

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

**Caractérisation de la voie de signalisation
AMPK/ACC dans le foie et l'intestin du
Psammomys obesus, un modèle animal de résistance
à l'insuline et de diabète de type 2**

Par :

Ali Ben Djoudi Ouadda
Département de Biochimie
Faculté de médecine

Mémoire présenté à la faculté des études supérieures en vue de l'obtention du
grade de Maître ès Sciences (M.Sc.) en Biochimie

Août 2008

©Ali Ben Djoudi Ouadda, 2008

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé :

**Caractérisation de la voie de signalisation AMPK/ACC dans le
foie et l'intestin du *Psammomys obesus*, un modèle animal de
résistance à l'insuline et de diabète de type 2**

Présenté par :

Ali Ben Djoudi Ouadda

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Dr Edgar Delvin, président-rapporteur

Dr Mounib Elchebly, directeur de recherche

Dr Emile Levy, codirecteur de recherche

Dr Jean-Claude Lavoie, membre du jury

Résumé

L'expansion des maladies métaboliques dans les sociétés modernes exige plus d'activités de recherche afin d'augmenter notre compréhension des mécanismes et l'identification de nouvelles cibles d'interventions cliniques. L'obésité, la résistance à l'insuline (RI) et la dyslipidémie, en particulier sont tous des facteurs de risque associés à la pathogenèse du diabète de type 2 (DT2) et des maladies cardiovasculaires. Ainsi, la dyslipidémie postprandiale, notamment la surproduction des lipoprotéines hépatiques et intestinales, contribue d'une façon significative à l'hypertriglycéridémie.

Quoique plusieurs études cliniques et fondamentales chez l'homme et les modèles animaux aient mis en évidence les rôles importants joués par le foie et l'intestin dans la dyslipidémie, les mécanismes moléculaires en cause ne sont pas bien élucidés. L'une des voies principales régulant le métabolisme lipidique est la voie de la protéine kinase AMPK. L'épuisement de l'ATP intracellulaire entraîne une activation de l'AMPK qui va œuvrer pour rétablir l'équilibre énergétique en stimulant des voies génératrices d'ATP et en inhibant des voies anaboliques consommatrices d'ATP. Les effets positifs de l'activation de l'AMPK comprennent l'augmentation de la sensibilité à l'insuline dans les tissus périphériques, la réduction de l'hyperglycémie et la réduction de la lipogenèse, d'où son importance dans les interventions cliniques pour la correction des dérangements métaboliques.

Il est à souligner que le rôle de l'AMPK dans le foie et l'intestin semble plus complexe et mal compris. Ainsi, la voie de signalisation de l'AMPK n'est pas bien élucidée dans les situations pathologiques telles que le DT2, la RI et l'obésité. Dans le présent projet, notre objectif consiste à caractériser le rôle de cette voie de signalisation dans la lipogenèse hépatique et dans le métabolisme des lipides dans l'intestin chez le *Psammomys obesus*, un modèle animal d'obésité, de RI et de DT2. À cette fin, 3 groupes d'animaux sont étudiés (i.e. contrôle, RI et DT2).

En caractérisant la voie de signalisation de l'AMPK/ACC dans le foie, nous avons constaté une augmentation de l'expression génique des enzymes clés de la lipogenèse (ACC, FAS, SCD-1 et mGPAT) et des facteurs de transcription (ChREBP, SREBP-1) qui modulent leur niveau d'expression. Nos analyses détaillées ont révélé, par la suite, une nette augmentation de l'expression de l'isoforme cytosolique de l'ACC, ACC1 (impliqué dans la lipogenèse *de*

novo) concomitante avec une invariabilité de l'expression de l'isoforme mitochondrial ACC2 (impliqué dans la régulation négative de la β -oxydation). En dépit d'un état adaptatif caractérisé par une expression protéique et une phosphorylation (activation) élevées de l'AMPK α , l'activité de la kinase qui phosphoryle et inhibe l'ACC reste très élevée chez les animaux RI et DT2.

Au niveau de l'intestin grêle des animaux RI et DT2, nous avons démontré que l'augmentation de la lipogenèse intestinale est principalement associée avec une diminution de la voie de signalisation de l'AMPK (i.e. expression protéique et phosphorylation/activation réduites des deux isoformes AMPK α 1 et AMPK α 2). La principale conséquence de la diminution de l'activité AMPK est la réduction de la phosphorylation de l'ACC. Étant donné que le niveau d'expression totale d'ACC reste inchangé, nos résultats suggèrent donc une augmentation de l'activité des deux isoformes ACC1 et ACC2. En parallèle, nous avons observé une réduction de l'expression protéique et génique de la CPT1 [enzyme clé de la β -oxydation des acides gras (AG)]. L'ensemble de ces résultats suggère une inhibition de l'oxydation des AG concomitante avec une stimulation de la lipogenèse *de novo*. Enfin, nous avons démontré que l'intestin grêle est un organe sensible à l'action de l'insuline et que le développement de la résistance à l'insuline pourrait altérer les deux voies de signalisation (i.e. Akt/GSK3 et p38MAPK) essentielles dans plusieurs processus métaboliques.

En conclusion, nos résultats indiquent que l'augmentation de la lipogenèse qui contribue pour une grande partie à la dyslipidémie dans la résistance à l'insuline et le diabète serait due, en partie, à des défauts de signalisation par l'AMPK. Nos observations illustrent donc le rôle crucial du système AMPK au niveau hépatique et intestinal, ce qui valide l'approche thérapeutique consistant à activer l'AMPK pour traiter les maladies métaboliques.

Mots-clés : AMPK, foie, intestin, diabète de type 2, résistance à l'insuline, lipogenèse, *Psammomys obesus*

Abstract

Understanding the cellular mechanisms involved in the development of insulin resistance, and later on the occurrence of type 2 diabetes and its metabolic complications, is a prerequisite step toward the identification of new therapeutic targets to fight against the development of these metabolic diseases. In the present studies, we used the gerbil *Psammomys obesus*, a well-established animal model of obesity, insulin resistance (IR) and type 2 diabetes (T2D), to characterize the hepatic and intestinal signaling abnormalities associated with lipid metabolism disorders during the pathogenesis of IR and T2D. Thus, we are able to demonstrate that the development of these metabolic diseases in *Psammomys obesus* animals, is accompanied by increased hepatic and intestinal lipogenesis with very high efficiency to form triglycerides rich-lipoproteins. In the liver, we observed an increase in mRNA levels of key lipogenic enzymes (ACC, FAS, SCD-1 and mGPAT) and transcription factors (SREBP-1, ChREBP), which modulate the expression level of lipogenic enzymes. Thereafter, our detailed analysis of the AMPK/ACC signaling pathway revealed a rise in the gene expression of the cytosolic ACC1 isoform of ACC (involved in *de novo* lipogenesis) concomitant with a constant expression of the mitochondrial ACC2 (negative regulator of β -oxidation). In spite of an adaptive state characterized by higher protein expression and phosphorylation (activation) of AMPK α , the kinase that phosphorylates and inhibits ACC, the activity of the later remains very high in IR and T2D animals.

In the small intestine of IR and T2D animals, we demonstrated that the increase in intestinal lipogenesis is mainly associated with a decrease of AMPK signaling pathway (i.e. reduced expression and protein phosphorylation/activation of the two AMPK α 1 and AMPK α 2 isoforms). The main consequence of the decline in AMPK activity is the reduction of ACC phosphorylation. Given that, the expression levels of ACC remain unchanged; our results thus suggest an increased activity of both ACC isoforms, ACC1 and ACC2. Next, we observed a reduction in protein and gene expression of CPT1 [key enzyme in fatty acid (FA) β -oxidation]. Taken together, these results suggest an inhibition of FA β -oxidation concomitant with a stimulation of *de novo* lipogenesis. Finally, we demonstrated that the small intestine is an insulin sensitive organ and that the development of IR affects two signaling pathways (i.e. Akt/GSK3 and p38MAPK) essentials for several metabolic processes.

In conclusion, our results indicate that increased lipogenesis, in IR and T2D, which exacerbate the dyslipidemia associated with these diseases, might be, at least partially, a result of AMPK signaling defects. In addition, our observations illustrate the crucial role of AMPK/ACC in the liver and intestine and validate AMPK as a potential target to treat the metabolic diseases.

Keywords: AMPK, Insulin Resistance, type 2 diabetes, lipogenesis, liver, intestine, *Psammomys obesus*

Table des matières

Chapitre A) INTRODUCTION	1
1. Maladies métaboliques	1
1.1. Généralités sur le syndrome métabolique.....	1
1.2. L'obésité.....	2
1.3. La résistance à l'insuline	2
1.4. Diabète de type 2.....	3
2. Lipogenèse et maladies métaboliques	4
2.1. Généralités sur la lipogenèse.....	4
2.2. Régulation de la lipogenèse.....	5
2.2.1. Régulation par les nutriments et les hormones.....	5
2.2.2. Rôle de l'insuline dans la lipogenèse	6
2.2.3. Contrôle transcriptionnel des enzymes lipogéniques	7
2.3. Enzymes clés de la synthèse des acides gras et des triglycérides.....	9
2.3.1. Acetyl-CoA carboxylase (ACC).....	11
2.3.1.1. Rôle de l'ACC.....	11
2.3.1.2. Structure, type d'isoformes et distribution tissulaire de l'ACC.....	11
2.3.1.3. Régulation de l'expression de l'ACC	12
2.3.1.4. Régulation de l'activité de l'ACC.....	13
2.3.1.4.1. Régulation allostérique.....	13
2.3.1.4.2. Régulation par phosphorylation	13
2.3.1.5. Inhibition d'ACC dans les modèles animaux.....	14
2.3.2. <i>Fatty acid synthase</i> (FAS).....	15
2.3.3. Stearoyl-CoA desaturase 1 (SCD1).....	16
2.4. Enzymes de la synthèse des triglycérides.....	17
2.5. Contribution de la lipogenèse hépatique à la production des VLDL	18
2.6. La lipogenèse, l'accumulation des triglycérides et les maladies métaboliques chez l'homme et les modèles animaux.....	19
3. Contribution du métabolisme lipidique intestinal aux maladies métaboliques.....	21
3.1. Vue générale sur l'absorption des lipides.....	22
3.2. Régulation physiologique de la sécrétion des chylomicrons	23

3.3. Relation entre le métabolisme lipidique intestinal et les maladies cardiovasculaires	24
4. Le système AMPK: une cible thérapeutique pour traiter les maladies métaboliques	26
4.1. Généralités	26
4.2. Structure du complexe AMPK	27
4.3. Régulation de l'activité AMPK	28
4.3.1. Régulation AMP-dépendante : AMP et complexe LKB1/STRAD/MO25 ..	28
4.3.2. Régulation AMP-indépendante : CaMKKs	30
4.4. Rôles de l'AMPK	30
4.4.1. Préambule	30
4.4.2. Rôles spécifiques de l'AMPK dans les tissus	31
4.4.3. Régulation du métabolisme lipidique	33
4.5. Activation de l'AMPK : une cible thérapeutique potentielle?	35
4.5.1. Activation pharmacologique de l'AMPK	35
4.5.1.1. Effets du traitement par AICAR	35
4.5.1.2. L'AMPK est une cible des médicaments antidiabétiques	36
4.5.1.2.1. Les biguanides	36
4.5.1.2.2. Les thiazolidinediones	37
4.5.2. Activation physiologique	38
4.5.2.1. Stress métabolique	38
4.5.2.1.1. Exercice	39
4.5.2.1.2. Manque du glucose	39
4.5.2.2. Cytokines	39
4.5.2.2.1. Adiponectine	40
4.5.2.2.2. Résistine	40
4.5.2.2.3. Leptine	40
4.5.2.3. Autres activateurs	41
4.6. L'AMPK et les maladies métaboliques	41
5. Le modèle animal : <i>Psammomys obesus</i>	43
5.1. Définition, historique	43
5.2. Pathogenèse de la résistance à l'insuline et du diabète de type 2	44
5.3. Importance dans l'étude des maladies métabolique	44
6. Objectifs du projet de maîtrise	46

Chapitre B) ARTICLE 1	48
Chapitre C) ARTICLE 2	80
Chapitre D) DISCUSSION GÉNÉRALE	112
BIBLIOGRAPHIE	122

Liste des figures

Figure 1. Le syndrome métabolique comme défini par l'organisation mondiale de la santé	1
Figure 2. Voie de signalisation de l'insuline dans le foie	7
Figure 3. La voie lipogénique hépatique à partir du glucose	10
Figure 4. Voies de synthèse des triglycérides	17
Figure 5. Biogenèse des chylomicrons	22
Figure 6. Structure des domaines des trois sous-unités de l'hétérotrimer AMPK	27
Figure 7. Structure cristallographique du complexe AMPK.....	28
Figure 8. Régulation de l'AMPK.....	29
Figure 9. Principaux rôles de l'AMPK dans les tissus.....	32
Figure 10. Sommaire des protéines identifiées comme cibles physiologiques et voies de signalisation régulées par l'AMPK.....	33
Figure 11. Modèle représentant l'effet de l'hyperglycémie/hyperinsulinémie sur le système AMPK hépatique	118
Figure 12. Modèle représentant l'inhibition de l'AMPK dans l'intestin. La résistance à l'insuline et le diabète de type 2	119

Abréviations

- ACC, *acetyl-CoA carboxylase*
- AGAT, *acyl-CoA:glycerol-3-phosphate acyltransferase*
- AICAR, *5'-aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleoside*
- Akt/PKB, *protein kinase B*
- AMPK, *5'-AMP-activated protein kinase*
- ASO, *antisense oligonucleotide*
- bHLH/LZ, *glucose-responsive basic helix-loop-helix/leucine zipper*
- CaMKKs, *calmodulin-dependent protein kinase kinases*
- CBS, *cystathionine β -synthase*
- ChREBP, *carbohydrate responsive element-binding protein*
- CM, *chylomicron*
- CPT1, *carnitine palmitoyl transferase 1*
- DAG, *diacylglycérol*
- DGAT, *diacylglycerol:acyl-CoA acyltransferase*
- DT2, *diabète de type 2*
- ELOVL6, *élongase hépatique*
- FABPpm, *plasma membrane-associated fatty acid binding protein*
- FAS, *fatty acid synthase*
- FASKOL, *invalidation conditionnelle au foie de FAS*
- FATP, *fatty acid transport proteins*
- Foxo, *forkhead box O*
- G6Pase, *glucose 6-phosphatase*
- G-6-PDH, *glucose-6-P dehydrogenase*
- GK, *glucokinase*
- GPAT, *acyl-CoA:glycerol-3-phosphate acyltransferase*
- GS, *glycogene synthase*
- GSK3 β , *glycogen synthase kinase 3 beta*
- HDL, *high-density lipoproteins*
- LDL, *low-density lipoproteins*
- HMG-CoR, *3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase*
- HOMA index, *Homeostasis model assessment index*
- HSL, *hormone-sensitive lipase*
- IR, *insulin receptor*

- IRS, *insulin receptor substrate*
- LPA, *acide lysophosphatidique*
- L-PK, *liver-pyruvate kinase*
- LXR, *liver X receptor*, RXR, *retinoid X receptor*
- MAG, *sn-2-monoacylglycérol*
- MGAT, *acyl-CoA:monoacylglycerol acyltransferase*
- mtGPAT, *mitochondrial isoforme acyl-CoA:glycerol-3-phosphate acyltransferase*
- MTP, *microsomal TG transfer protein*
- NADPH, *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-oxidase*
- p38 MAPK, *p38-mitogen-activated protein kinase*
- PA, *acide phosphatidique*
- PAP, *phosphatidic acid phosphatase*
- PC, *phosphatidylcholine*
- PCTV, *prechylomicron transport vesicle*
- PEPCK, *phosphoenolpyruvate carboxykinase*
- PFK1, *6-phosphofructo-1-kinase*
- PFK2, *6-phosphofructo-2-kinase*
- PGC, *PPAR γ co-activator*
- PHG, *production hépatique du glucose*
- PI3K, *phosphoinositide 3-kinase*
- PJS, *Peutz-Jeghers syndrome*
- PKA, *cyclic AMP-dependent protein kinase,, protein kinase A*
- PL, *phospholipides*
- PP, *postprandial*
- PPARs, *peroxisome-proliferator-activated receptors*
- RE, *réticulum endoplasmique*
- RI, *résistance à l'insuline*
- RXR, *retinoid X receptor*
- SCD-1, *stearoyl-CoA desaturase 1*
- SHP, *small heterodimer partner*
- SREBP-1c, *sterol regulatory element-binding protein-1c*
- TG, *triglycérides*
- TNF α , *tumor necrosis factor alpha*

- VLDL, *very low-density lipoproteins*
- ZDF, *Zucker Diabetic Fatty*
- ZMP, *5'-aminoimidazole-4-carboxamide 1- β -D-ribofuranotide*

À mes parents, à mes frères et sœurs et à mes amis!

À mes neveux Juba et Nacim,

....Et à ma meilleure amie Biba!!!

Remerciements

En premier lieu, je remercie le Dr Elchebly et le Dr Levy pour m'avoir accueilli dans leurs laboratoires et m'avoir donné l'opportunité de mener à terme une excellente formation en maîtrise. Je les remercie également pour leurs précieux conseils, leur gentillesse et leur patience.

Je remercie également, Carole et Zola pour leur aide, leur gentillesse et leur disponibilité.

Je tiens à remercier aussi Geneviève Lalonde et le Dr Alain Sané pour leur précieuse aide notamment dans la mise au point des techniques.

Je remercie Thérèse Rouleau pour son coup de main bien apprécié pour la mise au point de la mesure de l'activité ACC.

Pour finir, je tiens à remercier tous le personnel de nos deux laboratoires pour la bonne ambiance, leur aide, leur gentillesse et leur serviabilité. Je remercie en particulier, Valérie, Frédéric, François, Louis-Philippe, Zaava, Dr Geneviève Mailhot, Dr Alain Montoudis, Émilie, Élodie, Marjolaine, Maurice, Rame, Thierry, Dr Philippe Cammisotto, Soraya, Carla et Dr Michel Dominguez !

Un gros merci à toutes les personnes qui m'ont aidé et soutenu durant ma maîtrise!!!

Chapitre A) INTRODUCTION

1. Maladies métaboliques

1.1. Généralités sur le syndrome métabolique

Le style de vie et l'apport alimentaire excédant les besoins énergétiques quotidiens dans les sociétés occidentales comme dans quelques pays en voie de développement, a conduit à une progression alarmante des maladies métaboliques. Les conséquences sanitaires du déséquilibre énergétique et de l'excès du poids sont connues depuis l'époque grecque [1], mais ce n'est qu'à partir du siècle dernier que ces maladies commencent à devenir un problème de santé publique [2]. Avec l'augmentation de la prévalence de l'obésité, l'identification d'un lien étroit entre l'adiposité abdominale et la résistance à l'insuline a émergé [1]. En effet, plusieurs désordres cliniques, ayant la résistance à l'action de l'insuline comme une composante commune, ont été regroupés sous l'appellation du « syndrome métabolique ». En plus de la résistance à l'insuline, les sujets souffrant de ce syndrome ont généralement une obésité abdominale et des anomalies métaboliques susceptibles d'augmenter leur risque de développer des maladies cardiovasculaires [3]. Si les premières tentatives à définir les critères de ce syndrome étaient très divergentes [1, 3-5], la récente définition présente le syndrome métabolique comme un ensemble de sous-groupes de désordres métaboliques cliniques qui interagissent entre eux [1, 3-5]. Parmi ces désordres, on trouve l'obésité, la résistance à l'insuline, l'intolérance au glucose, l'hypertension et la dyslipidémie (hypertriglycémie et faibles niveaux du cholestérol HDL, (*high-density lipoproteins*)) (Figure 1). Le suivi de l'apparition de ces symptômes permet de diagnostiquer les individus à haut risque de développer le DT2 (Diabète de type 2), l'athérosclérose et la mort cardiovasculaire. Cependant, en se basant sur cette définition récente, la prévalence du syndrome métabolique est revue à la hausse dans le monde et est associée à l'augmentation du risque de développer les maladies métaboliques très compliquées, notamment le diabète de type 2 et l'athérosclérose [1, 3-5].

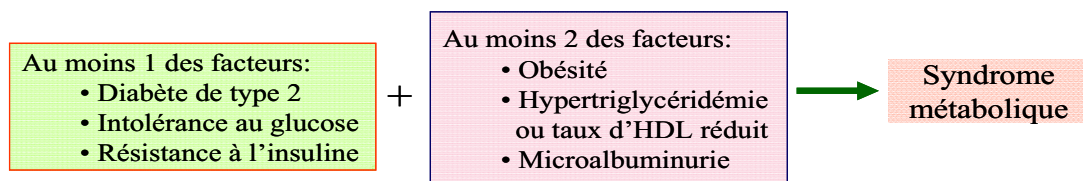


Figure 1. Le syndrome métabolique comme défini par l'organisation mondiale de la santé [6]

1.2. L'obésité

Si le syndrome métabolique était à l'origine considéré comme un déséquilibre énergétique entraînant l'obésité (particulièrement l'obésité abdominale), on s'est vite rendu compte qu'il est suffisant pour induire les autres aspects cliniques du syndrome métabolique, en particulier la résistance à l'insuline [7], une composante majeure dans l'étiologie du diabète de type 2 [8].

L'obésité est une pathologie chronique caractérisée par un excès du poids dû, en partie, à l'accumulation des lipides dans les tissus adipeux. Bien que l'obésité soit une maladie polygénique, l'influence de l'environnement est capitale à son développement. En effet, en plus de la composante génétique, l'excès de l'apport calorique quotidien, la sédentarité et le manque d'exercice sont autant des facteurs déterminants dans l'expression du phénotype d'obésité chez l'homme [9].

Le développement de l'obésité dans le monde a atteint des proportions épidémiques avec des conséquences considérables sur la santé publique [10, 11]. En effet, l'obésité engendre une dyslipidémie caractérisée par une augmentation des concentrations en acides gras libres et en TG dans le plasma. L'accumulation des lipides et des métabolites lipidiques toxiques (e.g. acides gras libres, TG, triglycérides, et DAG, diacylglycerol) dans certains organes constitue un médiateur majeur de la résistance à l'insuline. Étant donné que les tissus adipeux sécrètent plusieurs adipokines telles que le TNF α (*tumor necrosis factor α*) et la résistine (bien impliqués dans la pathogenèse de la résistance à l'insuline), l'excès de ces tissus (i.e. obésité) va donc entraîner l'installation d'un état proinflammatoire et prothrombotique qui initiera le développement et l'aggravation des maladies cardiovasculaires [9, 10, 12]

1.3. La résistance à l'insuline

L'insuline est une hormone anabolique qui joue un rôle capital dans le métabolisme glucidique et lipidique. En effet, l'action de l'insuline consiste à augmenter la capture et l'utilisation du glucose par les cellules, à stimuler la lipogenèse et la synthèse du glycogène et à inhiber la gluconéogenèse, la glycogénolyse et la lipolyse [12]. L'insuline stimule aussi la synthèse protéique et la croissance cellulaire et contrôle l'apoptose [12].

Le terme de « résistance à l'insuline » signifie l'incapacité de l'insuline à faire entrer le glucose dans les tissus périphériques (i.e. une diminution du transport et de l'utilisation du

glucose au niveau des adipocytes et des muscles squelettiques) et à supprimer la PHG (production hépatique du glucose) [6, 13].

La résistance à l'insuline est présente chez la majorité des sujets diabétiques de type 2 et les individus avec une intolérance au glucose. De plus, cette résistance a été constatée chez 25% des personnes non obèses avec un test de tolérance au glucose oral normal [1]. Chez les sujets résistants à l'insuline, la réduction de la sensibilité à l'insuline est compensée par une hyperinsulinémie résultant de la surproduction de l'insuline par les cellules β pancréatiques [14] dans le but d'empêcher l'hyperglycémie [1]. L'hyperinsulinémie compensatoire persistera jusqu'au moment où les cellules β pancréatiques ne seront plus capables de sécréter suffisamment d'insuline dont la demande est toujours croissante, à ce moment, il y aura l'apparition des premiers signes cliniques du DT2 [1, 12-14].

1.4. Diabète de type 2

Le diabète de type 2 est un état pathologique caractérisé par une hyperglycémie chronique. Il affecte de 5 à 10 % de la population adulte [15, 16]. Son incidence et l'âge d'apparition varient d'une population à une autre du fait que différentes populations présentent différents mécanismes conduisant au développement de cette maladie [6, 17].

Le DT2 est une maladie dont la pathogenèse et l'étiologie sont très complexes. Elle résulte d'interactions complexes entre facteurs génétiques (maladie polygénique) et facteurs environnementaux [18]. Les gènes responsables ne sont pas bien identifiés [19]. En revanche, on connaît bien les facteurs environnementaux impliqués tels que le mode de vie moderne des pays industrialisés (stress et sédentarité), le type d'alimentation (hypercalorique), le vieillissement et bien sûr, l'obésité [20, 21]. En effet, il existe une très forte association entre le DT2 et l'obésité, et plus de 80% des diabétiques de type 2 sont obèses [20]. Ceci s'explique par le fait que l'obésité est capable d'engendrer la résistance à l'insuline [7], un élément critique dans le développement du DT2 [6, 8].

La forme la plus commune du DT2 se développe chez les individus obèses d'âge moyen et si elle n'est pas bien contrôlée, elle pourrait causer des complications sévères incluant la cécité, l'insuffisance rénale aiguë, l'insuffisance vasculaire périphérique et les complications cardiovasculaires [8, 20, 21]

Similaire à l'obésité, le DT2 est hautement prévalent dans les sociétés développées et dans quelques pays en voie de développement. La prévalence chez les enfants et les adolescents

est aussi grandissante, notamment dans certaines populations particulières [22]. En effet, plusieurs études ont montré des prévalences spectaculaires du DT2 chez les indiens Pima de l'Arizona [23] et les Nauruans micronésiens (plus de 40% de la population adulte) [24]. Les prévalences les plus faibles sont rencontrées dans certaines parties d'Afrique et de la Chine, alors que pour les caucasiens, la prévalence est estimée à 5% [16, 25].

La prévalence élevée de diabète, associée à des complications cardiovasculaires, se traduit par un fardeau économique considérable. Le traitement consiste en l'administration d'antidiabétiques oraux et/ou au régime alimentaire. Dans la majorité des cas, le diabète de type 2 est non insulino-dépendant et seulement 15% des patients nécessitent une insulinothérapie [6, 15, 16].

2. Lipogenèse et maladies métaboliques

2.1. Généralités sur la lipogenèse

Le stockage d'excès de nutriments sous forme de graisse dans l'organisme fournit une précieuse réserve pour maintenir l'équilibre énergétique durant les périodes de jeûne, de migration et d'hibernation. Cependant, un développement important de ces dépôts adipeux, notamment dans certaines régions de l'organisme, pourrait augmenter les risques de développer des maladies métaboliques associées à l'obésité telles que la résistance à l'insuline, le diabète de type 2 et les maladies cardiovasculaires [6, 26].

Chez les mammifères, les lipides stockés pourraient être d'origine alimentaire (i.e. les acides gras alimentaire) ou issus de la lipogenèse à partir de substrats non-lipidiques (i.e. le glucose, le glycérol et les acides aminés). Ces lipides sont principalement stockés dans les tissus adipeux et le foie. Cependant, d'autres organes périphériques tels que le cœur, les muscles, les reins, les testicules, le cerveau et le pancréas seraient capables de synthétiser des lipides mais dans de faibles [27]. L'importance du rôle lipogénique des différents tissus varie d'une espèce à une autre. Par exemple, chez les rongeurs, le foie et les tissus adipeux ont des capacités lipogéniques très élevées, alors que chez l'homme, c'est la lipogenèse hépatique qui est la plus dominante [27-31].

En général, la lipogenèse est activée par l'augmentation de l'apport alimentaire riche en gras ou en glucides. Ainsi, l'excès de nutriments non lipidique est transformé en gras pour être conservé dans les tissus adipeux et le foie par le biais de la lipogenèse *de novo*. Parmi les

différents métabolites, le glucose est le substrat majeur de la lipogenèse *de novo*. Le glucose dans le foie est dégradé par la glycolyse, non pas pour produire l'ATP, mais pour former l'acétyl-CoA, nécessaire à la voie lipogénique. Ainsi, les enzymes de la voie glycolytique pourraient être considérées comme une extension de la lipogenèse *de novo* [30]. De plus, la branche oxydative de la voie pentose-phosphate, qui produit le *Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-oxidase* (NADPH) requis pour la réaction catalysée par *Fatty acid synthase* (FAS), est également importante pour la lipogenèse *de novo* [32-35].

Enfin, l'augmentation de la lipogenèse chez l'homme corrèle avec le développement des maladies métabolique telles que l'obésité, la résistance à l'insuline, le DT2 et les maladies cardiovasculaires [28-31, 36, 37]. En outre, ce processus contribue d'une manière significative à l'aggravation de ces désordres en augmentant la production des lipoprotéines de très faible densité (VLDL) riches en TG [28-31, 36, 37]. L'étude de cette voie de synthèse revêt donc une importance capitale afin de mieux comprendre les mécanismes et ensuite identifier des cibles pour des interventions cliniques.

2.2. Régulation de la lipogenèse

2.2.1. Régulation par les nutriments et les hormones

L'absorption des nutriments et des glucides, en particulier, s'accompagne d'une augmentation des concentrations des substrats tels que le glucose. Elle est aussi associée à une augmentation de la sécrétion de l'insuline et à une diminution de la sécrétion du glucagon. L'insuline induit l'expression de certains gènes qui sont sensibles uniquement à cette hormone, tels que la *glucokinase* (GK) hépatique. D'autres gènes nécessitent l'augmentation des concentrations du glucose et de l'insuline pour leur induction. Parmi ces gènes, on peut citer *Liver-pyruvate kinase* (L-PK), FAS, *Acetyl-CoA carboxylase* (ACC) et *Stearoyl-CoA desaturase 1* (SCD1) [38-48]. La modulation du flux lipogénique par l'environnement nutritionnel et hormonal implique à la fois une régulation à court et à long-terme. Ainsi, à court terme, la régulation des flux lipogéniques implique une modulation allostérique et post-traductionnelle (i.e. phosphorylation / déphosphorylation et ubiquitination) des enzymes clés impliquées dans ces processus. Alors que la régulation à long-terme implique principalement des effets transcriptionnels. Ainsi, par exemple, l'expression de plusieurs enzymes glycolytiques et lipogéniques clés telles que la GK, la

Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PDH), l'ACC, la FAS et la SCD1 est fortement induite par les diètes riches en glucides dans le foie [48-50].

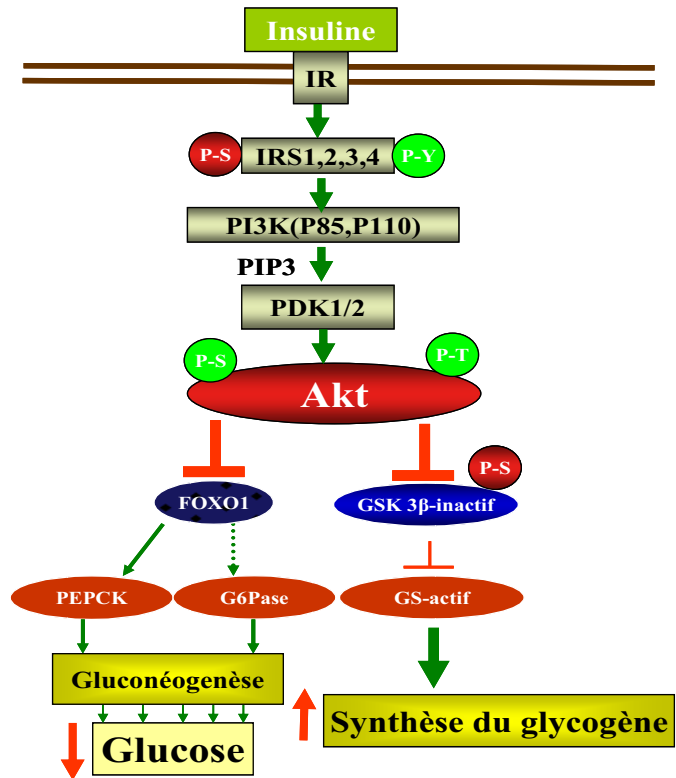
2.2.2. Rôle de l'insuline dans la lipogenèse

L'insuline est l'hormone peptidique indispensable pour la maintenance de l'homéostasie des lipides et des glucides. Cette hormone est sécrétée par les cellules β pancréatiques en réponse à l'augmentation du taux du glucose dans la circulation après un repas. Le glucose, en grande proportion absorbé par l'intestin, est capturé par les hépatocytes où il est converti en glycogène. Quand le foie est saturé en glycogène (environ 5% de sa masse), le glucose additionnel pris par le foie est dirigé vers les voies de synthèse d'acides gras qui seront estérifiés en TG pour être exportés aux tissus adipeux sous forme de VLDL. Ainsi, l'action de l'insuline dans le foie, en plus de la stimulation de la synthèse du glycogène, vise à activer la glycolyse et la lipogenèse en stimulant l'expression de nombreux gènes [51].

L'insuline agit en se fixant sur ses récepteurs spécifiques transmembranaires, IR (*insulin-receptor*). Cette fixation déclenche une cascade de réactions de transphosphorylations intramoléculaires. Une fois activés, les récepteurs à leur tour phosphorylent plusieurs substrats sur leurs résidus tyrosines. Parmi les substrats, on retrouve ceux de la famille des récepteurs de l'insuline, *Insulin receptor substrate* (IRS)-1, 2, 3 et 4 [52, 53]. Le signal de l'insuline est ensuite propagé à travers une cascade de phosphorylation de protéines intracellulaires. La résistance à l'insuline, qui pourrait être considérée comme une défaillance de cette voie de signalisation, se produit quand les concentrations dans la circulation de cette hormone sont insuffisantes pour réguler les voies métaboliques clés dans les tissus adipeux, les muscles squelettiques et le foie [52].

L'un des mécanismes de l'action de l'insuline sur la réduction de la PHG est l'inhibition du facteur de transcription, *Forkhead box O 1* (Foxo1). En effet, Foxo1 joue un rôle clé dans la régulation de la PHG, à travers un contrôle transcriptionnel des enzymes gluconéogéniques *Phosphoenolpyruvate carboxykinase* (PEPCK) et *Glucose 6-phosphatase* (G6Pase) [54]. La phosphorylation de Foxo1 par la *Protein kinase B* (Akt/PKB) [55] entraîne sa relocalisation cytosolique, son ubiquitination et sa dégradation par le protéasome [56]. La diminution des niveaux nucléaires de Foxo1 réduit l'expression de PEPCK et de G6Pase et diminue ainsi le taux de la gluconéogenèse et du glucose dans le sang [56].

Figure 2. Voie de signalisation de l'insuline dans le foie. La fixation de l'insuline sur son récepteur entraîne une activation de cette voie qui aboutit à l'activation d'Akt qui à son tour va activer la synthèse du glycogène et inhiber la production hépatique du glucose par l'inhibition de la gluconéogenèse. IR, *Insulin-receptor*; PI3K, *phosphoinositide 3-kinase*; PDK1/2, *3-phosphoinositide-dependent kinase-1/2*; IRS, *Insulin receptor substrate*; PIP3, *phosphatidylinositol (3,4,5) - trisphosphate*; Akt, *protein kinase B*; FOXO1, *forkhead box O1*; GS, *glycogene synthase*; GSK3 β , *glycogen synthase kinase 3 β* ; G6Pase, *glucose6-phosphatas*; PEPCK, *phosphoenolpyruvate carboxykinase*.



Globalement, l'insuline régule l'homéostasie du glucose en réduisant la PHG (via l'inhibition de la gluconéogenèse et la glycogénolyse) et en augmentant la conversion de l'excès en lipides à travers la stimulation de la glycolyse et de la lipogenèse *de novo*. L'action de l'insuline vise également à intensifier la captation et l'utilisation du glucose dans les tissus périphériques tels que les muscles squelettiques et les tissus adipeux.

2.2.3. Contrôle transcriptionnel des enzymes lipogéniques

Le développement d'approches thérapeutiques potentielles pour traiter les maladies métaboliques nécessite une meilleure connaissance de la régulation transcriptionnelle, post-traductionnelle et pharmacologique des enzymes clés impliquées dans les processus lipogéniques. Ces enzymes sont étroitement contrôlées par des mécanismes post-traductionnels et allostériques, mais elles sont essentiellement régulées à long terme par la modulation de leur taux d'expression.

L'action de l'insuline sur les enzymes de la lipogenèse est catalysée par le facteur de transcription majeur *Sterol regulatory element-binding protein-1c* (SREBP-1c) dans le foie

et les tissus périphériques [57]. L'effet transcriptionnel de l'insuline via SREBP-1c a été mis en évidence pour la première fois dans les tissus adipeux où le promoteur de FAS est identifié comme une cible de SREBP-1c [58]. Par la suite, cette activité transcriptionnelle a été démontrée dans les adipocytes humains [59].

Des études d'inactivation ou de surexpression de SREBP-1c ont mis en évidence d'autres cibles de ce facteur de transcription. En effet, dans le foie, le SREBP-1c, stimulé par l'insuline, initie des processus transcriptionnels en augmentant l'expression des enzymes impliquées dans la glycolyse (e.g. GK), la synthèse des acides gras (e.g. ACC, FAS, SCD1 et ELOVL6) [39-47] et des TG (e.g. *acyl-CoA:glycerol-3-phosphate acyltransferase* (GPAT) [60]. Dans les tissus adipeux, en plus de FAS, d'autres gènes cibles de SREBP-1c ont été identifiés tels que le récepteur des lipoprotéines de faible densité (LDL ou *low-density lipoproteins receptor*), la SCD1 [61] et l'*Hexokinase-II* (HK-II), l'équivalente de la GK hépatique dans le métabolisme du glucose) [62].

La stimulation du SREBP-1c musculaire par l'insuline augmente son expression et sa relocalisation nucléaire [59, 63], ainsi que l'expression de ses gènes-cibles impliqués dans la lipogénèse [57, 61]. De plus, il serait capable de stimuler l'enzyme HK-II, qui joue un important rôle dans l'utilisation du glucose induite par l'insuline en activant la glycolyse et la synthèse du glycogène [59, 63]. Enfin, le SREBP-1c contrôle l'expression des gènes lipogéniques dans les cellules β -pancréatiques, comme dans le foie, mais les mécanismes ne sont pas encore bien clairs [64-67].

En plus de SREBP-1c, les *Liver X receptors* (LXRs) sont d'importants régulateurs, car ils modulent directement les gènes lipogéniques (e.g. FAS, ACC et SCD1) [68-70] et sont également requis pour le contrôle du SREBP-1c par l'insuline [71]. Cependant, l'activité de SREBP-1c seule ne serait pas suffisante pour induire l'expression des gènes lipogéniques en réponse aux glucides, puisqu'une délétion du gène encodant SREBP-1c chez les souris ne diminue que de 50% la synthèse des acides gras [69]. Plus important encore, une des enzymes clé de la glycolyse, en l'occurrence la L-PK, est exclusivement dépendante du glucose et n'est pas régulée par SREBP-1c [57]. En effet, SREBP-1c agit en concert avec un autre facteur de transcription majeur dans l'induction des gènes lipogéniques, le *Carbohydrate responsive element-binding protein* (ChREBP) [72].

Le ChREBP est identifié comme étant un facteur de transcription comportant un motif *Glucose-responsive basic helix-loop-helix/leucine zipper* (bHLH/LZ) [73, 74]. Le ChREBP

est une grande protéine (864 résidus et 94 kDa) qui contient plusieurs domaines incluant une séquence de localisation nucléaire (NLS), un domaine bHLH/LZ et un domaine *Zip-Like*. Le glucose régule et active ChREBP en stimulant sa translocation au noyau à partir du cytosol [75, 76]. Dans le noyau, il va se fixer sur l'élément *Carbohydrate-responsive element* (ChoRE) présent sur les régions promotrices des gènes glycolytiques et lipogéniques et activer ainsi leur transcription [48].

De plus, ChREBP serait une cible des LXRs [77, 78], plaçant ainsi ces derniers dans la croisée des chemins des voies de l'insuline et du glucose via SREBP-1c et ChREBP respectivement [79]. En effet, le glucose se fixerait et activerait les LXRs entraînant l'activation de leurs gènes cibles, incluant, ChREBP [77]. Cependant, la régulation potentielle des LXRs par le glucose nécessite d'autres validations dans le contexte physiologique [80].

En plus des cibles de ChREBP déjà identifiées, telles que L-PK, ACC, FAS, et SCD1 [81-83], de nouvelles cibles ont été révélées y compris l'élongase hépatique ELOVL6 [84] et des enzymes de la voie pentose-phosphate nécessaires à la génération de NADPH (e.g. G-6-PDH, transketolase), l'enzyme catalysant la formation de *Glycerol 3-phosphate* nécessaire à la synthèse des TG et le *Glycerol 3-phosphate dehydrogenase* aussi bien que la *Microsomal TG transfer protein* (MTP), une protéine clé de la production des VLDL et des chylomicrons [81].

En résumé, il apparaît clairement que les facteurs de transcription ChREBP et SREBP-1c jouent un rôle capital dans la régulation du programme lipogénique entier dans l'organisme en réponse au glucose et à l'insuline.

2.3. Enzymes clés de la synthèse des acides gras et des triglycérides

La lipogenèse dans les différents tissus périphériques et dans le foie est régulée par les nutriments et l'insuline. Ainsi, l'excédent de nutriment déclenche le programme de lipogenèse, et les gènes impliqués dans les voies glycolytique (e.g. GK et L-PK) et lipogénique (ACC, FAS et SCD1) sont induits (Figure 2). Le foie a pour tâche de transformer l'excès du glucose en acides gras qui, avec les acides gras d'origine alimentaire, seront transformés en TG et ensuite exportés aux tissus adipeux pour y être stockés.

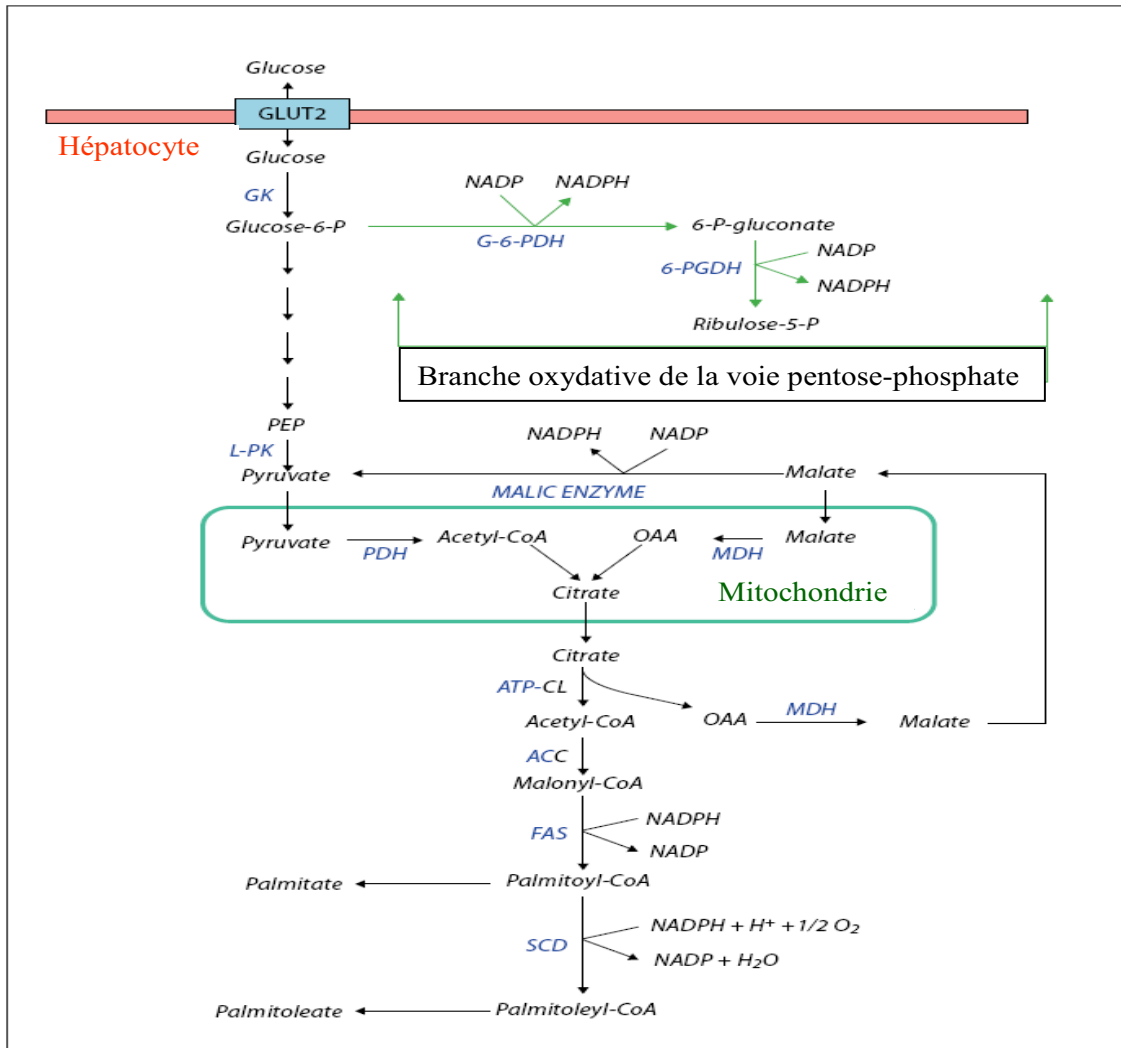


Figure 3. La voie lipogénique hépatique à partir du glucose. ACC, *acetyl-CoA carboxylase*; ATP-CL, *ATP-citrate lyase*; FAS, *fatty acid synthase*; GK, *glucokinase*; GLUT2, *glucose transporter 2*; G-6-PDH, *glucose-6-P dehydrogenase*; MDH, *malate dehydrogenase*; OAA, *oxaloacetate*; PDH, *pyruvate dehydrogenase*; 6-PGDH, *6-phosphogluconate dehydrogenase*, L-PK, *liver pyruvate kinase*; PEP, *phosphoenolpyruvate*; SCD, *stearoyl-CoA desaturase*. Adapté de [85].

En premier lieu, l'activation de la glycolyse génère les citrates qui seront transformés par l'*ATP-citrate lyase* en acétyl-CoA, le substrat pour la synthèse des acides gras. En présence d'acétyl-CoA et d'ATP, l'ACC va catalyser la formation de malonyl-CoA qui servira de substrat pour FAS et d'inhibiteur de la β -oxydation des acides gras. Par la suite, FAS formera les acides gras saturés (palmitates) à partir de malonyl-CoA et NADPH. Les dernières étapes de la synthèse des acides gras comprennent l'élongation par ELOVL6 et la

désaturation par SCD1 (Figure 3). Enfin, les acides gras sont estérifiés pour former les TG et autres composants lipidiques.

2.3.1. Acetyl-CoA carboxylase (ACC)

L'ACC catalyse la conversion d'acétyl-CoA en malonyl-CoA, un substrat essentiel à la synthèse des acides gras dans les tissus lipogéniques et un important régulateur de l'oxydation des acides gras dans le muscle, le cœur, le foie, le cerveau et autres tissus [86, 87]. L'ACC contribue d'une façon importante au contrôle général du métabolisme énergétique et fournit un excellent modèle de contrôle enzymatique et de l'action hormonale [88, 89].

2.3.1.1. Rôle de l'ACC

La réaction en deux étapes, catalysée par l'ACC, vise à former de malonyl-CoA à partir d'acétyl-CoA selon la réaction suivante :

Réaction générale :



Étape 1): $\text{ATP} + \text{Bicarbonate} + \text{Biotinyl-ACC} \rightarrow \text{ADP} + \text{P}_i + \text{Carboxy-biotinyl-ACC}$

Étape 2): $\text{Carboxy-biotinyl-ACC} + \text{Acetyl-CoA} \rightarrow \text{Biotinyl-ACC} + \text{Malonyl-CoA}$ [87, 90].

Le malonyl-CoA produit par l'ACC est un substrat essentiel pour FAS, notamment dans le foie, les tissus adipeux et les glandes mammaires [34, 88]. De plus, il est indispensable dans la formation des acides gras de très longue chaîne [91]. Également, le malonyl-CoA contribue à la régulation de la β -oxydation des acides gras en inhibant la *Carnitine palmitoyl-CoA transferase-I* (CPT1) [92]. Bien qu'il soit admis que le malonyl-CoA joue un rôle important dans la régulation de la β -oxydation dans le muscle et le cœur chez les rongeurs, les effets restent une matière à débat chez l'homme, car la β -oxydation dans certaines études ne corrèle pas vraiment avec les concentrations en malonyl-CoA dans quelques tissus.

2.3.1.2. Structure, type d'isoformes et distribution tissulaire de l'ACC

Chez les mammifères, l'ACC existe sous deux isoformes majeures, l'ACC1 et l'ACC2 [88, 90, 93]. Les isoformes ACC1 sont des protéines cytosoliques d'un poids moléculaire de 265

kDa. Elles forment des dimers ayant une activité catalytique réduite. Cette dernière augmente lorsque les isoformes se polymérisent [90, 94]. Un équilibre physiologique existe entre les dimers et les polymères. La proportion des polymères actifs augmente rapidement dans le foie et dans les tissus adipeux en réponse à la stimulation par l'insuline et diminue dans des conditions cataboliques [95]. L'ACC1 est hautement exprimée (10-50 µg/g du poids frais) dans les tissus adipeux brun et blanc, dans le foie et dans les glandes mammaires [96].

L'ACC2, découverte dans le cœur du rat, est associée à la mitochondrie [97]. Le poids moléculaire de l'ACC2 est d'environ 280 kDa, un peu plus grand que celui d'ACC1, en raison de la présence d'une séquence N-terminal de localisation mitochondriale [98, 99]. L'ACC2 est exprimée en petites quantités (1-2 µg/g du poids frais) dans le cœur, les muscles squelettiques et autres types de cellules incluant ceux des tissus adipeux blancs humains [97]. Les niveaux les plus élevés d'ACC2 ont été trouvés dans le foie où elle représente de 20 à 25% de l'ACC totale [98].

2.3.1.3. Régulation de l'expression de l'ACC

Le niveau d'expression des isoformes d'ACC est très sensible au statut nutritionnel. Ainsi, dans un état d'abondance de nutriments, la tendance est à l'augmentation de la lipogenèse stimulée par l'insuline via la stimulation de l'expression des gènes de la lipogenèse, tels qu'ACC1 et FAS [96]. En parallèle, l'insuline inhibe l'oxydation des acides gras en stimulant l'expression d'ACC2. L'expression des isoformes d'ACC est inhibée par le manque de nutriments (i.e. le jeûne) et d'insuline [96]. L'action de l'insuline et du glucose intervient via les facteurs de transcription SREBP-1 et ChREBP, respectivement. Ainsi, SREBP-1c joue un rôle majeur dans le contrôle de l'expression des gènes de la lipogenèse, en particulier l'ACC1 [39]. D'autres facteurs de transcriptions contribuent au contrôle de l'expression de l'ACC incluant LXR, *Retinoid X receptor* (RXR), les *Peroxisome-proliferator-activated receptors* (PPARs), Foxo et les isoformes de *PPARγ co-activator* [88, 100]. L'expression d'ACC2 est sensible à la leptine par des effets qui sont médiés par les PPARγ, MyoD, Myf4 et Myf6 [101, 102]. Cependant, dans certains cas, l'expression des isoformes d'ACC pourrait être différente d'un tissu à l'autre. Ainsi, dans les hépatocytes, l'expression d'ACC2 est parallèle à celle d'ACC1 [103]. Par contre, dans le cœur et le

muscle, l'expression d'ACC2 augmente en parallèle avec la diminution de l'expression d'ACC1 pendant la différenciation cellulaire [104].

2.3.1.4. Régulation de l'activité de l'ACC

La régulation de l'activité ACC est complexe et implique plusieurs facteurs. Par exemple, l'exposition des cellules *in vivo* ou *in vitro* à l'insuline conduit à l'activation substantielle d'ACC en l'espace de 2 à 5 minutes [105, 106]. L'inhibition d'ACC1 est aussi rapide mais dépend des traitements cellulaires avec les catécholamines et le glucagon [107, 108]. La régulation de l'activité d'ACC implique deux mécanismes majeurs :

- une modulation allostérique
- une modulation par phosphorylation / déphosphorylation.

2.3.1.4.1. Régulation allostérique

La régulation allostérique de l'activité d'ACC est un mécanisme très important puisqu'elle rend l'ACC sensible à la disponibilité des substrats et des métabolites cellulaires. Ainsi, les citrates (provenant du cycle de Krebs) et les autres acides carboxyliques sont parmi les effecteurs allostériques majeurs qui activent l'ACC1 en favorisant sa polymérisation [90, 94]. Le glutamate active également l'ACC1, suggérant une action des acides aminés dans la régulation du métabolisme des acides gras [109]. Par contre, le malonyl-CoA, les CoA libres et les esters des acyl-CoAs (*fatty acyl-CoA*) sont parmi les inhibiteurs potentiels d'ACC1 [110, 111].

L'ACC2 est également activée d'une façon allostérique par le citrate et le glutamate mais ne polymérise pas autant qu'ACC1, reflétant peut être des propriétés relatives à sa localisation dans la membrane mitochondriale externe. Cependant, le contrôle allostérique d'ACC2 par le citrate dans le muscle est crucial [112].

2.3.1.4.2. Régulation par phosphorylation

En plus de la régulation allostérique d'ACC, l'activité est étroitement régulée par le niveau de phosphorylation. Ainsi, la phosphorylation par les protéines kinases induit l'inactivation de ces enzymes alors que leur déphosphorylation par des protéines phosphatases serait capable de rétablir leur activation [109].

L'AMPK est la protéine kinase majeure d'ACC1 en la phosphorylant sur Ser⁷⁹, Ser¹²⁰⁰ et Ser¹²¹⁵ [108]. L'action de l'AMPK sur la phosphorylation d'ACC1 serait inversée suite au traitement des hépatocytes ou des cardiomyocytes par l'insuline [113]. Cependant, cet effet de l'insuline n'est pas observé dans les cultures primaires d'hépatocytes et d'adipocytes et semble, ainsi, indépendant des changements des concentrations en AMP cyclique (AMPC) ou en 5'-AMP [114]. Comme les autres effets métaboliques, l'activation d'ACC par l'insuline est bloquée par l'inhibition de la voie de signalisation de *Phosphoinositide 3-kinase* (PI3K) [115].

L'ACC2 est aussi phosphorylée par l'AMPK durant la perfusion ischémique du cœur et durant l'exercice ou la stimulation électrique du muscle squelettique, en parallèle avec l'activation de l'AMPK [116, 117]. De plus ACC2 est phosphorylée par la *cyclic AMP-dependent protein kinase A* (PKA), pour laquelle elle a une affinité de près de 10 fois plus importante que pour ACC1 [101, 118]. Enfin, la stimulation α -adrénergique supprime l'activité d'ACC dans le foie et le muscle squelettique, suggérant que d'autres ACC kinases pourraient être d'une importance physiologique capitale [119, 120].

2.3.1.5. Inhibition d'ACC dans les modèles animaux

Pour mieux comprendre les rôles des isoformes d'ACC, plusieurs études ont été effectuées sur des modèles de rongeurs dans lesquels les gènes d'ACC1, d'ACC2 ou des deux à la fois ont été génétiquement invalidés (suppression totale ou inactivation tissu-spécifique i.e. le foie).

Dans une première étude, l'inactivation totale d'ACC1 chez les souris (ACC1^{-/-}) conduit à une létalité embryonnaire, soulignant l'importance de cette isoenzyme et de la synthèse *de novo* des acides gras dans le développement embryonnaire [121]. Pour palier à cette difficulté, la suppression d'ACC1 spécifique au foie a été réalisée dans des modèles de souris [32, 122]. Néanmoins, ces modèles ne développent qu'un phénotype modéré et n'ont donc pas pu élucider le rôle de l'ACC1. De plus, il y a eu une compensation au manque d'ACC1 fonctionnel en surexprimant l'ACC2.

Les souris générées par Harada et ses collègues [32] n'ont pas montré une altération dans le taux de la lipogenèse hépatique et le taux de malonyl-CoA hépatique n'a pas diminué. Le malonyl-CoA provient probablement de la compensation via l'ACC2 dont l'expression est augmentée. Donc, ces résultats suggèrent la participation du malonyl-CoA synthétisé par

l'ACC2 dans la lipogenèse hépatique en plus de son rôle dans l'inhibition de l'oxydation des acides gras [32]. En revanche, malgré la compensation, les souris *Liver-specific ACC1-knockout* (LACC1KO) générées par Mao et al. [122] ont montré une diminution de 70% de la concentration en malonyl-CoA hépatique, une réduction de 50% de la synthèse *de novo* en acides gras et une diminution de 40% dans l'accumulation des TG hépatiques. Cependant, en dépit de la réduction significative de l'accumulation des lipides dans le foie, les souris LACC1KO ne sont pas protégées pour autant contre le développement de l'obésité, du foie gras ou de la résistance à l'insuline causés par une diète riche en lipides et en glucides [122]. La suppression totale du gène ACC2 chez la souris (ACC2^{-/-}) a mis en évidence le rôle de cette enzyme dans la régulation de l'oxydation des acides gras. En effet, comparées aux contrôles, les souris ACC2^{-/-} sont plus minces et protégées du diabète et de l'obésité induite par une diète riche en lipides et en glucides [123, 124]. Ces effets seraient dus à l'augmentation de la β -oxydation dans les organes tels que le cœur, les muscles squelettiques et le foie, suggérant que la diminution des concentrations de malonyl-CoA (issu d'ACC2) de la mitochondrie est un facteur très important dans le contrôle de l'activité de CPT1 [123, 124]. L'absence de compensation dans ces cas montre que le malonyl-CoA issu d'ACC1 ne participe que très peu à la régulation de la β -oxydation. Globalement, ces études montrent que l'inactivation d'ACC pourrait constituer une approche thérapeutique prometteuse pour traiter l'obésité, la résistance à l'insuline et le diabète.

2.3.2. Fatty acid synthase (FAS)

Chez les mammifères, la FAS est une enzyme homodimère dont le monomère est une protéine multifonctionnelle contenant sept domaines catalytiques et un site pour le groupe prosthétique, 4'-phosphopantetheine. Le complexe FAS catalyse la synthèse des acides gras saturés (palmitate, stéarate et myristate) en utilisant l'acétyl-CoA, le malonyl-CoA et le NADPH [34, 125-127]. FAS est exprimée d'une manière ubiquitaire chez l'humain, mais hautement exprimée dans les tissus lipogéniques tels que le foie, les tissus adipeux et les glandes mammaires [128]. Étant donné que FAS catalyse la dernière étape de la synthèse des acides gras, elle semble donc déterminante pour la capacité maximale d'un tissu, en particulier le foie, à synthétiser les acides gras. La délétion du gène codant FAS conduit à la létalité embryonnaire [35], similaire à l'inactivation totale d'ACC1 [121]. L'invalidation conditionnelle au foie de FAS (FASKOL) chez les souris n'a pas de phénotype différent des

contrôles lorsqu'elles sont soumises à une diète normale [129]. En revanche, dans certaines conditions nutritionnelles, non seulement l'absence de FAS ne protège pas contre le développement du foie gras mais elle l'aggrave. En effet, les souris FASKOL soumises à une diète faible en lipides/riche en glucides pendant 4 semaines, développent une stéatose hépatique [129]. Ce résultat serait la conséquence de la réduction de la β -oxydation, comme montrée par l'augmentation de plus de 3 fois des concentrations en malonyl-CoA hépatique et une réduction des corps cétoniques dans le sang [129]. Ainsi, il semblerait que FAS joue plusieurs rôles que ce soit dans la lipogénèse ou dans l'oxydation des acides gras, mais des études supplémentaires sont nécessaires pour clarifier ces rôles.

2.3.3. Stearoyl-CoA desaturase 1 (SCD1)

La protéine SCD1 est une protéine cytoplasmique localisée au niveau de réticulum endoplasmique (RE). Elle catalyse la désaturation des acides gras saturés sur la position $\Delta 9$ -*cis*. Elle désature de préférence le palmitoyl-CoA (C16 :0) et le stéaroyl-CoA (C18 :0) en palmitoleyl-CoA (C16 :1) et en oleoyl-CoA (C18 :1) respectivement [130, 131]. Le palmitoleyl-CoA et l'oleoyl-CoA sont des substrats essentiels pour la synthèse des TG, des phospholipides et des esters de cholestérol. De plus, ils sont les deux acides gras majeurs rencontrés dans les *Intra-muscular triacylglycerol* [130].

L'activité élevée de SCD1 est associée à plusieurs désordres métaboliques y compris le diabète, l'athérosclérose et l'obésité [131, 132]. En effet, l'inactivation de SCD1 par sa suppression totale (souris SCD^{-/-}) [133, 134] ou par la stratégie *Antisense oligonucleotide* (ASO) dans le foie ou les tissus adipeux des souris [135, 136] empêche le développement des désordres métaboliques (e.g. l'obésité, la résistance à l'insuline, la stéatose hépatique et l'hyperglycémie postprandiale) dus à une diète riche en lipides et en glucides. Dans ces études, l'effet protecteur de SCD1 est attribué à la combinaison de la réduction du taux de la lipogénèse et de l'activation de la β -oxydation, montrant une fois de plus, l'importance de la modulation de ces voies *in vivo*. Ces travaux montrent l'intérêt de SCD1 comme cible de choix pour le traitement des maladies métaboliques telles que la stéatose hépatique et la résistance à l'insuline [137].

2.4. Enzymes de la synthèse des triglycérides

Chez les eucaryotes, les TG représentent une réserve énergétique et un stock d'acides gras (essentiels et non essentiels) et de précurseurs de la biosynthèse des phospholipides. Les TG sont empaquetés dans les VLDL et les chylomicrons pour être distribués dans les tissus périphériques pour leur utilisation ou leur stockage. De plus, avec la formation des TG, les cellules sont protégées de l'accumulation toxique des acides gras et des signaux émanant du DAG. Ainsi, tous les tissus, y compris, le cerveau sont capables de synthétiser les TG [138-140]. Les TG dans les cellules sont contenus dans des gouttelettes lipidiques qui sont très larges dans les adipocytes. En cas de besoin, les TG sont hydrolysés complètement pour libérer les acides gras nécessaires à la production d'ATP ou pour partiellement libérer le DAG, un précurseur de la majeure partie des phospholipides, phosphatidylinositol, phosphatidylglycérol et cardiolipine.

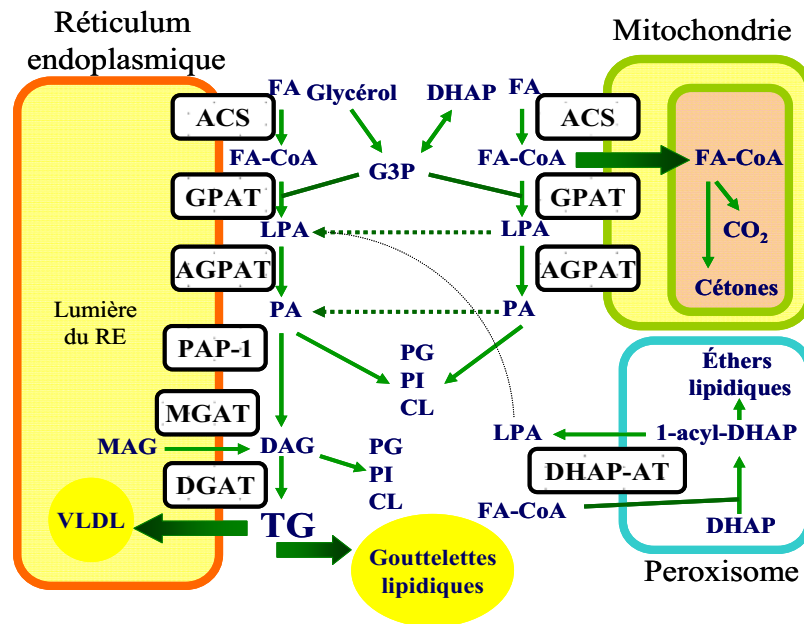


Figure 4. Voies de synthèse des triglycérides. Le LPA et le PA peuvent être synthétisés dans la mitochondrie mais devraient être transportés vers le RE pour la synthèse terminale des TG. ACS, *acyl-CoA synthetase*; AGPAT, *acylglycerol-P acyltransferase*; CL, *cardiolipin*; DAG, *diacylglycerol*; DGAT, *diacylglycerol acyltransferase*; DHAP, *dihydroxyacetone-P*; DHAP-AT, *DHAP-acyltransferase*; FA, *fatty acid*; G3P, *glycerol-3-phosphate*; GPAT, *acyl-CoA:glycerol-3-phosphate acyltransferase*; LPA, *lysophosphatidic acid*; PA, *phosphatidic acid*; PAP-1, *phosphatidic acid phosphohydrolase*; PC, *phosphatidylcholine*; PE, *phosphatidylethanolamine*; PG, *phosphatidylglycerol*; PI, *phosphatidylinositol*; PLC, *phospholipase C*; PS, *phosphatidylserine*; TG, *triacylglycerol*; VLDL, *very low density lipoprotein*. Adapté de [138].

La synthèse des TG se fait en plusieurs étapes (Figure 4):

- 1) Formation du LPA (acide lysophosphatidique) à partir d'acide gras et du G3P, catalysée par l'*acyl-CoA:glycerol-3-phosphate acyltransferase* (GPAT);
- 2) Formation du PA (acide phosphatidique) par l'*acyl-CoA:1-acylglycerol-sn-3-phosphate acyltransferase* à partir du LPA;
- 3) Formation du DAG qui se fait par deux voies majeures : la déphosphorylation du PA par les *phosphatidic acid phosphatases* et la conversion de monoacylglycérol (MAG) par l'*acyl-CoA:monoacylglycerol acyltransferase* (MGAT), sentier métabolique majeur dans l'intestin;
- 4) Formation du TG qui est catalysée par les *diacylglycerol:acyl-CoA acyltransferase* (DGATs) qui acylent le DAG en TG.

2.5. Contribution de la lipogenèse hépatique à la production des VLDL

La synthèse hépatique des TG est régulée nutritionnellement et leur formation à partir de simples glucides nécessite de multiples voies métaboliques, incluant la glycolyse et l'oxydation du pyruvate pour générer l'acétyl-CoA nécessaire à la synthèse des acides gras, la génération du NADPH comme force réductrice, la synthèse et l'emballage des acides gras sous forme de TG. Ensuite, ces derniers sont libérés dans la circulation comme composants essentiels des VLDL.

Chez les modèles de rongeurs de laboratoire, le taux lipogénique est élevé en raison de la teneur élevée en glucides et de la faible proportion des graisses alimentaires. Par contre, chez l'homme la lipogenèse hépatique est considérée comme presque négligeable et sa contribution à la production des VLDL est réduite (estimée à moins de 5%) dans les situations normales étant donné les quantités élevées de lipides fournies par l'alimentation occidentale (35-40% d'énergie sous forme de lipides) [141]. Cependant, une forte corrélation existe entre la sécrétion de VLDL et le taux de la lipogenèse même dans les conditions basales [142].

En revanche, la contribution de la lipogenèse à la sécrétion des VLDL pourrait être augmentée jusqu'à des proportions ~ 20-30% dans des conditions associées aux taux élevés de lipogenèse [28-31, 36, 37]. Ces conditions comprennent des situations nutritionnelles (e.g. consommation des diètes riches en glucides/faible en gras, diètes enrichies en sucre et

consommation d'alcool) et pathologiques (e.g. obésité, résistance à l'insuline, maladies du foie et états infectieux) [28-31, 36, 37]. Dans de telles situations, le métabolisme cellulaire est dévié de l'oxydation des lipides à l'estérification des TG, augmentant ainsi la disponibilité des TG hépatiques, les principaux précurseurs de la synthèse et de la sécrétion des VLDL. En effet, l'augmentation de malonyl-CoA, qui est un produit d'ACC, inhibe L-CPT1, l'enzyme clé de la β -oxydation qui régule le transfert des acyl-CoAs de longue chaîne du cytosol vers la mitochondrie, conduisant ainsi à un shift de l'oxydatif à la réestérification [143].

2.6. La lipogenèse, l'accumulation des triglycérides et les maladies métaboliques chez l'homme et les modèles animaux

L'association entre l'augmentation de la lipogenèse, en particulier la synthèse des TG et les maladies métaboliques telles que l'obésité, la résistance à l'insuline et le diabète de type 2 a été démontrée chez l'homme et plusieurs types de rongeurs. Chez ces derniers, l'hyperglycémie, l'hyperinsulinémie et l'hyperlipidémie exacerbent la synthèse des TG alors que la diminution des TG hépatiques corrèle positivement avec l'amélioration de la sensibilité à l'insuline et des désordres métaboliques [28-31, 36, 37, 144-148].

L'augmentation des TG est le résultat d'une dérégulation au niveau du contrôle transcriptionnel des gènes impliqués dans la voie de synthèse. Ainsi, l'expression génique des facteurs de transcription SREBP-1c et ChREBP et de leurs cibles corrèle positivement avec l'obésité, l'hyperinsulinémie et l'hyperglycémie [40, 59, 145, 149-152]. En effet, dans le modèle animal de résistance à l'insuline, le rat JCR:LA-cp, l'augmentation de l'expression des gènes de la lipogenèse, en particulier l'ACC, et de leurs activités ainsi que de l'expression de SREBP-1c accompagne l'augmentation de la sécrétion des VLDL du foie [40, 153]. Aussi, le foie et les îlots pancréatiques des rats *fa/fa* expriment des niveaux élevés en ARNm du facteur de transcription hépatique SREBP-1c et des gènes lipogéniques FAS, ACC et GPAT [154]. Le traitement de ses animaux par le troglitazone normalise l'expression de ces enzymes et empêche le développement du diabète. Chez les rats, normaux avec une obésité nutritionnelle, l'hyperleptinémie empêche la surexpression du SREBP-1 et diminue l'expression des gènes lipogéniques [154].

L'importance de SREBP-1c pour l'expression des gènes lipogéniques est aussi observée *in vivo* en vue de l'induction de l'expression des gènes par une diète riche en glucides et qui est

bloquée chez les souris n'exprimant pas SREBP-1c [39]. Chez les souris diabétiques STZ, la surexpression de SREBP-1c a pour conséquence, une induction des gènes lipogéniques et une réduction marquée de l'hyperglycémie des souris diabétiques mimant ainsi, les effets de l'injection de l'insuline [47].

Les effets du SREBP-1c et de ChREBP sont aussi amplement mis en évidence dans le modèle murin de souris *ob/ob*, qui est utilisé dans les études des maladies métaboliques. Une mutation dans le gène *ob* empêche la synthèse de la leptine [147, 155]. Sachant que la leptine joue un rôle majeur dans le métabolisme lipidique, en son absence les souris *ob/ob* sont hyperphagiques, inactives et deviennent obèses. De plus, ces souris en vieillissant deviennent progressivement hyperinsulinémiques, hyperglycémiques et hyperlipidémiques. En parallèle, les souris *ob/ob*, développent des foies gras [147, 156], et l'accumulation de gouttelettes lipidiques et de TG est très clairement observée dans le foie [157]. Ces désordres métaboliques sont dus à l'exacerbation des voies lipogéniques et glycolytiques par le biais des facteurs de transcription SREBP-1c et ChREBP [156].

Chez le *Psammomys obesus*, une activation de la lipogenèse hépatique, et de la synthèse des TG en particulier, accompagnent le développement de la résistance à l'insuline et du DT2 [33, 158-160]. Ainsi, l'activité de MTP, MGAT et DGAT et la synthèse de l'apo B sont augmentées chez les animaux résistants à l'insuline et diabétiques [160]. Ces situations conduisent à une augmentation des TG dans le foie et dans le plasma et à une sécrétion accrue des VLDL hépatiques [160].

La surproduction des TG et des VLDL qui conduit à l'accumulation des TG dans le foie et dans les tissus périphériques autres que les tissus adipeux, notamment dans les muscles squelettiques, est associée à la résistance à l'insuline et à l'apoptose [148, 161]. Ainsi, chez l'homme, l'accumulation du malonyl-CoA et des TG dans les muscles squelettiques est associée à la résistance à l'insuline et au diabète de type 2 [148]. L'augmentation du transport des acides gras et de la lipogenèse, en parallèle avec la diminution de la β -oxydation et de l'activité de l'AMPK, est à l'origine de ces anomalies qui sont corrigées par le traitement à la rosiglitazone [148]. Aussi, les îlots pancréatiques des rats Zucker diabétiques obèses *fa/fa* (leptine-déficients) contiennent jusqu'à 100 fois plus de TG comparativement aux rats normaux et subissent simultanément l'apoptose qui est empêchée par le traitement à la triacine C, un inhibiteur de quelques isoformes d'acyl-CoA synthetase [154, 162, 163] et donc un inhibiteur de la synthèse des TG [164, 165]. Ces résultats

présentent les TG comme marqueurs ou source des produits lipidiques toxiques tels que les céramides et le DAG qui stimulent l'apoptose.

L'impact des médiateurs lipidiques a été mis en évidence récemment par plusieurs études afin d'illustrer le concept selon lequel l'accumulation de ces métabolites lors de la synthèse des TG contribuerait au développement des désordres métaboliques. En effet, les métabolites lipidiques comprenant les acyl-CoAs, le LPA et le DAG sont générés par la voie G3P et la GPAT en catalysant la formation du LPA est considérée comme enzyme limitante [60]. Les études de l'inactivation (souris GPAT^{-/-}) [146] et de la surexpression [166] de la GPAT [146] chez les souris ont révélé le rôle de cette enzyme dans la résistance à l'insuline et la stéatose hépatique. Les souris GPAT^{-/-} ont montré une réduction des niveaux hépatiques des TG et du DAG et par conséquent, elles sont protégées contre la résistance à l'insuline induite par une diète riche en glucides et en lipides. Ainsi, malgré l'accumulation des acyl-CoAs ces souris ne développent pas de résistance à l'insuline suggérant que le DAG serait le plus à considérer dans l'apparition de ce désordre. Il est intéressant de noter que la surexpression des deux enzymes clés de la synthèse hépatique (GPAT vs. DGAT2) donne des phénotypes différents, suggérant que la modulation de la synthèse des TG aux différentes étapes est déterminante pour l'avènement de la résistance à l'insuline. En effet, la surexpression de GPAT dans le foie du rat est associée à la stéatose hépatique et à la résistance à l'insuline [166], alors que la surexpression de DGAT2 chez les souris, malgré le développement de la stéatose hépatique la sensibilité à l'insuline n'est pas affectée [167].

3. Contribution du métabolisme lipidique intestinal aux maladies métaboliques

La recherche sur le métabolisme lipidique intestinal revêt un intérêt grandissant, en raison notamment, de la progression inquiétante des maladies métaboliques telle que l'obésité. Récemment, des avancées importantes ont été réalisées dans ce domaine ayant trait, notamment, à l'identification de nombreux transporteurs d'acides gras, à la découverte de familles d'acyl-CoA synthetases, à l'éclaircissement des fonctions physiologiques des *Fatty acid binding proteins* (FABPs) et à la caractérisation du transport du chylomicron du réticulum endoplasmique vers le Golgi [139]. Cependant, plusieurs controverses existent sur

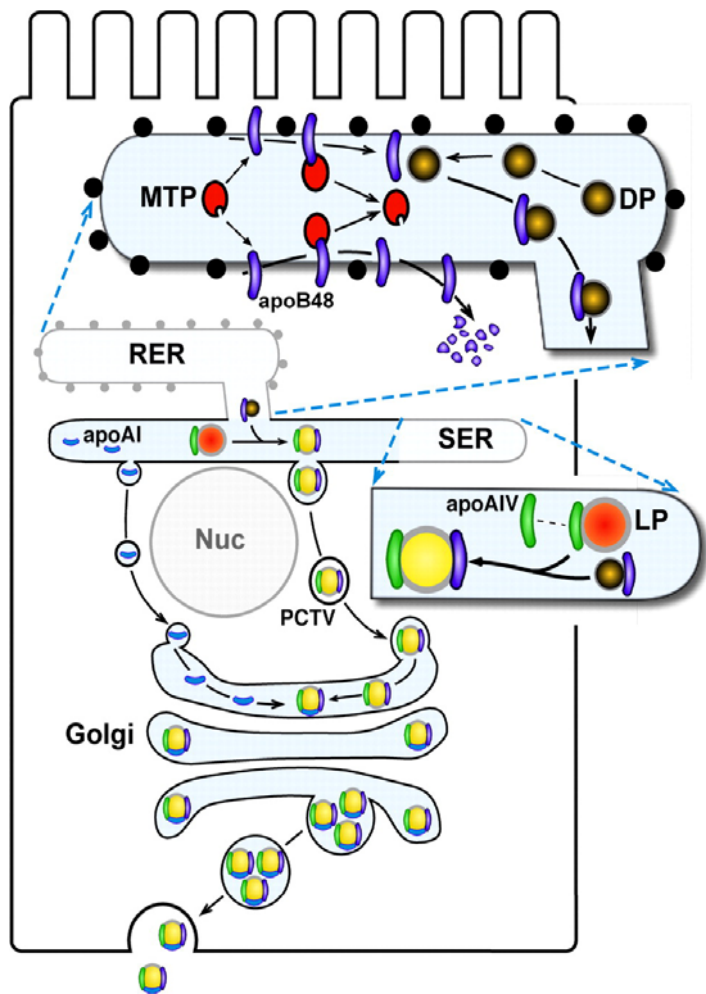
les aspects fondamentaux de ces processus, notamment sur les mécanismes d'absorption des acides gras et le contrôle de l'exportation des chylomicrons.

3.1. Vue générale sur l'absorption des lipides

L'absorption intestinale des lipides comporte trois étapes principales [139] :

- l'incorporation dans l'entérocyte;
- la transformation intracellulaire;
- l'exportation vers la lymphe mésentérique pour rejoindre la circulation.

Figure 5. Biogenèse des chylomicrons. La formation des CMs est un processus séquentiel de plusieurs étapes qui commence dans le RE. Dans le réticulum endoplasmique rugueux (RER, voir l'agrandissement de ce segment) l'apo B-48 (en pourpre) nouvellement synthétisée est chaperonnée par la MTP (en rouge). Ensuite l'apo B-48 suit l'un des deux itinéraires : elle forme un complexe avec la particule dense (DP) qui contient en grande partie des phospholipides, du cholestérol, et une petite quantité de TG; ou elle est rapidement dégradée en absence d'association avec les lipides. Dans le réticulum endoplasmique lisse (SER, voir l'agrandissement de ce segment) les TG et cholestérols esters (en orange) sont acheminés depuis leur site de synthèse vers une particule grandissante par la MTP. Cette particule est fusionnée avec l'apo A-IV (en vert) pour former une large particule légère (LP).



Ces deux précurseurs (DP et LP) de CM fusionnent dans le SER pour former des particules lipidiques qui ont comme noyau des lipides neutres (en jaune) entourés d'une couche de phospholipides et de l'apo B-48 et l'apo A-IV. Cette particule bourgeoise du SER entourée d'une membrane pour former la PCTV (*prechylomicron transport vesicle*) qui est translocalisée vers le complexe Golgi avec lequel elle fusionne. Dans le Golgi la

PCTV fusionne avec l'apo A-I pour former un CM mature. Les CMs quittent alors le Golgi dans des vésicules de transport larges pour être sécrétés dans la lymphe mésentérique. Adapté de [168].

Dans la lumière de l'intestin grêle, les TG alimentaires sont hydrolysés en MAG et en acides gras par la lipase pancréatique. Ensuite, les produits digestifs sont transportés par des protéines spécifiques vers la partie cytosolique du RE où ils y sont reconstitués en TG soit par l'acylation des MAGs par deux acides gras activés (acyl-CoA) ou par la déphosphorylation des acides phosphatidiques et l'acylation du résultant DAG (sn-1,2-diacylglycerol). Les TG formés sont alors pris en charge par la MTP qui les associe avec l'apo B-48, formant ainsi les préchylomicrons qui progressent dans le Golgi pour être sécrétés dans la lymphe mésentérique (Figure 5).

3.2. Régulation physiologique de la sécrétion des chylomicrons

La régulation physiologique de la sécrétion des CMs dans la lymphe mésentérique est contrôlée par plusieurs facteurs tels que la quantité de la PC (phosphatidylcholine) dans la lumière intestinale, la quantité des lipides alimentaires, l'expression de l'apo A-IV par les entérocytes et l'état d'hydratation de la muqueuse intestinale.

En effet, la livraison des CMs dans la lymphe corrèle avec la quantité nutritionnelle de la PC; plus la PC est abondante dans la lumière intestinale plus la livraison dans la lymphe augmente [168]. Ainsi, l'alimentation des rats avec une diète riche en lipides accroît le rendement en CM vers la lymphe en comparaison avec les rats nourris avec une diète normale [169]. Ce mécanisme serait lié au fait que la diète riche en lipides accroît la livraison de la PC biliaire de presque deux fois.

L'augmentation de l'expression de l'apo A-IV par les entérocytes également joue un rôle important sur la sécrétion des CMs. En effet, la surexpression de l'apo A-IV dans les cellules IPEC augmente significativement le rendement en TGs en grande partie en augmentant la taille des CMs [168]. Finalement, l'état d'hydratation de l'intestin corrèle positivement avec la capacité des rats à exporter les chylomicrons vers la lymphe mésentérique [170, 171].

3.3. Relation entre le métabolisme lipidique intestinal et les maladies cardiovasculaires

L'homme est continuellement en situation postprandiale. Durant cet état, le transport des lipides et la sécrétion des CMs sont maintenus. Les CMs et leurs résidus contribuent directement et indirectement à l'étiologie et au développement des maladies cardiovasculaires, en général, et au développement de l'athérosclérose, en particulier [172, 173].

L'apo B-48 constitue une composante majeure des CMs. Le taux de synthèse de l'apo B-48 ne varie pas en fonction des changements alimentaires aigus ou chroniques qui altèrent la synthèse des autres protéines entrant dans la formation des CMs telle que l'apo A-IV. L'apo B-48 nouvellement synthétisée est translocalisée dans la lumière du RE, mais contrairement aux autres protéines sécrétoires, elle ne peut continuer la voie vers la sécrétion si elle n'est pas associée à des lipides, sinon elle est dégradée par le système ubiquitine-protéasome [174, 175].

L'insuline régule la sécrétion des CMs par la modulation de la synthèse de leur composante essentielle l'apo B-48. En effet, l'insuline inhibe la production de l'apo B-48 dans les entérocytes isolés des animaux nourris d'une diète standard, mais cet effet est absent chez les animaux ayant une hyperinsulinémie [176, 177]. Des études chez l'homme ont démontré un modeste retard de l'apparition du pic postprandial de l'apo B-48, qui est associé aux niveaux de l'insuline chez les individus avec une hyperinsulinémie comparativement aux sujets contrôles [178]. Ces résultats pris ensembles montrent que l'entérocyte est sensible au niveau de l'insuline dans la circulation. Mais dans l'état chronique d'hyperinsulinémie, l'entérocyte peut devenir résistant à ces effets [176, 178].

La résistance à l'insuline est généralement associée à la dyslipidémie amplifiée largement par le phénomène postprandial. Si on considérait auparavant [179], que la dyslipidémie est un problème de clearance, des données récentes suggèrent que c'est la surproduction intestinale des lipoprotéines contenant l'apo B-48 qui contribue d'une façon excessive à la dyslipidémie postprandiale [180]. Cependant, la majorité des études mécanistiques proviennent des modèles animaux. En effet, une surproduction intestinale des lipoprotéines contenant l'apo B-48 est démontrée chez les animaux *Psammomys obesus* résistants à l'insuline et diabétiques de type 2 [181, 182], chez les rats JCR:LA-cp résistants à l'insuline [183] et chez les hamsters résistants à l'insuline [184].

La surproduction intestinale des CMs et de l'apo B-48 chez les animaux *Psammomys obesus* résistants à l'insuline et diabétiques de type 2 serait due à l'augmentation de la synthèse des TG, de la biogenèse de l'apo B-48 et de l'assemblage des lipoprotéines riches en TG. De plus, la dégradation par le système ubiquitine-protéasome de l'apo B-48 serait réduite. Ainsi, l'hyperinsulinémie et l'hyperinsulinémie/hyperglycémie favorisent une surproduction des lipoprotéines contenant l'apo B-48 et contribuent à l'hypertriglycéridémie [182].

Chez le rat JCR:LA-cp, des résultats récents ont démontré que les concentrations de l'apo B-48 lymphatiques sont deux fois plus élevées dans le phénotype hyperinsulinémique après un repas lipidique, comparativement aux contrôles normoinsulinémiques. De plus, ces anomalies sont associées à un ratio réduit en TG / apo B-48 (indicateur de la taille des particules) chez les animaux hyperinsulinémiques suggérant que les lipides alimentaires peuvent jouer un rôle clé dans la régulation de la synthèse postprandiale des CMs [183]. En effet, des effets bénéfiques de la supplémentation alimentaire par les acides gras *n-3* ont été observés chez le *Psammomys obesus* [181] comme chez le rat JCR:LA-cp [183]. Chez le *Psammomys obesus* résistants à l'insuline et diabétiques, une diète riche en acides gras *n-3* [181] améliore l'hyperglycémie et l'hyperinsulinémie et réduit la lipogenèse intestinale. Cette supplémentation réduit également l'assemblage des lipoprotéines riches en TG et la biogenèse de l'apo B-48 via une augmentation de la dégradation protéosomale de l'apo B-48, mettant ainsi en avant un important mécanisme de régulation. De plus, cette supplémentation améliore la dyslipidémie postprandiale chez les rats JCR:LA-cp résistants à l'insuline [183]. Ensemble, ces résultats mettent en évidence que la supplémentation en acides gras *n-3* prévient et améliore le syndrome métabolique et influence le transport intestinal des lipides ce qui peut limiter l'hyperlipémie et le risque d'athérosclérose.

D'autres études mécanistiques sur le hamster et sur des cultures primaires d'entérocytes ont indiqué que la surproduction intestinale en apo B-48 est associée à des altérations au niveau de la voie de signalisation induite par l'insuline [176]. En effet, des études précises dans les entérocytes primaires en culture isolés du hamster hyperinsulinémique ont démontré des altérations dans la phosphorylation de l'*Extracellular-signal-regulated kinase* et la *Mitogen-activated protein kinase 1/2* [176]. Ceci représente un mécanisme possible liant le dysfonctionnement de la voie de signalisation de l'insuline dans l'état hyperinsulinémique et une augmentation de la production intestinale de l'apo B-48. Enfin, la résistance à l'insuline induite par le TNF α est accompagnée d'une surproduction de l'apo B-48 dans l'intestin

grêle du hamster [184], suggérant un rôle de l'inflammation dans la régulation de la sécrétions des CMs intestinaux.

En résumé, il paraît clair que les anomalies du métabolisme et du transport des lipides intestinaux jouent un rôle prépondérant dans l'apparition et l'aggravation des maladies métaboliques.

4. Le système AMPK : une cible thérapeutique pour traiter les maladies métaboliques

4.1. Généralités

Le développement inquiétant des maladies métaboliques dans les sociétés modernes incite à explorer en profondeur les bases moléculaires des mécanismes de régulation métabolique afin de mieux cerner d'éventuelles pistes thérapeutiques. Dans cette optique, la recherche sur le système AMPK durant les deux dernières décennies a été très active.

Le système AMPK est un complexe protéique conservé durant l'évolution. Il est présenté comme le détecteur du statut énergétique cellulaire qui intègre les signaux nutritionnels et hormonaux. Bien que les études poussées sur ce système soient relativement récentes, sa découverte remonte à plus de trois décennies. En effet, en 1973, deux groupes indépendants, Kim [185] et Gibson [186], ont démontré que les deux enzymes clés de la synthèse des acides gras et du cholestérol, ACC et *3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase* (HMG-CoR), respectivement, sont inactivées lorsque les préparations sont incubées en présence d'ATP. Il a été suggéré alors que l'inactivation de ces enzymes serait due à leur phosphorylation par une protéine kinase endogène qui serait activée par phosphorylation [187]. Dans les années 1970, cette protéine a été appelée HMG-CoR-kinase quoique sa véritable identité reste inconnue.

Au début des années 1980, le groupe de Kim a démontré que l'inactivation de l'ACC est stimulée par l'AMP suggérant ainsi un lien entre l'inhibition de la synthèse des acides gras et du statut énergétique [188]. Par la suite, Ferrer et ses collègues ont suggéré l'inactivation de HMG-CoR-kinase par l'AMP [189]. Toutefois, il a fallu attendre jusqu'aux travaux du groupe de Hardie en 1987 pour avoir la certitude que l'inactivation d'ACC et de HMG-CoR se fait par une seule protéine kinase [190]. Cette protéine kinase à substrats multiples est

alors appelée « *AMP-activated protein kinase* » en référence à son activateur allostérique le 5'-AMP [191].

4.2. Structure du complexe AMPK

Le système AMPK est un complexe hétérotrimérique formé d'une sous-unité catalytique α et de deux sous-unités régulatrices β et γ (Figure 6). Les sous-unités β et γ sont liées par la sous-unité α [192, 193].

Ce système, très conservé, serait mis en place dès l'aube de l'évolution. En effet, des homologues de toutes les sous-unités de l'AMPK ont été trouvés chez toutes les espèces eucaryotes dont le génome a été séquencé [194, 195]. Chacune des trois sous-unités est encodée par plusieurs gènes chez les mammifères ($\alpha 1$, $\alpha 2$; $\beta 1$, $\beta 2$; $\gamma 1$, $\gamma 2$, $\gamma 3$) [194] et certains subissent des épissages alternatifs donnant ainsi une diversité importante d'hétérotrimers $\alpha\beta\gamma$.

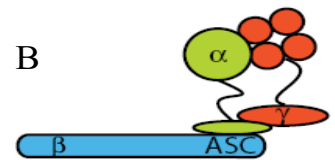
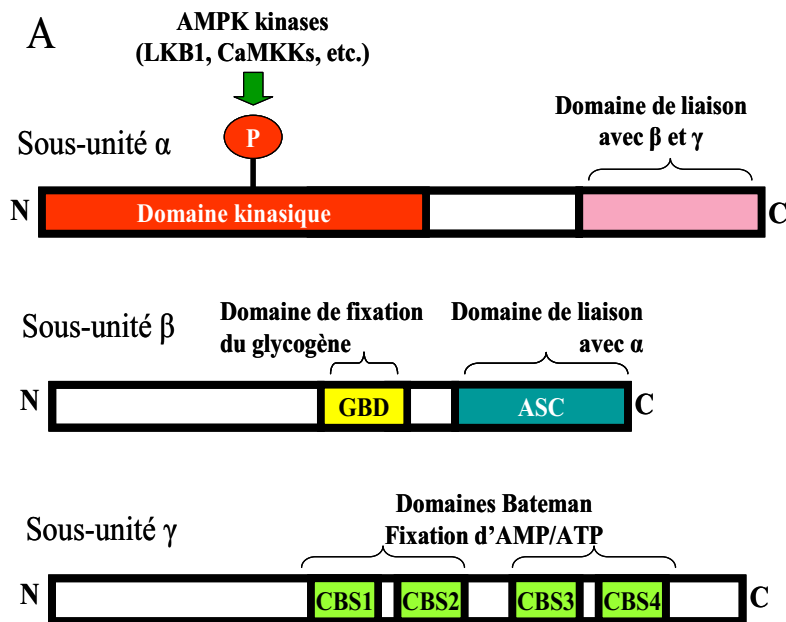
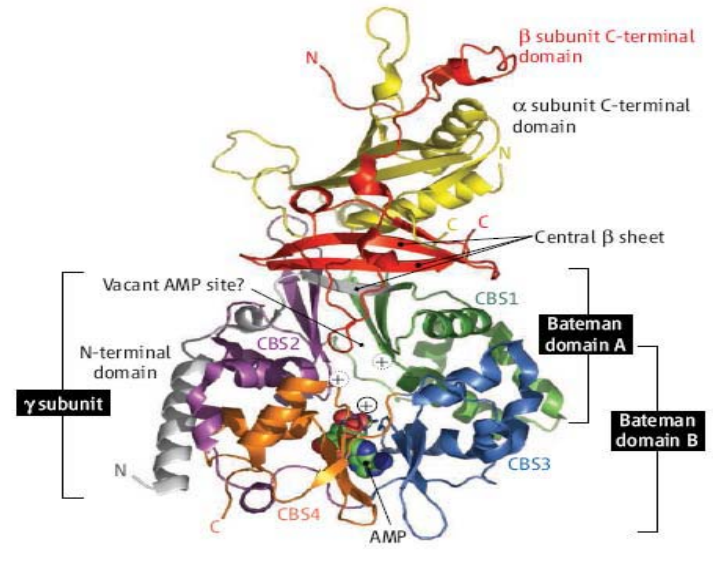


Figure 6. Structure des domaines des trois sous-unités de l'hétérotrimère AMPK. (A) Les régions colorées sont très conservées entre les différentes espèces eucaryotes [196]. (B) Formation du complexe hétérotrimérique $\alpha\beta\gamma$, la sous-unité α sert de jonction entre β et γ [192]. ASC, *association with Snf1 complex*; CBS, *cystathionine β -synthase*.

L'effet activateur de l'AMP ou inhibiteur de l'ATP sur le complexe AMPK se produirait via la sous-unité γ qui lierait sur les domaines Bateman (Figure 7) deux molécules d'AMP ou d'ATP d'une façon simultanée, mutuelle et fortement coopérative [197-199]. Cependant,

l'identification d'un site analogue sur ces domaines (Bateman) fixant l'ADP suggère un rôle de l'ADP en plus de l'AMP et l'ATP dans la régulation de l'activité de l'AMPK [200].

Figure 7. Structure cristallographique du complexe AMPK d'après Townley et Shapiro [201]. La structure montre les domaines C-terminaux des sous-unités α (jaune) et β (rouge) et la sous-unité γ entière. Les domaines Bateman A (CBS1 et CBS2) et B (CBS3 et CBS4) sont positionnés en vis-à-vis. Une molécule d'AMP est liée sur le domaine B avec le groupe phosphate chargé négativement interagissant avec le chaîne latérale chargée positivement sur CBS4 [202].



4.3. Régulation de l'activité AMPK

La phosphorylation de la sous-unité α par des AMPK-kinases représente le principal mécanisme physiologique d'activation du complexe AMPK. Cette phosphorylation se fait principalement sur un site majeur et critique, la Thr-172, situé à l'intérieur de la « boucle d'activation » du domaine kinasique de la sous-unité α [187, 203]. La phosphorylation, et par conséquent, l'activation de l'AMPK est principalement régulée par deux mécanismes distincts dépendamment du métabolite et de la kinase en amont impliqués (Figure 8) :

- Phosphorylation et activation AMP-dépendante (via LKB1)
- Phosphorylation et activation AMP-indépendante ou Calcium-dépendante (via *Calmodulin-dependent protein kinase kinases*, CaMMKs).

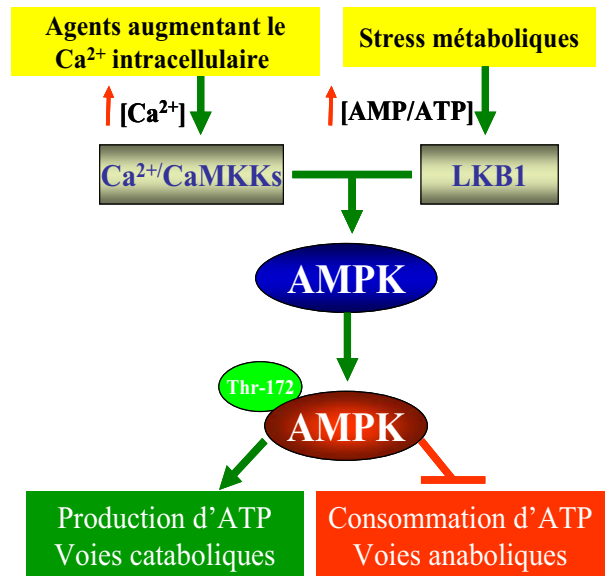
4.3.1. Régulation AMP-dépendante : AMP et complexe LKB1 / STRAD / MO25

L'épuisement de l'ATP cellulaire conduit à l'abondance du 5'-AMP et à l'augmentation du ratio AMP/ATP. Le 5'-AMP active l'AMPK (comme son nom l'indique) suivant un mécanisme complexe causant des effets qui seraient tous associés aux domaines Bateman

sur la sous-unité γ [204]. Ainsi, la liaison du 5'-AMP avec le complexe AMPK contribuerait à :

- A) l'augmentation de la phosphorylation de la sous-unité α par plusieurs AMPK kinases,
- B) l'activation allostérique du complexe AMPK phosphorylé et
- C) l'inhibition de la déphosphorylation de la Thr-172 par des protéines phosphatases [204].

Figure 8. Régulation de l'AMPK. Deux principales kinases en amont de l'AMPK phosphorylent le résidu Thr-172 catalysant ainsi l'effet des stress métaboliques qui causent l'augmentation du ratio AMP/ATP (effet catalysé par LKB1) ou des agents induisant une augmentation du Ca^{2+} intracellulaire (effet catalysé par les CaMKKs). L'AMPK activée rétablira l'équilibre énergétique en stimulant les voies cataboliques productrices d'ATP et en inhibant les voies anaboliques consommatrices d'ATP.



Il est très important de signaler que tous ces effets sont antagonisés par la fixation de l'ATP, qui lie les domaines Bateman avec une affinité moindre que l'AMP mais d'une manière aussi exclusive [198].

Le complexe LKB1/STRAD/MO25 (complexe formé par le suppresseur de tumeur LKB1, la protéine adaptatrice STRAD et la protéine d'échafaudage MO25) a été identifié comme étant le principal complexe kinasique responsable de la phosphorylation de l'AMPK dans la plupart des cellules des mammifères [205-207]. L'interaction entre le complexe LKB1/STRAD/MO25 et le complexe AMPK serait à l'origine de l'activation de la voie de signalisation connue sous le nom : LKB1/AMPK. En plus de son rôle essentiel dans l'activité de suppression de tumeur, l'activation de la voie de signalisation LKB1/AMPK est indispensable pour médier les effets métaboliques de l'AMPK stimulée par des agents causant l'augmentation de la concentration de l'AMP intracellulaire (ou son analogue 5'-aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleoside (AICAR,)). En effet, des études de suppression de LKB1 ont démontré qu'il est essentiel pour l'activation de l'AMPK par

AICAR, par les biguanides : phenformine [206] et metformine [208] et par l'exercice musculaire [209].

4.3.2. Régulation AMP-indépendante : CaMKKs

Un autre mécanisme important de la régulation de l'AMPK est l'activation via le système CaMKKs. En effet, les études disponibles à ce jour suggèrent que l'isoforme CaMKK β est la principale CaMKK responsable de l'activation de l'AMPK. Cette isoforme est physiologiquement activée par les flux intracellulaire du Ca²⁺ [210-212]. Cependant, il est important de noter que contrairement à l'activation de l'AMPK par le LKB1, la fixation de l'AMP par la sous-unité γ de l'AMPK (qui déclenche la phosphorylation de Thr-172 par LKB1) ne suffit pas à déclencher la phosphorylation du complexe AMPK par la CaMKK β . En fait, les traitements augmentant les concentrations d'AMP cellulaires n'activent pas l'AMPK dans les cellules HeLa quoiqu'elles expriment la CaMKK β [211-213].

4.4. Rôles de l'AMPK

4.4.1. Préambule

L'utilisation d'inhibiteur et d'activateurs pharmacologiques a rendu possible l'identification des cibles et des substrats en aval de l'AMPK. Parmi ces composés pharmacologiques, l'AICAR est l'activateur pharmacologique le plus utilisé à cause des effets mimétiques des trois actions physiologiques de l'AMP sur le complexe AMPK (citées plus haut dans la section 4.3.1) y compris la stimulation de la phosphorylation sur la Thr-172 [214, 215]. Ainsi, l'utilisation d'AICAR a permis de caractériser les effets inhibiteurs de l'AMPK sur ACC et sur HMG-CoR dans les hépatocytes du rat [214, 215] et dans les adipocytes [216]. Cependant, les résultats obtenus par l'utilisation de cet activateur devraient être validés par d'autres techniques, car l'action du *5'-aminoimidazole-4-carboxamide 1- β -D-ribofuranotide* (ZMP), la forme active d'AICAR, n'est pas complètement spécifique à l'AMPK et pourrait réguler d'autres enzymes, comme par exemple la glycogène phosphorylase [217] et la fructose-1,6-bisphosphatase [218]. Il est important dans ce cas d'utiliser d'autres approches complémentaires telles que les techniques de biologie moléculaire (e.g. suppression de l'expression de l'AMPK en utilisant des ARNs d'interférence ou l'utilisation des mutants dominants négatifs). Enfin, l'utilisation des inhibiteurs de l'AMPK pourrait fournir des

informations indispensables sur son rôle physiologique et sur ses substrats. Dans cette optique, le composant C a été très fréquemment utilisé pour déchiffrer le rôle physiologique de l'AMPK malgré qu'il ne soit pas spécifique à l'AMPK. En effet, le composant C inhibe plusieurs protéines kinases, y compris l'AMPK. Mais la principale raison qui motive son utilisation vient de sa capacité à inverser les effets d'AICAR (qui n'active pas d'autres kinases) sur la voie de signalisation d'AMPK et pourrait donc mettre en évidence les effets de l'AMPK [219].

4.4.2. Rôles spécifiques de l'AMPK dans les tissus

Étant donné que le complexe AMPK est formé de trois sous-unités et que chacune d'entre elles est exprimée sous plusieurs isoformes, il n'est pas étonnant donc de trouver des complexes protéiques différents d'un tissu à l'autre et d'un type cellulaire à un autre. Par conséquent, le rôle physiologique du complexe AMPK devrait être le reflet de ses composantes. Ainsi, il est tout à fait logique d'observer des actions spécifiques de l'AMPK dans chaque tissu. Cependant, quoique les effets de l'AMPK diffèrent quelque peu d'un organe à l'autre, le rôle principal de l'AMPK dans toutes les cellules reste l'établissement d'une réserve énergétique cellulaire adéquate en activant les voies cataboliques pour produire l'ATP nécessaire au fonctionnement cellulaire et en inhibant les voies anaboliques. Le rôle de l'AMPK a été principalement étudié dans les organes impliqués dans la production et dans l'utilisation de l'énergie tels que le foie, les muscles squelettiques, le cœur, le pancréas, les tissus adipeux et le système nerveux central (Figure 9). Ainsi, dans le foie les effets majeurs de l'activation de l'AMPK comprennent l'inhibition de la synthèse des acides gras, du cholestérol [214, 215, 220-223], du glycogène [224] de la gluconéogenèse [218, 225] et l'activation de la β -oxydation des acides gras [226]. En outre, dans le muscle squelettique, l'activation de l'AMPK induit la capture des acides gras et augmente leur β -oxydation [227]. De plus, l'activation de l'AMPK dans ces tissus induit la biogenèse mitochondriale [228, 229], augmente la capture du glucose [227, 230] et inhibe la synthèse du glycogène [224, 231].

Dans le cœur, l'activation de l'AMPK induit la capture du glucose et augmente la glycolyse en parallèle à l'induction de la capture des acides gras et à l'augmentation de la β -oxydation [232-234]. Dans le pancréas, l'activation de l'AMPK inhibe la synthèse et la sécrétion de l'insuline, principalement en réprimant l'expression du gène codant cette hormone [235]. De

plus, l'activation de l'AMPK (par AICAR ou metformine) serait responsable de la destruction des cellules β -pancréatiques [236-238]. Ainsi, ces résultats pointent l'AMPK comme une cible potentielle pour le traitement du diabète puisque l'inhibition de l'AMPK protègerait ces cellules de l'apoptose [239, 240].

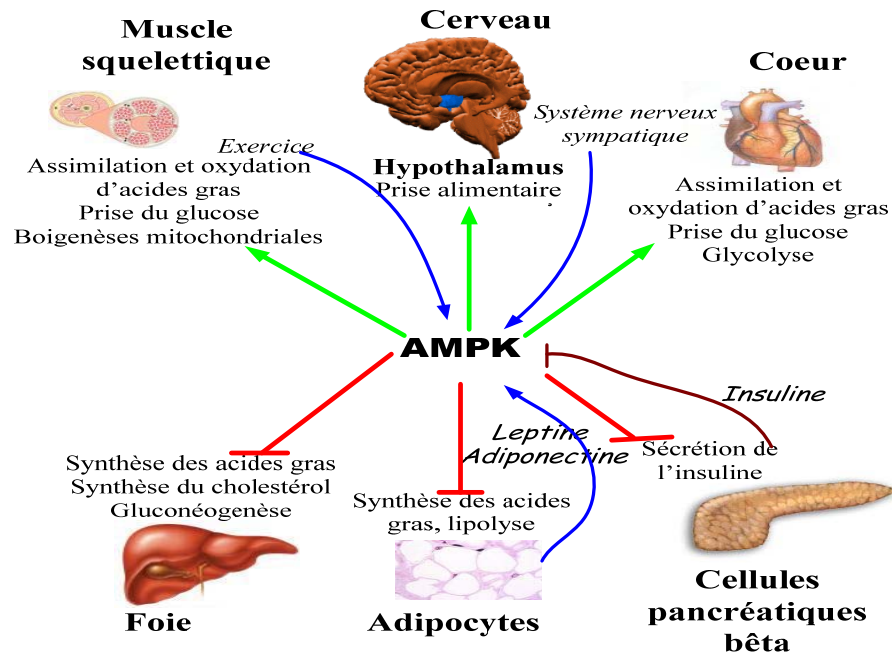


Figure 9. Principaux rôles de l'AMPK dans les tissus. L'activation du complexe AMPK a pour rôle principale de conserver et de générer l'ATP essentiel au fonctionnement des processus cellulaires.

Dans les tissus adipeux, l'activation de l'AMPK inhibe la lipogenèse et la lipolyse [241, 242]. Enfin, dans le cerveau, et précisément dans l'hypothalamus, l'activation de l'AMPK semble avoir des effets sur la régulation de l'appétit. En effet, l'activation de l'AMPK semble capable de stimuler la prise alimentaire et son inhibition réduit l'appétit [243-245]. Les substrats moléculaires et les voies métaboliques en aval du système AMPK sont représentés dans la Figure 10.

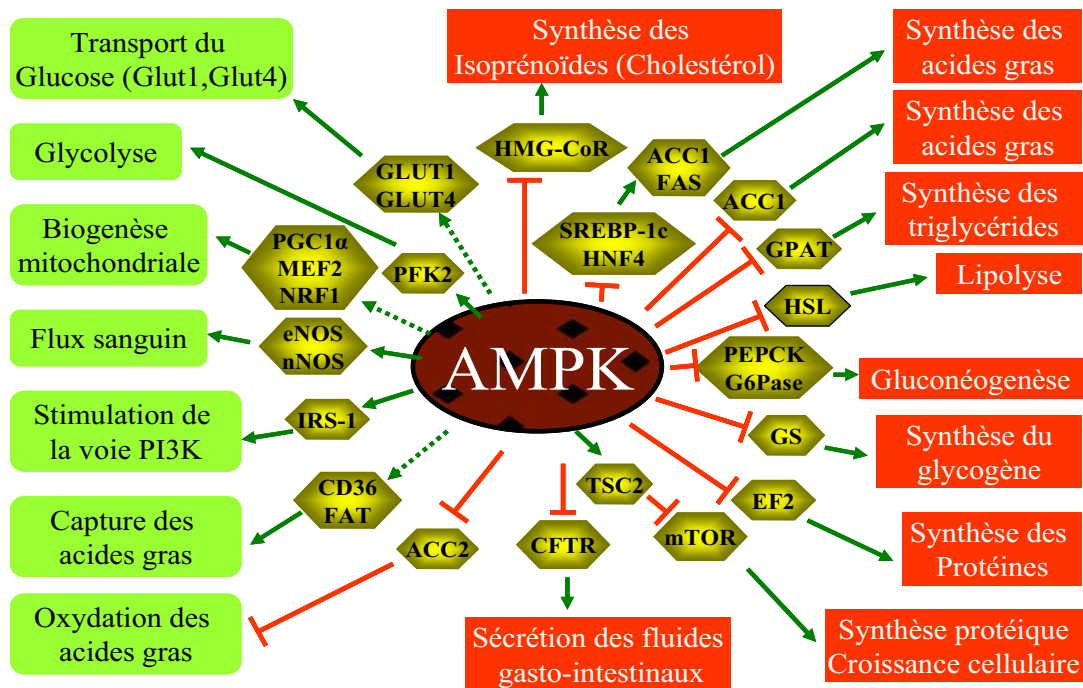


Figure 10. Sommaire des protéines identifiées comme cibles physiologiques et voies de signalisation régulées par l'AMPK. Cette liste n'est pas exhaustive d'autres cibles sont proposées mais dans certains cas les évidences ne sont pas concluantes. GLUT1,4, *glucose transporter 1,4*; PGC α , *PPAR γ co-activator α* ; MEF-2, *transcription factor myocyte enhancer factor-2*; NRF1, *nuclear respiratory factor 1*; eNOS, nNOS, *endothelial et neuronal nitric oxide synthases*; IRS1, *insulin receptor substrate 1*; CD36/FAT, *fatty acid translocase*; ACC1et 2, *acetyl CoA carboxylase 1et 2*; CFTR, *cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*; TSC2, *tuberous sclerosis complex 2*; SREBP-1c, *sterol response element-binding protein 1c*; mTOR *mamalian target-of-rapamycin*; HSL, *hormone-sensitive lipase*; GPAT, *acyl-CoA:glycerol-3-phosphate acyltransferase*; PEPCK, *phosphoenolpyruvate carboxykinase*; PFK2, *6-phosphofructo-2-kinase*; HMG-CoR, *3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase*; G6Pase, *glucose 6-phosphatase*; HNF4, *hepatocyte nuclear factor 4*; FAS, *fatty acid synthase*, GS, *glycogene synthase*; HMG-CoR, *3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase*. Adapté de [194]

4.4.3. Régulation du métabolisme lipidique

La régulation du métabolisme lipidique par le complexe AMPK constitue l'une des pistes thérapeutiques les plus prometteuses pour traiter les anomalies lipidiques associées au syndrome métabolique. Dans cette optique, l'activation de l'AMPK pourrait inhiber la lipogenèse, un processus anabolique consommateur d'ATP, et activer la β -oxydation des acides gras, une voie productrice d'ATP. L'action de l'AMPK se transmet par la phosphorylation de ses substrats spécifiques impliqués dans les processus de la lipogenèse et

de la β -oxydation. De plus, l'AMPK pourrait moduler la transcription de plusieurs enzymes impliquées dans ces processus métaboliques. Ainsi, l'enzyme clé de la synthèse des acides gras, ACC, est parmi les premiers substrats identifiés de l'AMPK. Ensuite, plusieurs études ont démontré que l'AMPK est la principale protéine kinase qui phosphoryle et inactive aussi bien l'isoforme cytosolique ACC1 (impliquée dans la synthèse des acides gras) que l'isoforme mitochondriale ACC2 (impliquée dans l'inhibition de la β -oxydation) [86]. Ainsi, l'AMPK en phosphorylant, et par conséquent, en désactivant l'ACC, contribue à la réduction des concentrations du malonyl-CoA, le produit d'ACC, [220-223]. La réduction de la concentration en malonyl-CoA va avoir deux conséquences importantes :

- Répression de la lipogenèse : Ceci est la conséquence directe de la phosphorylation et de l'inactivation d'ACC1, par le complexe AMPK, qui se traduit par une réduction de la biodisponibilité des précurseurs des acides gras, le malonyl-CoA cytoplasmique, nécessaire à la lipogenèse;
- Activation de la β -oxydation des acides gras [226, 227] : Ceci est lié directement à la phosphorylation d'ACC2, par le complexe AMPK, qui se traduit par une réduction de la concentration en malonyl-CoA péri-mitochondriale. Chez les mammifères, une grande partie des acides gras est oxydée dans la mitochondrie, et leur entrée dans cette organelle est bloquée par la présence du malonyl-CoA qui inhibe l'enzyme clé CPT1, indispensable au transport des acides gras à travers la membrane mitochondriale interne [246]. Ainsi, la diminution de la concentration péri-mitochondriale en malonyl-CoA va libérer l'inhibition exercée sur le CPT1 et par conséquent va augmenter l'entrée des acides gras dans les mitochondries [99, 123].

En plus de ses effets sur la phosphorylation d'ACC1 et d'ACC2 [116, 247], le complexe AMPK contrôle négativement l'expression génique de plusieurs effecteurs de la lipogenèse tels que les facteurs de transcription SREBP-1c [219] et ChREBP [248], les enzymes ACC [249], FAS [219, 222] et GPAT [250]. L'activation de l'AMPK stimule aussi l'expression des gènes impliqués dans la β -oxydation y compris la CPT1. En effet, la stimulation de l'AMPK entraîne une augmentation de l'ARNm de CPT1 dans le muscle squelettique [251] alors que les niveaux de CPT1 sont réduits chez les souris ayant une suppression de l'AMPK α 2 musculaire [252]. Par ces mécanismes, l'activation de l'AMPK active la β -oxydation des acides gras et stimule aussi leur prise dans le muscle cardiaque par

translocation de la protéine CD36 (*Fatty acid translocase*) au niveau de la membrane plasmique [233].

Il est à signaler que le complexe AMPK joue un rôle très important dans le métabolisme de cholestérol. En effet, l'activation de l'AMPK inhibe la synthèse du cholestérol en désactivant par phosphorylation la HMG-CoR, l'enzyme clé de la cholestérogenèse [214, 215]. Enfin le complexe AMPK semble jouer un rôle très important dans la régulation de la lipolyse en inhibant l'activité de la lipase hormono-sensible *Hormone-sensitive lipase* (HSL) [253]

4.5. Activation de l'AMPK : une cible thérapeutique potentielle?

La capacité de l'AMPK à faire passer le métabolisme d'un état anabolique favorisant la synthèse et le stockage du glucose et des acides gras à un état catabolique (favorisant la β -oxydation de ces molécules) a poussé plusieurs auteurs à suggérer, dès 1999, que les activateurs de l'AMPK pourraient être des traitements efficaces pour les maladies métaboliques en général, et le DT2 en particulier [196, 254].

4.5.1. Activation pharmacologique de l'AMPK

4.5.1.1. Effets du traitement par AICAR

Plusieurs effets bénéfiques de l'AMPK ont été mis en évidence en utilisant l'activateur AICAR dans plusieurs modèles animaux de syndrome métabolique. Parmi ces modèles, on trouve entre autres, les rats alimentés en diètes riches en gras, les rats (*fa/fa*) et les souris génétiquement obèses (*ob/ob*). Des résultats encourageants montrent que ce composé inverse la plupart des anomalies métaboliques chez ces animaux. Ainsi, les traitements par l'AICAR améliorent la tolérance au glucose, diminuent les acides gras et les TG dans le plasma, réduisent la production hépatique du glucose et la pression sanguine, augmentent l'utilisation du glucose, élèvent le cholestérol HDL et conduisent même à la diminution des graisses abdominales [255-259]. Par ailleurs, une importante étude réalisée récemment et visant à caractériser l'effet de différentes drogues simulant l'effet de l'exercice sur l'endurance, a démontré que l'administration orale d'AICAR et des ligands des PPAR- δ augmente la capacité d'endurance chez des souris adultes [229]. Cependant, certaines investigations montrent que le traitement par AICAR pourrait avoir des effets négatifs.

Ainsi, le traitement des cellules HepG2 par AICAR réduit l'expression des récepteurs de l'insuline [260]. De plus, une résistance à l'insuline hépatique aigüe serait induite par l'AICAR chez le chien [261]. Sachant que l'AICAR régule la voie de signalisation LKB1/AMPK et d'autres voies de signalisation impliquées dans le contrôle métabolique, la question qui reste sans réponse est de savoir si l'ensemble de ces effets sont ou ne sont pas directement catalysés par l'AMPK. Donc, d'autres travaux sont nécessaires pour répondre à cette question.

4.5.1.2. L'AMPK est une cible des médicaments antidiabétiques

L'idée que la stimulation de l'AMPK pourrait être une alternative potentielle pour le traitement du DT2 est soutenue par le fait que cette voie est la cible de deux classes majeures de médicaments antidiabétiques. En effet, les biguanides (metformine et phenformine) et les thiazolidinediones (rosiglitazone, troglitazone et pioglitazone), qui sont largement utilisés dans le traitement du DT2, activent l'AMPK dans les cellules intactes et/ou *in vivo* [206, 219, 262-264]. Si l'activation de l'AMPK est responsable des effets thérapeutiques demeure une question cruciale surtout que les mécanismes d'action ne sont pas bien élucidés.

4.5.1.2.1. Les biguanides

La metformine est le médicament antidiabétique le plus utilisé dans le monde [265]. Des travaux récents ont démontré qu'au moins une partie de ses effets thérapeutiques, notamment, les effets réducteurs de la gluconéogenèse hépatique, se produisent via la voie de signalisation de LKB1/AMPK. En effet, les effets hypoglycémiantes de la metformine sont complètement abolis, et l'activation de l'AMPK hépatique est bloquée chez les souris dont LKB1 est génétiquement supprimé [208]. Cependant, ces résultats n'écartent pas la possibilité qu'une autre kinase cible de LKB1 telle que la SIK1, qui est connue pour réguler les gènes gluconogéniques dans le foie [266], soit impliquée dans le mécanisme d'action de la metformine.

Il est important de signaler que les concentrations de metformine nécessaires pour activer l'AMPK sont 10 fois plus importantes que celles trouvées dans le plasma périphérique chez l'homme après une dose thérapeutique [219, 262, 263, 267]. Cependant, la majeure partie des effets thérapeutiques de ce médicament sont supposés être induits via l'inhibition de la

gluconéogenèse hépatique [265, 268]. Ainsi, le foie pourrait être alors exposé à de hautes concentrations de la metformine administrée oralement puisque cette drogue est acheminée après son absorption via la veine porte.

Par ailleurs les mécanismes moléculaires d'action des biguanides sur l'AMPK ne sont pas bien élucidés. La metformine, qui reste intacte jusqu'à son excrétion dans les urines, agirait indirectement, car elle n'induit aucun changement direct sur l'activité de l'AMPK [263]. Récemment, une avancée a été réalisée quant à l'action de la metformine sur la gluconéogenèse [269] : la metformine induirait l'expression du récepteur nucléaire orphelin SHP et cette induction est bloquée par le composant C ou l'expression par adénovirus d'une forme dominante négative de l'AMPK dans les hépatocytes. De plus, la metformine inhibe l'activité promotrice des gènes PEPCCK et G6Pase en inhibant l'activité de leurs facteurs de transcription HNF4 et FoxoA2, via l'action de SHP. Ainsi, l'administration orale de la metformine et la surexpression de SHP améliorent l'hyperglycémie et réduisent l'expression des gènes gluconéogéniques chez les souris B6-Lep (*ob/ob*) [269]. L'action de la metformine serait traduite par l'intermédiaire de la régulation de SHP par l'AMPK.

Un autre mécanisme a été proposé pour expliquer les effets des biguanides : la metformine et la phenformine activeraient l'AMPK en augmentant le ratio AMP/ATP intracellulaire [262, 263] suite à l'inhibition du complexe I de la chaîne respiratoire [270, 271]. Ceci pourrait être vrai pour la phenformine qui augmente le ratio AMP/ATP [210], mais difficile à démontrer pour la metformine. En effet, l'acidose lactique, via l'inhibition de la chaîne respiratoire, est l'une des conséquences majeures des effets secondaires indésirables des biguanides, en général, et de la phenformine en particulier, ce qui a conduit à son retrait de l'usage clinique [265]. Enfin, une étude récente suggère que la metformine pourrait activer l'AMPK dans les cellules β -pancréatiques. En parallèle à cette activation, la metformine serait responsable de la mort de ces cellules [238].

4.5.1.2.2. Les thiazolidinediones

Les thiazolidinediones sont largement utilisées pour traiter le diabète de type 2. Elles agiraient par l'intermédiaire du membre de la famille des récepteurs d'hormones PPAR pour lesquels elles ont une haute affinité [272]. Le PPAR- γ est exprimé dans les adipocytes, où il joue un rôle important dans leur différenciation. Il serait la cible clé de ces médicaments [273].

Les effets des thiazolidinediones dans les autres tissus seraient catalysés en partie par l'activation indirecte de l'AMPK. La stimulation de l'AMPK se ferait par l'adiponectine, une adipokine dont la sécrétion est stimulée par les thiazolidinediones dans les adipocytes [274, 275]. En effet, l'adiponectine exerce des effets dans le muscle (capture du glucose et oxydation des acides gras) et le foie (oxydation des acides gras et inhibition de l'expression des gènes gluconéogéniques) via l'activation de l'AMPK [276, 277].

Les thiazolidinediones pourraient également activer de façon directe l'AMPK. Ainsi, il a été démontré qu'elles induisent l'AMPK dans la lignée cellulaire musculaire de souris H-2K^b, dans le muscle isolé du rat, dans le foie et dans les tissus adipeux *in vivo* à des doses très faibles [262, 278]. De plus, les thiazolidinediones activent rapidement l'AMPK dans les fibroblastes qui n'expriment pas suffisamment PPAR- γ pour induire une expression génique thiazolidinedione-dépendante [278].

Les effets adiponectine-dépendants des thiazolidinediones sur l'AMPK seraient probablement dus à leur aptitude à inhiber le complexe I de la chaîne respiratoire [279] et à augmenter ainsi le ratio intracellulaire AMP/ATP [262, 278].

4.5.2. Activation physiologique

4.5.2.1. Stress métabolique

Les premiers facteurs identifiés comme activateurs de la voie de l'AMPK sont ceux reliés au stress métabolique induisant une diminution d'ATP intracellulaire. Ainsi, l'hypoxie et l'ischémie activent l'AMPK dans le muscle cardiaque et les myocytes [117, 280], alors que l'hypoxie cardiaque ne peut survenir que dans des cas pathologiques. Dans d'autres organes tels que le poumon, l'AMPK pourrait être activée par de petites variations du niveau d'oxygène afin de déclencher la réponse adéquate [281]. Les traitements causant du stress métabolique tel que le choc thermique [282], l'incubation des hépatocytes du rat avec de fortes concentrations en fructose [283] et le traitement par des inhibiteurs métaboliques (e.g. arsénite, dinitrophenole, antimycine A, oligomycine et l'azide) activent l'AMPK dans des cellules intactes [282, 284].

4.5.2.1.1. Exercice

L'exercice contribue d'une manière très significative à améliorer différents aspects des maladies métaboliques, notamment via ses effets bénéfiques sur l'obésité, la résistance à l'insuline et le DT2 [259]. Le système LKB1/AMPK a donc suscité beaucoup d'intérêt grâce aux observations importantes qui ont associé l'activation de l'AMPK à l'exercice dans le muscle squelettique du rat [285] et de l'homme en réponse à la contraction musculaire [286, 287]. Cette activation est dépendante de LKB1 et de l'augmentation du ratio AMP/ATP [209]. En effet, des études utilisant l'inactivation spécifique de LKB1 dans le muscle ont démontré que la stimulation de l'AMPK en réponse à la contraction est complètement dépendante de LKB1 et associée à une augmentation du ratio AMP/ATP qui serait en fait le déclencheur de l'activation [209]. Ceci supporte de précédentes observations [282] qui stipulent que le système AMPK protège les cellules contre le stress qui cause un déficit en ATP. L'action de l'AMPK, dans ces conditions, s'exercerait par l'intermédiaire de PGC-1 α [229, 288].

4.5.2.1.2. Manque du glucose

La sensibilité du système AMPK dans quelques types cellulaires aux variations des niveaux du glucose extracellulaires participerait à la régulation des processus métaboliques aussi importants que la sécrétion de l'insuline et la régulation de l'appétit [244, 289]. En effet, l'AMPK serait régulée par les variations des concentrations du glucose dans une plage physiologique [244, 289] dans les cellules β pancréatiques [290] et dans les cellules sensibles au glucose de l'hypothalamus [291], qui expriment des isoformes d'héxokinases à haute affinité pour le glucose. L'activation de l'AMPK est également observée dans des cellules en culture en absence de glucose [289]. Enfin, chez les levures, le manque de glucose active le SNF1, le complexe orthologue de l'AMPK chez la levure [292].

4.5.2.2. Cytokines

Étant donné que le complexe AMPK contrôle la régulation de beaucoup d'aspects métaboliques dans la plupart des tissus, ce complexe devrait être la cible des hormones et des cytokines qui sont impliquées dans la régulation de l'équilibre énergétique de l'organisme.

4.5.2.2.1. Adiponectine

Parmi les cytokines activant l'AMPK, l'adiponectine joue un rôle clé dans la régulation de l'équilibre énergétique [293]. À ce jour, l'adiponectine est le seul régulateur physiologique connu de l'AMPK dans le foie. Bien que l'adiponectine soit sécrétée par les adipocytes, ses concentrations dans le plasma corrént négativement avec l'obésité et le DT2 [294, 295]. L'activation de l'AMPK par l'adiponectine inhibe la gluconéogenèse dans le foie et stimule la capture insulino-indépendante du glucose et l'oxydation des acides gras dans le muscle [276]. L'effet hypoglycémique de l'adiponectine est aboli par l'expression d'un mutant dominant négatif de l'AMPK à l'aide un vecteur adénoviral dans le foie. Ces résultats suggèrent que la réduction de la production hépatique du glucose via l'activation de l'AMPK est l'effet majeur de l'adiponectine sur le glucose sanguin [277].

4.5.2.2.2. Résistine

La résistine est une autre adipokine qui jouerait un rôle négatif sur l'activation de l'AMPK. En effet, dans le foie des souris résistine^{-/-}, la phosphorylation de l'AMPK sur Thr-172 est élevée, suggérant une inhibition de l'AMPK dans le foie par la résistine [296]. La résistine aurait des effets opposés à ceux de l'adiponectine [296].

4.5.2.2.3. Leptine

La leptine est une adipokine sécrétée par les adipocytes. Elle inhibe la prise alimentaire via des effets au niveau de l'hypothalamus. De plus, elle serait capable de réguler l'activité de l'AMPK d'une manière tissu spécifique. Ainsi, la leptine active l'AMPK dans le muscle squelettique et dans les lignées cellulaires musculaires et augmente l'oxydation des acides gras. Cette activation se fait de deux mécanismes différents: un mécanisme rapide, direct et transitoire et un autre lent et prolongé qui nécessite l'administration de la leptine dans le cerveau. Ce dernier serait catalysé par le système nerveux sympathique via l'activation de récepteur α_1 -adrénergique [120]. Quelque soit le mécanisme, l'activation de l'AMPK montre l'aptitude de la leptine à stimuler la dépense énergétique à travers l'activation de l'oxydation des acides gras dans le muscle [120].

Cependant, la leptine dans l'hypothalamus exerce un effet inhibiteur sur l'AMPK expliquant ainsi son aptitude à inhiber la prise alimentaire [244], car l'activation de l'AMPK hypothalamique stimule la prise alimentaire chez les rats [243, 244]. Soutenant ces résultats, plusieurs autres traitements anorexiques, tels que l'insuline, les agonistes des récepteurs de la mélanocortine, le glucose élevé, ou la réalimentation ont été trouvés capables d'inhiber l'AMPK hypothalamique, alors que les agents orexigéniques tels que la ghréline et les cannabinoïdes la stimulent [243, 244, 297]. Cependant, les mécanismes qui sont derrière la modulation de l'activité de l'AMPK par la leptine et des effets opposés dans différents tissus restent à définir.

4.5.2.3. Autres activateurs

D'autres facteurs impliqués dans les processus consommateurs d'ATP activent l'AMPK. Ainsi, les acides gras libres activent cette kinase dans le cœur, le muscle et les hépatocytes [248, 298, 299]. L'activation serait liée au processus d'activation d'acides gras (consommation d'ATP) lors de la formation des acyl-CoAs, augmentant ainsi le ratio AMP/ATP ce qui active l'AMPK [248]. En parallèle, les acides gras pourraient activer l'AMPK, par un mécanisme AMP-indépendant, en facilitant son interaction avec LKB1 [298].

L'AMPK serait également activée par des récepteurs couplés aux protéines G, tels que les récepteurs pour la *Platelet-activating factor*, la noradrénaline (α_1 -adrénergique) et la bradykinine [300]. Puisque l'activation de ces récepteurs devrait libérer le PI3 (*Inositol-1,4,5-trisphosphate*) et le Ca^{2+} intracellulaire, la voie CaMKKs/AMPK pourrait probablement catalyser ce processus [300]. Enfin, la stimulation des récepteurs d'antigènes présents sur les lymphocytes T active transitoirement l'AMPK, via la voie des CaMKKs suite à l'élévation des niveaux du Ca^{2+} intracellulaire [301].

4.6. L'AMPK et les maladies métaboliques

Bien que l'AMPK joue des rôles majeurs dans la régulation du métabolisme énergétique, son action reste très mal caractérisée et faiblement étudiée dans les cas pathologiques de l'obésité, de la résistance à l'insuline et du DT2. Ainsi, les études effectuées chez l'homme et les modèles animaux associent des dysfonctionnements au niveau de la voie de signalisation de l'AMPK dans certaines maladies métaboliques.

Dans le modèle animal JCR:LA-cp de résistance à l'insuline, l'activité de l'AMPK hépatique semble augmenter d'une façon parallèle au développement de la résistance à l'insuline, probablement pour compenser l'augmentation de l'activité de son substrat, l'ACC [302]. L'induction du DT2 chez les souris par une diète riche en gras et en sucrose (HFHSD) conduirait à une réduction de l'activité de l'AMPK dans le muscle squelettique et une augmentation dans le foie [303]. L'ensemble de ces études suggère une régulation tissu-dépendante de l'activité du complexe AMPK afin de contrer le développement des anomalies métaboliques associées au développement de la résistance à l'insuline et du DT2.

Au niveau cellulaire, la réduction de l'activité de l'AMPK est généralement associée à l'accumulation de malonyl-CoA, notamment dans les muscles. Étant donné l'effet inhibiteur de l'AMPK sur l'ACC, la réduction de son activité permettrait la formation d'une quantité accrue de malonyl-CoA, qui stimule à son tour la lipogenèse et réduit l'oxydation des acides gras. Ainsi, dans les muscles squelettiques des sujets diabétiques de type 2, l'augmentation des concentrations de malonyl-CoA serait directement responsable de l'augmentation de l'activité de l'ACC et de la lipogenèse en parallèle à une diminution du taux d'oxydation d'acides gras et de l'activité de l'AMPK [148]. De même, l'induction de la résistance à l'insuline chez le rat par l'infusion du glucose a pour conséquence l'élévation des concentrations du DAG et du malonyl-CoA dans le foie et les muscles squelettiques et une diminution de la phosphorylation et de l'activité de l'AMPK [304].

Une diminution de l'activité de l'AMPK est constatée également dans les modèles animaux ayant une déficience en leptine (un activateur de l'AMPK) ou en ses récepteurs. En effet, l'activité de l'AMPK est réduite dans les muscles et le foie de souris déficientes en leptine *ob/ob*, de rats déficients en récepteur de la leptine *fa/fa* (non diabétique) et de ZDF (diabétiques) [305]. Le traitement de ces animaux par l'AICAR empêche l'apparition des symptômes de la résistance à l'insuline et du DT2, à savoir l'élévation des TG ou l'hyperglycémie [305].

Pour comprendre le rôle spécifique de l'AMPK, les gènes codant des isoformes de la sous-unité catalytique AMPK α 1 et α 2 ont été invalidés ou surexprimés dans des modèles murins. Les souris AMPK α 1^{-/-} ne présentent pas de phénotype particulier [306]. Par contre, les souris AMPK α 2^{-/-} documentent une résistance à l'insuline sévère, caractérisée par une hyperglycémie et une réduction de l'utilisation du glucose induite par l'insuline. Une altération au niveau du système nerveux autonome est aussi observée. Cependant, le muscle

squelettique ne serait pas affecté par ces changements. Ainsi, la sous-unité AMPK α 2 extramusculaire régulerait la sensibilité à l'insuline de l'organisme entier *in vivo* [306, 307]. La surexpression adénovirale de la forme constitutivement active de l'AMPK α 2 (AMPK α 2-CA) dans le foie des souris *ob/ob* diabétiques réduit hyperglycémie et l'expression des gènes gluconéogéniques. Chez les souris normales, la surexpression de l'AMPK α 2-CA réduit l'activation transcriptionnelle induite par l'alimentation des gènes impliqués dans la glycolyse et la lipogenèse, y compris leur régulateurs SREBP-1 et ChREBP. On assiste alors à la synthèse du glycogène et des niveaux de lipides élevés dans la circulation [308, 309]. Aussi, la surexpression à long terme de la forme constitutive de l'AMPK α 1 dans le foie réduit l'expression des gènes lipogéniques et l'adiposité chez les souris [310]. En conclusion, le développement et l'apparition des symptômes des maladies métaboliques affecte négativement la voie de signalisation de l'AMPK notamment dans les tissus clés de la résistance à l'insuline, tels que le foie et le muscle squelettique. Cependant, l'organisme pourrait adapter ce système aux changements métaboliques induits par ces maladies.

5. Le modèle animal : *Psammomys obesus*

5.1. Définition, historique

Le *Psammomys obesus* est un modèle animal bien défini pour l'induction nutritionnelle de l'obésité, la résistance à l'insuline et le diabète de type 2. Ce rongeur herbivore se nourrit dans son habitat naturel désertique des feuilles d'arbuste arroche halime (*Atriplex halimus*) faibles en énergie. Dans son milieu naturel, le *Psammomys obesus* est normoglycémique et ne développe jamais du diabète, mais il est caractérisé par une résistance à l'insuline primaire [311]. Cependant, les premières études ont révélé que le *Psammomys obesus* développe un DT2 fatal quand il est transféré du Deltada du Nil (Égypte) au laboratoire (USA) [312].

Dans les années 1980, Adler et ses collègues ont transféré des *Psammomys obesus* des rives désertiques de la mer morte au laboratoire et ils ont réussi à établir une colonie stable et reproductrice en les maintenant sur une diète faible en énergie [158]. Ces animaux deviennent diabétiques lorsqu'ils sont nourris avec une diète standard du laboratoire qui est riche en énergie [313]. Des observations similaires sur le développement du diabète ont été

publiées sur les *Psammomys obesus* d'Afrique du nord [314] et sur une lignée du *Psammomys obesus* israélien établie en Australie [315].

5.2. Pathogenèse de la résistance à l'insuline et du diabète de type 2

Le *Psammomys obesus* développe la résistance à l'insuline et le DT2 en quelques semaines quand il est transféré à une diète du laboratoire riche en énergie [316, 317]. En effet, 97% des animaux de la lignée prédisposée au diabète deviennent hyperinsulinémiques et hyperglycémiques au bout de 14 jours après le sevrage [316]. À noter que la progression vers le DT2 de ces animaux ne s'accompagne pas d'hyperphagie mais seulement d'obésité [316, 318-320]. La progression des désordres métaboliques chez le *Psammomys obesus* se déroule en quatre étapes :

- une phase normale prédiabétique, caractérisée par une normoglycémie et une normoinsulinémie;
- une phase d'installation de la résistance à l'insuline où l'hyperinsulinémie est suffisante pour maintenir une normoglycémie;
- une phase d'installation du diabète de type 2, caractérisée par une hyperinsulinémie et une hyperglycémie; et enfin,
- une phase terminale avec une hyperglycémie et une hypoinsulinémie due à la perte de la capacité sécrétoire des cellules β pancréatiques.

Les trois premières phases sont réversibles avec une diète faible en énergie, alors que la dernière phase est irréversible. De plus, si ces animaux ne sont pas traités à l'insuline, ils meurent très rapidement suite à une céto-acidose sévère [319]. Chez ces animaux, le foie jouerait un rôle très important dans la pathogenèse du diabète, notamment dans l'incapacité de l'insuline à supprimer la PHG par l'inhibition de l'activité de PEPCK et G6Pase, cela même au stade prédiabétique [311]. Dans, une autre étude il a été suggéré que la surexpression de la PKC ϵ dans le muscle squelettique et dans le foie du *Psammomys obesus* pourrait être associée à la résistance à l'insuline, possiblement par l'augmentation de la dégradation des récepteurs de l'insuline [321].

5.3. Importance dans l'étude des maladies métaboliques

L'utilisation des modèles animaux dans l'investigation des maladies métaboliques, en particulier la résistance à l'insuline et le DT2, est indispensable pour déchiffrer les

mécanismes moléculaires et pour mieux comprendre le développement et les complications de ces désordres chez l'homme [317]. Parmi les modèles animaux connus génétiquement comme prédisposés à développer la résistance à l'insuline avec un DT2 transitoire ou stable, on trouve les souris déficientes en leptine (*ob/ob*) ou en ses récepteurs (*db/db*), les souris *New Zealand Obese*, les rats Zucker déficients en récepteurs de la leptine *fa/fa* obèses (non diabétique) et *Zucker Diabetic Fatty* (ZDF) ainsi que le rat résistant à l'insuline et corpulent JCR:LA-cp. La plupart de ces espèces se caractérisent par une hyperphagie, une obésité très marquée et une hyperinsulinémie suivie par des niveaux variables d'hyperglycémie [153, 319]. De plus, les désordres métaboliques manifestés par ces modèles sont dus fondamentalement à des aberrations monogéniques alors que les maladies telles que l'obésité et le DT2 sont polygéniques.

En dépit du fait que le *Psammomys obesus* soit aussi génétiquement prédisposé au DT2, le facteur environnemental joue un rôle crucial. Ainsi, ce modèle animal a développé une adaptation de son métabolisme à son environnement où l'alimentation est rare et faible en énergie pour une accumulation continue des tissus adipeux, et notamment, pour la reproduction dans les périodes de disette [318-320]. Ce métabolisme dit « économe » est activé lors de l'abondance alimentaire et quand la prise alimentaire est élevée [320].

Le *Psammomys obesus* est un modèle animal similaire aux populations humaines ayant une résistance à l'insuline primaire exprimée à un bas âge et qui conduit à un âge avancé à des pourcentages élevés de DT2. Parmi ces populations on trouve les indiens Pima [322, 323], les aborigènes australiens [324] et plusieurs autres populations des pays en voie de développement [17]. Ces populations présenteraient aussi le même concept du métabolisme économe [320, 323].

La détérioration de l'état diabétique chez l'humain est associée à l'élévation des TG et une diminution du HDL [1]. L'hyperinsulinémie, l'hypertriglycéridémie, la diminution du HDL-cholestérol, l'obésité et l'hypertension artérielle forment toutes des critères de facteurs de risque du syndrome métabolique qui augmentent le risque des maladies cardiovasculaires [1]. Comme chez l'humain, la pathogenèse du DT2 chez les *Psammomys obesus* est accompagnée de l'apparition de la plupart des critères du syndrome métabolique incluant la résistance à l'insuline, l'obésité et la dyslipidémie [160, 182, 315, 318-320, 325].

Les travaux effectués sur le *Psammomys obesus* ont permis de comprendre plusieurs aspects des mécanismes moléculaires applicables dans les interventions cliniques. Ces études ont

permis, entre autres, de mettre en évidence l'importance de la lipogenèse hépatique et intestinale ainsi que le transport intestinal des lipides dans le développement de la dyslipidémie et de ses risques athérosclérotiques associés à la résistance à l'insuline et au DT2 [160, 182, 325]. Ces travaux ont permis aussi de souligner les effets bénéfiques de l'exercice physique sur la prévention et l'amélioration du diabète de type 2 [326, 327]. De plus, comme traitement préventif, la supplémentation en acides gras *n*-3, a démontré des effets bénéfiques sur la prévention et l'amélioration de la dyslipidémie [181]. Collectivement, il apparaît très intéressant d'utiliser ce modèle animal pour étudier les mécanismes des maladies métaboliques associées à l'obésité et au DT2.

6. Objectifs du projet de maîtrise

Nos études dans le modèle animal *Psammomys obesus* se sont focalisées sur les deux organes majeurs régulant le métabolisme lipidique, à savoir le foie et l'intestin. Nos travaux ont démontré dans les travaux antérieurs, effectués dans notre laboratoire, l'association entre la dyslipidémie d'une part et les maladies métaboliques, notamment l'obésité, la résistance à l'insuline et le diabète de type 2 [160, 182, 325]. Cependant, les mécanismes moléculaires de ces aberrations dans le métabolisme lipidique dans le foie et l'intestin restent mal définis et matière à spéculation. Durant nos études chez le *Psammomys obesus*, nous avons constaté une altération de l'activité hépatique de la HMG-CoA Réductase [325], enzyme clé de la synthèse du cholestérol et négativement régulée par l'AMPK. Nos hypothèses suggèrent que la voie de signalisation de l'AMPK est impliquée dans les désordres au niveau du métabolisme lipidique dans la résistance à l'insuline et le diabète de type 2. En effet, l'AMPK qui joue un rôle capital dans la régulation du métabolisme lipidique est mal caractérisée dans le foie et l'intestin dans ces situations pathologiques.

Notre objectif principal pour ce projet de maîtrise est de caractériser la voie de signalisation de l'AMPK dans le foie et l'intestin dans les cas pathologiques de la résistance à l'insuline et du diabète de type 2 et de déterminer les liens avec les facteurs de transduction du signal impliqués dans ces maladies.

Nos objectifs spécifiques sont :

1. Caractériser la voie de signalisation AMPK/ACC hépatique dans la lipogenèse *de novo* et identifier les changements des protéines clés de cette voie, observés dans la résistance à l'insuline et le diabète de type 2;
2. Caractériser la voie de signalisation de l'AMPK/ACC dans l'intestin grêle (jéjunum, iléon) dans la lipogenèse *de novo* et l'oxydation des acides gras ainsi que les autres voies intestinales impliquées dans la résistance à l'insuline et le diabète de type 2 (i.e. voie de signalisation de l'insuline et des MAPK).

La réalisation de ces objectifs a abouti à des résultats montrant le rôle majeur joué par la voie de signalisation de l'AMPK/ACC dans le foie et l'intestin, notamment dans la régulation de la lipogenèse et l'oxydation des acides gras. Nos résultats ont démontré que l'altération de cette voie au niveau du foie et de l'intestin réside parmi les mécanismes conduisant à la dyslipidémie accompagnant la résistance à l'insuline et le diabète de type 2.

Les résultats de ce projet de maîtrise sont en cours de publication sous forme de deux articles. Le premier article sous le titre : "*Increased Hepatic Lipogenesis in Insulin Resistance and Type 2 Diabetes is Associated to AMPK Signaling Pathway Upregulation in Psammomys obesus*" est Article sous presse (publié en ligne le 8 octobre 2008) dans le journal *Bioscience Reports* [328]. Le deuxième article qui s'intitule : "*Disorders in AMPK and insulin signalling pathways in the intestine of insulin-resistant and diabetic Psammomys obesus*" a été soumis au journal *Diabetes*.

Chapitre B) ARTICLE 1

“Increased Hepatic Lipogenesis in Insulin Resistance and Type 2 Diabetes is Associated to AMPK Signaling Pathway Upregulation in *Psammomys obesus*”

Ali Ben Djoudi Ouadda^{*†}, Emile Levy^{*‡}, Ehud Ziv[§], Geneviève Lalonde^{*‡},
Alain T. Sané^{*‡}, Edgar Delvin^{*†} and Mounib Elchebly^{*†}

**Research Centre, CHU Sainte-Justine, Department of [†]Biochemistry and [‡]Nutrition, Université de Montréal, Québec.*

§Diabetes Unit, Division of Internal Medicine, Hadassah University Hospital, Jerusalem, Israel

Article sous presse (accepté et publié le 8 octobre 2008) dans le journal *Bioscience Reports* (2008)

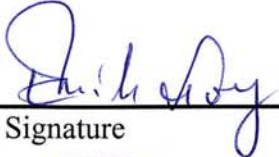


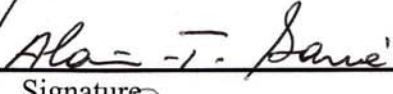
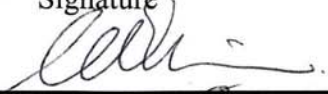
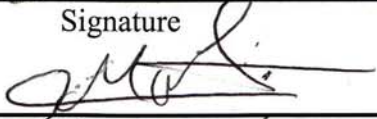
Accord des coauteurs

Ali Ben Djoudi Ouadda
Département de Biochimie
Faculté de Médecine
Université de Montréal
M.Sc. en Biochimie

Ali Ben Djoudi Ouadda, Emile Levy, Ehud Ziv, Geneviève Lalonde, Alain T. Sané, Edgar Delvin and Mounib Elchebly

“Increased Hepatic Lipogenesis in Insulin Resistance and Type 2 Diabetes is Associated to AMPK Signaling Pathway Upregulation in *Psammomys obesus*”, *Biosciences Report* 2008 (Epub Ahead of Print)

À titre de coauteur de l'article identifié ci-dessus, je suis d'accord pour que **Ali Ben Djoudi Ouadda** inclue cet article dans son mémoire de maîtrise qui a pour titre « Caractérisation de la voie de signalisation AMPK/ACC dans le foie et l'intestin du *Psammomys obesus*, un modèle animal de résistance à l'insuline et de diabète de type 2 ».

Dr Emile Levy	 Signature	28/11/2008 Date
Dr Ehud Ziv	 Signature	28/11/2008 Date
Mlle Geneviève Lalonde	 Signature	05/12/2008 Date
Dr Alain T Sané	 Signature	05-12-2008 Date
Dr Edgard Delvin	 Signature	5/12/2008 Date
Dr Mounib Elchebly	 Signature	5/12/2008 Date

Accepted Manuscript

THIS IS NOT THE VERSION OF RECORD - see doi:10.1042/BSR20080141

Accepted Manuscript

THIS IS NOT THE VERSION OF RECORD - see doi:10.1042/BSR20080141

Accepted Manuscript

THIS IS NOT THE VERSION OF RECORD - see doi:10.1042/BSR20080141

Accepted Manuscript

THIS IS NOT THE VERSION OF RECORD - see doi:10.1042/BSR20080141

Accepted Manuscript

THIS IS NOT THE VERSION OF RECORD - see doi:10.1042/BSR20080141

Accepted Manuscript

THIS IS NOT THE VERSION OF RECORD - see doi:10.1042/BSR20080141

Accepted Manuscript

THIS IS NOT THE VERSION OF RECORD - see doi:10.1042/BSR20080141

Accepted Manuscript

THIS IS NOT THE VERSION OF RECORD - see doi:10.1042/BSR20080141

Accepted Manuscript

THIS IS NOT THE VERSION OF RECORD - see doi:10.1042/BSR20080141

Accepted Manuscript

THIS IS NOT THE VERSION OF RECORD - see doi:10.1042/BSR20080141

Accepted Manuscript

THIS IS NOT THE VERSION OF RECORD - see doi:10.1042/BSR20080141

Accepted Manuscript

THIS IS NOT THE VERSION OF RECORD - see doi:10.1042/BSR20080141

Accepted Manuscript