 0,25 µm d'épaisseur de la phase stationnaire). La pression du gaz de porteur (hélium) dans l'injecteur était maintenue à 233 kPa à 50°C. L'injection automatique de l'échantillon en mode *splitless* ainsi que la détection par ionisation de flamme se déroulait à 250°C. Le programme de température du four était à 50°C pendant 2 min, augmentait à 170°C à un taux de 20°C/min et se maintenait à cette température pour 15 min, augmentait à 210°C à un taux de

5°C/min et gardait cette température pour 7 min. Les acides gras étaient identifiés en comparant leurs temps de rétention avec ceux des standards d'acides gras (NuChek 68A, NuChek 411, NuChek 455; NuChek Prep, Inc., Elysian, Minnesota, USA) et ceux d'un mélange d'acides gras saturés fait dans notre laboratoire.

#### 2.4.4 Analyses des échantillons d'haleine

Les échantillons d'haleine recueillis étaient analysés par un spectromètre de masse à ratio isotopique (Europa 20-20, Sercon Ltd, Crewe, Cheshire, UK) avec l'hélium comme gaz porteur (Praxair Canada Inc., Mississauga, Ontario, Can). Dans chaque tube, 1 ml d'échantillon était prélevé afin de calculer l'enrichissement en  $^{13}\text{CO}_2$  (provenant de l'oxydation des traceurs).

##### 2.3.4.1 Calcul du taux d'oxydation du traceur

Le pourcentage d'atome (PA), soit l'abondance relative de  $^{13}\text{C}$  dans l'échantillon d'haleine, était calculé à l'aide de l'équation suivante :

$$PA = \frac{100}{\left(\frac{\delta}{1000} + 1\right) \times {}^{13}C_{ref} + 1} \quad (1)$$

Où  $\delta$  est le ratio de  $^{13}\text{C}$  sur  $^{12}\text{C}$  déterminé selon un gaz de référence et le standard international, le Pee Dee Belemnite (PDB) et où  ${}^{13}C_{ref} = 0,0112372$

Le pourcentage d'atome en excès (PAE) était obtenu en utilisant la valeur obtenue à l'équation (1) à un temps donné  $t$  moins la valeur obtenue au temps 0 h.

Le volume de  $\text{CO}_2$  ( $V_{\text{CO}_2}$ ) produit en mmol/h était obtenu en multipliant la constante de production du  $\text{CO}_2$  (300 mmol/h) par la surface corporelle, calculée grâce à l'équation de Gehan and George (Gehan et George 1970).

La quantité de  $^{13}\text{C}$ -traceur administrée en mmol à l'aide de l'équation suivante :

$$\text{mmol } ^{13}\text{C} = \frac{\text{mg traceur}}{\text{poids moléculaire}} \times \text{pureté chimique} \times ([99\%\#^{13}\text{C}] + [1\%\#\text{C total}])$$

Le taux d'oxydation du traceur est représenté par le pourcentage de la dose du traceur administré retrouvé dans l'haleine (pourcentage de la dose récupéré, PDR) qui est calculé par la formule suivante :

$$\text{PDR} = \frac{\text{PAE} \times \text{VCO}_2}{\text{mmol de } ^{13}\text{C-traceur administré}} \times 100\%$$

## 2.5 Analyses statistiques

Les résultats sont exprimés en moyennes  $\pm$  ET. Pour mesurer l'oxydation cumulative des traceurs, l'aire sous la courbe (AUC) a été évaluée lors de chacune des visites à l'aide du logiciel Prism (version 5.0, GraphPad Prism, San Diego, CA). Pour vérifier la significativité des résultats, nous avons effectué un test de Wilcoxon à rang signé avec moyenne des journées avant et après la supplémentation, pour les échantillons plasmatiques et sur la valeur d'oxydation cumulative à 24 h pour les échantillons d'haleine. Ces analyses statistiques ont été effectuées avec le programme SPSS (version 15.0, SPSS Inc, Chicago, IL). Le seuil de significativité a été établi à  $p \leq 0.05$ .

### **3. Résultats**

#### **3.1 Étude L1**

##### **3.1.1 Données anthropométriques**

L'âge moyen des dix participants à l'étude était de  $35 \pm 5$  ans et le groupe était composé de 7 hommes et de 3 femmes. Tous les participants étaient non-fumeurs et en bonne santé, leurs paramètres biochimiques mesurés lors de la visite de présélection sont indiqués dans le Tableau 5.

Tous les sujets ont complété les 2 semaines de protocole. Huit des dix participants ont rapporté ressentir des inconforts au niveau gastro-intestinal durant les 15 min suivant la prise de la dose la plus importante, soit la dose de 40 g de MCT par repas. Ces effets secondaires disparaissaient avec le temps et ne se sont pas manifestés de nouveau suite à l'arrêt de la supplémentation. De plus, tous les participants ont noté une sensation de satiété accrue à la suite de la prise du supplément. Aucun suivi alimentaire n'a été effectué, toutefois les participants ont rapporté avoir diminué leur apport alimentaire dû à ce sentiment de satiété.

**Tableau 5 : Paramètres démographiques et biochimiques des participants de l'étude Liquigen 1 avant le début de la supplémentation en MCT\*.**

Âge (années)	35 ± 5
Sexe (H/F)	7/3
Poids (kg)	80 ± 6
Taille (cm)	177 ± 3
Indice de masse corporelle (kg/m <sup>2</sup> )	25 ± 1
Albumine (g/L)	45,0 ± 0,9
AST (UI/L)	26 ± 5
ALT (UI/L)	24 ± 4
TSH (mUI/L)	2,05 ± 0,19
Cholestérol-LDL (mM)	2,28 ± 0,25
Cholestérol-HDL (mM)	1,50 ± 0,12
Cholestérol total (mM)	4.2 ± 0.3
Triglycérides (mM)	0.86 ± 0.16
HbA1c (%)	5,3 ± 0,1
Créatinine (µM)	74 ± 4

Moyennes ± ET [n=10]

\* Supplémentation de 4 jours à 30 g/jour suivi de 5 jours à 45 g/jour suivi de 5 jours à 60 g/jour.

**Tableau 6 : Valeurs plasmatiques à jeun des participants au projet Liquigen 1 avant et après une supplémentation en MCT<sup>a</sup>.**

	<b>Avant</b>	<b>Après</b>	<b>%Δ<sup>b</sup></b>
AcAc (μM)	32 ± 5	51 ± 15	-
βOHb (μM)	51 ± 5	89 ± 38	-
Cétones totales (μM)	83 ± 8	140 ± 51	68,7*
Glucose (mM)	5,4 ± 0,2	5,3 ± 0,2	-
Cholestérol (mM)	4,3 ± 0,2	4,4 ± 0,3	-
Triglycérides (mM)	1,1 ± 0,2	1,0 ± 0,1	-
Acides gras libres (μM)	420 ± 30	520 ± 90	-

Moyennes ± ET [n=10]

\* : p<0,05; Wilcoxon à rang signé.

<sup>a</sup> : Supplémentation de 4 jours à 30 g/jour suivi de 5 jours à 45 g/jour suivi de 5 jours à 60 g/jour.

<sup>b</sup> : pourcentage de différence après les 4 semaines de supplémentation

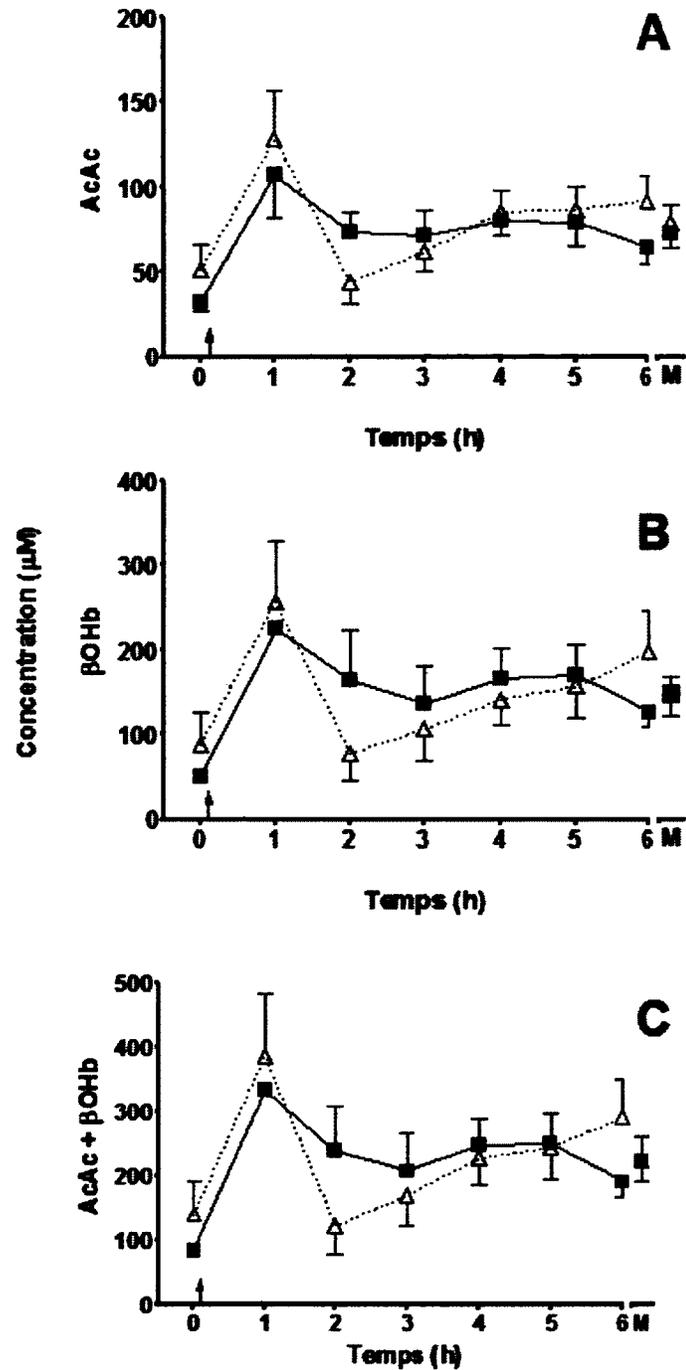
### 3.1.2 Résultats plasmatiques

Une augmentation importante de 176% de cétone totale (AcAc +  $\beta$ OHb) apparaît après seulement 1 h suivant la dose de MCT suivi d'une rechute importante de 68% des niveaux de cétone. Par la suite les niveaux de cétones remontent de nouveau de 138%. Suite à la supplémentation, une augmentation de 68% de la concentration plasmatique des cétones a été observée à jeun (de  $83 \pm 8$  à  $140 \pm 51 \mu\text{M}$ ) et une augmentation de 52% à 6 h suivant la prise du supplément de MCT (de  $190 \pm 25$  à  $290 \pm 59 \mu\text{M}$ ). Par contre aucune augmentation de la moyenne journalière n'a été observée [Figure 9].

Aucun changement des concentrations de glucose plasmatique n'a été observé chez les participants suite à la supplémentation [Figure 10]. Aucune modification des niveaux plasmatiques de cholestérol, de triglycérides ou d'acides gras libres n'a été observés suite au supplément [Figure 10].

### 3.1.3 Profils en acides gras

Les analyses par chromatographie en phase gazeuse des échantillons (T0, T1 et T6) de l'étude L1 n'ont détecté aucune incorporation d'acides gras de moyennes chaînes (8 :0 , 10 :0 et 12 :0) dans aucune des quatre classes d'acides gras plasmatiques analysés (TG, AGL, CE, PL) suite à la prise du Liquigen® composé à 55% de 8 :0 selon des analyses effectuées dans notre laboratoire par chromatographie en phase gazeuse (80% selon la SHS-nutrition). Le profil en acides gras totaux n'a pas changé suite à la supplémentation [Tableau 7], ni en pourcentage, ni en concentration.

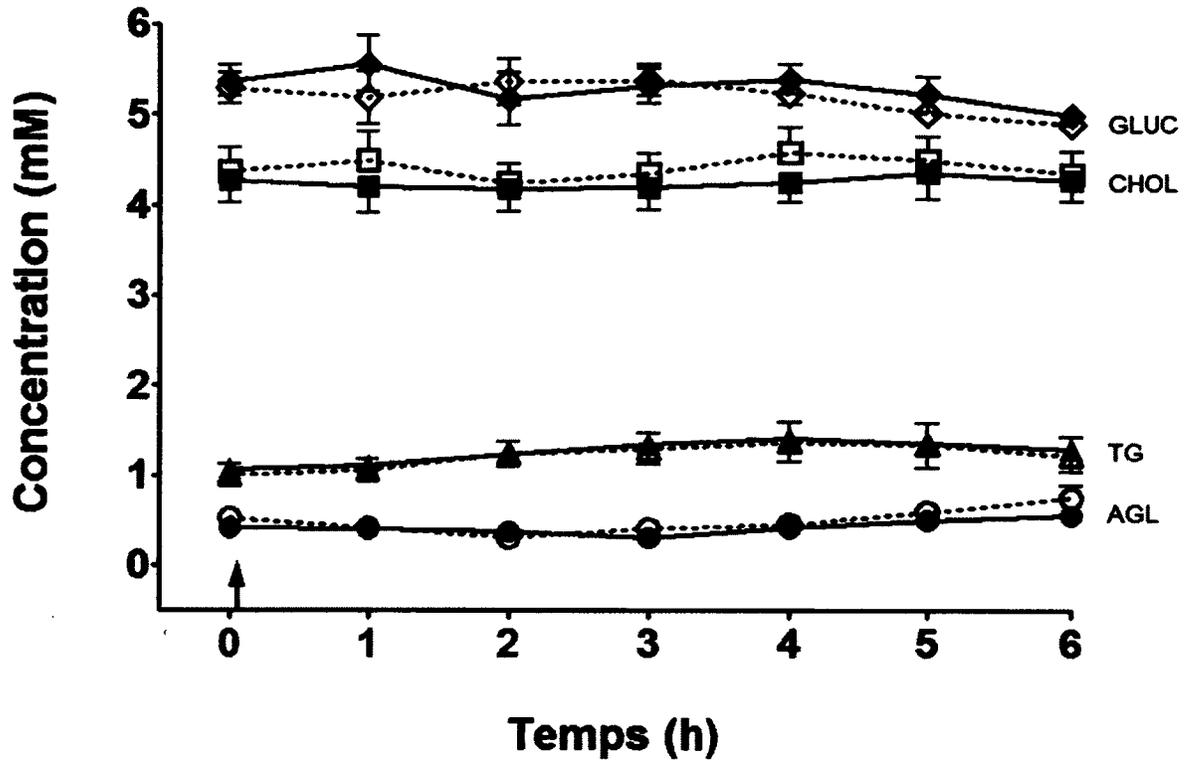


**Figure 9 :** Concentrations plasmatiques de (A) l'acétoacétate, (B) du  $\beta$ -hydroxybutyrate et (C) des deux cétones combinées durant les journées métaboliques de l'étude Liquigen 1 avant (■) et après ( $\Delta$ ) la supplémentation de 2 semaines au Liquigen® (3 fois par jour). M : moyenne de la journée métabolique.

Moyenne  $\pm$  ET; [n=10].

\* : p < 0,05 vs. avant la supplémentation

↑ : Prise du déjeuner et des 15 g MCT



**Figure 10 :** Concentrations plasmatiques du glucose, du cholestérol, des triglycérides et des acides gras libres durant les journées métaboliques de l'étude Liquigen 1 avant (—) et après (- - -) la supplémentation de 2 semaines au Liquigen® (3 fois par jour)

Moyenne  $\pm$  ET, [n=10].

↑ : Prise du déjeuner et des 15 g MCT

**Tableau 7** : Profil en acides gras totaux\* dans le plasma des participants du projet Liquigen 1 analysé par chromatographie en phase gazeuse.

	Concentration (mg/dl)		Pourcentage	
	Avant	Après	Avant	Après
8:0	trace <sup>#</sup>	trace <sup>#</sup>	trace <sup>#</sup>	trace <sup>#</sup>
10:0	trace <sup>#</sup>	trace <sup>#</sup>	trace <sup>#</sup>	trace <sup>#</sup>
14:0	1,5	1,9	0,5	0,6
16:0	70,4	67,5	21,9	20,3
18:0	24,0	42,0	7,5	12,6
<b>SATURÉS</b>	<b>96,1</b>	<b>111,6</b>	<b>29,9</b>	<b>33,6</b>
16:1 n-7	4,5	4,7	1,4	1,4
18:1 n-7	43,9	47,2	13,6	14,2
18:1 n-9	27,1	24,0	8,4	7,2
<b>MUFA</b>	<b>76,0</b>	<b>77,5</b>	<b>23,6</b>	<b>23,3</b>
18:2 n-6	111,5	106,5	34,6	32,1
18:3 n-6	1,0	0,7	0,3	0,2
20:3 n-6	5,4	2,6	1,7	0,8
20:4 n-6	23,1	23,3	7,2	7,0
<b>n-6 PUFA</b>	<b>141,1</b>	<b>139,2</b>	<b>43,8</b>	<b>41,9</b>
18:3 n-3	0,6	1,4	0,2	0,4
20:5 n-3	2,6	1,0	0,8	0,3
22:5 n-3	1,2	0,2	0,4	0,1
22:6 n-3	4,2	1,1	1,3	0,3
<b>n-3 PUFA</b>	<b>8,7</b>	<b>4,0</b>	<b>2,7</b>	<b>1,2</b>
<b>TOTAL</b>	<b>321,9</b>	<b>332,2</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>

Moyennes [n=10]

\* Les acides gras totaux comprennent les acides gras qui proviennent des triglycérides, les acides gras libres, les esters de cholestérol et les phospholipides.

<sup>#</sup> trace = < 0,5% ou < 1 mg/dl

## 3.2 Étude L2

### 3.2.1 Données anthropométriques

L'âge moyen des huit participants à l'étude était de  $26 \pm 1$  ans et le groupe était composé de 6 hommes et de 2 femmes. Tous les participants étaient non-fumeurs et en bonne santé, leurs paramètres biochimiques mesurés lors de la visite de présélection sont indiqués dans le Tableau 8.

Tous les sujets ont complété les 4 semaines de protocole. Aucun effet secondaire n'a été rapporté par les participants. Il n'y a pas eu d'altération du poids (Tableau 8) ou de la composition corporelle (Tableau 9) chez les participants. Aucun changement n'a été observé dans les valeurs plasmatiques à jeun des participants (Tableau 9).

**Tableau 8 : Paramètres démographiques et biochimiques des participants à l'étude Liquigen 2 avant le début de la supplémentation en MCT\*.**

Âge (années)	26 ± 1
Sexe (H/F)	6/2
Poids (kg)	73 ± 4
Taille (cm)	177 ± 2
Indice de masse corporelle (kg/m <sup>2</sup> )	23 ± 1
Albumine (g/L)	45,8 ± 0,4
AST (UI/L)	20 ± 2
ALT (UI/L)	19 ± 3
TSH (mUI/L)	1,90 ± 0,37
Cholestérol-LDL (mM)	2,26 ± 0,27
Cholestérol-HDL (mM)	1,47 ± 0,13
Cholestérol total (mM)	4.2 ± 0.3
Triglycérides (mM)	0.95 ± 0.17
HbA1c (%)	5,1 ± 0,08
Créatinine (µM)	74 ± 3

Moyennes ± ET [n=8]

\* Supplémentation de 6 jours à 40 g/jour suivi de 22 jours à 60 g/jour.

**Tableau 9 : Valeurs plasmatiques à jeun des participants au projet L2 avant et après une supplémentation en MCT<sup>a</sup>.**

	<b>Avant</b>	<b>Après</b>
AcAc ( $\mu\text{M}$ )	39 $\pm$ 6	68 $\pm$ 24
$\beta\text{OHb}$ ( $\mu\text{M}$ )	111 $\pm$ 15	193 $\pm$ 59
Cétones ( $\mu\text{M}$ )	150 $\pm$ 19	261 $\pm$ 78
Glucose (mM)	5,4 $\pm$ 0,2	5,6 $\pm$ 0,1
Insuline ( $\mu\text{U/ml}$ )	5,0 $\pm$ 0,7	5,3 $\pm$ 0,9
Cholestérol (mM)	4,7 $\pm$ 0,3	4,9 $\pm$ 0,3
Triglycérides (mM)	1,1 $\pm$ 0,2	1,0 $\pm$ 0,1
Acides gras libres ( $\mu\text{M}$ )	580 $\pm$ 90	500 $\pm$ 80
Masse grasse (%)	21,7 $\pm$ 3,8	21,9 $\pm$ 3,8

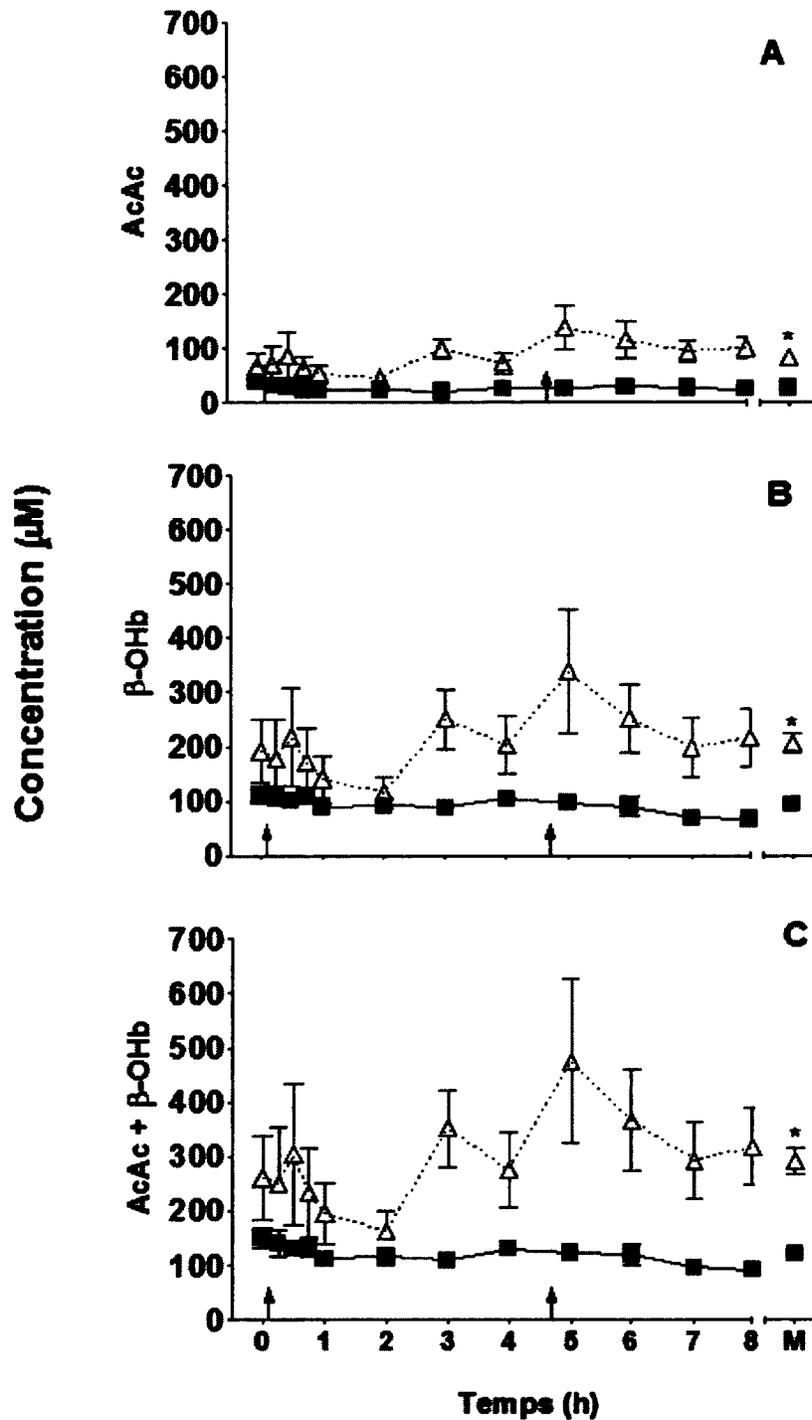
Moyennes  $\pm$  ET, [n=8]

<sup>a</sup> : Supplémentation de 6 jours à 40 g/jour suivi de 22 jours à 60 g/jour.

### 3.2.2 Résultats plasmatiques

Après les quatre semaines de prise de MCT une augmentation des cétones plasmatiques était observée à 3, 5, 6, 7 et 8 h après le début de la journée métabolique. Avec un maximum de concentration à 5 h à  $476 \pm 152 \mu\text{M}$  après la supplémentation comparativement à un maximum de concentration à jeun à  $150 \pm 18 \mu\text{M}$  avant la supplémentation [Figure 11]. La moyenne des concentrations de la journée est significativement augmentée suite à la supplémentation ( $p=0,002$ ). La normalisation des données à temps 0 (100%) montre une augmentation soutenue des cétones jusqu'à 3 h (313%) et une stabilisation des concentrations de cétones totales entre 300 et 200% [Figure 12]. Le rapport  $\beta\text{OHb}/\text{AcAc}$  diminue significativement après la supplémentation de 3,8 à 2,8 en moyenne ( $p=0,019$ ) [Figure 13].

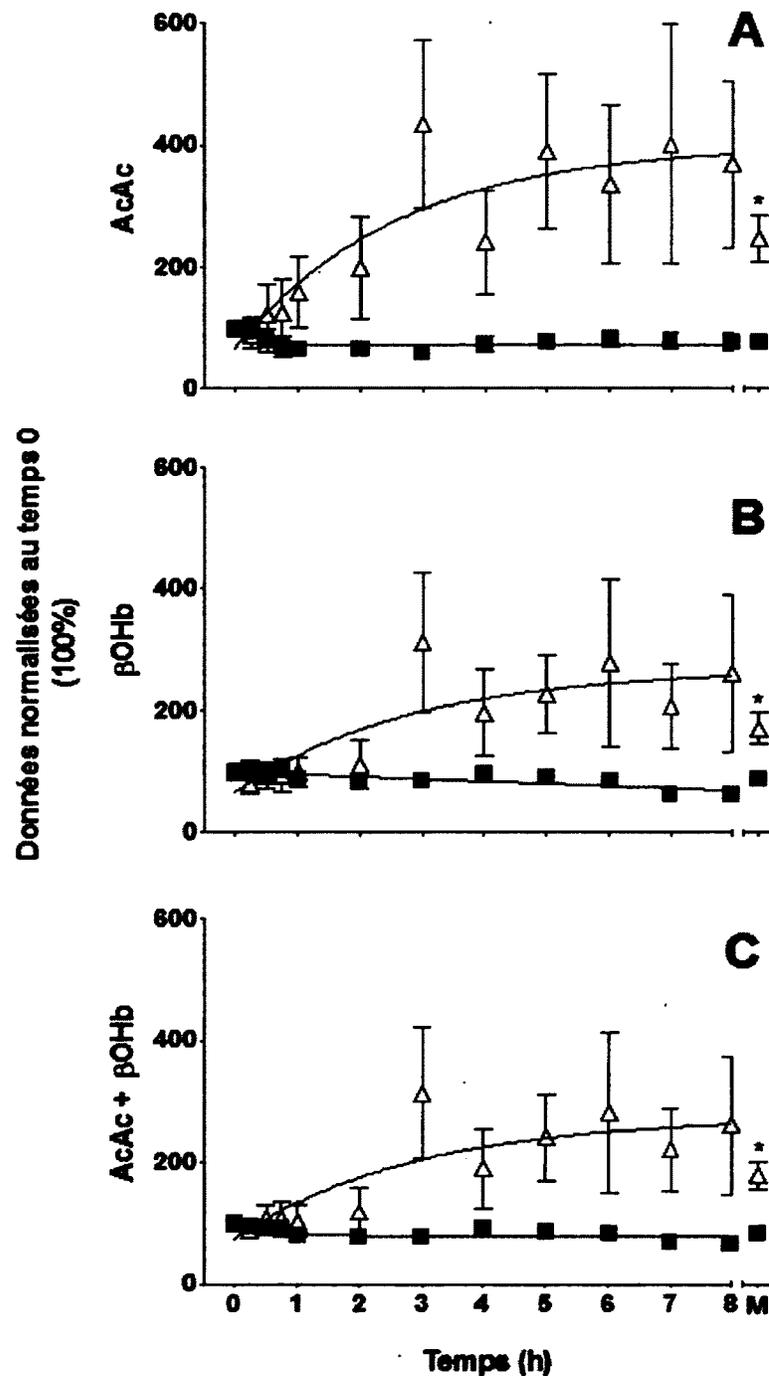
Aucun changement n'a été observé, entre le début et la fin de la supplémentation, dans les concentrations plasmatiques de glucose [Figure 14B] et d'insuline [Figure 14A] des participants. Aucune variation significative des niveaux plasmatiques de triglycérides n'a été mesurée. Une légère diminution des niveaux plasmatiques de cholestérol (de  $5,0 \pm 0,5 \text{ mM}$  à  $4,9 \pm 0,3 \text{ mM}$ ) a été observée 4 h après le début de la journée d'étude. Les acides gras libres ont été légèrement influencés par la supplémentation; une légère baisse (de  $0,48 \pm 0,08 \text{ mM}$  à  $0,37 \pm 0,07 \text{ mM}$ ) à 4 h suivant le début de la journée métabolique ainsi que deux légères hausses (de  $0,33 \pm 0,04 \text{ mM}$  à  $0,47 \pm 0,08 \text{ mM}$  et de  $0,25 \pm 0,03 \text{ mM}$  à  $0,40 \pm 0,04 \text{ mM}$ ) à respectivement 5 h et 6 h suivant le début de la journée métabolique ont été observées par rapport aux valeurs de base [Figure 15]. Mais en moyenne les concentrations n'étaient pas significativement différentes.



**Figure 11 :** Concentrations plasmatiques de (A) l'acétoacétate, (B) du  $\beta$ -hydroxybutyrate et (C) des deux cétones combinées durant les journées métaboliques de l'étude Liquigen 2 avant (■) et après ( $\Delta$ ) la supplémentation de 4 semaines au Liquigen® (4 fois par jour). M : moyenne de la journée métabolique. Moyenne  $\pm$  ET; [n=8].

\* :  $p < 0,05$  vs. avant la supplémentation

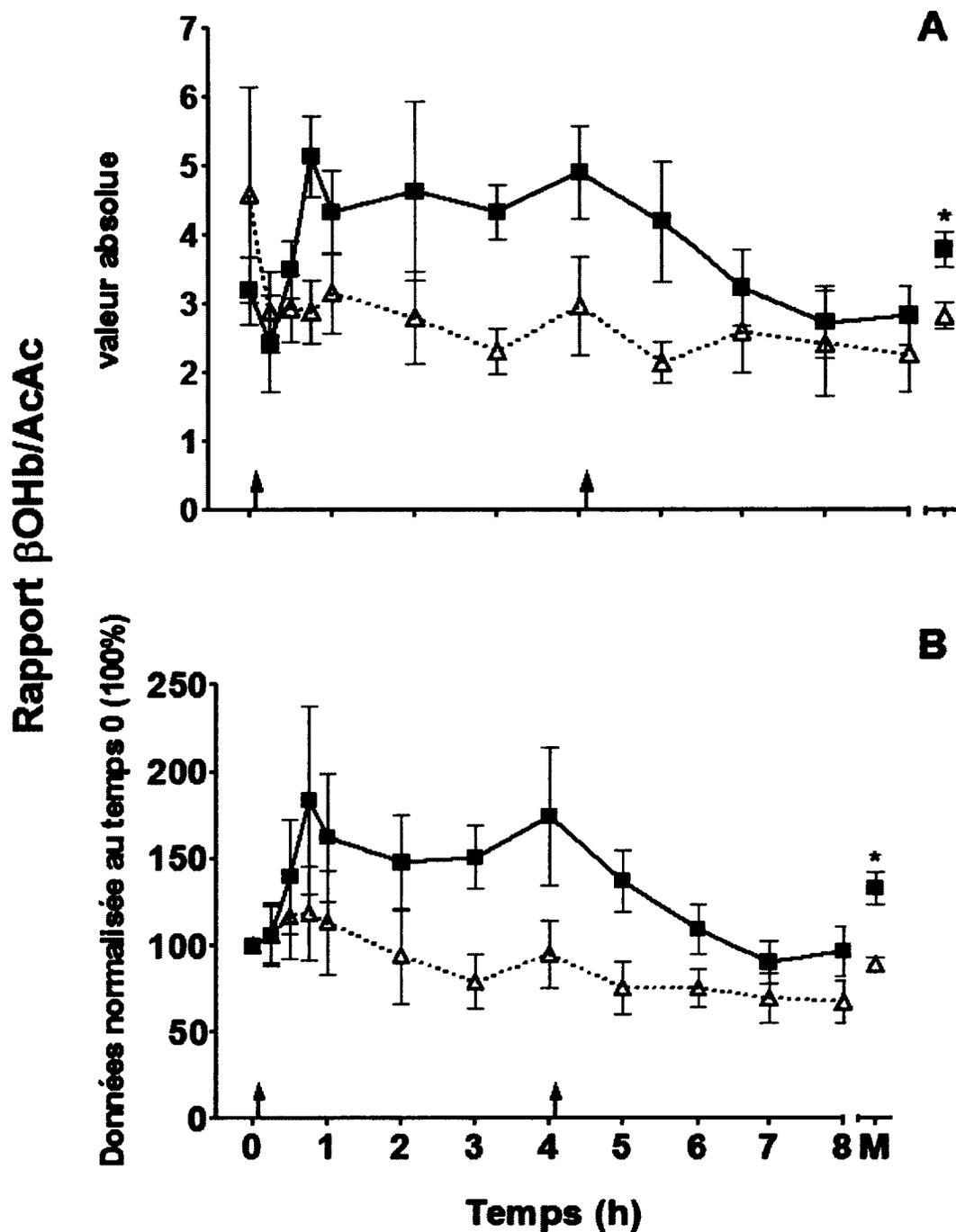
↑ : Prise du déjeuner et des 15 g de MCT



**Figure 12:** Concentration plasmatiques de (A) l'acétoacétate, (B) du  $\beta$ -hydroxybutyrate et (C) des deux cétones combinées durant les journées métaboliques de l'étude Lipoigen 2 avant (■) et après ( $\Delta$ ) la supplémentation de 4 semaines au Lipoigen® (4 fois par jour). M : moyenne de la journée métabolique. Moyenne  $\pm$  ET; [n=8]

\* :  $p < 0,05$  vs. avant la supplémentation

↑ : Prise du déjeuner et des 15 g MCT

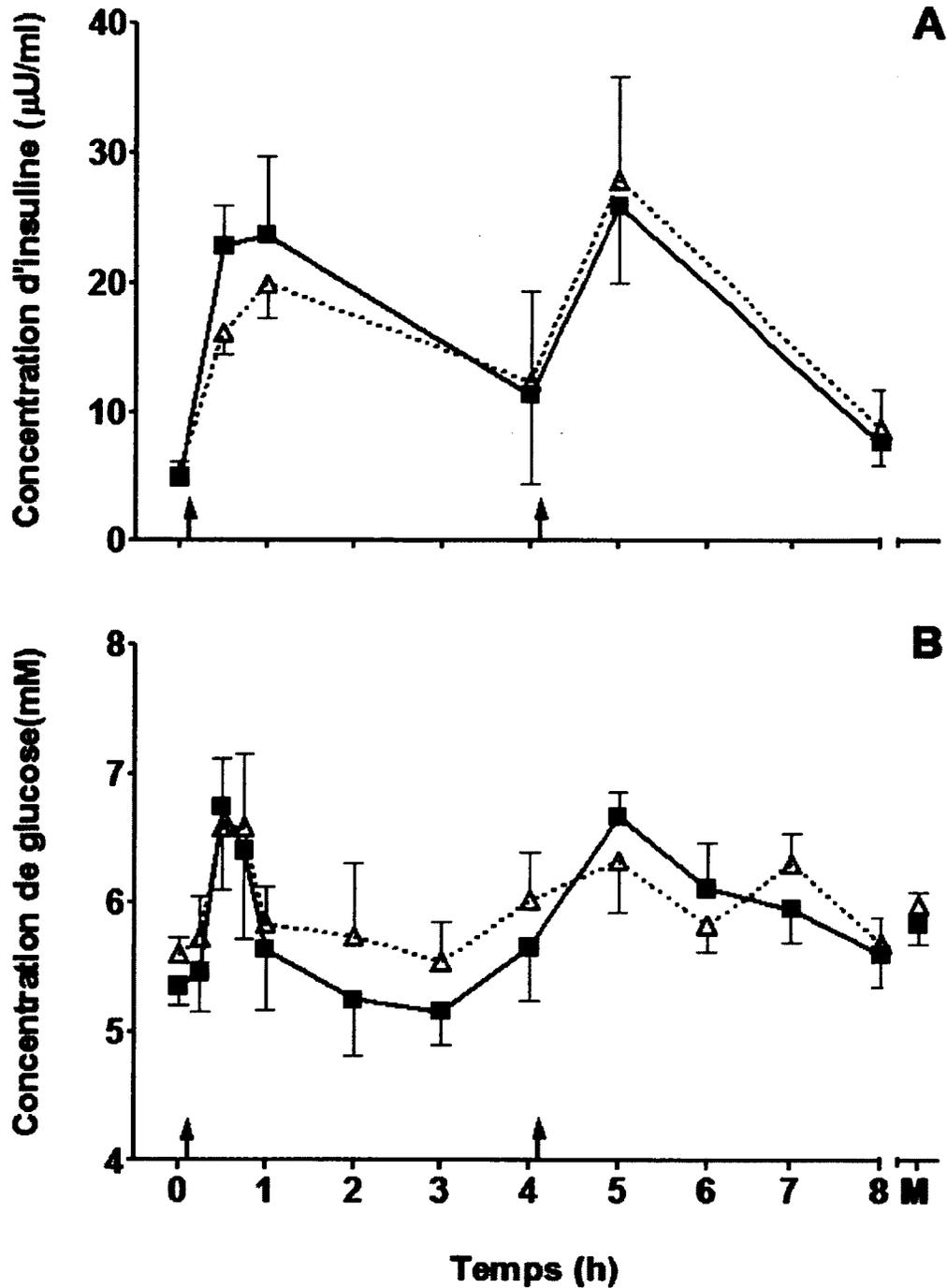


**Figure 13 :** Rapport des concentrations plasmatiques du  $\beta$ -hydroxybutyrate sur celles de l'acétoacétate chez les participants du projet Liquigen 2 avant ( $\blacksquare$ ) et après ( $\triangle$ ) la supplémentation de 4 semaines au Liquigen®. M : moyenne de la journée métabolique.

Moyennes  $\pm$  ET; [n=8]

\* :  $p < 0,05$ . vs. avant la supplémentation

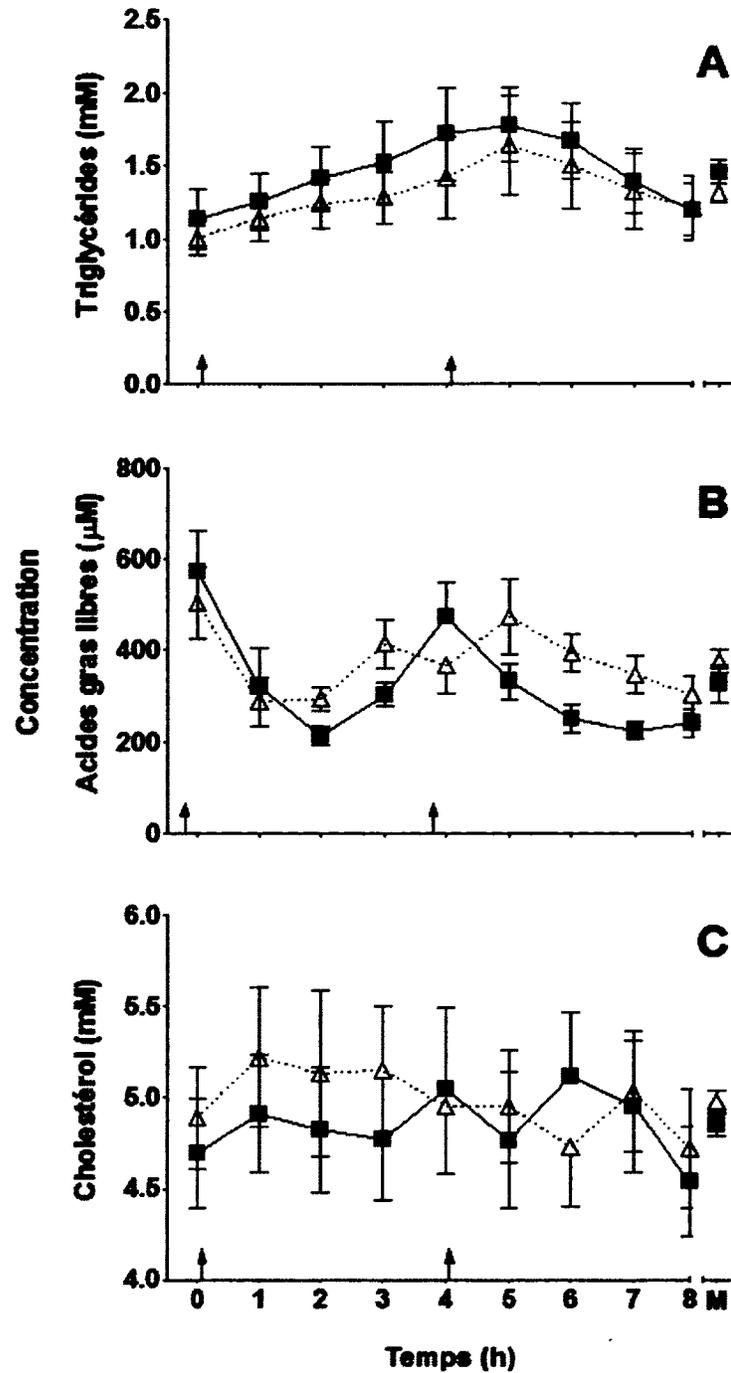
$\blacktriangle$  : Prise du déjeuner et des 15 g MCT



**Figure 14 :** Concentrations plasmatiques de l'insuline (A) et du glucose (B) durant les journées métaboliques de l'étude Liquigen 2 avant (■) et après (Δ) la supplémentation de 4 semaines au Liquigen® (4 fois par jour). M : moyenne de la journée métabolique.

Moyenne  $\pm$  ET; [n=8]

↑ : Prise du déjeuner et des 15 g MCT



**Figure 15 :** Concentrations plasmatiques des triglycérides (A), des acides gras libres (B) et du cholestérol (C) durant les journées métaboliques de l'étude Liquigen 2 avant (■) et après (Δ) la supplémentation de 4 semaines au Liquigen® (4 fois par jour). M : moyenne de la journée métabolique.

Moyenne  $\pm$  ET; [n=8]

\* :  $p < 0,05$  vs. avant la supplémentation

↑ : Prise du déjeuner et des 15 g MCT

### 3.2.3 Études traceur

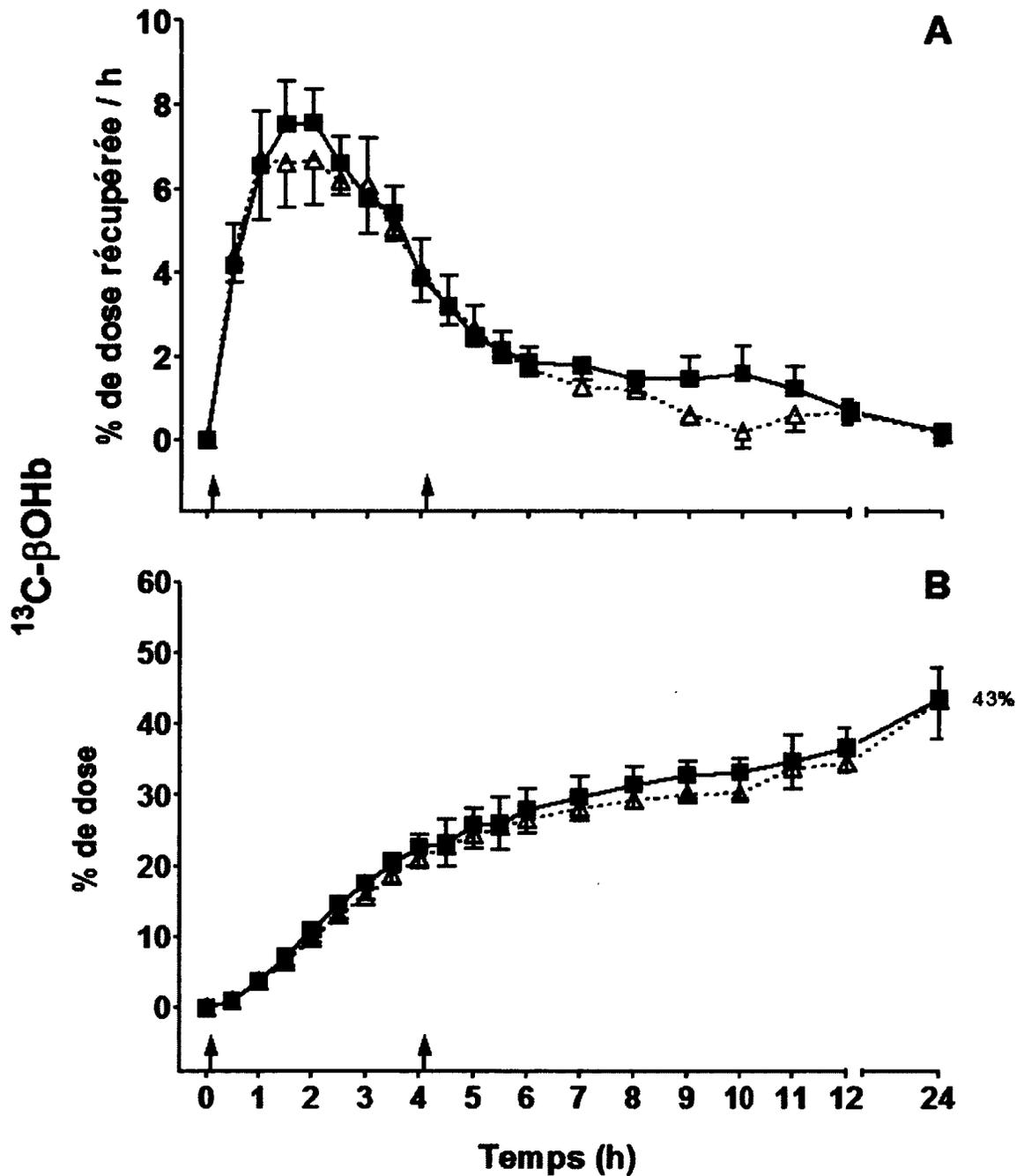
L'oxydation des traceurs  $^{13}\text{C}$ - $\beta\text{OHb}$  et  $^{13}\text{C}$ -trioctanoate a été évaluée en comparant l'aire sous la courbe (AUC) des courbes de pourcentage de doses retrouvées dans l'haleine (PDR), ainsi qu'en comparant l'oxydation cumulative sur 12 h et à 24 h après le traceur pour évaluer l'utilisation du traceur par le corps.

#### 3.2.3.1 Traceur $^{13}\text{C}$ - $\beta\text{OHb}$

L'observation de la courbe du PDR du traceur de  $^{13}\text{C}$ - $\beta\text{OHb}$  montre une augmentation rapide de l'oxydation durant les 2 premières heures suivant la prise du traceur. À partir de 2 h 30 suivant la prise, les pourcentages d'oxydation commencent à diminuer pour revenir à la valeur de base après 24 h. Aucune différence significative n'a été observée dans les courbes de PDR entre le début et la fin de l'étude de supplémentation [Figure 16A]. Aucune différence significative n'a été observée dans l'oxydation cumulative du traceur [Figure 16B], les deux courbes atteignant une oxydation cumulative de 43%.

#### 3.2.3.2 Traceur de $^{13}\text{C}$ -trioctanoate

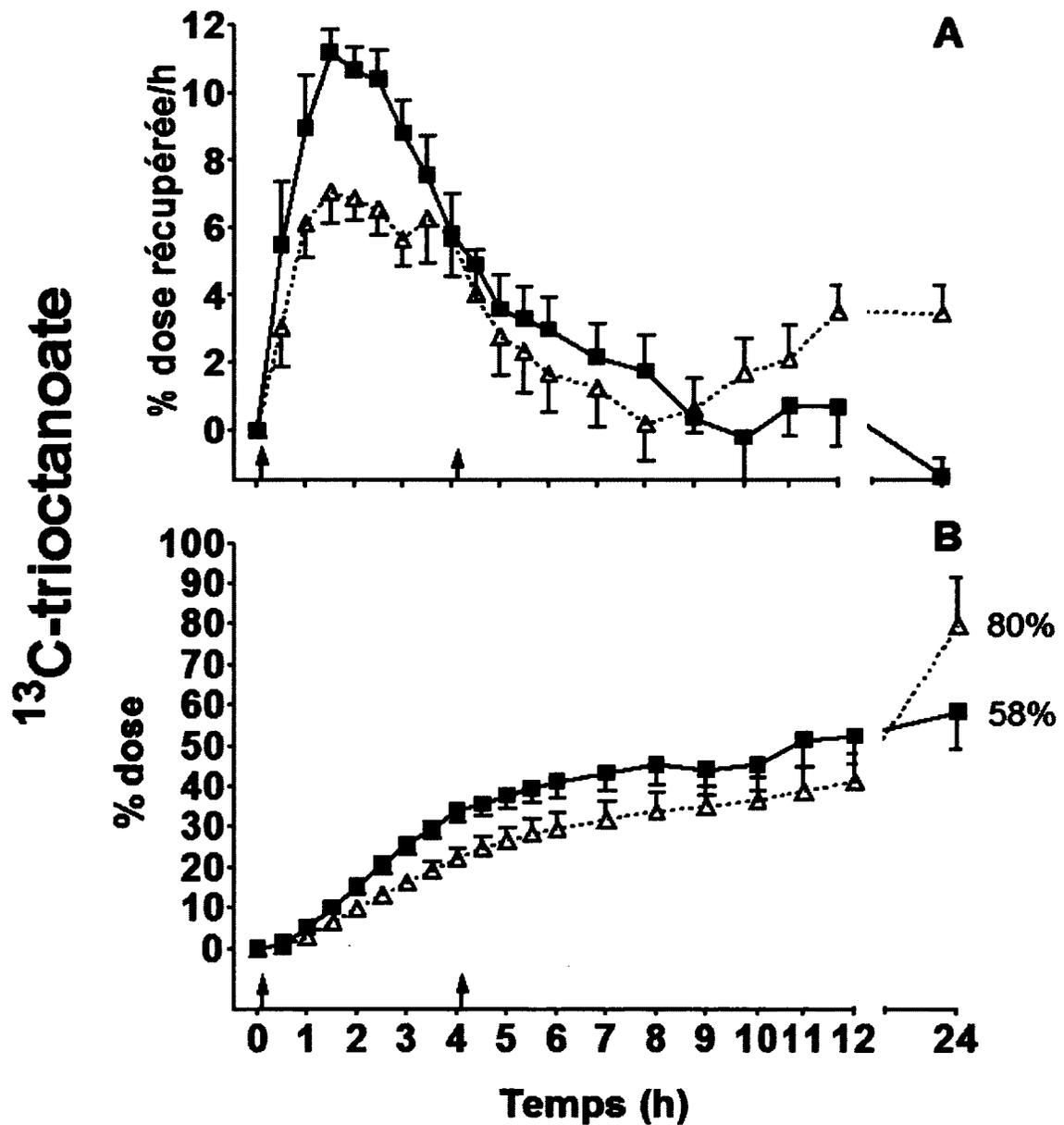
Les courbes de PDR montrent une rapide augmentation lors des 3 premières heures suivant la prise du  $^{13}\text{C}$ -trioctanoate [Figure 17A]. Cette augmentation est plus rapide avant la prise de la supplémentation et elle atteint des niveaux plus élevés entre 2 h et 4 h suivant la prise. Avant la supplémentation l'oxydation revient à des niveaux de base à 10 h suivant la prise du traceur alors qu'après la supplémentation, une deuxième augmentation, est observée à partir de 8 h suivant la prise du traceur. L'oxydation cumulative montre des pourcentages plus bas suivant la supplémentation durant les 12 premières heures mais 22% (58% avant vs 80% après) plus haut, après 24 h [Figure 17B].



**Figure 16** : Pourcentage de dose récupéré par heure (A) et oxydation cumulative (B) du traceur  $^{13}\text{C-}\beta\text{-hydroxybutyrate}$  avant (■) et après (Δ) la supplémentation de 4 semaines au Liquigen® (4 fois par jour)

Moyennes  $\pm$  ET; [n=8].

↑ : Prise du déjeuner et des 15 g MCT



**Figure 17** : Pourcentage de dose récupéré par heure (A) et oxydation cumulative (B) du traceur  $^{13}\text{C}$ -trioctanoate avant (■) et après (Δ) la supplémentation de 4 semaines au Liquigen® (4 fois par jour)

Moyennes  $\pm$  ET; [n=8].

\* :  $p < 0,05$  vs. avant la supplémentation

↑ : Prise du déjeuner et des 15 g MCT

## 4. Discussion et conclusions

Ce projet de maîtrise avait comme objectif principal d'évaluer le potentiel cétogène à long terme des MCT chez des humains adultes en santé et d'observer les effets d'une telle supplémentation sur le métabolisme énergétique et lipidique.

### 4.1 Étude L1

#### 4.1.1 Effet cétogénique

Cette première étude était destinée à observer les effets secondaires ressentis par les participants lors d'une prise de Liquigen® de 2 semaines, et quelles étaient les doses les plus efficaces et sécuritaires pour induire une cétogénèse modérée sans avoir d'effets secondaires notables.

Une augmentation des valeurs de cétonémie a été observée à jeun et en fin de journée après les deux semaines de supplémentation en MCT. Ces deux périodes de la journée correspondent à des moments où les niveaux d'insuline sont les plus bas puisque dans le premier cas les participants sont à jeun depuis les douze dernières heures et dans le deuxième cas depuis les six dernières heures. Ces observations suggèrent que le corps synthétise une quantité supérieure de cétones suite à une prise de substrats facilement oxydable (MCT) de deux semaines comparativement aux conditions basales.

Aucune modification significative n'a été apportée à la diète des participants, outre les légères diminutions de prise alimentaire rapporté par certains d'entre eux. Ces diminutions, probablement causées par l'effet anorexigène des MCT (St-Onge et Jones 2002), n'ont pu être quantifiées par manque de données sur l'apport nutritionnel des participants. Toutefois, pour atteindre les niveaux de cétonémie de l'étude L2, les participants auraient dû diminuer à environ 1200 kcal par jour leur apport alimentaire ce qui semble improbable (Wolfe et al. 2004). Nous pouvons donc raisonnablement penser que l'augmentation des concentrations plasmatiques

à jeun des cétones à la visite post-traitement est causée par l'ajout des MCT (Freund et Weinsier 1966). Nos résultats montrent que la prise de MCT a causé une importante hausse des cétones une heure après la prise du supplément de MCT. Effectivement, il a déjà été démontré que les MCT ont un effet rapide sur la cétonémie plasmatique (Freund et Weinsier 1966; Reger et al. 2004; Freemantle et al. 2009; Page et al. 2009). L'analyse par chromatographie en phase gazeuse n'a révélé que des traces de MCT dans le plasma des participants, et ce même après la supplémentation. Ces données semblent démontrer que l'absorption des MCT se fait principalement via la veine porte hépatique et que ceux-ci se rendent que très rarement au niveau de la circulation générale comme cela a déjà été démontré (Guillot et al. 1993; Ramirez et al. 2001).

Cependant, des études nous portent à croire que la durée de la supplémentation de cette première étude (2 semaines) ne serait pas suffisante afin d'observer un effet des MCT à long terme sur les cétones. L'équipe d'Henderson et al (2009) ont montré qu'une supplémentation quotidienne en MCT de 90 jours avait le pouvoir de potentialiser la réponse cétogénique de 400 % ce qui avait un impact favorable sur les fonctions cognitives. Ils n'ont toutefois pas mesuré systématiquement les concentrations de cétones durant la journée et n'ont donc pas pu montrer que cette augmentation se maintenait tout au long de la journée et non seulement dans les quelques heures suivant la prise du supplément.

#### 4.1.2 Effets secondaires

Le seul effet secondaire notable rapporté par les participants était des inconforts gastro-intestinaux occasionnés par la plus grosse dose donnée soit celle de 40 ml par repas. Il est fort possible qu'une telle dose de lipides absorbée d'un seul coup puisse occasionner un tel problème chez des personnes qui ne seraient pas habituées à ce style d'alimentation. Cette observation a guidé notre choix d'éliminer cette dose dans des études subséquentes. Nous avons donc fixé maximum toléré par repas serait de 30 ml de Liquigen® soit 15 g de MCT afin de limiter les effets indésirables.

Aucun changement significatif n'a été rapporté après les analyses des paramètres plasmatiques des participants autres que la hausse des cétones. Malgré certaines inquiétudes dues au fait de l'importante charge de triglycérides donnée aucune différence significative à ce niveau n'a été notée (TG pré : 1,1 mmol/L; TG post : 1,0 mmol/L) ce qui confirme la métabolisation rapide de ces triglycérides de moyennes chaînes. Ces observations appuient les données déjà connues affirmant que les MCT, à l'opposé des AGLC, ne se retrouvent pratiquement pas au niveau de la circulation systémique et sont majoritairement absorbés au niveau du duodénum et de l'intestin grêle et métabolisés par le foie immédiatement après leur absorption (Guillot et al. 1993; Ramirez et al. 2001).

## 4.2 Étude L2

### 4.2.1 Effet cétogénique

Les doses les mieux tolérées et les effets secondaires ont été répertoriés lors de l'étude L1 qui nous avait montré une hausse importante immédiatement après la prise du supplément mais une baisse toute aussi importante dans les heures suivantes. Lors de l'étude L2, il était question de la mise au point d'une supplémentation efficace pour soutenir une concentration plasmatique modérée de cétones au travers d'une journée. L'étude L1

Afin d'obtenir une valeur de cétonémie à jeun se rapprochant davantage des valeurs obtenues suite à la prise du supplément, nous avons choisi d'introduire une dose supplémentaire avant le coucher. Cette dose était bien tolérée par les participants et n'apportait pas d'inconforts supplémentaires. La dose maximale a aussi été maintenue à 15 g afin de ne pas occasionner les inconforts rencontrés lors du premier projet. La dose totale était donc de 60 g par jour, soit l'équivalent du premier. Cette dose est 3 fois plus importante que celle donnée par l'équipe du Dr. Henderson qui était de 20 g de MCT par jour. Toutefois, la cétonémie maximale atteinte par Henderson et al (2009) était de 0,4 mM, en-dessous du 0,6

mM obtenu par notre équipe et de l'objectif de 1 à 2 mM visé qui nous permettraient de combler les déficits énergétiques observés au cerveau lors de MA (Cunnane et al. 2011).

Nos résultats montrent une augmentation significative des cétones suite à la supplémentation qui se stabilise à 400% des concentrations de base à 3 h post-supplément. Les cétones combinées grimpent de façon importante mais lorsque prises séparées, on remarque que l'AcAc grimpe en proportion environ 1,5x plus que le  $\beta$ OHb. L'ajout de la quatrième dose réussit à maintenir une cétonémie légèrement élevée durant la nuit comme le montre la concentration plasmatique de cétone de 241 mM à temps 0 (vs 150 avant la supplémentation).

Un changement se produit aussi au niveau du métabolisme des MCT qui diminue immédiatement après la prise du traceur  $^{13}\text{C}$ -trioctanoate mais qui augmente 9 h plus tard. Aucun changement n'a toutefois été remarqué avec le traceur  $^{13}\text{C}$ - $\beta$ OHb suite à la supplémentation. Cette absence de changement pourrait être expliquée par une absence de déficit énergétique chez les participants, le corps ayant ainsi amplement d'énergie avant et après la supplémentation n'a pas de raison de changer la manière dont il utilise les substrats à sa disposition. Il est plausible de croire qu'une personne montrant une diminution du métabolisme cérébrale du glucose ne présenterait pas les mêmes résultats puisque le cerveau de ces personnes utiliserait les cétones présentes (London et al. 1986; Cunnane et al. 2011).

L'analyse en parallèle des résultats de la cétonémie des études L1 et L2 semble montrer des résultats différents. Dans l'étude L1 une hausse importante était observée dès la première heure suivie d'un retour aux concentrations de base dans l'heure suivante. Ces résultats semblent concorder avec les études subséquentes utilisant des MCT où les analyses étaient faites durant les 2 h suivant la prise du supplément (Reger et al. 2004; Henderson et al. 2009; Page et al. 2009). Par la suite, les concentrations remontent à la fin de la journée d'étude

mais cette hausse est fort possiblement causée par l'état de jeûne qu'expérimentent les participants. Par contre, l'analyse des changements de cétonémie lors de l'étude L2 montre un tout autre profil. Une légère hausse est observable dans les minutes suivant la première prise du supplément mais la hausse majeure des niveaux de cétones s'observe 3 h suivant cette dose et semble se maintenir pour le reste de la journée d'étude. Il est possible qu'une supplémentation plus longue (comme dans l'étude L2) améliorerait la capacité du corps à utiliser les cétones en augmentant les transporteurs (Puchowicz et al. 2007) et les enzymes de la cétolyse (Meertens et al. 1998). Toutefois, l'oxydation du traceur  $^{13}\text{C}$ - $\beta\text{OHb}$  [Figure 17] nous montre que l'oxydation des cétones ne semble pas changer après la supplémentation, tendant ainsi à infirmer cette théorie. Cette différence reste donc à être expliquée lors d'études subséquentes.

La stabilité de la cétonémie sur 24 h, qui n'était pas présente lors de L1, est probablement due à la deuxième dose introduite dans L2. Nous pouvons donc affirmer que les doses multiples semblent essentielles au maintien d'une cétonémie modérée durant 24 h.

Une grande variabilité interindividuelle dans les concentrations de cétones est observée et peut être due à une multitude de facteurs dont le niveau d'activité physique du participant, le repas pris le soir précédant la visite, le stress, etc (Walsh et al. 1998). Il est aussi intéressant de noter la baisse transitoire du rapport  $\beta\text{OHb}/\text{AcAc}$  observé lors de L2, c'est-à-dire une augmentation de la proportion d'AcAc dans les cétones totales.

Lorsque l'on observe le catabolisme des cétones, par contre, on ne remarque aucun changement suite à l'intervention. Le pourcentage de dose récupérée par heure dans l'haleine du traceur  $^{13}\text{C}$ - $\beta\text{OHb}$  reste le même qu'avant la supplémentation, avec un pic maximal à 8% à 2 h post prise du traceur. Ces données concordent avec les valeurs obtenues chez l'humain lors d'une étude précédente de notre laboratoire (Freemantle et al. 2009) où le pic maximal

d'oxydation se situait aussi à 8%. Toutefois, lors de cette étude on note une diminution moins rapide de l'oxydation avec le temps, ce changement s'explique par le déjeuner cétogène qui était donné lors de la journée d'étude alors que dans le présent projet, le déjeuner était standard. Le déjeuner cétogène de l'étude de Freemantle et al (2009) était pratiquement dépourvu de glucides (4 parties de lipides pour 1 partie de glucide+protéines), forçant le corps à se servir d'avantage des cétones comme substrat énergétique ce qui contribuait à maintenir la  $\beta$ -oxydation du traceur.

Les données d'oxydation cumulative sont plus difficiles à comparer avec celles obtenues par Freemantle et al. (2009) puisque la méthode de calcul utilisée a été modifiée. La méthode utilisée par Freemantle et al. (2009) consistait à additionner la valeur de chacune des valeurs de PDR obtenues. Cette méthode avait tendance à surestimer l'oxydation cumulative puisqu'elle ne tenait pas compte de l'augmentation progressive du pourcentage d'oxydation entre 2 prises. Pour cette raison nous avons décidé de plutôt additionner l'aire sous la courbe entre chacun des points, ceci donnant une valeur plus près de la réalité et qui tient compte des différences d'écart en chacun des points (ex. : 30 min entre la prise à 0 h et celle à 30min et 12 h entre la prise à 12 h et celle à 24 h). Il nous a été possible, à l'aide des données originales du projet de 2009, de calculer les valeurs d'oxydation cumulative avec la méthode révisée. Les valeurs obtenues sont supérieures (61%) à celles du projet L2 (43%), principalement explicable par le déjeuner cétogène donné en 2009, mais elles se rapprochent de nos valeurs.

#### 4.2.2 Métabolisme des MCT

Comme mentionné précédemment, les MCT semblent être  $\beta$ -oxydés rapidement puisque seulement quelques minutes suivant la prise d'un supplément une hausse rapide et significative des cétones est observée. Tel que vu dans la littérature, les MCT sont rapidement absorbés sous la forme d'acides gras libres à leur sortie de l'estomac via la veine porte hépatique et sont métabolisés aussi plus rapidement par l'hépatocyte ne nécessitant pas l'intervention du transporteur CPT

pour entrer dans la mitochondrie (Bach et Babayan 1982). Il est toutefois intéressant de remarquer les changements dans l'oxydation du traceur de MCT. Avant la supplémentation une hausse rapide de l'oxydation du traceur est observée dans les 2 à 3 h suivant son ingestion et une diminution jusqu'au niveau de base par la suite. Cette hausse représente les MCT  $\beta$ -oxydés puis utilisés comme source d'énergie, puisque le  $^{13}\text{CO}_2$  mesuré dans l'haleine provient du cycle de Krebs. Suite à la supplémentation, une hausse est également observée mais est plus faible. Il y a ensuite une diminution qui ramène les niveaux près de leur point de départ et une deuxième augmentation à partir de 9 h suivant la prise du traceur et qui se poursuit jusqu'à 24 h. Ceci résultant en une augmentation de 22% de l'oxydation cumulative suite à la supplémentation. Ce changement pourrait s'expliquer par une diminution de l'utilisation immédiate des acétyl-CoA issus de la  $\beta$ -oxydation des MCT comme substrat énergétique et par une augmentation de leur conversion en cétones; qui seraient par la suite distribuées dans le corps et métabolisées, expliquant ainsi la deuxième hausse observée suite à la supplémentation. Des analyses par chromatographie en phase gazeuse couplée à une spectroscopie de masse seraient nécessaires pour confirmer cette hypothèse afin de prouver que les concentrations de cétones marquées au  $^{13}\text{C}$  dans le plasma sont bien augmentées suite à la supplémentation.

#### 4.2.3 Les MCT, les cétones et l'insuline

Il est intéressant de comparer les graphiques de cétones et d'insuline obtenus lors du projet L2. L'insuline est une hormone pancréatique reconnue pour inhiber la cétogenèse en diminuant notamment la lipolyse et la libération de TG par les cellules adipeuses mais aussi en réduisant la synthèse de l'HMG-CoA lyase, l'enzyme clé de la cétogenèse (Fukao et al. 2004) et en augmentant le captage des acides gras libres par le tissu adipeux (Dimitriadis et al. 2011). L'insuline étant sécrétée en réponse à une augmentation des concentrations plasmatiques de glucose (Voet et Voet 2005), une hausse des concentrations d'insuline est observée (Fig. :14B) après nos repas, correspondant avec des hausses des concentrations de glucose (Fig. :14A). Physiologiquement, cette hausse des

niveaux d'insuline devrait inhiber la production des cétones, mais suite à la supplémentation en MCT, une hausse significative des concentrations plasmatiques de cétones est observée à 5 h et ce, même en présence de hautes concentrations d'insuline. Ces données démontrent que les MCT permettent d'augmenter les cétones modérément malgré une hausse des niveaux d'insuline.

#### 4.2.4 Les MCT et la prise de poids

La prise du supplément pendant 4 semaines représente un apport calorique non négligeable à l'alimentation des participants. La prise de 15 g de MCT à raison de 4 fois par jour implique un apport supplémentaire de 540 kilocalories par jour. Cet apport supplémentaire aurait été susceptible de mener à un déséquilibre énergétique menant à une prise de poids. Pour cette raison, nous faisons passer un examen DXA avant et après la supplémentation pour suivre les changements au niveau de la composition corporelle des participants. L'absence de changement observée autant chez les hommes que chez les femmes nous conforte d'avantage au niveau de la sécurité des MCT en supplémentation chez l'humain, par contre une supplémentation de plus longue durée serait nécessaire afin de s'en assurer puisque les changements de composition corporelle apparaissent généralement après un déséquilibre énergétique prolongé. Puisque les MCT sont rapidement absorbés et métabolisés, ceux-ci ont très peu tendance à s'accumuler au niveau du tissu adipeux même lorsque donnés en grandes doses (Guillot et al. 1993). Ces résultats avaient déjà été notés chez l'humain puisque les MCT étaient déjà utilisés pour leurs effets anorexigènes chez des personnes obèses (Bach et Babayan 1982; St-Onge et Jones 2002).

#### 4.2.5 Autres effets

Puisque les MCT sont un produit qui est déjà utilisé dans diverses situations comme les maladies causant des problèmes de malabsorption des gras (maladie de Crohn, colite ulcéreuse, etc.) ou encore dans diverses diètes, la sécurité du

produit à long terme était déjà bien établie (Bach et Babayan 1982). Nos analyses plasmatiques vont aussi dans ce sens. Bien que nous haussions la disponibilité d'un substrat énergétique alternatif, les cétones, nous n'observons aucune variation des concentrations du glucose, substrat énergétique principal du corps humain. Il en est de même pour l'insuline qui varie en fonction des concentrations sanguines de glucose. Le métabolisme des lipides ne semblent pas non plus altéré par un apport important en triglycérides. Les concentrations plasmatiques de triglycérides, de cholestérol et d'acides gras libres restent presque identiques à leurs concentrations d'origine. Donc l'incorporation d'une importante source énergétique supplémentaire dans l'alimentation des participants ne semblent pas avoir créé un déséquilibre énergétique ou métabolique.

#### 4.2.6 Limites de l'étude

Certains facteurs viennent doivent toutefois être tenu en compte lors de l'analyse de ces données. La petite taille de l'échantillon, soit 8 participants, pourrait s'avérer insuffisant afin d'avoir une image claire de l'effet des MCT sur l'être humain. Il se peut en effet que cette faible puissance statistique nous ait empêché de détecter certains effets. Aussi, la courte durée de l'étude (4 semaines) ne permet pas de conclure hors de tout doute que la supplémentation n'ait eu aucun effet sur la composition corporelle puisque de tels changements s'effectuent habituellement sur une plus longue période de temps. Finalement, certains facteurs confondants tels le niveau d'activité physique, les apports alimentaires ou les niveaux de stress n'ont pas été mesurés durant l'étude. Ces facteurs peuvent influencer grandement la composition corporelle mais aussi les niveaux d'acides gras et de substrats énergétiques circulants (Stich et al. 2000; Peckett et al. 2011). L'absence de journal alimentaire ne nous a pas permis de mesurer les changements apportés à l'alimentation tels que rapporter par les participants (voir p. 39).

#### 4.3 Conclusion

Cette maîtrise avait pour but de mettre au point une supplémentation en MCT efficace et sécuritaire pour créer un état de cétonémie modérée chez des personnes en santé, sans apporter de modification à la diète ou au style de vie des participants. L'étude L1 nous a permis d'accumuler des données préliminaires sur l'effet des MCT à moyen terme sur la cétonémie à jeun et post-prandiale. Nous avons observé que 2 semaines de supplémentation en MCT nous permettaient de potentialiser légèrement l'effet cétogène des MCT sans toutefois nous donner une cétonémie modérée et soutenue. Il nous a aussi permis d'établir que la dose de 20 g par repas causait de légers inconforts chez la majorité des participants et devait ainsi être évitée dans de futurs projets. Ce projet a aussi montré que ces 2 semaines de supplémentation n'altéraient pas le profil lipidique des participants.

Suite aux conclusions de l'étude L1, la période de supplémentation a été allongée et les doses de MCT ont été modifiées lors de la mise sur pied de l'étude L2. Ces changements de protocole nous ont donné une cétonémie plus élevée et surtout plus stable se rapprochant des objectifs que nous nous étions fixés. L'utilisation d'isotopes stables nous permettant l'étude du métabolisme des cétones et des MCT nous a permis d'observer les changements dans l'anabolisme et le catabolisme des MCT; qui réussit à produire des cétones dans des conditions normalement peu propices c'est-à-dire en présence de hautes concentrations d'insuline. Finalement, nous avons encore montré la sécurité des MCT au niveau des concentrations lipidiques plasmatiques et de la prise de poids chez les participants. Cependant, afin d'arriver à nos objectifs, soit une cétonémie modérée d'environ 1 à 2 mM stable qui nous permettrait de pallier à la baisse d'utilisation du glucose observé dans les troubles cognitifs (Cunnane et al. 2011), une stratégie de combinaison avec un autre produit cétogène devra être envisagée.

#### 4.4 Perspectives

Puisque les MCT ont un bon potentiel cétogène mais semblent insuffisant pour atteindre l'objectif de 1 à 2 mM que nous nous étions fixés, une combinaison avec les fibrates, des médicaments prescrits contre l'hypertriglycéridémie, est envisagée. Le traitement avec un fibrate, soit le bezafibrate (Bezalip®), a déjà été mis à l'essai dans notre laboratoire pour son potentiel cétogène (Tremblay-Mercier et al. 2010). Les résultats obtenus, tout comme ceux des MCT, montraient une augmentation de cétones mais en dessous des objectifs visés. Nous croyons que les MCT et le bezafibrate peuvent agir en synergie afin d'augmenter les cétones.

Lorsque notre objectif de créer une cétonémie modérée stable aura été atteint, il nous sera alors possible d'étudier, par imagerie TEP, le métabolisme cérébral des cétones. Ainsi, cela nous permettrait d'étudier la différence qui pourrait exister entre les personnes jeunes et âgées. Nous pourrions aussi voir si, à l'inverse du glucose, le métabolisme des cétones reste inchangé dans les cas de troubles cognitifs. Si c'était le cas, une supplémentation afin d'augmenter les cétones pourrait être encouragée chez des personnes atteintes de troubles cognitifs afin de voir si leur état s'améliore dans ces conditions et si ce traitement change leur métabolisme cérébral des cétones et/ou du glucose (Cunnane et al. 2011). Il nous sera alors possible de constater si les cétones peuvent pallier à la diminution de captage du glucose par le cerveau et ainsi rétablir les fonctions perdues par les personnes atteintes en rétablissant un métabolisme normal au niveau du cerveau. À plus long terme, il nous sera possible d'étudier l'effet de cette intervention sur le développement des troubles cognitifs.

## 5. Remerciements

Je voudrais tout d'abord remercier toutes les personnes qui ont bien voulu participer à mes études pour tout le temps qu'ils ont bien voulu prendre afin de faire avancer la recherche. Je voudrais aussi remercier le CRSNG pour le financement de ce projet, la Faculté de médecine et des sciences de la santé de l'Université de Sherbrooke et le Centre de recherche sur le vieillissement.

Je vous ensuite remercier toute l'équipe du laboratoire qui a rendu possible ce projet. Merci à Conrad Filteau pour tout le travail effectué et pour sa gentillesse, sa bonne humeur et sa patience. J'aimerais aussi remercier Raphaël Chouinard-Watkins, Scott Nugent, Maggie Roy, Christian-Alexandre Castellano, Sébastien Tremblay et Mélanie Plourde pour leur support et leurs bonnes idées inspirantes qui m'ont permis de continuer d'avancer et surtout pour la belle ambiance qu'ils ont tous participé à créer faisant de ce laboratoire un endroit agréable où travailler. Un merci spécial à Jennifer Tremblay-Mercier et Mélanie Fortier pour avoir investi une grande partie de leur temps à ma formation et à répondre à toutes mes questions toujours avec patience et bonne humeur.

Finalement, un grand merci au Dr. Stephen C. Cunnane pour m'avoir accueilli dans son laboratoire, pour m'avoir supporté, guidé et pour m'avoir donné la chance de montrer ce dont j'étais capable.

## 6. Liste des publications

- Agence canadienne d'inspection des aliments. (2008). "Décision: Huiles, acides gras et matières grasses." Retrieved juin, 2011, from <http://www.inspection.gc.ca/francais/fssa/labeti/decisions/fatgraf.shtml>.
- Alexander, G. E., K. Chen, et al. (2002). "Longitudinal PET Evaluation of Cerebral Metabolic Decline in Dementia: A Potential Outcome Measure in Alzheimer's Disease Treatment Studies." *Am J Psychiatry* **159**(5): 738-745.
- Auestad, N., R. A. Korsak, et al. (1991). "Fatty acid oxidation and ketogenesis by astrocytes in primary culture." *J Neurochem* **56**(4): 1376-1386.
- Bach, A. C. and V. K. Babayan (1982). "Medium-chain triglycerides: an update." *Am J Clin Nutr* **36**(5): 950-962.
- Balietti, M., T. Casoli, et al. (2010). "Ketogenic diets: an historical antiepileptic therapy with promising potentialities for the aging brain." *Ageing Res Rev* **9**(3): 273-279.
- Blennow, K., M. J. de Leon, et al. (2006). "Alzheimer's disease." *Lancet* **368**(9533): 387-403.
- Bougneres, P. F., C. Lemmel, et al. (1986). "Ketone body transport in the human neonate and infant." *J Clin Invest* **77**(1): 42-48.
- Buckner, R. L., A. Z. Snyder, et al. (2005). "Molecular, structural, and functional characterization of Alzheimer's disease: evidence for a relationship between default activity, amyloid, and memory." *J Neurosci* **25**(34): 7709-7717.
- Cahill, G. F., Jr. (2006). "Fuel metabolism in starvation." *Annu Rev Nutr* **26**: 1-22.
- Costantini, L. C., L. J. Barr, et al. (2008). "Hypometabolism as a therapeutic target in Alzheimer's disease." *BMC Neurosci* **9 Suppl 2**: S16.
- Cunnane, S., S. Nugent, et al. (2011). "Brain fuel metabolism, aging, and Alzheimer's disease." *Nutrition* **27**(1): 3-20.
- Desvergne, B. and W. Wahli (1999). "Peroxisome proliferator-activated receptors: nuclear control of metabolism." *Endocr Rev* **20**(5): 649-688.
- Dimitriadis, G., P. Mitron, et al. (2011). "Insulin effects in muscle and adipose tissue." *Diabetes Res Clin Pract* **93 Suppl 1**: S52-59.
- Freemantle, E., M. Vandal, et al. (2009). "Metabolic response to a ketogenic breakfast in the healthy elderly." *J Nutr Health Aging* **13**(4): 293-298.
- Freund, G. and R. L. Weinsier (1966). "Standardized ketosis in man following medium chain triglyceride ingestion." *Metabolism* **15**(11): 980-991.
- Fukao, T., G. D. Lopaschuk, et al. (2004). "Pathways and control of ketone body metabolism: on the fringe of lipid biochemistry." *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* **70**(3): 243-251.
- Gehan, E. A. and S. L. George (1970). "Estimation of human body surface area from height and weight." *Cancer Chemother Rep* **54**(4): 225-235.
- Guillot, E., P. Vaugelade, et al. (1993). "Intestinal absorption and liver uptake of medium-chain fatty acids in non-anaesthetized pigs." *Br J Nutr* **69**(2): 431-442.

- Halestrap, A. P. and N. T. Price (1999). "The proton-linked monocarboxylate transporter (MCT) family: structure, function and regulation." Biochem J **343 Pt 2**: 281-299.
- Henderson, S. T. (2008). "Ketone bodies as a therapeutic for Alzheimer's disease." Neurotherapeutics **5(3)**: 470-480.
- Henderson, S. T., J. L. Vogel, et al. (2009). "Study of the ketogenic agent AC-1202 in mild to moderate Alzheimer's disease: a randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter trial." Nutr Metab (Lond) **6**: 31.
- Kashiwaya, Y., T. Takeshima, et al. (2000). "D-beta-hydroxybutyrate protects neurons in models of Alzheimer's and Parkinson's disease." Proc Natl Acad Sci U S A **97(10)**: 5440-5444.
- Koizumi, J. (1974). "Glycogen in the central nervous system." Prog Histochem Cytochem **6(4)**: 1-37.
- Leino, R. L., D. Z. Gerhart, et al. (2001). "Diet-induced ketosis increases monocarboxylate transporter (MCT1) levels in rat brain." Neurochem Int **38(6)**: 519-527.
- London, E. D., R. A. Margolin, et al. (1986). "Effects of fasting on ketone body concentrations in healthy men of different ages." J Gerontol **41(5)**: 599-604.
- McGarry, J. D. and D. W. Foster (1980). "Regulation of hepatic fatty acid oxidation and ketone body production." Annu Rev Biochem **49**: 395-420.
- Meertens, L. M., K. S. Miyata, et al. (1998). "A mitochondrial ketogenic enzyme regulates its gene expression by association with the nuclear hormone receptor PPARalpha." EMBO J **17(23)**: 6972-6978.
- Mosconi, L., W. H. Tsui, et al. (2005). "Reduced hippocampal metabolism in MCI and AD: automated FDG-PET image analysis." Neurology **64(11)**: 1860-1867.
- Owen, O. E., A. P. Morgan, et al. (1967). "Brain metabolism during fasting." J Clin Invest **46(10)**: 1589-1595.
- Page, K. A., A. Williamson, et al. (2009). "Medium-chain fatty acids improve cognitive function in intensively treated type 1 diabetic patients and support in vitro synaptic transmission during acute hypoglycemia." Diabetes **58(5)**: 1237-1244.
- Peckett, A. J., D. C. Wright, et al. (2011). "The effects of glucocorticoids on adipose tissue lipid metabolism." Metabolism **60(11)**: 1500-1510.
- Pifferi, F., S. Tremblay, et al. (2011). "Mild experimental ketosis increases brain uptake of (11)C-acetoacetate and (18)F-fluorodeoxyglucose: a dual-tracer PET imaging study in rats." Nutr Neurosci **14(2)**: 51-58.
- Puchowicz, M. A., K. Xu, et al. (2007). "Diet-induced ketosis increases capillary density without altered blood flow in rat brain." Am J Physiol Endocrinol Metab **292(6)**: E1607-1615.
- Ramirez, M., L. Amate, et al. (2001). "Absorption and distribution of dietary fatty acids from different sources." Early Hum Dev **65 Suppl**: S95-S101.
- Reger, M. A., S. T. Henderson, et al. (2004). "Effects of beta-hydroxybutyrate on cognition in memory-impaired adults." Neurobiol Aging **25(3)**: 311-314.
- Rho, J. M., G. D. Anderson, et al. (2002). "Acetoacetate, acetone, and dibenzylamine (a contaminant in l-(+)-beta-hydroxybutyrate) exhibit direct anticonvulsant actions in vivo." Epilepsia **43(4)**: 358-361.

- Simpson, I. A., A. Carruthers, et al. (2007). "Supply and demand in cerebral energy metabolism: the role of nutrient transporters." J Cereb Blood Flow Metab **27**(11): 1766-1791.
- St-Onge, M. P. and P. J. Jones (2002). "Physiological effects of medium-chain triglycerides: potential agents in the prevention of obesity." J Nutr **132**(3): 329-332.
- statistiques mondiales. (2011). "Canada: statistiques." Retrieved mai, 2011, from <http://www.statistiques-mondiales.com/canada.htm>.
- Stich, V., I. de Glisezinski, et al. (2000). "Adipose tissue lipolysis is increased during a repeated bout of aerobic exercise." J Appl Physiol **88**(4): 1277-1283.
- Tremblay-Mercier, J., D. Tessier, et al. (2010). "Bezafibrate mildly stimulates ketogenesis and fatty acid metabolism in hypertriglyceridemic subjects." J Pharmacol Exp Ther **334**(1): 341-346.
- Veech, R. L., B. Chance, et al. (2001). "Ketone bodies, potential therapeutic uses." IUBMB Life **51**(4): 241-247.
- Voet, D. and J. G. Voet (2005). Biochimie. Bruxelles.
- Walsh, N. P., A. K. Blannin, et al. (1998). "The effects of high-intensity intermittent exercise on the plasma concentrations of glutamine and organic acids." Eur J Appl Physiol Occup Physiol **77**(5): 434-438.
- Wolfe, B. E., D. C. Jimerson, et al. (2004). "Effect of dieting on plasma leptin, soluble leptin receptor, adiponectin and resistin levels in healthy volunteers." Clin Endocrinol (Oxf) **61**(3): 332-338.