

Université de Montréal

**Étude sur l'entreposage de la matière grasse chez des
femmes obèses post-ménopausées présentant un taux
élevé ou normal d'apolipoprotéine B.**

par

Huda Salem

Département de Sciences Biomédicales

Faculté de Médecine

Mémoire présenté à la Faculté de Médecine
en vue de l'obtention du grade de Maîtrise ès Sciences (M.Sc.)
en Sciences Biomédicales
option recherche clinique

Juillet 2011

© Huda Salem, 2011

Université de Montréal
Faculté des études supérieures et postdoctorales

Ce mémoire intitulé :

Étude sur l'entreposage de la matière grasse chez des femmes obèses post-ménopausées
présentant un taux élevé ou normal d'apolipoprotéine B

Présenté par :
Huda Salem

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

D^r Robert Dufour, président-rapporteur
D^r May Faraj, directrice de recherche
D^r Olivier Receveur, membre du jury

Résumé

CONTEXTE: L'inefficacité de captation des acides gras libres (AGL) par le tissu adipeux blanc (TAB) est connue pour favoriser la résistance à l'insuline (RI) dans les tissus périphériques, mais dans le foie, elle favorise également la production accrue de lipoprotéines contenant l'apolipoprotéine B100 (lipoprotéines apoB). Nous avons récemment démontré que les femmes post-ménopausées obèses avec un nombre élevé de lipoprotéines apoB à jeun (apoB plasmatique > 1,2 g/L) avaient plus de RI que les femmes avec un taux d'apoB normal. Notre objectif était donc d'examiner si l'inefficacité de captation des AGL pourrait être un mécanisme expliquant la RI, *in vivo* dans cette population. **HYPOTHÈSES:** Les femmes ménopausées en surpoids/obèses avec un taux d'apoB élevé ont moins d'efficacité à capter les AGL par le TAB que les femmes avec un taux d'apoB faible. **MÉTHODES/RÉSULTATS:** L'efficacité de captation des AGL a été examinée dans 22 femmes non diabétiques en surpoids/obèses. La population a été séparée selon la médiane d'apoB (0.9 g/L) en 2 groupes; les femmes ayant un taux d'apoB inférieur vs supérieur à la médiane (N=11/groupe). L'efficacité de captation des AGL par le TAB a été indirectement évaluée en suivant le sort d'un repas riche en gras (0.0162g ¹³C-trioléine/g de matières grasses, 66% de gras, 47g gras/m² surface corporelle) marqué au ¹³C-trioléine, sur 6h en circulation ([¹³C]TG et [¹³C]AGL plasmatiques) et en oxydation (¹³CO₂ dans l'air expiré [AE]). L'enrichissement en ¹³C des échantillons d'AE et du plasma a été mesuré par spectrométrie de masse pour ratio isotopique. Les femmes ayant un apoB élevé avaient une clairance plasmatique totale postprandiale des TG (p <0,05) réduite sans diminuer de la clairance plasmatique totale des AGL, par rapport aux femmes ayant un faible taux d'apoB. Cependant, en examinant le sort du ¹³C-trioléine, les femmes ayant un apoB élevé avait une réduction de la clairance des [¹³C]TG plasmatiques (44,78 μM vs 7,81 μM; p <0,05) et des [¹³C]AGL plasmatiques (2,64 uM vs 0,06 uM; p <0,05) à 6h, sans aucune différence en % récupéré de ¹³C-trioléine dans le CO₂ de l'AE. Ces données suggèrent que les femmes ayant un taux d'apoB élevé ont une réduction postprandiale de la clairance et de la captation de ¹³C-trioléine par le TAB. **CONCLUSION:** La captation inefficace des AGL par le TAB des femmes post-ménopausées en surpoids et obèses avec un surplus d'apoB peut être un mécanisme sous-jacent à la RI chez ces sujets

Mots-clés: Apolipoprotéine B, Obésité, Insulinorésistance, Captation des acides gras, Tissu adipeux dysfonctionnel, Lipoprotéines de faible densité (LDL), Femmes post-ménopausées.

Abstract

BACKGROUND: Inefficiency of fatty acid (FA) trapping in white adipose tissue (WAT) is known to promote insulin resistance (IR) in peripheral tissue, but in the liver, it also promotes increased secretion of apolipoprotein B100-lipoproteins (apoB-lipoproteins). We recently demonstrated that post-menopausal obese women with high numbers of fasting apoB-lipoproteins (plasma apoB > 1.2 g/L) had higher IR than women with normal apoB. Our aim was thus to examine whether inefficiency of FA trapping was a mechanism explaining IR *in vivo* in this population. **HYPOTHESES:** Postmenopausal overweight and obese women with high apoB have lower efficiency of FA trapping in WAT than women with low apoB. **METHODS/RESULTS:** The efficiency of FA trapping was examined in 22 non-diabetic overweight and obese women, and the group was separated around median apoB (0.9 g/L) into women with higher vs lower apoB (N=11 per group). The efficiency of FA trapping in WAT was indirectly assessed by following the fate of a ¹³C-triolein labelled high-fat meal (0.0162g ¹³C-triolein/g of fat, 66% fat, 47 g fat/m² body surface area) over 6 hours in circulation (plasma [¹³C]TG and [¹³C]FA) and oxidation (breath ¹³CO₂). ¹³C-enrichment of breath and plasma samples was measured by isotope ratio mass spectrometry. Women with higher apoB had delayed total postprandial plasma TG clearance (p<0.05) but not total plasma free FA clearance compared to women with lower apoB. However, examining the fate of ¹³C-triolein revealed that women with higher apoB had delayed plasma [¹³C]-TG clearance (44.78 μM vs 7.81 μM; p<0.05) and plasma [¹³C]-FA clearance (2.64 μM vs 0.06 μM; p<0.05) at 6 hours, without any differences in % recovered ¹³C-triolein in breath CO₂. This data suggests that women with higher apoB have lower postprandial ¹³C-triolein clearance and trapping in WAT. **CONCLUSION:** Ineffective FA trapping in WAT in post-menopausal overweight and obese women with higher apoB may be a mechanism underlying IR in these subjects.

Keywords : Apolipoprotein B, Obesity, Insulin resistance, Fatty acid trapping, dysfunctional adipose tissue, Low density lipoprotein (LDL), Postmenopausal women.

Table des matières

Résumé.....	i
Abstract.....	ii
Table des matières.....	iii
Liste des abréviations.....	v
Liste des tableaux.....	vi
Liste des figures.....	vii
Remerciements.....	ix
Rôle dans l'étude.....	x
1 Introduction.....	1
1.1 <i>Obésité, résistance à l'insuline et Diabète de type II</i>	1
1.2 <i>La digestion et l'absorption des glucides et des lipides</i>	2
1.3 <i>La régulation métabolique et la balance énergétique</i>	4
1.3.1 Métabolisme à jeun.....	5
1.3.2 Métabolisme postprandial.....	8
1.4 <i>Physiopathologie du tissu adipeux dans l'obésité</i>	15
1.4.1 Tissu adipeux fonctionnel.....	15
1.4.2 Obésité et dysfonction du tissu adipeux.....	17
1.5 <i>Objectifs et hypothèse</i>	20
2 Méthodologies et population à l'étude.....	21
2.1 <i>Matériels</i>	21
2.2 <i>Population à l'étude</i>	21
2.3 <i>Devis et conception de l'étude</i>	23
2.4 <i>Méthodologies cliniques</i>	23
2.4.1 Dépistage.....	23
2.4.2 Stabilisation du poids.....	24

2.4.3	Hyperglycémie provoquée par voie orale (HGPO) et composition corporelle	24
2.4.4	Consommation d'un repas riche en lipides marqué au [¹³ C]-trioléine, biopsies du tissu adipeux et mesure de la dépense énergétique	26
2.5	<i>Méthodologies fondamentales et analyses de l'enrichissement de ¹³C dans les échantillons de sang et de l'air expiré</i>	29
2.6	<i>Analyses statistiques</i>	34
3	Résultats	39
4	Discussion	54
5	Conclusion	62
	Bibliographie.....	63
	Annexe 1 : Formulaire de consentement.....	i

Liste des abréviations

AGL	Acides gras libres
ApoB	Apolipoprotéine B
DER	Dépense énergétique au repos
DT2	Diabète de type 2
ETA	Effet thermique des aliments
HDL	Lipoprotéine de densité élevée
HGPO	Hyperglycémie provoquée par voie orale
HSL	Lipase hormonosensible
LDL	Lipoprotéine de faible densité
LPL	Lipoprotéine lipase
QR	Quotient respiratoire
RI	Résistance à l'insuline
TA	Tissu adipeux
TAB	Tissu adipeux blanc
TG	Triglycérides
VLDL	Lipoprotéine de très faible densité

Liste des tableaux

TABLEAU I.	Classification des différentes étendues de l'indice de masse corporelle (IMC) et les risques associés à chaque étendue.....	1
TABLEAU II.	Schéma de l'étude.....	2
TABLEAU III.	Étendue des repas offerts, leur composition macro-nutritionnelle et isotopique, relatif à la surface corporelle des participantes.....	3
TABLEAU IV.	Quotient respiratoire (QR) calculé et substrat oxydé	4
TABLEAU V.	Caractéristiques anthropométriques basales des participantes ayant un taux d'apolipoprotéine B (apoB) supérieur ou inférieur à 0.90 g/L.....	5
TABLEAU VI.	Paramètres de la dépense énergétique au repos à jeun des participantes ayant un taux d'apoB supérieur ou inférieur à 0.90 g/L.....	6
TABLEAU VII.	Paramètres métaboliques plasmatiques et lipidiques à jeun des participantes ayant un taux d'apoB supérieur ou inférieur à 0.90 g/L.....	7

Liste des figures

Figure 1.	Déroulement de la sixième visite – Journée du repas test	35
Figure 2.	La dépense énergétique au repos (DER), l'effet thermique des aliments (ETA) et le quotient respiratoire (QR) des groupes d'apoB supérieurs et inférieurs à 0.90 g/L.....	47
Figure 3.	Glucose et insuline plasmatique suite à un test d'hyperglycémie provoquée par voie orale (HGPO) des groupes d'apoB supérieurs et inférieurs à 0.90 g/L.....	48
Figure 4.	Glycémie et insulinémie plasmatiques postprandiales mesurées chez les participantes des groupes apoB supérieur et inférieur à 0.90 g/L.....	49
Figure 5.	Triglycérides (TG) et acides gras libres (AGL) plasmatiques totaux des groupes d'apoB supérieur et inférieur à 0.90 g/L.....	50
Figure 6.	[¹³ C]TG et [¹³ C]AGL plasmatiques exogènes des groupes d'apoB supérieurs et inférieurs à 0.90 g/L.....	51
Figure 7.	Le pourcentage de [¹³ C] récupéré dans le CO ₂ de l'air expiré, des groupes d'apoB supérieurs et inférieurs à 0.90 g/L.....	52
Figure 8.	Sorts du gras exogène ([¹³ C]TG et [¹³ C]AGL) suite à la consommation du repas riche en gras marqué au ¹³ C-trioléine, chez les femmes « apoB < 0.90 g/L » et « apoB > 0.90 g/L ».....	56

À ma famille :

*Mon père, ma mère, mon frère et ma sœur,
pour m'avoir enduré durant les moments
difficiles.*

À mon fiancé,

Pour sa patience et sa compréhension

Remerciements

J'aimerais remercier la **Dre Faraj**, pour m'avoir accueillie dans son laboratoire et m'avoir permis de travailler sur ce projet.

J'aimerais également remercier le **Dr Rabasa-Lhoret et son équipe** pour leur temps et leur collaboration, sans qui ce projet n'aurait jamais avancé au rythme voulu.

J'aimerais de plus remercier **Annie Tardif** pour toute son aide et sa réserve de patience illimitée. Ce projet n'aurait jamais vu le jour sans son sens de l'organisation exceptionnel.

J'aimerais surtout remercier **Simon Bissonnette**, étudiant à la maîtrise dans le laboratoire de Dre Faraj, qui travaille sur la partie *ex vivo* et *in vitro* du projet.

Ce travail n'aurait pas été possible sans l'aide de **Nathalie Saint-Pierre**, infirmière et étudiante à la maîtrise dans le laboratoire de Dre Faraj.

Je tiens également à remercier **Dr Dufour, Dr Larochelle et Dr Baass** pour leur aide et leur temps.

Finalement, j'aimerais remercier **Hanny Wassef** pour son support technique et moral.

Rôle dans l'étude

Mon rôle dans l'étude était de planifier et de coordonner chacune des visites et de m'assurer que le personnel médical impliqué était disponible. J'ai également effectué les tests anthropométriques (poids, taille...), les analyses de glucose et de lipides ainsi que les analyses isotopiques du sang et de l'air expiré.

1 Introduction

1.1 Obésité, résistance à l'insuline et Diabète de type II

Au Canada, en 2004, 23.1% des adultes âgés de plus de 18 ans, soit 5.5 millions d'adultes canadiens, étaient obèses. De plus, 36.1% étaient en surpoids. En somme, plus de la moitié de la population adulte canadienne avait un excès de poids en 2004. La prévalence de l'obésité a augmenté de façon dramatique durant les 30 dernières années, de sorte qu'elle est maintenant considérée une épidémie [1].

L'obésité est une conséquence d'un apport énergétique chroniquement plus élevé qu'une dépense énergétique. Une personne est considérée obèse lorsque son poids excède de 20% - chez l'homme, ou 25% - chez la femme, la valeur cible pour sa grandeur. Ceci est mesuré à l'aide d'un indice de masse corporelle (IMC). Le calcul de l'IMC chez l'adulte est comme suit : poids (kg)/grandeur (m)². Cet outil permet également d'évaluer les risques de maladies associés à un surpoids et à un sous poids [2]. Le **Tableau I** suivant montre les différents classements de l'IMC par rapport aux risques de développer des complications liés à la santé [3].

TABLEAU I. Classification des différents étendus de l'indice de masse corporelle (IMC) et les risques associés à chaque étendue.

Indice de Masse Corporelle (IMC)	Classification	Risque de développer des maladies
< 18.5	Sous-poids	Risque accru
18.5 – 24.9	Poids normal	Peu de risque
25 – 29.9	Surpoids	Risque augmenté
> 30	Obèse	Risque accru

En somme, de mauvaises habitudes alimentaires (excès calorique), une plus grande disponibilité d'aliments énergétiquement denses et une inactivité physique (faible dépense énergétique) sont les causes majeures de l'obésité. En plus de ces facteurs environnementaux, il faut également considérer les facteurs génétiques, soit du « thrifty génotype ». Selon l'hypothèse du « thrifty gene », les mêmes gènes qui ont aidé nos ancêtres à survivre en temps de famine sont maintenant néfastes en présence d'un environnement où il y a abondance de nourriture [4].

L'obésité est un facteur de risque important pour plusieurs maladies, dont les maladies cardiovasculaires, l'hypertension, quelques cancers et le diabète de type 2 [5]. Le diabète de type 2 (DT2) ou diabète mellites, une des maladies qui croît les plus rapidement au Canada, est caractérisé par une résistance à l'action de l'insuline, associée à un défaut de fabrication de cette hormone par le pancréas [6]. Jusqu'en 2005, plus de 60 000 nouveaux cas de DT2 émergeaient chaque année [7]. Aujourd'hui, le nombre d'adultes canadiens diabétiques est estimé à 3 millions. Ce chiffre augmente considérablement à près de 9 millions lorsqu'on considère également les personnes pré-diabétiques, c'est-à-dire les personnes ayant une glycémie plus élevée que la normale à jeun, ou une intolérance au glucose, sans toutefois être diabétiques [8,9]. Bien que près de 90% des cas de DT2 soit attribuables à un problème de surpoids [10], en 2005 seulement 12.4% des personnes obèses étaient diabétiques [11], indiquant que ce ne sont pas toutes les personnes obèses qui ont un risque égal de développer le diabète.

1.2 La digestion et l'absorption des glucides et des lipides

Outre l'alcool, il existe deux sources importantes de macronutriments, les glucides les lipides et dans une moindre mesure, les protéines. Pour les fins de ce mémoire, j'omettrai de discuter du métabolisme protéique puisque la composante protéique du repas-test de l'étude (discuté plus loin) était minoritaire.

Une diète nord-américaine comporte 250 à 300g de glucides par jour. Cela représente près de la moitié de l'apport calorique journalier. Suite à la digestion des glucides alimentaires, les monosaccharides résultants – glucose, galactose et fructose - sont transportés à travers la cellule épithéliale de l'intestin et passent à travers la membrane basale de la cellule épithéliale à l'aide du transporteur actif secondaire Glut 2 (glucose et galactose) et de la diffusion facilitée (fructose) pour une utilisation ultérieure [12,13].

Une diète nord-américaine contient en moyenne 70 à 100g de lipides par jour, cela représente près du tiers de l'apport calorique journalier. La plupart des lipides alimentaires sont présents sous formes de triglycérides (TG). Dans le corps humain, la forme majeure de stockage des lipides se fait également sous forme de TG.

Lorsque les TG alimentaires atteignent l'intestin grêle, ils sont clivés par une lipase pour produire un monoglycéride et trois acides gras libres (AGL), par TG. Cependant, la lipase est une enzyme hydrophile tandis que les lipides, étant hydrophobes, ont tendance à s'agréger et former de grosses gouttelettes lipidiques dans ce milieu. Afin que la lipase puisse agir sur une plus grande surface lipidique, les gouttelettes lipidiques doivent s'émulsifier pour produire de petites gouttelettes, permettant une plus grande surface de contact pour la lipase et donc une meilleure digestion des lipides.

Les micelles résultantes suite à l'émulsification ont une surface polaire (hydrophile), et un contenu non-polaire (hydrophobe). Bien qu'une grande partie de la digestion des lipides se trouve sous forme de micelles, il existe une petite partie libre en solution, sous forme d'AGL et de monoglycérides, libres de diffuser à travers les différentes couches de cellules de l'intestin. Les monoglycérides et AGL sont transformés, dans les cellules épithéliales de l'intestin, en TG qui s'agrègent ensemble pour former des gouttelettes entourées d'une couche de protéines amphipatiques, notamment l'apolipoprotéine B48. Ces gouttelettes, surnommés chylomicrons, quittent les cellules épithéliales de l'intestin et sont libérées dans le liquide interstitiel, pour ensuite passer dans les capillaires lymphatiques. La lymphe est éventuellement déversée dans les veines systémiques à travers le canal thoracique [13,14].

1.3 La régulation métabolique et la balance énergétique

Le rythme métabolique est la quantification de l'énergie du métabolisme. Il est défini comme la dépense énergétique totale par unité de temps [15]. La dépense énergétique totale est constituée de la dépense énergétique au repos (DER; rythme métabolique basal ou coût métabolique minimal afin de maintenir les organes vitaux tel le cœur, le foie, les reins et le cerveau; 60% de la dépense énergétique totale) à laquelle s'ajoute la dépense énergétique d'effort externe (dépense énergétique sous toute forme autre qu'au repos tel l'activité physique; 30% de la dépense énergétique totale) et l'effet thermique alimentaire (ETA; énergie dépensée lors du processus de digestion et d'absorption des aliments; 10% de la dépense énergétique totale) [16].

Plusieurs facteurs, modifiables ou non, peuvent influencer le rythme métabolique. L'âge, le sexe, la durée de sommeil, le stress émotionnel et une altération prolongée de la quantité d'aliments ingérés n'en sont que quelques exemples. Pour qu'une personne maintienne un poids stable, son apport énergétique quotidien doit équilibrer sa dépense énergétique quotidienne [15]. Le corps humain alterne entre deux états fonctionnels : l'état à jeun et l'état postprandial. Lors de l'état postprandial, le corps absorbe et stocke tous les nutriments ingérés qui seront mobilisés et utilisés en tant qu'énergie lors de l'état de jeun. Je discuterai seulement du sort des glucides et lipides absorbés et de leur mobilisation à jeun.

1.3.1 Métabolisme à jeun

Le métabolisme à jeun est considéré comme étant catabolique. Le corps a besoin de maintenir une glycémie stable afin d'alimenter le cerveau, il y a donc arrêt de synthèse de glycogène, de gras et de protéines dans les tissus. Dans un état à jeun, le corps maintient la glycémie par deux fonctions : soit par la production de glucose (par la glycogénolyse, la lipolyse et la gluconéogenèse), et par l'utilisation d'un substrat autre que le glucose comme source d'énergie (tel les AGL) [17].

La glycogénolyse se produit dans les muscles et le foie. Dans le foie, les réserves de glycogène sont hydrolysées, libérant ainsi du glucose en circulation. Cette réaction peut être presque instantanée suite à un stimulus approprié telle que l'épinephrine ou l'activation du système nerveux sympathique. Le foie agit donc comme la première défense dans le maintien de la glycémie plasmatique. D'autre part, puisque les muscles n'ont pas la

glucose-6-phosphatase, l'enzyme qui convertit le glucose-6-phosphate en glucose, ce dernier y est donc convertit en lactate et pyruvate avant d'être libéré en circulation. Le lactate et le pyruvate sont ensuite convertis en glucose par le foie, à travers la gluconéogénèse [18]. La lipolyse des TG du tissu adipeux (TA) en glycérol et AGL permet également la formation de glucose par le foie, lorsque celui-ci convertit le glycérol en glucose [19].

À jeun, la plupart des tissus et organes vont diminuer l'utilisation du glucose et augmenter l'utilisation des réserves de TG comme source d'énergie, préservant l'utilisation du glucose par le système nerveux. La lipolyse du TA permet non seulement la formation de glucose, mais tel que mentionné ci-haut, ce processus libère également des AGL. L'hydrolyse des réserves de TG dans le TA se fait en trois étapes. Tout d'abord, l'hydrolyse des TG en diacylglycérol est initiée par la desnutrin/Adipose TG Lipase. La lipase hormonosensible (HSL) hydrolyse le diacylglycérol en monoacylglycérol. Ce dernier se fait alors hydrolyser par la monoacylglycérol lipase. Ces hydrolyses génèrent ainsi trois AGL et un glycérol [20]. Les AGL libérés par l'hydrolyse des TG du TA circulent dans le plasma, liés à l'albumine, pour se faire métaboliser et utiliser comme source d'énergie par presque tous les tissus, mise à part le système nerveux [21]. Les TG des lipoprotéines de faible densité d'origine hépatique (VLDL, discutés dans la section suivante) sont également hydrolysés, préférentiellement par la lipoprotéine lipase (LPL) des muscles, permettant l'utilisation des AGL résultants [22].

Le catabolisme des AGL se fait en plusieurs étapes. Les AGL doivent tout d'abord être transportés dans les mitochondries, seul site d'oxydation de ce substrat. Dans cet organite, le catabolisme se fait à travers la bêta-oxydation. Ce processus libère des atomes d'hydrogènes - qui seront oxydés pour produire de l'adénosine triphosphate (ATP) - et l'acétyl-CoA. Ce dernier sera introduit dans le cycle de l'acide citrique et sera catabolisé, libérant ainsi du CO₂ et de l'eau, et produisant du NADH et du FADH₂. Ces derniers seront utilisés par la chaîne de transport d'électrons pour produire de l'énergie sous forme d'ATP. L'oxydation des AGL génère une très grande quantité d'énergie, soit 146 molécules d'ATP par AGL [23] ou 9 Calories par gramme de gras.

Dans le foie, la dégradation des AGL se fait d'une façon différente. Puisqu'à l'état de jeune, une grande quantité d'AGL est mobilisée pour besoins énergétiques, la formation d'acétyl-CoA excède la capacité du foie à le dégrader. L'acétyl-CoA est alors utilisé pour produire des corps cétoniques (acide acétylacétique, acide bêta-hydroxybutanoïque et acétone). Ces corps cétoniques fournissent beaucoup d'énergie à plusieurs tissus, incluant le cerveau, lorsque le corps est dans un état de jeune prolongé. Par contre, en cas de famine ou de diabète, une cétose peut être enclenchée. Cela survient lorsque la concentration de corps cétoniques augmente de façon drastique. Puisqu'un des corps cétonique est l'acétone, celui-ci est expiré et une odeur d'haleine cétonique survient généralement chez des personnes dans de telles conditions [24].

Les diverses étapes survenant à jeun sont sous contrôle hormonal et nerveux en réponse à une faible glycémie. Le but ultime de ces processus est d'augmenter le niveau de

glucose plasmatique pour assurer un substrat constant pour le système nerveux, et augmenter également les AGL circulants pour alimenter les tissus et organes qui les utilisent comme source d'énergie. La lipolyse, la glycogénolyse et la gluconéogénèse sont donc sous contrôle hormonal et nerveux. Tout d'abord, bien que le pancréas joue un rôle clé à l'état postprandial de par la sécrétion de l'insuline discutée plus loin, il a également un rôle à jeun, soit la sécrétion du glucagon par les cellules alpha du pancréas, stimulées par les nerfs du système nerveux sympathique. Le rôle du glucagon est opposé à celui de l'insuline, qui est présente en quantité basale, bien que l'organisme soit à jeun. Le glucagon a deux grands effets : augmenter la glycogénolyse et augmenter la gluconéogénèse [19,25]. Le système nerveux sympathique stimule également directement la glycogénolyse et la gluconéogénèse dans le foie et la lipolyse dans le TA. De plus, les catécholamines, hormones de la médulla surrénalienne, comme l'épinephrine, permettent la translocation de la HSL du cytosol à la gouttelette lipidique, dans le TA, pour fin de lipolyse [26]. Finalement, les glucocorticoïdes, synthétisés dans le cortex surrénalien, augmentent l'expression de la desnutrin/Adipose TG Lipase, favorisant ainsi la lipolyse [27]. Enfin, l'hormone de croissance, bien qu'ayant un faible effet sur le métabolisme des lipides et des glucides : 1) rendent tout de mêmes les adipocytes plus permissifs à la lipolyse, 2) augmentent la gluconéogénèse au niveau du foie et 3) réduisent l'effet de l'insuline quant à la captation du glucose par les muscles et le TA [28].

1.3.2 Métabolisme postprandial

À l'état postprandial, le corps est en état anabolique. Il cesse donc de mobiliser toutes sources d'énergie endogènes et se met à emmagasiner les nutriments consommés pour une utilisation future.

Les glucides absorbés de l'intestin passent d'abord par le foie, à travers la veine porte. Le foie contrôle en grande partie la composition du sang avant que ce dernier s'achemine au reste du corps. Puisque le foie transforme le galactose et le fructose en glucose, les glucides absorbés seront dorénavant appelés glucose [19]. Lors de l'état postprandial, le corps utilise essentiellement le glucose comme source d'énergie. Les tissus du corps, principalement les muscles, utilisent cette source d'énergie à travers la glycolyse et le cycle de l'acide citrique, produisant ainsi de l'ATP. Les muscles vont également stocker une partie du glucose sous forme de glycogène pour une utilisation ultérieure. Le glycogène musculaire représente 9 à 16 g/kg de muscles tandis que le glycogène hépatique représente 50 g/kg de tissu hépatique [29]. Le TA peut également utiliser le glucose comme source d'énergie. Cependant, étant donné que le glucose est le précurseur de l' α -glycérol phosphate et des AGL, le rôle du glucose le plus important dans le TA est la synthèse des TG [13,30].

Au niveau du foie, à l'état postprandial, une grande partie du glucose est stocké sous forme de glycogène [31] ou de TG (α -glycérol phosphate et AG). Des TG synthétisés à partir du glucose, une petite partie sera entreposée, mais la plupart est utilisée pour la synthèse de VLDL (vous trouverez une description détaillée des lipoprotéines et leur contenu ci-dessous) [32]. Les VLDL entrent alors en circulation et leur contenu en TG se fera hydrolyser par la LPL située sur les cellules endothéliales des capillaires des tissus. Par

contre, dans l'état postprandial, la LPL aura une préférence pour l'hydrolyse des TG des chylomicrons [33]. La LPL du TA est préférentiellement activée par rapport à celle des capillaires alimentant les muscles [34]. L'hydrolyse des TG génère des AGL, qui seront captés par le TA, afin de les reformer et de les entreposer sous forme de TG par un processus qui sera expliqué de façon plus détaillée plus loin [22]. Bref, durant la phase postprandiale, le glucose est utilisé comme source d'énergie par plusieurs tissus. De plus, dans les muscles et le foie, il est emmagasiné sous forme de glycogène, et sous formes de TG dans le TA.

Tel que vu ci-haut, les chylomicrons sont déversés dans la circulation systémique. Ces derniers seront acheminés vers les tissus périphériques du corps, tel le TA et les muscles, où leur contenu en TG sera hydrolysé par la LPL de l'endothélium. Tel que mentionné ci-haut, la LPL de l'endothélium des capillaires alimentant le TA sera préférentiellement activée suite à la consommation d'un repas [34]. Suite à l'hydrolyse des chylomicrons, les AGL libérés seront captés par les adipocytes du TA et, combinés à l' α -glycérol, formeront les TG de ce tissu. Trois modes de transport des AGL dans le TA ont été suggérés. Le premier étant un mouvement latéral à travers une interface continue partant de la surface des lipoprotéines riches en TG jusque dans les membranes intracellulaires des cellules du parenchyme [35]. Le second est un transport actif des AGL par des transporteurs servant à cette fin [36]. Enfin, il y a le mécanisme du « flip-flop », un transport par diffusion passive dépendant de la concentration du gradient des AGL, à travers la membrane plasmique [37]. Par contre, ce ne sont pas tous les AGL générés qui seront captés par le TA, certains d'entre eux resteront en circulation, liés à l'albumine. Ces

derniers, ainsi que les résidus des chylomicrons post-hydrolyse, seront acheminés au foie qui, à son tour, synthétisera des VLDL dont le métabolisme sera détaillé plus loin [38].

Au niveau du TA, la formation de TG se fait en plusieurs étapes. Tout d'abord, les AGL captés seront combinés au glycérol par la glycérol-3-phosphate acyltransférase formant le lysophosphatidate. Ce dernier sera transformé en phosphatidate à l'aide de la sn-1-acylglycérol-3-phosphate acyltransférase. Celui-ci sera ensuite convertit en diacylglycérol à l'aide de la phosphorylase d'acide phosphatidique. Le diacylglycérol produira enfin le TG par l'acyl-CoA:diacylglycérol acyltransférase, l'enzyme limitante dans la synthèse des TG [39].

L'hormone clé à l'état postprandial est l'insuline. À ce fait, une augmentation de la concentration plasmatique d'insuline est liée à la majorité des événements prenant place à l'état postprandial. Hormone anabolique sécrétée de façon pulsatile par les cellules bêta des îlots de Langerhans du pancréas, l'insuline est libérée suite à la hausse du glucose plasmatique due à la consommation d'un repas, bien qu'elle se retrouve en quantité basale à jeun. De façon générale, l'insuline permet une captation rapide du glucose pour fin de stockage ou d'utilisation, permettant l'accumulation de substrats dans le foie, le muscle et le TA, créant une réserve qui sera primordiale lorsque le corps retournera à l'état de jeune. Un de ses effets les plus importants est de favoriser la synthèse de glycogène dans le foie suite à l'absorption du glucose alimentaire. Ainsi, au niveau du foie et des muscles, l'insuline favorise la captation du glucose et la synthèse de glycogène et de TG et, au niveau du muscle, l'insuline va également favoriser la captation et l'utilisation du glucose [15,19,40].

Plus précisément, dans le muscle, l'insuline va faciliter le transport du glucose jusque dans la cellule en se liant au récepteur de l'insuline à la surface des myocytes, déclenchant par un processus complexe la fusion du transporteur de glucose GLUT-4 à la membrane de la cellule et augmentant donc la vitesse de diffusion du glucose du milieu extracellulaire jusqu'à l'intérieur de la cellule. Elle va également stimuler l'enzyme limitante dans la synthèse du glycogène, la glycogène synthase. De plus, elle inhibe l'enzyme clé qui catabolise le glycogène, la glycogène phosphorylase [19,41].

Dans le foie, l'insuline inhibe la phosphorylase hépatique, inhibant le catabolisme du glycogène dans cet organe. Ensuite, la captation du glucose par les hépatocytes est améliorée post-consommation à cause de l'augmentation de l'activité de la glucokinase par l'insuline, l'enzyme causant la phosphorylation initiale du glucose. Enfin, cette hormone augmente l'activité des enzymes impliquées dans la synthèse du glycogène, dont la phosphofruktokinase. Le but ultime de l'action de l'insuline au niveau du foie est alors d'augmenter la réserve de glycogène dans cet organe [19,42].

Au niveau du TA, l'insuline stimule le stockage des AGL en activant la LPL, induisant la relâche d'AGL, suite à l'hydrolyse des TG circulants, qui sont captés par le TA et stockés sous forme de TG. L'insuline inhibe aussi la HSL et ainsi inhibant l'hydrolyse et la relâche et d'AGL des TG, du TA. Elle permet finalement le transport du glucose à travers la membrane des adipocytes tel que vu dans le muscle, fournissant le glycérol pour la formation des TG [19,19,43].

L'insuline a donc un très grand rôle postprandial. Cette hormone est contrôlée de façon très rigoureuse. Tel que vu ci-haut, le plus grand stimulus de la sécrétion de l'insuline

est l'augmentation de la glycémie plasmatique postprandiale agissant sur les cellules bêta du pancréas. Le but ultime des événements qui s'ensuivent est de ramener la glycémie à un niveau à jeun. Cependant, plusieurs autres stimuli existent qui agissent également sur les cellules bêtas et stimulent la sécrétion d'insuline. L'augmentation des acides aminés plasmatiques, la GIP (glucose-dépendant insulino-tropique peptide; hormone sécrétée des cellules endocriniennes du tube gastro-intestinal suite à la consommation d'un repas) et une augmentation de l'activité parasympathique ont un contrôle positif stimulant la sécrétion de l'insuline. Cependant, l'activation des neurones sympathiques des îlots de Langerhans ou l'augmentation de la concentration d'épinephrine plasmatique vont inhiber la sécrétion d'insuline [19,44].

Les chylomicrons et VLDL mentionnés sont des lipoprotéines. Ce sont des transporteurs de lipides dans le sang ayant des composantes protéiques intégrées à leurs membranes et des composantes lipidiques différentes, permettant ainsi de distinguer les différentes classes de lipoprotéines. Les composantes les plus importantes sont les apolipoprotéines, ce sont des protéines intégrées à la surface des lipoprotéines qui permettent de maintenir une stabilité de la structure tout en régulant le métabolisme des lipoprotéines [45,46].

Il y a cinq grandes classes de lipoprotéines, séparées selon la densité à laquelle ils flottent lorsque séparées par ultracentrifugation : les chylomicrons, les VLDL, les lipoprotéines de densité intermédiaire (IDL), les lipoprotéines de faible densité (LDL) et les lipoprotéines de densité élevée (HDL). D'abord, les chylomicrons transportent les lipides alimentaires de l'intestin jusqu'aux différents tissus du corps. Ils sont composés à près de

95% de TG et portent surtout l'apolipoprotéine B48, les apolipoprotéines CII (activateur de la LPL) et CIII (inhibiteur de la LPL), AI (interchangeable avec les HDL, activateur de la lécithine : cholestérol acyltransférase) et E (nécessaire pour la captation et la clairance des lipoprotéines). Les TG des chylomicrons sont hydrolysés par la LPL de l'endothélium des tissus concernés, générant ainsi des résidus de chylomicrons, qui sont riches en cholestérol. Le foie effectue la clairance de ces résidus puis sécrète des VLDL. Ceux-ci, dont plus de la moitié du contenu lipidique est sous forme de TG, portent les apolipoprotéines B100, C1, CII, CIII et E. Leur rôle principal est de distribuer les lipides du foie aux autres tissus. Leur contenu en TG est hydrolysé par la LPL ou la lipase hépatique, générant ainsi des IDL et des LDL. Les LDL sont majoritairement composés de cholestérol et n'ont que l'apolipoprotéine B comme composante protéique. Ce sont les lipoprotéines majeures de transport du cholestérol. Finalement, les HDL sont responsables du transport inverse du cholestérol. Ces lipoprotéines amassent le cholestérol des tissus et le ramènent au foie. La première étape du transport inverse du cholestérol, le transport du cholestérol et des phospholipides cellulaires aux apolipoprotéines pauvre en lipides, est médié par le transporteur ABCA1. Les HDL sont également composés majoritairement de cholestérol, et leurs apolipoprotéines majeures sont les apoA (AI-AII). La lécithine : cholestérol acyltransférase, activée majoritairement par l'apolipoprotéine A1 est l'enzyme responsable de la conversion du cholestérol du HDL en esters de cholestérol. Ces derniers peuvent migrer de la surface du HDL jusqu'au centre, permettant au HDL d'absorber plus de cholestérol à sa surface [45]. Enfin, une enzyme importante impliquée dans le remodelage des lipoprotéines est la « cholesterol ester transfer protein ». Celle-ci médie l'échange des

lipides (TG et ester de cholestérol) entre les chylomicrons/VLDL et HDL et entre les chylomicrons/VLDL et LDL. Son rôle devient problématique lorsqu'il y a une augmentation de TG plasmatiques provenant des chylomicrons/VLDL, tel que décrit plus loin [45,46].

Puisque les lipoprotéines contenant l'apolipoprotéine B (apoB) sont principalement visées dans la problématique de ce mémoire, je vais en discuter de façon approfondie. L'apoB100, synthétisée par le foie, est l'apolipoprotéine majeure des VLDL, IDL et LDL. C'est une protéine de 4563 acides aminés, ayant un poids moléculaire d'à-peu-près 540 kD. Elle peut se lier au récepteur des LDL et joue donc un rôle important dans le catabolisme de ces derniers. L'apoB48, généré par la transcription du gène d'apoB 100 ayant un codon d'arrêt (UAA) au résidu 2153 du gène, est synthétisée dans l'intestin grêle et se trouve sur les chylomicrons [45]. Le gène de l'apoB (43 kb) est situé sur le bras court du chromosome 2 et est constitué de 29 exons. Bien qu'on remarque l'apparition des chylomicrons à l'état postprandial, en tout temps, plus de 90% de l'apoB se trouve sous forme d'apoB100 et, également, plus de 90% de l'apoB se retrouve sur les LDL [47]. Puisqu'il n'y a qu'une apoB par lipoprotéine, lorsqu'on mesure la concentration d'apoB, pour les raisons expliquées ci-haut, nous mesurons réellement le nombre de lipoprotéines, plus précisément, le nombre de LDL.

1.4 Physiopathologie du tissu adipeux dans l'obésité

1.4.1 Tissu adipeux fonctionnel

Il existe deux sortes de TA, le TA brun et le TA blanc (TAB). Le TAB est localisé soit au pourtour des viscères (viscéral) ou soit sous la peau (sous-cutané) [48]. Dans ce texte, toute mention du TA réfère plus précisément au TAB sous-cutané. Ce dernier contient non seulement des adipocytes, mais également des cellules de la fraction stromovasculaire, dont des fibroblastes, du tissu conjonctif, des leucocytes, des macrophages et des préadipocytes, le tout pour maintenir la structure du TA. Près de 60 à 80% du TA est constitué de lipides emmagasinés dans les adipocytes (dont 90 à 99% sont des TG). Ces derniers ne représentent qu'à peu près 25% des cellules du TA mais près de 35 à 70% de la masse de ce tissu. Enfin, les adipocytes du TAB sous-cutané contiennent une gouttelette lipidique par cellule, prenant la quasi-totalité de son volume, avec les organelles, dont les mitochondries et le noyau, entassées aux recoins de la cellule. Auparavant considéré comme un tissu d'entreposage uniquement, le TA est maintenant également considéré comme un organe endocrinien [49].

Dans un TA fonctionnel, l'entrée nette des AGL est semblable à la sortie nette des AGL, bien qu'un influx net survienne à l'état postprandial et qu'un efflux inverse survienne à jeun. Donc, bien que la quantité nette finale soit semblable, des événements différents surviennent à des temps différents [50].

La mobilisation des AGL pour utilisation énergétique est un processus hautement régulé par des facteurs génétiques, nutritionnels et hormonaux. Dans un TA fonctionnel, une flexibilité métabolique est maintenue, et le TA est capable de répondre de façon adéquate au changement entre un état de jeun et un état postprandial. Pour que la

sensibilité à l'insuline et l'homéostasie du glucose soient optimaux, il faut un TA fonctionnel capable de séquestrer les lipides circulants postprandiaux, les transformer en TG, minimisant ainsi le stockage des TG dans les tissus ectopiques et minimisant également le niveau d'AGL circulants. Puisque les AGL sont de nature toxique, le moindre déséquilibre causé par un TA dysfonctionnel, particulièrement dans l'obésité, induirait un amalgame d'anomalies métaboliques, tel que décrit plus loin [51].

1.4.2 Obésité et dysfonction du tissu adipeux

L'obésité par hyperphagie, causée par un apport énergétique supérieur à dépense, induit une augmentation du dépôt de TG et donc une hypertrophie des adipocytes. Un TA dysfonctionnel a un captage réduit des AGL, diminuant la vitesse de clairance plasmatique des TG et des AGL. Un mécanisme proposé expliquant la dysfonction du TA est l'infiltration des macrophages suite à l'hypertrophie des adipocytes, induisant une résistance à l'insuline (RI) dans ce tissu [52].

Les personnes obèses ont des niveaux d'AGL circulants élevés, possiblement du à une hypertrophie et un stress du TA, qui libère ainsi plus d'AGL et a une réduction de la clairance de ces derniers [53,54]. De plus, puisque la HSL est inhibée en présence d'insuline, chez les personnes obèses ayant un TA dysfonctionnel, la RI de ce tissu expliquerait la diminution de l'effet inhibiteur de l'insuline sur la lipolyse, augmentant ainsi l'efflux d'AGL provenant du TA [55]; cette résistance expliquerait également le défaut de lipogénèse par l'insuline. De plus, chez les personnes obèses ou DT2, l'activité de la LPL

des muscles est augmentée en présence d'hyperinsulinémie par rapport à son activité normale, et celle du TA est retardée [56,57].

Ce déversement des AGL du TA vers les tissus périphériques, notamment les muscles, le pancréas et le foie, induirait une lipotoxicité par accumulation de TG et d'autres sous-produits du métabolisme des AGL dans ces tissus et conséquemment une RI dans ces tissus également [58]. Dans le muscle, un flux d'AGL induirait une accumulation de TG dans les myocytes et une réduction de la captation et de l'utilisation du glucose et donc une RI [59]. Au niveau du pancréas, cette RI par flux d'AGL est illustrée par plusieurs étapes progressifs qui évoluent avec le temps. D'abord, il y a une augmentation de la sécrétion d'insuline et, éventuellement, une augmentation des réserves de TG et de sous-produits d'AGL, suivi par une diminution de la captation du glucose, pour finalement atteindre l'étape de la diminution de la sécrétion d'insuline et de la mort des cellules bêta du pancréas, induisant ainsi au développement du DT2 [51]. Bref, la RI se manifeste par la résistance au stimulus de l'insuline aux voies métaboliques diverses dont le transport du glucose, la synthèse de glycogène et l'inhibition de la lipolyse, menant, tel que mentionné, au DT2.

Au niveau du foie, la RI se manifeste, surtout à l'état postprandial, par l'augmentation de la glycogénolyse, l'élévation de la gluconéogenèse et une diminution de la clairance d'insuline [51]. De plus, le flux élevé d'AGL induirait une augmentation de la synthèse, de l'accumulation et de la sécrétion de TG sous forme de VLDL [60]. Cette augmentation de la sécrétion de VLDL induirait une élévation de la concentration de lipoprotéines contenant de l'apoB plasmatique, une hypertriglycéridémie, une baisse de HDL-cholestérol et une

augmentation de particules de LDL petites et denses. Voici donc la dyslipoprotéïnémie athérogène la plus présente chez les sujets obèses résistants à l'insuline. Tout d'abord, par l'action de la « cholestérol ester transfer protein », l'échange entre les TG des chylomicrons/VLDL et le cholestérol des LDL et HDL mènerait à des LDL et HDL ayant un niveau élevé de TG. Les LDL et HDL riches en TG seront plus aptes à se faire hydrolysés par les lipases, menant à la production de HDL et LDL petites et denses. De plus, les LDL petites et denses sont plus athérogènes puisqu'ils sont plus susceptibles à se faire oxyder et leur taux de clairance plasmatique par le foie est réduit, tandis que les HDL petits et denses seront éliminés plus rapidement par le rein [58,61,62]. Voilà donc qu'un captage inefficace des AGL par le TAB pourrait conduire à une augmentation du nombre de lipoprotéines contenant de l'apoB et à une RI.

Un mécanisme possible pouvant expliquer le développement de la RI par les AGL serait à travers la compétition de l'oxydation du substrat avec le glucose, menant à l'inhibition de l'activité du pyruvate déshydrogénase, de la phosphofructokinase et de l'hexokinase II, enzymes impliqués dans la glycolyse [63]. Également, la diminution du métabolisme des AGL intracellulaires mène à une augmentation intracellulaire des métabolites des AGL tel le diacylglycérol, le fatty acyl coenzyme A et les céramides. Ces derniers vont activer la cascade des kinases sérine/thréonine, menant à la phosphorylation sérine/thréonine des récepteurs à l'insuline IRS-1 et IRS-2, réduisant ainsi leur activité [64].

Plusieurs études récemment publiées commencent à fournir de preuves solides liant l'apoB et le développement du DT2. Faraj et coll. ont publié, chez une population de femmes en surpoids/obèses post-ménopausées, que les femmes ayant un apoB supérieur à

1.2 g/L étaient plus résistantes à l'insuline que les femmes ayant un niveau d'apoB plus faible [65]. De plus, ils ont démontré que la réduction de l'apoB sérique suite à une diète hypocalorique de six mois, dans cette même population, pouvait prédire non seulement la réduction de l'inflammation, facteur important associé à la RI [66], mais pouvait également prédire la réduction de la RI chez les femmes post-ménopausées [67]. De plus, tel que démontré par une étude turque, l'apoB du sérum prédisait la prévalence du DT2 chez les femmes sur un période de sept ans, indépendamment de l'adiposité centrale et de l'inflammation [68]. Finalement, une étude effectuée auprès d'une population amérindienne montre une fois de plus la forte association de l'apoB avec l'incidence du DT2, cette fois-ci chez les deux sexes [69]. Toutefois, les mécanismes liant l'apoB plasmatique au développement du DT2 et de la RI n'ont jamais été examinés.

1.5 Objectifs et hypothèse

Puisque le captage inefficace des AGL serait le mécanisme favorisant la RI, tel que décrit précédemment, j'ai donc voulu examiner si l'inefficacité d'entreposage des AGL était un mécanisme liant l'apoB à la RI dans une population de femmes post-ménopausées, en surpoids ou obèses.

Mon hypothèse est donc que les femmes ayant un nombre élevé de lipoprotéines contenant de l'apoB auront une réduction de l'efficacité d'entreposage des AGL alimentaires suite à la consommation d'un repas riche en gras, comparées aux femmes ayant un nombre faible de lipoprotéines contenant de l'apoB.

2 Méthodologies et population à l'étude

2.1 Matériels

Le Glucodex 75g a été acheté de Rougier pharma (Mirabel, QC, CA). Le kit radioimmunologique pour le dosage d'insuline a été acheté de Millipore Corporation ('Human insulin specific RIA kit', Bellerica, MA, É-U). la [¹³C]-trioléine (Glyceryl Tri(Oleate-1-¹³C)). Le kit de dosage des TG (serum TG determination kit) a été acheté de Sigma Aldrich Canada Ltée (Serum Triglyceride determination kit, ON, CA). Le kit de dosage des AGL (HR-Series NEFA-HR(2)) a été acheté de Wako (Wako Pure chemical industries, Ltée, Richmond, VT, É-U). Les plaques de chromatographie sur couche mince 150Å ont été achetés de Whatman (Clifton, NJ, É-U). Finalement, les gobelets d'étain ont été achetés d'Elementar groups (Mt-Laurel, NJ, É-U). Le KH₂PO₄ était d'une concentration de 0.5 M. Le standard international L-glutamate (les standards USGS40 et USGS41) provenait de l'agence internationale d'énergie atomique (IAEA) (Vienne, Autriche).

2.2 Population à l'étude

Vingt-deux femmes ayant un taux élevé ou normal d'apoB ont été recrutées afin de faire partie d'une étude pilote transversale cherchant à examiner l'effet d'un entreposage inefficace des AGL dans le TAB. Les femmes recrutées proviennent d'un pool de 137 femmes ayant auparavant participé à une étude de perte de poids menée par l'équipe « Montreal Ottawa New Emerging Team (MONET) ». Pour participer à l'étude, les femmes devaient signer un formulaire de consentement (Annexe I), préalablement approuvé par le comité d'éthique de l'Institut de recherches cliniques de Montréal (IRCM).

Afin d'être incluses dans l'étude, les femmes devaient 1) avoir un IMC supérieur ou égal à 27g/m^2 , 2) avoir un statut de ménopause confirmé ($\text{FSH} \geq 30 \text{ U/I}$), 3) avoir un poids stable ($< \pm 2 \text{ kg}$ dans les trois derniers mois), 4) être âgées de 45 à 70 ans, 5) être non-fumeuses, 6) être sédentaire (moins de 2h d'activité physique structurée/semaine), et 7) devaient consommer moins de deux consommations d'alcool par jour.

Les femmes étaient exclues si elles 1) avaient des valeurs sanguines anormales justifiant la prise de médicaments, 2) souffraient de maladie thyroïdienne non-traitée, 3) souffraient notamment de DT2, maladies cardiovasculaires, cancer au cours des trois dernières années ou 4) souffraient de maladies inflammatoires chroniques tel le lupus ou l'arthrite rhumatoïde. Elles étaient également exclues si elles 5) avaient un problème de coagulation sanguine, 6) suivaient des traitements de remplacement hormonal (ex: estrogène), 7) prenaient des corticostéroïdes, des neuroleptiques, des traitements pour l'hypertension, des traitements pour l'hyperlipidémie, des anticoagulants, des traitements stimulant la perte de poids, des agonistes adrénergiques ou des traitements psycho actifs. Finalement, puisqu'un test principal de l'étude nécessite la consommation d'un repas riche en gras contenant plusieurs fromages, les femmes étaient exclues si elles 8) avaient subies une cholécystectomie ou si elles étaient intolérantes au lactose. Enfin, les participantes 9) étaient exclues si leur glycémie à jeun était $\geq 7 \text{ mmol/L}$ ou leur glycémie de 120 minutes était $\geq 11.1 \text{ mmol/L}$ au test d'Hyperglycémie Provoquée par Voie Orale (HGPO), qui est le test diagnostique du DT2. Un suivi médical était organisé dans le cas d'une exclusion de ce genre [70]. Les femmes qui répondaient aux critères d'inclusion décrit ci-haut et qui

acceptaient de participer à l'étude étaient incluses. Bien que le devis original de l'étude prévoyait le recrutement de 10 femmes hyperapoB (apoB > 1.2 g/L) versus 10 femmes normoapoB (apoB < 1.2 g/L), mais que le recrutement de 10 femmes hyperapoB en santé n'a pas été possible, les 22 participantes recrutées ont alors été divisées en deux groupes de N=11 selon un taux supérieur ou inférieur à la médiane d'apoB (0.90 g/L).

2.3 Devis et conception de l'étude

Le **Tableau II** situé à la fin de cette section décrit brièvement le schéma de l'étude et les procédures effectuées à chaque visite. Une explication détaillée de ces tests et procédures est décrite dans la section suivante.

2.4 Méthodologies cliniques

2.4.1 Dépistage

Les participantes arrivent à jeun pour une période de 12h, à l'Institut de recherches cliniques de Montréal (IRCM), où elles lisent et signent le formulaire de consentement. Des mesures du poids par balance électronique (Balances Industrielles, Montréal, QC, CA), de la grandeur à l'aide d'un stadiomètre mural (Perspective Enterprises, Portage, MI, É-U) et de la tension artérielle assis par sphygmomanomètre digital (Welch Allyn, San Diego, CA, É-U) sont prises et un total de 14 mL de sang est prélevé afin de mesurer, entre autres, le bilan lipidique. Les paramètres testés sont notamment le cholestérol, TG, les AGL, le HDL-C et l'apoB, à l'aide du Cobas Integra 400 (Roche Diagnostic, Montréal, QC, Canada), dont

les méthodes seront expliquées plus loin. Le LDL-C est calculé avec l'équation de Friedewald décrite ci-dessous;

$$[\text{LDL-C (mM)}] = [\text{total cholesterol (mM)}] - [\text{HDL-C (mM)}] - 0.45 * [\text{TG (mM)}] \quad [71]$$

2.4.2 Stabilisation du poids

Les participantes maintiennent un poids stable pour une période de 4 semaines afin de réduire les conséquences métaboliques qui peuvent se produire en cas de fluctuation prononcée du poids [72]. Le poids des participantes est vérifié de façon hebdomadaire, ayant pour but de le maintenir stable à ± 2 kg. Lors d'une des visites de stabilisation du poids, un médecin effectue la visite médicale où il détermine l'historique médical et d'obésité des participantes.

2.4.3 Hyperglycémie provoquée par voie orale (HGPO) et composition corporelle

L'HGPO est un test de dépistage du DT2 qui permet la mesure de la RI [70]. Les participantes doivent être à jeun pour une période de 12h. Elles boivent 300 mL de 'GlucuDex 75g' (Rougier pharma, Mirabel, QC, CA), une solution de glucose orale composée de 75g de glucose, et des prélèvements sanguins (total de 77 mL) sont effectués aux temps 0, 30, 60, 90 et 120 minutes suite à la consommation du breuvage. La glycémie est mesurée à chacun de ces points temporels par le 'YSI 2300 STAT Plus Glucose & Lactate Analyzer' (YSI Incorporated, Life Sciences, Yellow Springs, OH, É-U). Le 'YSI' fonctionne à l'aide de la technologie de biocapteurs. Une enzyme spécifique au glucose (glucose oxydase), immobilisée entre deux membranes (polycarbonate et acétate de

cellulose), oxyde le glucose lorsque celui-ci atteint la couche enzymatique. Le peroxyde d'hydrogène produit est à son tour oxydé lorsqu'il passe à travers la couche d'acétate de cellulose pour rejoindre l'électrode servant à la détection. La quantité de peroxyde d'hydrogène arrivant à l'électrode est proportionnel à la concentration de glucose (Manuel d'instruction du YSI, YSI incorporated, Life Sciences, Yellow Springs, OH, É-U).

L'insuline est également mesurée à chacun des points temporels à l'aide la trousse commerciale de dosage radioimmunologique spécifique à l'insuline humaine « Human insulin specific RIA kit » (Millipore Corporation, Billerica, MA, É-U) où une quantité connue d'insuline est rendue radioactive avec l'Iode¹²⁵ avant de la mélanger à une quantité constante d'anticorps, quantité pour laquelle tous les sites de liaisons sur l'anticorps de cochon d'inde anti-insuline humaine sont saturés par l'antigène radioactif. Ensuite, le sérum des participantes, ayant une concentration inconnue d'insuline, est rajouté au mélange, créant ainsi une compétition pour les sites de liaison de l'antigène (insuline) sur l'anticorps. L'insuline non-radioactive déplace alors l'insuline radioactive. Suite à la séparation du traceur lié et du traceur libre, et suite à la création d'une courbe de standard de concentration croissante d'antigène non-radioactif, le montant d'antigène dans les échantillons inconnus peut être calculé et déduit [73].

L'évaluation de la RI est établie à l'aide du « Quantitative Insulin Sensitivity Check Index (QUICKI) » ($[1 / (\log [\text{glucose (mg/dL)}] + \log [\text{insuline } (\mu\text{UI/mL})])]$) et du « Homeostasis Model Assessment-Insulin Resistance (HOMA-IR) » ($[\text{glucose (mmol/L)}] * [\text{insulin } (\mu\text{UI/mL})] / 22.5$) dérivés des valeurs de glucose et d'insuline

plasmatiques à jeun (temps 0) [74]. Ensuite, la sensibilité à l'insuline est estimée à l'aide d'un indice de sensibilité utilisant les valeurs de l'HGPO, le « SI_{is} OGTT », calculé comme suit : $1/[\log(\text{somme glucose } t_{0-30-90-120}) \text{ (mmol/l)} + \log(\text{somme insuline } t_{0-30-90-120}) \text{ (}\mu\text{UI/ml)}]$ [75].

Enfin, la tomodensitométrie scan effectué à l'aide de la Dual Energy X-Ray Absorptiometry (DEXA) (General Electric Lunar Corporation version 6.10.019, Madison, WI, É-U) permet de déterminer la composition corporelle. Le DEXA est un scan à 3 compartiments (tissu gras, tissu maigre et tissu osseux). Deux rayons à énergie différente passent à travers le corps et distinguent le tissu mou (eau et matière organique) du tissu osseux. Le tissu mou englobe le tissu maigre et le tissu gras. En supposant une bonne hydratation du tissu mou, il est possible de faire la distinction entre la masse maigre, la masse grasse et la densité osseuse, à l'aide d'algorithmes [76]. Ensuite, le tour de taille est mesuré à l'aide d'un ruban gradué à l'endroit directement au dessus des crêtes iliaques. À l'aide du même outil, le tour de hanches est mesuré à l'endroit le plus large du bassin [77].

2.4.4 Consommation d'un repas riche en lipides marqué au [¹³C]-trioléine, biopsies du tissu adipeux et mesure de la dépense énergétique

Le déroulement de la sixième visite se trouve à la **Figure 1**. Les participantes arrivent une fois de plus à jeun depuis une période de 12h. Elles doivent demeurer dans une position couchée tout au long du test afin d'éliminer l'effet potentiel du mouvement sur la dépense énergétique. La quantité du repas riche en gras offert aux participantes dépend de leur surface corporelle, calculée à l'aide de l'approximation de DuBois :

Surface corporelle (BSA) = (Poids (kg)^{0.425} x Grandeur (cm)^{0.725}) x 0.007184 [78]

Le repas riche en gras est marqué avec un isotope stable, le [¹³C]-trioléine ‘Glyceryl Tri (Oleate-1-13C)’ (Sigma-Aldrich Canada Ltée, Oakville, ON, CA). L’étendue des repas possibles offerts aux participantes, ainsi que leur contenu macronutritionnel et isotopique se trouve dans le **Tableau III** à la fin de cette section. L’analyse des nutriments du repas est fait à l’aide du logiciel nutritionnel (Food Processor for Windows, version 10.7.0 ; ESHA Research, Salem, OR). Les valeurs nutritionnelles sont calculées pour la moyenne de la surface corporelle de chaque catégorie ou chaque repas est composé en moyenne de 66% de gras représentant une valeur supérieur à la moyenne quotidienne de 35-40% de gras [79]. Le repas a donc été établi en vu de maintenir une moyenne de 47g de gras/surface corporelle (m²) ainsi qu’une moyenne de 0.74g [¹³C]-trioléine/surface corporelle (m²) permettant alors un ratio constant de ¹²C/¹³C en lien avec la surface corporelle et un ratio constant de [¹²C]-trioléine (retrouvé en abondance dans le corps) et [¹³C]-trioléine (enrichi dans le repas).

Suite à la consommation du repas marqué, des prises de sang, de l’air expiré et des mesures de l’oxydation du substrat à travers les mesures du rythme métabolique au repos (RMR) sont effectuées, aux temps 0, 60, 120, 240 et 360 minutes, où le temps 0 représente le moment de la prise du repas. De plus, les biopsies du TA ont lieu une heure précédant la consommation du repas et 4 heures (240 minutes) suivant le repas, à l’aide d’une aiguille suite à une anesthésie locale (3 ml of 20 mg/ml Xylocaine), par un médecin qualifié. La première biopsie a lieu 1h précédant la consommation du repas afin de permettre à la

dépense énergétique au repos (DER) de se rétablir à la normale suite à l'excitation engendrée par cette procédure légèrement invasive.

Pour effectuer les prises de sang qui permettent de suivre le marqueur en circulation, un cathéter est installé dans une veine de l'avant-bras par une infirmière qualifiée. Un total de 252 mL de sang est prélevé. Des échantillons d'air expiré, prélevés au même moment des prises de sang, permettent de suivre le marqueur en oxydation. Pour pouvoir collecter le l'air expiré, nous demandons aux participantes de souffler dans un sac scellé. Nous transférons par la suite 10 cc d'air dans des "BD Vacutainer glass serum tube" (BD, Franklin Lakes, NJ, É-U). La DER est mesurée à l'aide de la calorimétrie indirecte utilisant l'appareil Vmax de Viasys healthcare (Cardinal Health, Montréal, QC, CA). Lors du test, les patientes sont installées confortablement sur un lit, dans une salle sombre, pour une période de 15 minutes, où les 5 premières minutes seront rejetées pour le calcul [80]. L'appareil Vmax permet de mesurer les calories brûlées au repos, par jour. Il calcule indirectement la chaleur produite en mesurant l'oxygène (O_2) consommé et le dioxyde de carbone (CO_2) produit.

Le paramètre du quotient respiratoire (QR) obtenu de la calorimétrie indirecte permet de déterminer le substrat énergétique utilisé, au moment de la mesure, soit les glucides, les lipides ou les protéines. Ce paramètre est calculé à l'aide du volume de CO_2 (VCO_2) divisé par le volume de O_2 (VO_2) ($QR = VCO_2/VO_2$). Le **Tableau IV**, situé à la fin de cette section, résume les substrats énergétiques utilisés en fonction du QR obtenu.

De plus, à partir des VCO_2 et VO_2 , le RMR peut être calculé, à l'aide de l'équation de Weir : $RMR = 5.68 VO_2 + 1.59 VCO_2 - 2.17 N$ ou N , l'excrétion urinaire nitrique, est prédéterminée à 10g/jour [81].

L'oxydation du substrat est automatiquement calculée par le V_{max} . Sachant que l'excrétion nitrique urinaire est prédéterminée à 10g/jour, voici les calculs individuels de chaque substrat, ou la quantité de substrat (g/24h) oxydé au moment de chaque test [82].

$$\text{Glucides} = 5.926 VCO_2 - 4.189 VO_2 - 2.539 N \quad (10)$$

$$\text{Lipides} = 2.432 VO_2 - 2.432 VCO_2 - 1.943 N \quad (10)$$

$$\text{Protéines} = 6.250 N \quad (10)$$

Enfin, l'effet thermique des aliments (ETA) est mesuré à l'aide de l'aire sous la courbe du RMR aux différents temps indiqués ci-haut, en soustrayant le niveau basal (temps 0).

2.5 Méthodologies fondamentales et analyses de l'enrichissement de ^{13}C dans les échantillons de sang et de l'air expiré

Les paramètres lipidiques, soit le cholestérol, les TG, le HDL-C, les AGL et l'apoB ont été mesurés à l'aide du système COBAS Integra 400. Tout comme dans le dépistage, le COBAS integra 400 mesure les TG à l'aide du glycérophosphate oxydase et du 4-aminophénazone, le cholestérol à l'aide du cholestérol estérase, cholestérol oxydase et du 4-aminoantipyrine, le HDL-C à l'aide d'un dosage homogène enzymatique colorimétrique, et l'apoB par la méthode immunoturbidimétrique (tous les réactifs et standards provenant de Roche Diagnostics). Les AGL ont été mesurés par le kit commercial WAKO de dosage enzymatique colorimétrique ayant été préalablement mis en place sur le COBAS Integra

400 pour analyses automatisées des échantillons de plasma. Finalement, le LDL-C est calculé à l'aide de l'équation de Friedewald, tel que décrit dans le dépistage [71].

L'enrichissement en ^{13}C du plasma provenant du repas est mesuré sur les fractions d'AGL et de TG. Le plasma était extrait avec 10 volumes de chloroforme : méthanol, 3 : 1 (v : v) et 1.5 volume de KH_2PO_4 (0.5M). L'extrait organique de la phase de chloroforme a ensuite été évaporé sous la hotte avec du gaz N_2 pour être reconstitué dans un solvant d'élution composé de chloroforme : méthanol (2 : 1) (dérivé de [83]). Les TG et AGL ont par la suite été séparés par chromatographie sur couche mince, sur des plaques de gel de silice 150\AA , utilisant un mélange d'hexane, de diéthyl éther et d'acide acétique à des concentrations de 75 : 25 : 1 (v : v : v) respectivement, comme phase mobile [84]. Les lipides ont ensuite été identifiés suite à l'exposition aux vapeurs d'iode, en comparant à des contrôles connus. Les échantillons lipidiques à mesurer ont été grattés de la plaque, pour ensuite être extraits avec une solution d'hexane, de chloroforme et de diéthyl éther, à 5 : 2 : 1 (v : v : v). L'extrait lipidique en solution a ensuite été évaporé pour finalement être redissous dans une solution d'heptane : isopropanol (3 : 2; v : v) [85]. La concentration de TG du solvant est ensuite mesurée à l'aide de kits commerciaux, mesurant les TG par une méthode enzymatique colorimétrique lue 540 nm de densité optique. Les AGL pour leur part ont été mesurés avec le kit commercial de dosage colorimétrique enzymatique lu à 550 nm de densité (le dosage des TG et AGL est effectué de façon manuel puisque le COBAS Integra 400 ne peut pas effectuer les mesures de TG et AGL dissouts dans un solvant). Un volume équivalent à 0.025 mg de TG et d'AGL est transféré dans les gobelets d'étain pour

chaque point temporel par patient. Les échantillons ont été évaporés à 37°C avant d'être pliés en boules de petites dimensions. Ces derniers sont ensuite insérés dans le carrousel du 'vario MICRO cube' de la 'Elemental analyser – Isotope Ratio Mass Spectrometer (EA-IRMS)' provenant de la compagnie Isoprime, membre du groupe Elementar (Mt. Laurel, NJ, É-U).

L'analyse des échantillons est automatisée. D'abord, l'échantillon est déposé dans un réacteur chauffé contenant un oxydant, pour permettre la combustion en présence d'hélium et d'oxygène en excès. Les produits de la combustion sont transportés à l'aide d'hélium, à travers un four à réduction pour l'élimination de l'oxygène et la conversion de l'oxyde nitreux en azote. Un tube de séchage permet ensuite l'élimination de l'eau en excès. La phase gazeuse est séparée par un dispositif de désorption à température programmable avant d'être introduite dans l'IRMS pour l'analyse de l'enrichissement du ^{13}C [86].

L'IRMS mesure le ratio de l'abondance isotopique de $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ en comparant à un standard connu, tel que le Pee Dee Belemnite (PDB). Le spectromètre de masse était calibré avec deux standards de L-glutamate (les standards USGS40 et USGS41) avec un delta acceptable d'enrichissement en ^{13}C variant entre -26.389 et +37.626 ppm. Cinq compartiments composent l'IRMS : un système d'introduction de l'échantillon (le cube VARIO micro décrit ci-haut, ayant une interface EA), un analyseur à secteur magnétique, un réseau de détecteurs de collecteurs Faraday et un système d'acquisition de données informatisé [87]. La phase gazeuse séparée, tel que décrit plus-haut, est transporté dans la source ionique avec l'hélium. La source ionique permet de maximiser la probabilité

d'ionisation des molécules. Les molécules ionisées sont ensuite accélérées dans la section de l'analyseur, avant d'entrer en collision. La détection ionique se fait ensuite par les collecteurs Faraday. Une amplification du signal est alors produite. Les ratios des courants ioniques sont ensuite convertis en ratios isotopiques en utilisant la notation de delta (δ) [86] tel que décrit dans l'équation ci-dessous, calculant ainsi l'enrichissement du ^{13}C [88] :

$$\delta^{13}\text{C} (\text{‰})_{t=i} = [(R_{S, t=i} - R_{\text{PDB}}) / R_{\text{PDB}}] * 10^3$$

Où $\delta^{13}\text{C} (\text{‰})_{t=i}$ = δ au temps i heures, exprimé en parties par million

$R_{S, t=i}$ = $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ de l'échantillon au temps i heures

R_{PDB} = $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ du standard Pee Dee Belemnite (PDB) équivalent à 0.0112372

Le pourcentage atomique de ^{13}C (PA) de chacune des fractions lipidiques est calculé de la façon suivante [89]:

$$\text{PA } ^{13}\text{C}_{t=i} = \frac{(R_{\text{PDB}} * [(0.001 * \delta^{13}\text{C} (\text{‰})_{t=i}) + 1])}{(1 + (R_{\text{PDB}} * [(0.001 * \delta^{13}\text{C} (\text{‰})_{t=i}) + 1])) * 100}$$

Par la suite, le pourcentage atomique en excès (PAE) de ^{13}C au temps i est calculé de la façon suivante :

$$\text{PAE } ^{13}\text{C}_{t=i} = \text{PA } ^{13}\text{C}_{t=i} - \text{PA } ^{13}\text{C}_{t=0}$$

Où le $\text{PA } ^{13}\text{C}_{t=0}$ = l'enrichissement en ^{13}C à la valeur basale avant la consommation du repas marqué au ^{13}C -trioléine, en d'autre mots, le $\text{PA } ^{13}\text{C}_{t=0}$ représente l'abondance naturelle de ^{13}C dans les fractions lipidiques.

Finalement, le PAE est multiplié à la concentration totale de lipides plasmatiques retrouvée dans chaque fraction lipidique afin d'obtenir la concentration ^{13}C en μM , de la façon suivante :

$$\text{PAE } ^{13}\text{C}_{t=i} * \text{TG (mM) ou AGL (mM) * 1000}$$

Enfin, les échantillons d'air expiré collectés dans les BD Vacutainer ont été mesurés à l'Université de Québec à Montréal (UQAM) et analysés avec le même system d'IRMS (décrit ci-haut). L'enrichissement de ^{13}C retrouvé dans le CO_2 des échantillons d'air expiré doit être purifié de l'eau qui s'y retrouve en séparant cryogéniquement l'eau du CO_2 et en injectant le CO_2 purifié directement dans l'IRMS [86].

Le ^{13}C de l'air expiré est exprimé sous forme de pourcentage récupéré de la dose administrée (^{13}C -trioléine), dans le CO_2 de l'air expiré, et calculée à l'aide de l'équation suivante [90,91]:

$$\begin{aligned} \text{Pourcentage récupéré de la dose administrée} &= \frac{\text{mM en excès de } ^{13}\text{C} / \text{mM CO}_2 \text{ }_{t=i}}{\text{mM } ^{13}\text{C} \text{ administré}} \times \frac{\text{mM CO}_2 \text{ excrété}}{\text{heure}} \times 100 \\ \frac{\text{mM en excès de } ^{13}\text{C}}{\text{mM CO}_2 \text{ }_{t=i}} &= (\delta_{\text{PDB } t=i}^{13} - \delta_{\text{PDB } t=0}^{13}) \times R_{\text{PDB}} (0.0112372) \times 10^{-3} \\ \text{mM } ^{13}\text{C} \text{ administré} &= \frac{\text{mg de substrat } ^{13}\text{C}}{\text{masse molaire (888.14 g/mol)}} \\ &\times \frac{\text{Pureté isotopique (99)} \times \text{nombre } ^{13}\text{C} \text{ dans le trioléine (3)}}{100} \\ \text{mM CO}_2 \text{ excrété/heure} &= \frac{\text{Volume CO}_2 \text{ (mL)}}{\text{moles de CO}_2 \text{/L (22.4)}} \end{aligned}$$

Où $\text{mM excès } ^{13}\text{C}/\text{mM CO}_2 \text{ }_{t=i} = (\delta^{13}\text{C} (\text{‰})_{t=i} - \delta^{13}\text{C} (\text{‰})_{t=0}) R_{\text{PDB}} \times 10^{-3}$; le $\text{mM } ^{13}\text{C}_{\text{administré}} = (\text{mg } [^{13}\text{C}]\text{-trioléine} / \text{M}) \times ((\text{P} \times \text{n}) / 100)$; le $\text{mg } [^{13}\text{C}]\text{-trioléine} = \text{poids de } [^{13}\text{C}]\text{-trioléine administré}$; $\text{M} = \text{Poids moléculaire du } [^{13}\text{C}]\text{-trioléine (885.4 g/mol)}$; $\text{P} = \text{Pureté isotopique du } ^{13}\text{C (99\%)}$; $\text{n} = \text{nombre de positions de carbones marqués (3)}$; $\text{mM CO}_2 \text{ excrété/h}$

= (BSA) x 300 mM/m²*h et 1.3 = Facteur de correction qui ajuste pour la captation du traceur dans le pool de HCO₃ avec un bolus alimentaire.

2.6 Analyses statistiques

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne ± l'écart type. La différence des mesures de base, entre le groupe ayant l'apoB plus élevé et le groupe ayant l'apoB plus faible que la médiane, est analysée à l'aide d'un test *t* (student) bilatéral à échantillons non-appariés. Un test ANOVA à mesures répétées avec une interaction groupe*temps était utilisé afin de comparer les différents paramètres avec des courbes de temps, entre les deux groupes, seulement lorsque celui-ci passe le test d'égalité des variances (sphéricité de Mauchly). Dans le cas contraire, le test non-paramétrique de Mann-Whitney était utilisé (tel qu'indiqué en dessous des figures). Enfin, lorsque l'interaction groupe*temps est détectée, un test *t* (student) à échantillons appariés était utilisé pour déterminer une différence, dans un même groupe, entre le temps 0 et les temps qui suivent.

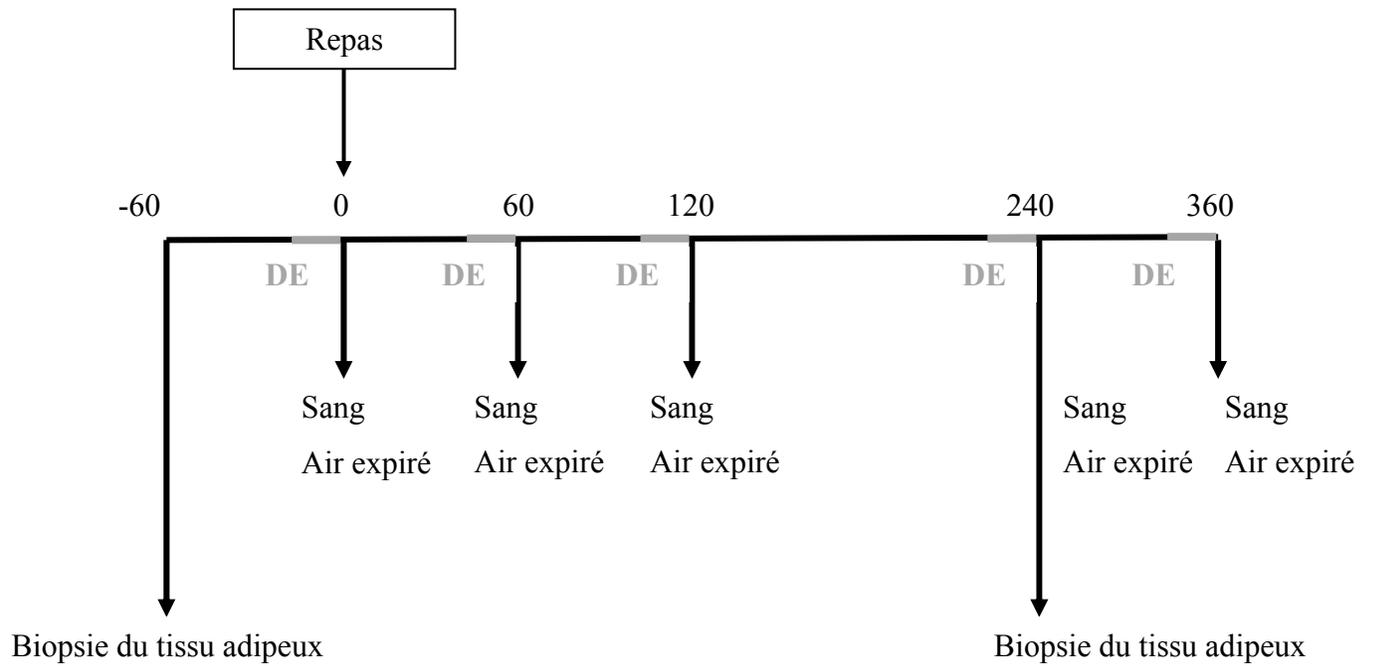


Figure 1. Déroulement de la sixième visite – Journée du repas test

TABLEAU II. Schéma de l'étude

Visites	Description	Durée	Temps (sem)
A. Dépistage			
1	Formulaire de consentement Pesée Prise de sang Taille Tension artérielle	2h00	0
B. Stabilisation de poids			
2	Pesée. Examen médical et historique de poids	1h30	1
3	Pesée	10min	2
4	Pesée	10min	3
C. Hyperglycémie provoquée par voie orale			
5	Pesée Prise de sang Scan Dual Energy X-ray Absorptiometry (DEXA) Tour de taille et tour des hanches	2h00	4
D. Composition corporelle, entreposage			
6	Consommation d'un repas enrichi au ¹³ C-trioléine Prise de sang et d'air expiré Dépense énergétique au repos Biopsies du tissu adipeux	7h30	5

TABLEAU III. Étendue des repas offerts, leur composition macro-nutritionnelle et isotopique, relatif à la surface corporelle des participantes

	SURFACE CORPORELLE (m ²)		
	1.51 - 1.7	1.71 - 1.9	1.91 – 2.1
Croissant	1.5	1.5	2
Fromage Havarti en tranches	3	3	4
Fromage Balderson	1.5	2	1.5
Bacon	5	5	5
Brownies	1	1.5	1
Gobelet lait 2%	1	1	1
Édulcorant	1	1	1

Calories	1013	1097	1230
Lipides (gm)	77	84	94
Lipides (%)	66	66	67
¹³C-trioléine (mL)	1.396	1.525	1.701
Glucides (gm)	47	52	58
Glucides (%)	18	18	18
Protéines (%)	16	15	16

¹³C-trioléine (gm)	1.275	1.392	1.553
¹³C-trioléine/lipides totaux (gm/gm)	0.017	0.017	0.017
¹³C-trioléine/SC* (gm/m²)	0.78	0.76	0.76
Lipides/m² (gm/m²)	48	47	47

*SC: Surface Corporelle

N.B. Densité de ¹³C-triolein = 0.913 g/mL

TABLEAU IV. Quotient respiratoire (QR) calculé et substrat oxydé

	QR = V_{CO_2}/V_{O_2}
Glucides	0.90 - 1.00
Lipides	0.70 – 0.78
Protéines	0.80
Combinaison Glucides/Gras	0.80 – 0.82

3 Résultats

Les caractéristiques anthropométriques de bases sont illustrées dans le **Tableau V**. Les participantes incluses dans l'étude devaient maintenir un poids stable pour une durée de 3 mois préalable à l'inclusion. Il n'y avait pas de différences significatives quant aux caractéristiques anthropométriques de bases entre le groupe « apoB < 0.90 g/L » et le groupe « apoB > 0.90 g/L »; les deux groupes avaient le même niveau d'adiposité générale et centrale. Les paramètres de la dépense énergétique, présenté dans le **Tableau VI** ne montrent aucune différence significative également entre les deux groupes.

Les paramètres métaboliques de bases, à jeun, ont par la suite été analysés, soit les valeurs plasmatiques lipidiques (cholestérol, TG et AGL totaux), lipoprotéiques (apoB, LDL-C, HDL-C), les enzymes hépatiques (AST et ALT), le glucose, l'insuline et ses indices de résistance (HOMA-IR et QUICKI) ainsi que la pression artérielle (systolique et diastolique) tel que présenté dans le **Tableau VII**. Il n'y a pas de différences significatives dans les paramètres métaboliques entre les deux groupes, mise à part quelques paramètres lipidiques et lipoprotéiques, où le groupe « apoB > 0.90 g/L » avaient des valeurs significativement plus élevés, soit pour l'apoB ($P < 0.0001$), le cholestérol ($P < 0.0001$), le LDL-C ($P < 0.0001$) et les TG ($P < 0.02$). Ces résultats étaient attendus en raison de la conception de l'étude car ces lipides sont transportés sur les lipoprotéines contenant l'apoB.

Tel qu'indiqué dans la méthodologie, suite à la collecte de l'air expiré, du sang et des gaz respiratoires à jeun, les participantes ont ensuite consommé un repas riche en gras marqué au [¹³C]-trioléine où le sang, l'air expiré et la calorimétrie indirecte ont été collectés et mesurés au temps 1h, 2h, 4h et 6h suite à la consommation du repas. L'ETA est l'aire

sous la courbe de la DER aux heures suivant la consommation du repas, jusqu'à 6 heures, en soustrayant la DER basale. La DER (**Figure 2. A**), l'ETA (sur 6h; **Figure 2. B**) et le QR (**Figure 2. C**) mesurés suite à la consommation du repas riche en gras, n'illustre aucune différence entre les deux groupes. Il y a cependant une augmentation significative de la DER à chaque temps (**Figure 2. A**), jusqu'à 6h suite à la consommation du repas riche en gras, représentant l'ETA, et cette augmentation est similaire pour les deux groupes (~19% à 6h post-consommation). Confirmant cela, l'ETA calculé (**Figure 2. B**) montre une variation similaire de la dépense énergétique suite à la consommation du repas lorsque comparé au DER du temps 0, c'est-à-dire l'énergie dépensée pour la digestion, la clairance et l'entreposage des aliments est similaire pour les deux groupes de participantes. Enfin, les deux groupes ont des taux similaires d'oxydation de glucides et de lipides à jeun et à l'état postprandial, tel qu'illustré par les courbes de QR similaires (**Figure 2. C**). Pour ce qui est de la différence intragroupe du QR, celui-ci atteint un pic au temps 60 minutes, soit une augmentation d'à peu près 4% dans les deux groupes, indiquant un changement de l'oxydation préférentielle des AGL à jeun à l'oxydation préférentielle de glucose dans l'état postprandial.

Les participantes de l'étude ont ensuite subies une HGPO afin de s'assurer qu'elles ne souffraient pas de DT2 et afin d'estimer leur sensibilité à l'insuline. Le glucose et l'insuline plasmatique mesurés lors de l'HGPO sont illustrés à la **Figure 3 (A et B)**. Pour être considérées non-diabétiques, la glycémie à jeun des participantes devait être inférieure à 7 mmol/L et celle de 120 minutes devait être inférieure à 11.1 mmol/L [70], ce qui est le cas pour chaque femme à l'étude, tel que vu dans la **Figure 3. A**. De plus, cette figure montre

une élévation de la glycémie significative équivalente pour les deux groupes à 30 et 60 minutes (~65%) comparée à la glycémie à jeun, suite à la consommation du breuvage sucré « Glucodex ». **La Figure 3. B** de l'insulinémie lors de l'HGPO montre une élévation significative de l'insulinémie comparé au temps 0, atteignant un maximum d'à peu près 7 fois le niveau de base, celle-ci reste plus élevée à chaque temps ($P < 0.01$) et ce, pour chaque groupe sans toutefois avoir une différence entre les groupes. Finalement, la sensibilité à l'insuline était estimée à l'aide d'un indice de sensibilité utilisant les données recueillis de l'HGPO. Le SI_{is} OGTT est un indice de sensibilité qui a été standardisé chez 107 femmes post-ménopausées ayant des critères similaires à notre population à l'étude et qui a une grande corrélation avec le test-référence de la mesure de la sensibilité à l'insuline, soit le clamp hyperinsulinémique euglycémique [75]. **La Figures 3. C** du SI_{is} OGTT ne montre aucune différence statistiquement significative entre les groupes d'apoB supérieurs et inférieurs à 0.90 g/L quant à la sensibilité à l'insuline.

Les changements des paramètres plasmatiques suite à la consommation d'un repas riche en gras marqué au [^{13}C]trioléine ont ensuite été analysés et présentés à partir de la **Figure 4**. À la **Figure 4. A**, Le glucose plasmatique dans les deux groupes augmente significativement de près de 17% au temps 60 minutes ($P < 0.05$), pour ensuite retourner au niveau de base au temps suivant. L'augmentation de la glycémie est due à la présence de glucides dans le repas donné. L'insuline plasmatique postprandiale augmente également en réponse à l'augmentation de la glycémie plasmatique, tel qu'illustré à la **Figure 4. B**. L'insuline postprandiale augmente également et significativement jusqu'à à peu près 4,3

fois la valeur de base à 60 minutes dans les deux groupes ($P < 0.001$). Il n'y avait aucune différence de glucose et d'insuline plasmatiques entre les deux groupes (**Figure 4**).

La **Figure 5** présente les TG (**A**) et les AGL (**B**) plasmatiques totaux. Tel que présenté ci-haut, la différence significative de TG entre les deux groupes observée dans le **Tableau VII** se maintient même à l'état postprandial. Le groupe d'apoB > 0.90 g/L avait des TG plasmatiques postprandiaux totaux significativement plus élevés que le groupe d'apoB < 0.90 g/L ($P < 0.05$), soit 51% plus élevés lorsque calculé à l'aide de l'aire sous la courbe (584.81 ± 209.84 mM·6h pour « apoB < 0.90 g/L » vs 1192.72 ± 656.17 mM·6h pour « apoB > 0.90 g/L »). De plus, la **Figure 5. A** montre que les TG des deux groupes demeurent significativement plus élevés même 360 minutes suite à la consommation du repas, atteignant un sommet de près de deux fois la valeur de base, et ce, pour les deux groupes. D'autre part, il n'y avait aucune différence quant aux AGL plasmatiques totaux entre les deux groupes (**Figure 5.B**). Les AGL totaux postprandiaux montrent une diminution significative égale des AGL aux temps 60 et 120 minutes de près de 50% ($P < 0.0001$ pour les deux groupes), suggérant une inhibition équivalente de la lipolyse du TA médiée par l'insuline. Suite à cette diminution, les AGL totaux postprandiaux retournent aux valeurs basales au temps 240 minutes et ce, pour les deux groupes.

Finalement, les résultats d'analyses des isotopes stables des échantillons de sang et d'air expiré sont illustrés dans les figures 6 et 7 respectivement où les courbes de [^{13}C]TG et [^{13}C]AGL étaient analysées par le test de la somme des rangs de Mann-Whitney, puisque le test d'égalité des variances a échoué donc un ANOVA n'a pas pu être effectué. Les [^{13}C]TG plasmatiques du groupe « apoB < 0.90 g/L » (**Figure 6. A**) montrent une

apparition significative à partir du temps 120 minutes ($P < 0.05$) pour atteindre un pic au temps 240 minutes (~ 15 fois la valeur basale; $P < 0.05$) bien qu'ils demeurent significativement plus élevé au long du test. Pour le groupe « apoB > 0.90 g/L », l'apparition des [^{13}C]TG est significativement plus élevée comparée à la valeur de base à partir du premier temps suite à la consommation du repas marqué, soit 60 minutes, et demeure élevé tout au long du test, avec une augmentation continue du traceur [^{13}C]TG jusqu'au temps 360 minutes (~ 45 fois la valeur basale; $P < 0.05$). De plus, il y a une différence significative entre les deux groupes quant à la présence du traceur pour le temps 360 minutes, où la concentration de [^{13}C]TG est ~ 5 fois supérieur pour le groupe « apoB > 0.90 g/L » comparé au groupe « apoB < 0.90 g/L ». Les résultats des analyses isotopiques du traceur dans le tissu adipeux ne sont pas présents dans la section des résultats puisque le traceur n'a pas été détecté dans le tissu adipeux étant donné la dilution du traceur dans le pool de TG du tissu adipeux.

Ensuite, suite à l'analyse du [^{13}C]AGL plasmatiques (**Figure 6. B**), les [^{13}C]AGL du groupe « apoB < 0.90 g/L » ne diffèrent pas du niveau basal, et ce tout au long du test, indiquant que les [^{13}C]TG hydrolysés par la LPL endothéliale étaient captés et utilisés par le tissu (pour fin de stockage ou d'oxydation). D'autre part, les niveaux de [^{13}C]AGL plasmatiques du groupe « apoB > 0.90 g/L » atteignent un pic de ~ 2 fois le niveau basal ($P < 0.05$) au temps 360 minutes. De plus, la concentration d' [^{13}C]AGL est 43 fois plus élevée chez le groupe « apoB > 0.90 g/L » que chez le groupe dont l'apoB est inférieur à 0.90 g/L au temps 360 minutes ($P < 0.05$). Cette différence suggère que les AG alimentaires relâchés

suite à l'hydrolyse par la LPL sont moins bien captés par les tissus chez le groupe « apoB > 0.90 g/L ».

Finalement, le ^{13}C retrouvé dans le CO_2 de l'air expiré dans les deux groupes est présenté à la **Figure 7**. Le graphique illustre que, dans les deux cas, l'apparition du marqueur dans l'air expiré se fait par une augmentation constante, avec un maximum au temps 360 minutes, où cette augmentation représente ~ 2 fois la valeur basale pour les deux groupes ($P < 0.0001$). Cependant, il n'y aucune différence entre les deux groupes quant à l'oxydation du gras exogène. Donc, l'oxydation du gras, surtout par les muscles, se fait de façon similaire et à un même rythme.

TABLEAU V. Caractéristiques anthropométriques basales des participantes ayant un taux d'apoB supérieur ou inférieur à 0.90 g/L

	ApoB < 0.90 g/L (n=11)	ApoB > 0.90 g/L (n=11)
Âge (années)	56.8 ± 5.9	58.3 ± 3.2
Poids (kg)	79.2 ± 10.0	71.8 ± 10.2
Grandeur (cm)	157.6 ± 0.1	154.0 ± 0.1
IMC (kg/m ²)	31.9 ± 4.0	30.2 ± 3.6
Surface corporelle (m ²)	1.80 ± 0.14	1.69 ± 0.14
Tour de taille (cm)	102.6 ± 10.7	101.6 ± 7.4
Tour de hanches (cm)	112.9 ± 6.9	108.7 ± 8.4
Ratio tour de taille/hanches	0.91 ± 0.09	0.94 ± 0.03
Pouls (batt/min)	68.3 ± 6.3	71.6 ± 6.2
Gras corporel (%)	45.0 ± 6.2	44.1 ± 4.3
Masse maigre (kg)	42.3 ± 3.6	39.1 ± 3.9
Masse grasse (kg)	36.1 ± 8.8	32.0 ± 7.6
Gras tronculaire (kg)	17.8 ± 5.2	16.7 ± 3.6
Gras périphérique (kg)	18.3 ± 4.1	15.3 ± 4.2
Gras androïde (%)	9.3 ± 1.1	9.6 ± 0.6
Gras gynoïde (%)	18.5 ± 2.1	18.1 ± 1.5
Ratio gras androïde/gynoïde (%)	51.3 ± 9.0	53.3 ± 6.2

IMC, indice de masse corporelle. Les valeurs sont présentées sous forme de moyennes ± écart-type.

TABLEAU VI. Paramètres de la dépense énergétique au repos à jeun des participantes ayant un taux d'apoB supérieur ou inférieur à 0.90 g/L

	ApoB < 0.90 g/L (n=11)	ApoB > 0.90 g/L (n=11)
DER (kcal/jour)	1292.2 ± 133.5	1205.3 ± 108.1
VCO ₂ (ml/min)	160.8 ± 22.8	147.8 ± 13.8
VO ₂ (ml/min)	186.6 ± 19.5	175.5 ± 16.2
QR	0.86 ± 0.07	0.84 ± 0.04
Oxydation du substrat		
Protéines (g/jour)	62.5 ± 0.0	62.5 ± 0.0
Protéines (%)	21.1 ± 2.1	22.6 ± 1.9
Glucides (g/jour)	145.8 ± 84.5	115.6 ± 34.8
Glucides (%)	46.5 ± 23.0	40.2 ± 12.2
Lipides (g/jour)	51.1 ± 21.8	47.8 ± 16.7
Lipides (%)	34.1 ± 17.4	37.3 ± 12.7

La dépense énergétique au repos (DER) est mesurée suite à un jeun de 12h des participantes. L'oxydation du substrat montrée dans le tableau indique l'oxydation des macronutriments à jeun. L'excrétion nitrique urinaire est une valeur préétablie à 10 g/jour. VCO₂, volume de CO₂ produit (ml/min); VO₂, volume d'oxygène consommé (ml/min); QR, quotient respiratoire. Les valeurs sont présentées sous forme de moyennes ± écart-type.

TABLEAU VII. Paramètres métaboliques plasmatiques et lipidiques à jeun des participantes ayant un taux d'apoB supérieur ou inférieur à 0.90 g/L

	ApoB < 0.90 g/L (n=11)	ApoB > 0.90 g/L (n=11)
ApoB (g/L)	0.73 ± 0.16	1.20 ± 0.27 ^β
AST (U/L)	22.18 ± 5.25	21.55 ± 7.39
ALT (U/L)	16.55 ± 3.21	20.45 ± 9.11
Glucose (mM)	4.87 ± 0.50	5.12 ± 0.71
Insuline (μU/mL)	14.50 ± 5.47	12.79 ± 6.22
HOMA-IR	320 ± 1.21	307 ± 1.64
QUICKI	0.32 ± 0.02	0.33 ± 0.03
Cholestérol (mM)	5.00 ± 0.29	6.77 ± 1.06 ^β
HDL-C (mM)	1.75 ± 0.59	1.43 ± 0.40
LDL-C (mM)	2.81 ± 0.41	4.47 ± 0.76 ^β
AGL (mM)	0.62 ± 0.13	0.56 ± 0.18
TG (mM)	0.96 ± 0.32	1.91 ± 1.11 ^α
Pression artérielle systolique (mmHg)	113.2 ± 15.8	119.7 ± 17.3
Pression artérielle diastolique (mmHg)	75.6 ± 9.1	77.0 ± 6.2

Valeurs plasmatiques mesurées suite à un jeun de 12h. ApoB, apolipoprotéine B; AST, aspartate aminotransférase (enzyme hépatique); ALT, alanine transférase (enzyme hépatique); HDL-C, cholestérol de lipoprotéine de densité élevé; LDL-C, cholestérol de lipoprotéine de faible densité; AGL, acides gras libres; TG, triglycérides. Les valeurs sont présentées sous forme de moyennes ± écart-type.

^α $P < 0.05$ pour la différence intergroupe

^β $P < 0.0001$ pour la différence intergroupe

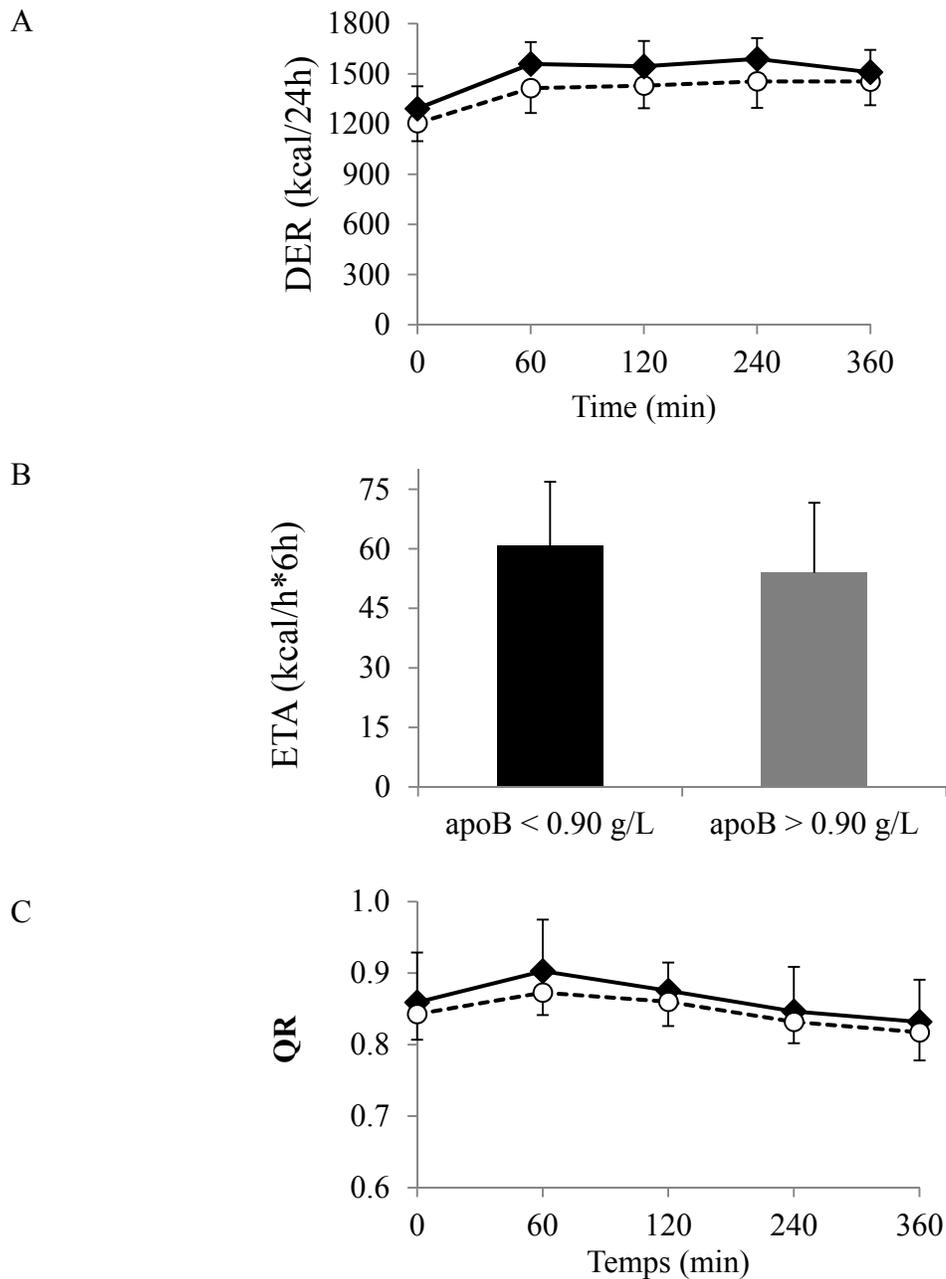


Figure 2. La dépense énergétique au repos (DER), l'effet thermique des aliments (ETA) et le quotient respiratoire (QR) des groupes d'apoB supérieurs et inférieurs à 0.90 g/L. Suite à la consommation du repas riche en gras, la DER (A), l'ETA (B) et le QR (C) ont été mesurés pendant 15 minutes pour chacun des temps chez 11 participantes du groupe « apoB < 0.90 g/L » (losanges remplis; A, C) et 11 participantes du groupe « apoB > 0.90 g/L » (cercles vides; A, C). Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes \pm écarts-types.

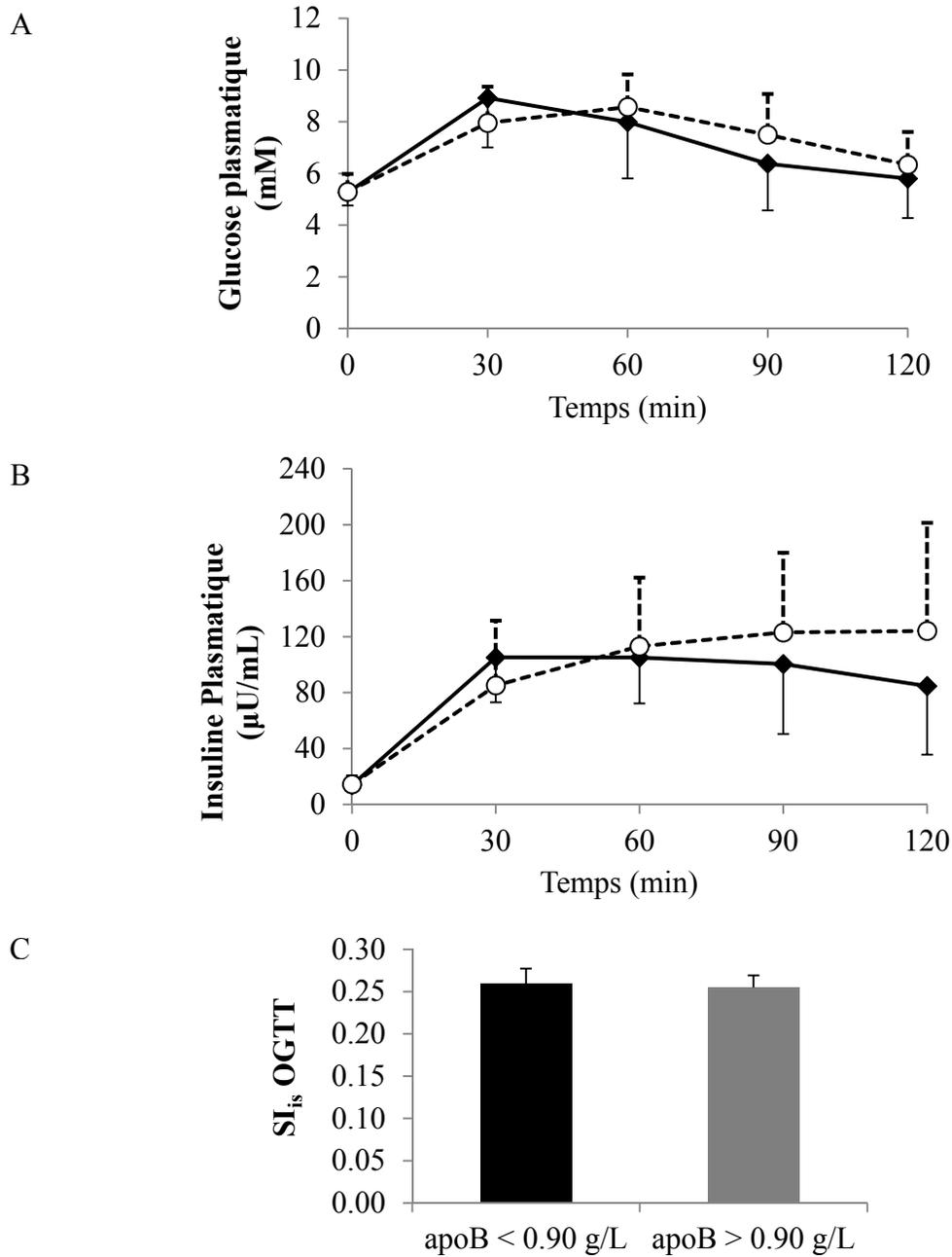


Figure 3. Glucose et insuline plasmatique suite à un test d'hyperglycémie provoquée par voie orale (HGPO) des groupes d'apoB supérieurs et inférieurs à 0.90 g/L. Lors de l'HGPO, le glucose (A) et l'insuline (B) plasmatiques ont été mesurés à chacun des temps chez les participantes ayant un taux d'apoB < 0.90 g/L (losanges remplis) et celles ayant un taux d'apoB > 0.90 g/L (cercles vides). La sensibilité à l'insuline a été calculée en se basant sur un indice de sensibilité : le SI_{is} OGTT (C). Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes ± écart-type.

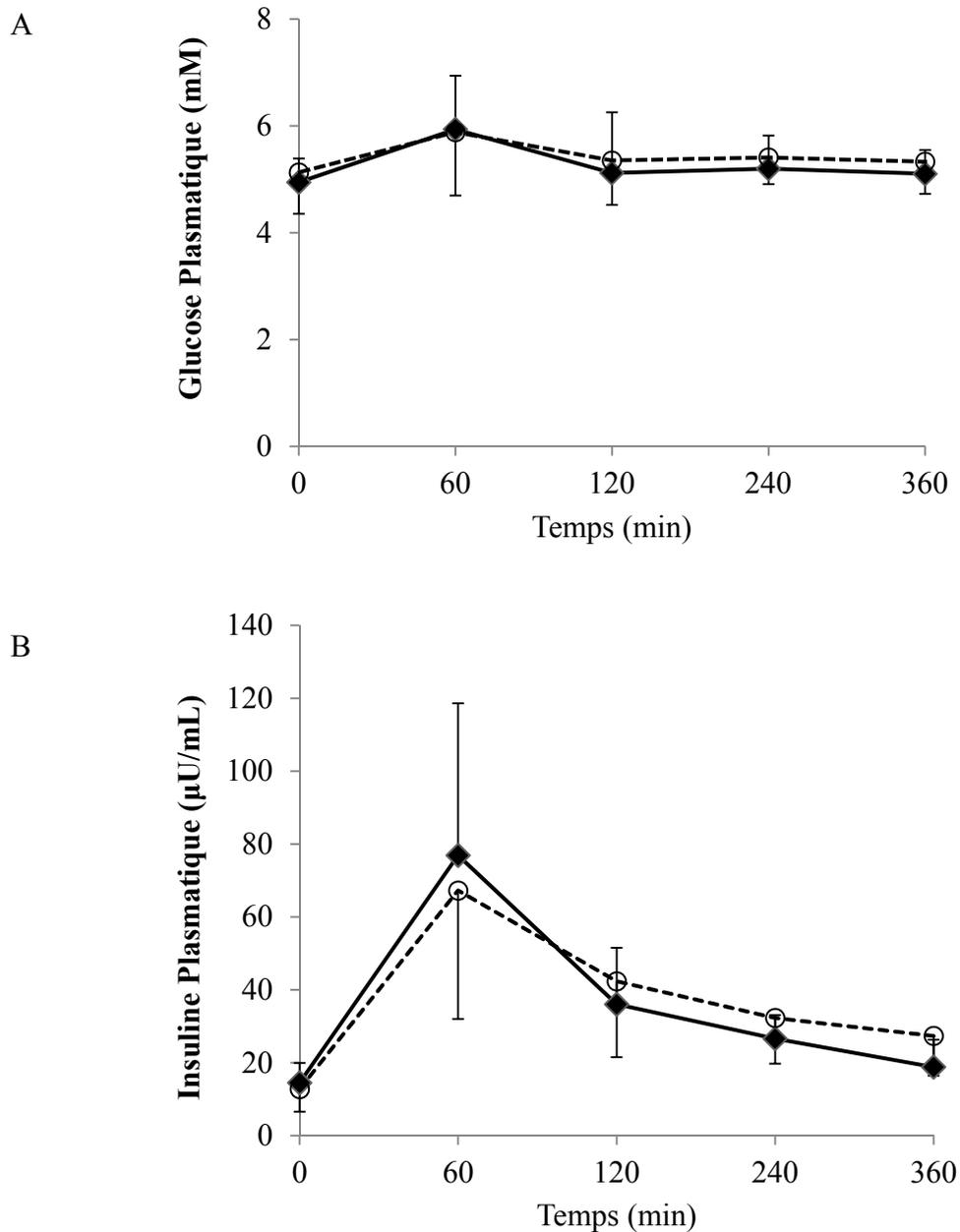


Figure 4. Glycémie et insulïnémie plasmatiques postprandiales mesurées chez les participantes des groupes apoB supérieur et inférieur à 0.90 g/L. Après la consommation du repas riche en gras, le glucose (A) et l'insuline (B) plasmatiques ont été mesurés à chaque temps chez les participantes des groupes « apoB < 0.90 g/L » (losanges pleins) et « apoB > 0.90 g/L » (cercles vides). Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes \pm écart-type à chacun des temps.

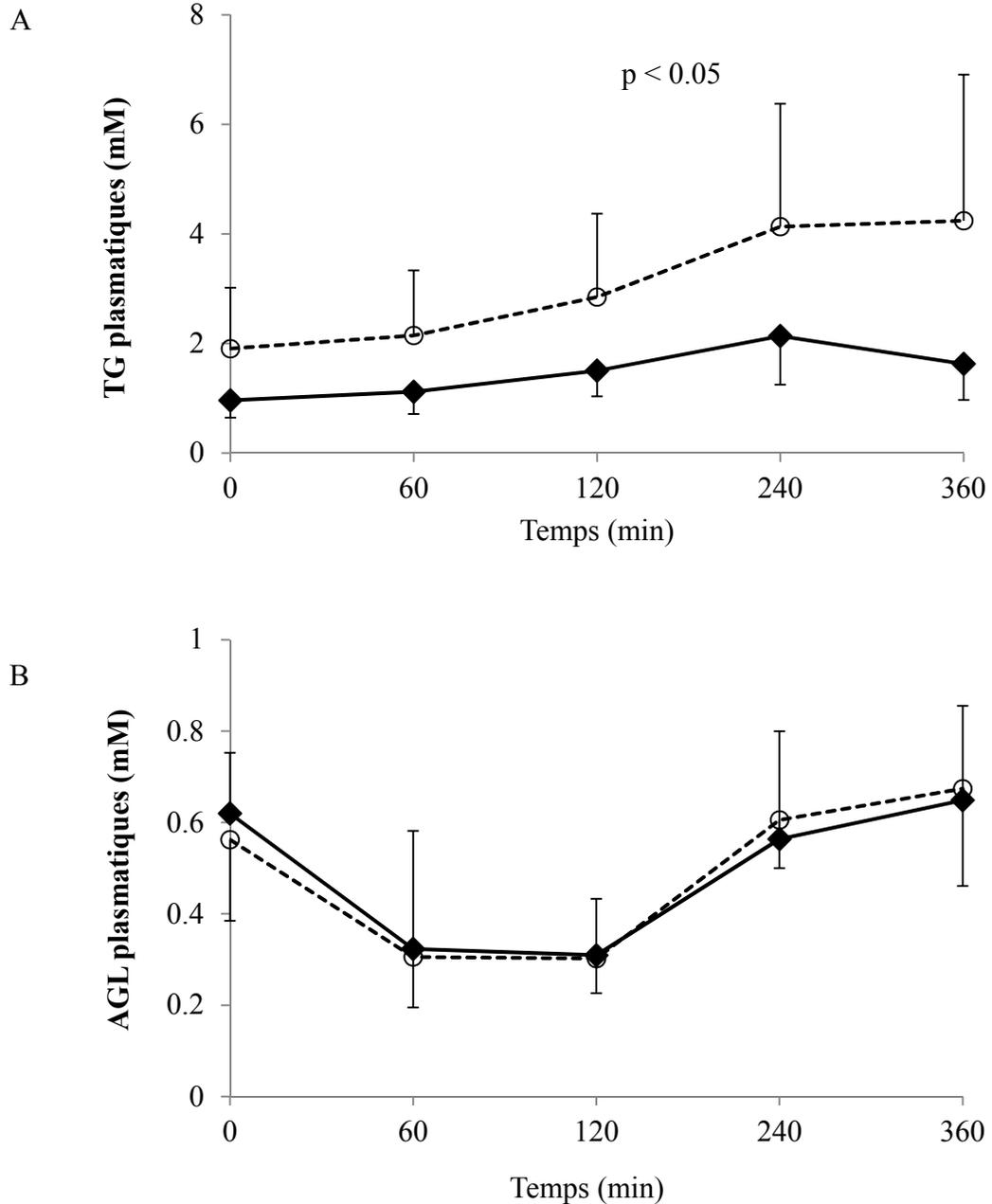


Figure 5. Triglycérides (TG) et acides gras libres (AGL) plasmatiques totaux des groupes d'apoB supérieur et inférieur à 0.90 g/L. Suite à la consommation du repas riche en gras, les TG (A) et AGL (B) plasmatiques totaux ont été mesurés à chacun des temps chez 11 participantes ayant un taux d'apoB < 0.90 g/L (losanges remplis) et 11 participantes ayant un taux d'apoB > 0.90 g/L (cercles vides). Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes \pm écart-type et il y a une différence entre les participantes « apoB > 0.90 g/L » et « apoB < 0.90 g/L » quant aux TG plasmatiques totaux ($P < 0.05$).

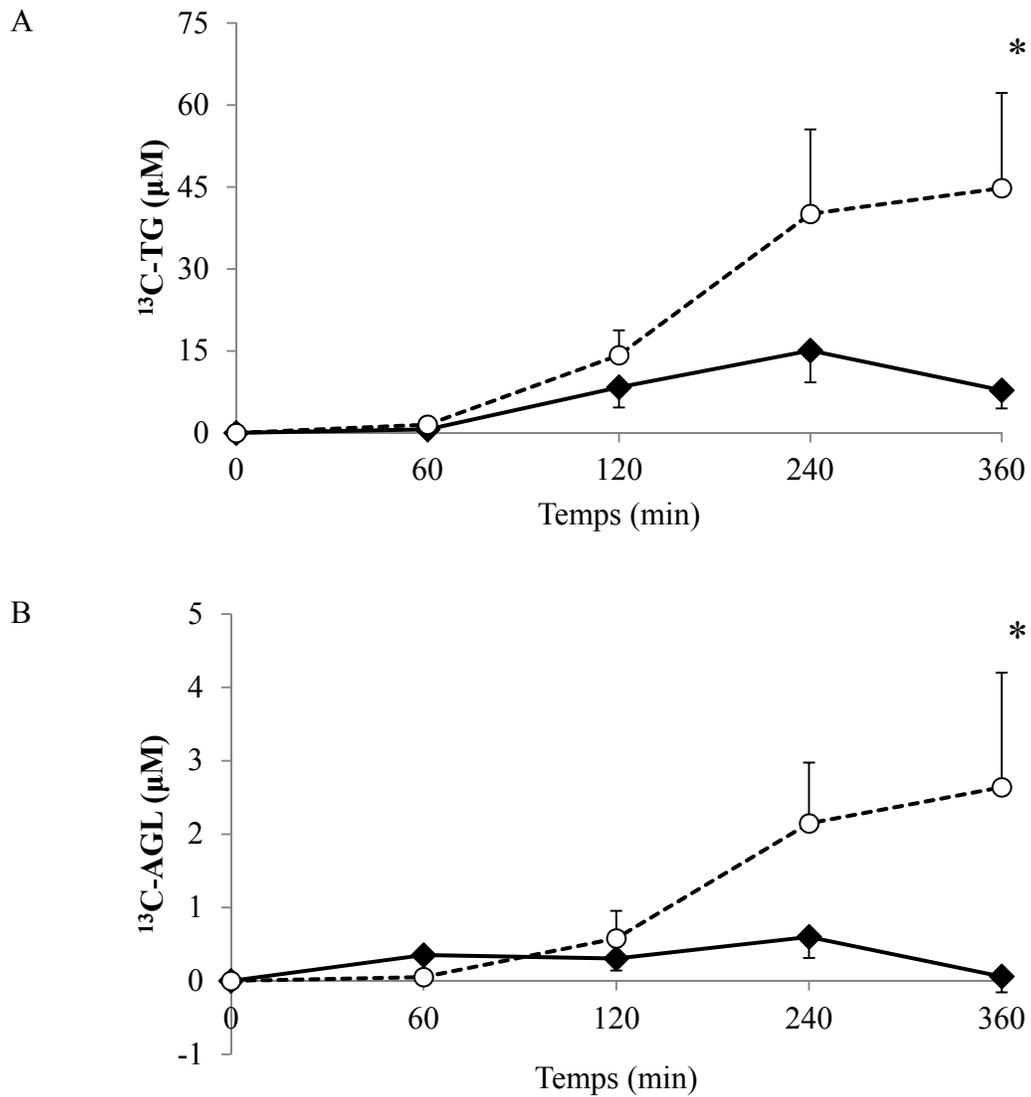


Figure 6. $[^{13}\text{C}]\text{TG}$ et $[^{13}\text{C}]\text{AGL}$ plasmatiques exogènes des groupes d'apoB supérieurs et inférieurs à 0.90 g/L. Suite à la consommation du repas riche en gras marqué au $[^{13}\text{C}]$ trioléine, les $[^{13}\text{C}]\text{TG}$ (A) et $[^{13}\text{C}]\text{AGL}$ (B) plasmatiques ont été mesurés à chacun des temps chez 11 participants ayant un taux d'apoB plasmatique < 0.90 g/L (losanges remplis) et 11 participants ayant un taux d'apoB > 0.90 g/L (cercles vides). Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes \pm écart-type. * $P < 0.05$ pour la différence entre « apoB > 0.90g/L » et « apoB < 0.90g/L » pour les $[^{13}\text{C}]\text{TG}$ et $[^{13}\text{C}]\text{AGL}$ au temps 360 min (la différence intergroupe à chaque temps était analysés par le test non-paramétrique des sommes des rangs de Mann-Whitney).

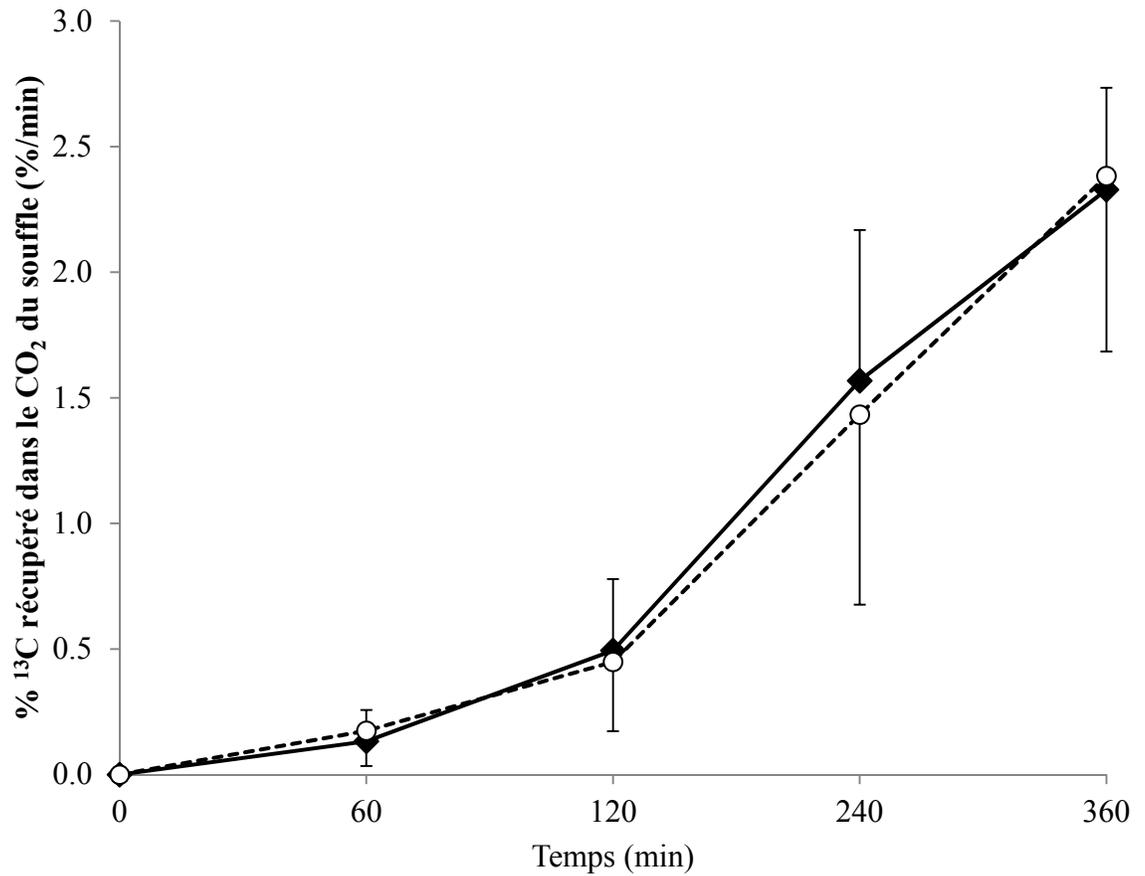


Figure 7. Le pourcentage de [^{13}C] récupéré dans le CO_2 de l'air expiré, des groupes d'apoB supérieurs et inférieurs à 0.90 g/L. Suite à la consommation du repas riche en gras marqué, le ^{13}C récupéré dans le CO_2 de l'air expiré était mesuré pour chaque temps, chez 11 participantes du groupe « apoB < 0.90 g/L » (losanges remplis) et 11 participantes du groupe « apoB > 0.90 g/L » (cercles vides). Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes \pm écart-type.

4 Discussion

Le stockage inefficace des AGL et une élévation de l'apoB plasmatique ont indépendamment été associés à la RI, à plusieurs reprises [58,65]. Cependant, la recherche dans ce domaine est orientée vers l'enquête sur la concentration d'apoB élevée chez des sujets ayant une RI sans toutefois examiner la relation inverse. Notre laboratoire, ainsi que plusieurs autres, a récemment démontré que les sujets ayant une concentration d'apoB élevée souffrent plus de RI [65,67] et ont plus de chance de développer le DT2 [68,69]. La possibilité que le captage inefficace des AGL soit un des mécanismes pouvant expliquer la prévalence prononcée de la RI chez les personnes ayant un taux élevé d'apoB n'a jamais été examinée auparavant. C'est donc cette nouvelle hypothèse qui a été explorée dans ce mémoire.

Afin de pouvoir être comparable les unes aux autres lors de la visite du repas-test, les participantes devaient être exemptes de maladies aiguës et ne pas avoir augmenté leur niveau d'exercice 72 heures avant le test. Bref, elles devaient être sans événements pouvant modifier leur métabolisme, ce qui était le cas pour toutes nos participantes. Mise à part les différences attendues au niveau des lipides plasmatiques, il n'y avait pas de différences quant aux paramètres anthropométriques et paramètres de la DER entre nos deux groupes, permettant ainsi une bonne comparaison intergroupe.

Par contre, les différences les plus importantes sont présentées à la **Figure 6**, où sont illustrés les [^{13}C]TG et les [^{13}C]AGL postprandiaux. Ces résultats, qui tiennent en compte les TG et AGL totaux postprandiaux montrent une différence significative quant à la

clairance des TG et la captation des AGL, sans toutefois avoir de différence d'oxydation des [^{13}C]AGL (la différence n'étant pas statistiquement significative). Ils suggèrent que les [^{13}C]TG des participantes « apoB > 0.90 g/L » sont moins bien éliminés et restent donc en circulation plus longtemps, surtout au temps 6h suite à la consommation du repas. Puisque la LPL est l'enzyme responsable de l'hydrolyse et de la clairance des TG, une défaillance dans cette enzyme pourrait être un mécanisme potentiel de la diminution de la clairance des TG chez les participantes ayant l'apoB élevé. Toutefois, les résultats de recherche sur la LPL sont contradictoires et non consistants. Il est bien connu que l'activité de la LPL plasmatique et de la LPL du TA est réduite en présence de RI [92], et que la réponse de la LPL du TA à l'insuline est réduite en présence d'obésité [93], bien que l'expression de cette enzyme soit augmentée de façon compensatoire dans les deux cas [94]. Eriksson et al. ont toutefois également démontré que l'activité de la LPL plasmatique serait négativement associée aux niveaux de TG plasmatiques et à la RI [95]. Cependant, une étude menée auprès de personnes souffrant de DT2 et de contrôles sains appariés montre une augmentation semblable de l'activité de la LPL dans les deux groupes, suite à la consommation d'un repas [95]. Ces études suggèrent donc que l'activité de la LPL n'est pas l'étape limitante dans la clairance des TG postprandiaux. En fait, Faraj et al. ont démontré que l'étape limitante dans la clairance des TG médiée par la LPL des adipocytes n'est pas l'activité de la LPL en tant que telle, mais le taux de captation et de clairance des AGL libérés par la LPL, puisque cette enzyme est allostériquement inhibée par son produit : les AGL [96]. De fait, les femmes ayant un taux d'apoB élevé éliminent non seulement moins bien les [^{13}C]TG, mais les [^{13}C]AGL résultants de l'hydrolyse par la LPL

restent également plus longtemps en circulation chez ces participantes, surtout à 6h, ce qui pourrait être responsable de l'inhibition de la LPL à ce temps. De plus, puisque les [^{13}C]AGL sont moins bien captés et utilisés par le tissu périphérique des sujets ayant un taux d'apoB élevé, cela pourrait donc indiquer un problème distal à l'action de la LPL, et que cette enzyme n'est qu'une composante d'un système hautement régulé, ce qui a également été observé par Fielding et Frayn [22].

La relâche des [^{13}C]AGL par la LPL a trois sorts : la circulation, l'oxydation et l'entreposage (**Figure 8**). Il est connu que les personnes ayant une obésité viscérale ont une capacité réduite d'oxyder les AGL, à jeun [97]. De plus, chez les personnes souffrant de DT2, la suppression de la captation des AGL par les muscles suite à un repas riche en gras est moins bien contrôlée [98], indiquant une inflexibilité métabolique, un facteur clé dans l'accumulation des TG dans les muscles menant à la RI [99]. Cependant, il n'y a pas de différences quant à l'adiposité viscérale ni à l'oxydation des [^{13}C]AGL par le corps (surtout par les muscles) entre les deux groupes. Donc, la réduction de captation des AGL du groupe d'apoB élevé ne semble donc pas se refléter au niveau de l'oxydation des AGL. D'autre part, les [^{13}C]TG et les [^{13}C]AGL circulants sont augmentés chez le groupe ayant l'apoB élevé. Ainsi, étant donné que le groupe d'apoB supérieur a les [^{13}C]TG et les [^{13}C]AGL plus élevés que le groupe d'apoB inférieur, et que l'oxydation des [^{13}C]AGL est semblable, cela suggère à un stockage des [^{13}C]AGL réduit chez le groupe d'apoB élevé (**Figure 8**; droite). Puisque le TA est un dépôt physiologique pour l'excès d'AGL, les résultats présentés suggèrent que les femmes ayant un taux d'apoB élevé ont une réduction de la captation des AGL. Cette augmentation du temps de circulation et cette inefficacité de

captation des AGL liée à un TA dysfonctionnel pourrait donc être le mécanisme expliquant les résultats des études mettant en lien la prévalence élevée de la RI [65,67] et du DT2 [68,69] retrouvée chez les personnes ayant un taux d'apoB plasmatique élevé.

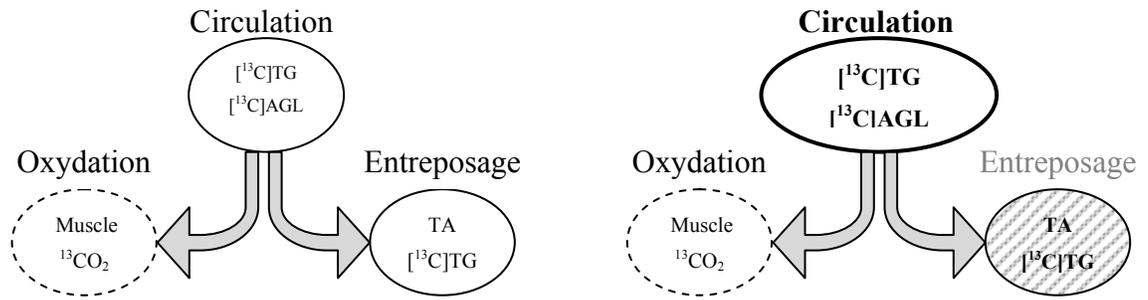


Figure 8. Sort du gras exogène ($[^{13}\text{C}]\text{TG}$ et $[^{13}\text{C}]\text{AGL}$) suite à la consommation du repas riche en gras marqué au ^{13}C -trioléine, chez les femmes « apoB < 0.90 g/L » (gauche) et « apoB > 0.90 g/L » (droite).

Il reste à savoir maintenant pourquoi les sujets ayant un taux d'apoB élevé ont une dysfonction au niveau du TA. Une étude a démontré que les LDL (lipoprotéines majeures contenant une apoB, tel que vu précédemment), bien qu'oxydés, réduisent la différenciation des adipocytes 3T3-L1 [100]. De plus, des résultats préliminaires provenant des expériences de notre laboratoire démontrent que la différenciation et la fonction des cellules pré-adipocytaires 3T3-L1 de souris sont réduites lorsqu'incubées en présence de LDL (8 jours; *in vitro*). Par la suite, les LDL réduisent directement la clairance et l'entreposage des lipoprotéines riches en TG dans les cellules 3T3-L1 et le TAB humain après 4h d'incubation (résultats non-publiés). Donc, la dysfonction du TAB chez les femmes ayant un taux d'apoB élevé pourrait être expliquée par la réduction de la différenciation et de la fonction des adipocytes en présence de concentrations élevées de LDL.

Par ailleurs, un lien majeur récemment établi entre un TA non fonctionnel et les maladies métaboliques est l'inflammation subclinique [101]. L'inflammation semble être le lien commun entre l'obésité, la RI [101], le DT2 [102] ainsi que l'athérogenèse [103]. Dans le cas de l'obésité, cette inflammation semble être centrée au niveau du TA [104]. L'obésité par hyperphagie induirait une hypertrophie des adipocytes, ce qui mènerait à l'accumulation de macrophages dans le TA. Ces derniers participeraient à la cascade inflammatoire à travers leur sécrétion de « monocyte chemoattractant protein-1 », une chémokine proinflammatoire, favorisant l'inflammation du TA [52] ainsi contribuant au dérèglement du TA. L'inflammation contribue au développement de la RI entre autre par l'interleukine-6 et la « tumor necrosis factor- α », des cytokines qui empêcheraient la signalisation et l'action de l'insuline [105]. De plus, les cytokines inhibent également la différenciation des préadipocytes, contribuant ainsi à la progression de la dysfonction du TA en générant des cellules ayant un phénotype inflammatoire à partir des préadipocytes. Cela mènerait ainsi à l'inflammation et à RI systémique. Or, l'apoB est non seulement associée à la RI et, d'après les résultats de la présente étude, au captage des AGL par le TA, mais également chez les femmes obèses post-ménopausées, l'apoB serait le prédicteur primaire des marqueurs inflammatoires majeurs qui sont, à leurs tours, prédicteurs du DT2. Ces marqueurs sont le « high-sensitive » (hs) « C-reactive protein », l'interleukine-6, l'orosomucoïde, l'haptoglobine et l' α 1-antitrypsine [65]. Ainsi, l'inflammation chronique du TAB des sujets ayant un taux d'apoB élevé pourrait être un autre mécanisme expliquant la dysfonction du TAB dans cette population.

Nous avons précédemment rapporté que les femmes post-ménopausées en surpoids/obèses avec un taux d'apoB élevé ont une réduction de la sensibilité à l'insuline, tel qu'évaluée par le clamp hyperinsulinémique-euglycémique. Le clamp hyperinsulinémique-euglycémique, qui a été standardisé pour le poids corporel, est le test étalon-or pour déterminer la sensibilité à l'insuline et permet de déterminer la quantité de glucose utilisée par les tissus en réponse à une concentration élevée d'insuline. La RI se manifeste par une baisse de l'action physiologique de l'insuline et à une hyperinsulinémie. Donc, en réponse au clamp hyperinsulinémique-euglycémique, moins un sujet requiert de glucose pour répondre à l'insuline donnée (tout en gardant la glycémie au niveau à jeun), plus cette personne est résistante à l'action de cette hormone [106]. Bien que ce test ait pu clairement identifier une population répondant moins bien à l'action de l'insuline, il nécessite toutefois beaucoup de temps et d'expertise technique pour être exécuté. Dans l'étude présente, la RI a été estimée par deux méthodes; les indices à jeun et l'HGPO. Le HOMA [107] et le QUICKI [108] permettent d'estimer la sensibilité à l'insuline à partir des valeurs de glucose et d'insuline plasmatique à jeun. Ces indices ne permettent pas d'évaluer le même état dynamique induit par le clamp hyperinsulinémique-euglycémique et reflètent principalement la sensibilité à l'insuline hépatique [109]. Cependant, puisque ce ne sont que les valeurs à jeun qui sont prises en considération, ces indices présenteront des valeurs normales pour les personnes intolérantes au glucose présentant une tolérance normale à jeun. Cela pourrait peut-être expliquer la similarité des résultats de HOMA-IR et de QUICKI observée entre nos deux groupes [110]. Ensuite, un HGPO a été effectué auprès des participantes et il n'y avait pas de différences quant à la sensibilité à l'insuline entre nos

deux groupes[75]. Bien que ce test permette d'évaluer la tolérance au glucose ainsi que la sensibilité et la sécrétion d'insuline, et que c'est un outil plus fiable que les indices à jeun, l'HGPO n'est toutefois pas l'étalon-or quant à la détermination de la sensibilité/résistance à l'insuline, surtout puisqu'il n'est pas standardisé pour le poids corporel. De plus, la glycémie et l'insulinémie ont également été mesurées suite à la consommation du repas riche en gras (résultats non-présentés), ne montrant aucune différence quant à l'évolution de ces paramètres à l'état postprandial. Ce test ne devrait pas être utilisé pour l'estimation de la sensibilité à l'insuline puisqu'il montre une réponse à une surcharge de gras (représentant 66% des calories totales du repas) au lieu d'une surcharge de glucides (18% des calories totales du repas). Ainsi, les limites des indices à jeun et de l'HGPO, en plus d'une petite population à l'étude, pourraient expliquer les différences observées entre cette étude et les études publiées sur cette même population quant à la relation de l'apoB et la RI [65,75].

Finalement, l'implication et l'importance de l'apoB comme marqueur modifiable est constamment mise en évidence dans son association avec la RI et le DT2 [68,69]. La prochaine étape dans l'investigation de cette apolipoprotéine serait de cibler la population ayant un taux d'apoB plasmatique élevé comme étant une population plus à risque de développer le DT2, comparée à une population étant simplement obèse ou ayant seulement un taux de LDL-C élevé sans taux d'apoB élevé [111], et dont le traitement serait prioritaire. De fait, un traitement qui s'avère être très efficace contre l'élévation de l'apoB est la perte de poids. Plusieurs études ont démontré les bienfaits d'une perte de poids, quoique souvent modérée ($\pm 10\%$), sur l'amélioration du profile métabolique mais surtout

sur l'amélioration de la sensibilité à l'insuline [112] et du profil inflammatoire [113,114], bien que d'autres études ne montrent aucun changement du profil métabolique associé à une perte de poids [115,116]. Une étude importante de notre laboratoire a pu clarifier les résultats contradictoires obtenus des différentes publications en démontrant que c'est la réduction de l'apoB sérique, et non pas la réduction de poids en tant que tel, qui était associée à une réduction de la RI et à une amélioration du profil inflammatoire, chez des femmes obèses post-ménopausées [67]. Une étude a même démontrée qu'une perte de poids par l'exercice réduit le niveau d'apoB chez l'homme, mais pas le niveaux de LDL-C [117]. De plus, chez l'homme, une réduction de la sécrétion hépatique de lipoprotéine apoB serait associée à une réduction du TA viscéral, expliquant la réduction de l'apoB sérique observée suite à une perte de poids [118]. Enfin, un autre traitement possible serait l'utilisation des statines comme agent diminuant le taux de lipides sanguins. Les statines sont des inhibiteurs de l'enzyme limitante dans la synthèse de cholestérol hépatique, « l'hydroxy-méthyl-glutaryl-coenzyme A reductase ». Cette drogue est le traitement par excellence pour la réduction du LDL-C plasmatique. Cependant, l'effet des statines sur l'apoB semble mixte. Plusieurs études montrent des effets bénéfiques quant à la réduction des LDL petits et denses [119] tandis que d'autres études démontrent que, bien que les statines réduisent efficacement le LDL-C, cette réduction ne normalise pas le taux de l'apoB de LDL [120] et iraient même à augmenter la proportion de LDL petits et denses [121]. Enfin, bien que ce ne soit un sujet de controverse, la littérature courante suggère une association entre des doses élevées de statines et l'incidence accrue du DT2 [122]. Un traitement par modification des habitudes de vie ciblant les sujets ayant un taux d'apoB

élevé serait donc préférable afin de réduire le risque de développer le DT2 dans la population obèse.

5 Conclusion

La nouvelle hypothèse émise et examinée au long de ce travail était que les femmes obèses post-ménopausées ayant un taux élevé d'apoB avaient une réduction de l'efficacité d'entreposage des AGL postprandiaux.

Les résultats suggèrent effectivement qu'il y a une réduction de la clairance des TG alimentaires et une réduction de la captation des AGL alimentaires, sans toutefois y avoir de différence quant à l'oxydation des AGL alimentaires, chez les femmes présentant un taux d'apoB élevé comparées aux femmes présentant un taux d'apoB faible. Ces résultats suggèrent que les femmes ayant un taux d'apoB élevé avaient une réduction de la clairance et de l'entreposage des TG postprandiaux dans le TAB.

Donc, une efficacité d'entreposage des AGL alimentaires réduite due à une dysfonction du TAB pourrait être le mécanisme expliquant l'incidence élevée de la RI chez les sujets ayant un apoB élevé, tel que publié dans la littérature. Enfin, d'après ces résultats et les résultats d'études antérieures, il faudrait préférentiellement cibler les sujets ayant un taux apoB élevé pour réduire leur risque de complications métaboliques en diminuant leur niveau d'apoB.

Bibliographie

1. Component of Statistics Canada . *Catalogue no 82-620-MWE2005001* 2011.
2. Starky Sheena The obesity epidemic in Canada. *Economics Division* 2005; **PRB 05-11^E**.
3. Health Canada *Canadian Guidelines for Body Weight Classification in Adults* 2003;3.
4. Bennett P.H. Type 2 Diabetes Among the Pima Indians of Arizona: An Epidemic Attributable to Environmental Change? *Nutrition Reviews* 1999; **57**:51-54.
5. Canadian Institute for Health Information Improving the Health of Canadians. *Ottawa: Canadian Institute for Health Information* 2004.
6. Définition CDA <http://www.diabetes.ca/diabetes-and-you/what/dictionary/#pancreas>. *Online source* 2011.
7. It's Your Health – Type 2 Diabetes. *Health Canada website* 2011.
8. Merck Frosst Canada. Fact Sheet on Diabetes in Canada. 1-3-2008.
9. Canadian Diabetes Association *The prevalence and costs of diabetes* 2010.
10. Hossain P., Kavar B., El Nahas M. Obesity and Diabetes in the Developing World — A Growing Challenge. *New England Journal of Medicine* 2007; **356**:213-215.
11. Lee D.S., Chiu M., Manuel D.G. et al. Trends in risk factors for cardiovascular disease in Canada: temporal, socio-demographic and geographic factors. *Canadian Medical Association Journal* 2009; **181**:E55-E66.
12. Levin R.J. Digestion and absorption of carbohydrates--from molecules and membranes to humans. *The American Journal of Clinical Nutrition* 1994; **59**:690S-698S.
13. Widmaier E.P., Raff H., Strang K.T. Regulation of organic metabolism and energy balance. In: The McGraw-Hill Companies, ed. *Vander's human physiology: The mechanisms of body function*. 10th edition edn. 2006; 615.
14. Carey M. Lipid digestion and absorption. *Annual Review of Physiology* 1983; **45**:651-677.

15. Guyton A.C. Metabolism and temperature regulation. In: W.B.Saunders, ed. Textbook of medical physiology. 8th edition edn. 1991; 698.
16. Leibel R.L., Rosenbaum M., Hirsch J. Changes in Energy Expenditure Resulting from Altered Body Weight. *New England Journal of Medicine* 1995; **332**:621-628.
17. Bays H., Mandarino L., DeFronzo R.A. Role of the Adipocyte, Free Fatty Acids, and Ectopic Fat in Pathogenesis of Type 2 Diabetes Mellitus: Peroxisomal Proliferator-Activated Receptor Agonists Provide a Rational Therapeutic Approach. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2004; **89**:463-478.
18. DeFronzo R.A., Ferrannini E. Regulation of hepatic glucose metabolism in humans. *Diabetes Metab Rev* 1987; **3**:415-459.
19. Smith M.E., Morton Dion G. The absorptive and postabsorptive states. In: Churchill Livingstone, An imprint of Elsevier Limited, eds. The digestive system, basic science and clinical conditions. 2001; 158.
20. Ahmadian M., Wang Y., Sul H.S. Lipolysis in adipocytes. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 2010; **42**:555-559.
21. De Vivo D.C. Metabolism and energy requirements of the CNS. *Basic and Clinical Neurosciences* 2005; **28th Annual Postgraduate Review Course**:1-20.
22. Fielding B.A., Frayn K.N. Lipoprotein lipase and the disposition of dietary fatty acids. *British Journal of Nutrition* 1998; **80**:495-502.
23. Schulz H. Beta oxidation of fatty acids. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Lipids and Lipid Metabolism* 1991; **1081**:109-120.
24. Mahan K.L., Arlin M. Nutrition basics. In: W.B.Saunders, ed. Krause's Food, Nutrition & Diet Therapy. 8th edition edn. 1992; 3.
25. Young A. Inhibition of Glucagon Secretion. In: Andrew Y., ed. Advances in Pharmacology
Amylin: Physiology and Pharmacology. Volume 52 edn. Academic Press, 2005; 151.
26. Leiter L.A., Grose M., Yale J.F., Marliss E.B. Catecholamine responses to hypocaloric diets and fasting in obese human subjects. *American Journal of Physiology - Endocrinology And Metabolism* 1984; **247**:E190-E197.
27. Villena J.A., Roy S., Sarkadi-Nagy E., Kim K.H., Sul H.S. Desnutrin, an Adipocyte Gene Encoding a Novel Patatin Domain-containing Protein, Is Induced by Fasting and Glucocorticoids. *Journal of Biological Chemistry* 2004; **279**:47066-47075.

28. Norrelund H., Nair K.S., Jorgensen J.O.L., Christiansen J.S., Moller N. The Protein-Retaining Effects of Growth Hormone During Fasting Involve Inhibition of Muscle-Protein Breakdown. *Diabetes* 2001; **50**:96-104.
29. Norman A.W., Litwack G. Pancreatic hormones: insulin and glucagon. *Hormones*. Second Edition edn. 1997; 196.
30. Leslie J.De Groot, De Groot Leslie J. *Endocrinology. A Saunders Title*, 2010.
31. van de Werve G., Jeanrenaud B. Liver glycogen metabolism: An overview. *Diabetes Metab Rev* 1987; **3**:47-78.
32. Choi S.S., Diehl A.M. Hepatic triglyceride synthesis and nonalcoholic fatty liver disease. *Current Opinion in Lipidology* 2008; **19**:295-300.
33. Bickerton A.S.T., Roberts R., Fielding B.A. et al. Preferential Uptake of Dietary Fatty Acids in Adipose Tissue and Muscle in the Postprandial Period. *Diabetes* 2007; **56**:168-176.
34. Farese R.V.Jr. Tissue-specific regulation of lipoprotein lipase activity by insulin/glucose in normal-weight humans. *Metabolism, clinical and experimental* 1991; **40**:214-216.
35. Blanchette-Mackie E.J., Scow R.O. Movement of lipolytic products to mitochondria in brown adipose tissue of young rats: an electron microscope study. *Journal of Lipid Research* 1983; **24**:229-244.
36. Glatz J.F.C., Luiken J.J.F.P., Bonen A. Membrane Fatty Acid Transporters as Regulators of Lipid Metabolism: Implications for Metabolic Disease. *Physiological Reviews* 2010; **90**:367-417.
37. Hamilton J.A. Fatty acid transport: difficult or easy? *Journal of Lipid Research* 1998; **39**:467-481.
38. Dixon J.L., Ginsberg H.N. Regulation of hepatic secretion of apolipoprotein B-containing lipoproteins: information obtained from cultured liver cells. *Journal of Lipid Research* 1993; **34**:167-179.
39. Guo Y., Cordes K.R., Farese R.V., Walther T.C. Lipid droplets at a glance. *Journal of Cell Science* 2009; **122**:749-752.
40. Havel P.J. Peripheral Signals Conveying Metabolic Information to the Brain: Short-Term and Long-Term Regulation of Food Intake and Energy Homeostasis. *Exp Biol Med* 2001; **226**:963-977.

41. Klip A., Pâquet M.R Glucose transport and glucose transporters in muscle and their metabolic regulation. *Diabetes care* 1990; **13**:228-243.
42. Petersen K.F., Laurent D., Rothman D.L., Cline G.W., Shulman G.I. Mechanism by which glucose and insulin inhibit net hepatic glycogenolysis in humans. *J Clin Invest* 1998; **101**:1203-1209.
43. Kersten S. Mechanisms of nutritional and hormonal regulation of lipogenesis. *EMBO reports* 2001; **2**:282-286.
44. Sperling M.A. Control of insulin secretion. *California Medicine, The western journal of medicine* 1973;17-22.
45. Ginsberg Henry N Lipoprotein physiology. *Endocrinology and metabolism clinics of North America* 1998; **27**:503-519.
46. Mahley R.W., Innerarity T.L., Rall S.C., Weisgraber K.H. Plasma lipoproteins: apolipoprotein structure and function. *Journal of Lipid Research* 1984; **25**:1277-1294.
47. Sniderman A., Vu H., Cianflone K. Effect of moderate hypertriglyceridemia on the relation of plasma total and LDL apo B levels. *Atherosclerosis* 1991; **89**:109-116.
48. Tran T.T., Kahn C.R. Transplantation of adipose tissue and stem cells: role in metabolism and disease. *Nat Rev Endocrinol* 2010; **6**:195-213.
49. Frühbeck G. Overview of adipose tissue and its role in obesity and metabolic disorders. *Methods in molecular biology* 2008; **456**:1-22.
50. Evans K., Burdge G.C., Wootton S.A., Clark M.L., Frayn K.N. Regulation of Dietary Fatty Acid Entrapment in Subcutaneous Adipose Tissue and Skeletal Muscle. *Diabetes* 2002; **51**:2684-2690.
51. Faraj M., Lu H.L., Cianflone K. Diabetes, lipids, and adipocyte secretagogues. *Biochem Cell Biol* 2004; **82**:170-190.
52. Murdolo G., Smith U. The dysregulated adipose tissue: A connecting link between insulin resistance, type 2 diabetes mellitus and atherosclerosis. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* 2006; **16**:S35-S38.
53. Opie L.H., Walfish P.G. Plasma Free Fatty Acid Concentrations in Obesity. *New England Journal of Medicine* 1963; **268**:757-760.
54. Björntorp P., Bergman H., Varnauskas E Plasma free fatty acid turnover rate in obesity. *Acta medica Scandinavica* 1969; **185**:351-356.

55. Coppack S.W., Evans R.D., Fisher R.M. et al. Adipose tissue metabolism in obesity: lipase action in vivo before and after a mixed meal. *Metabolism, clinical and experimental* 1992; **41**:264-272.
56. Yost T.J., Froyd K.K., Jensen D.R., Eckel R.H. Change in skeletal muscle lipoprotein lipase activity in response to insulin/glucose in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Metabolism* 1995; **44**:786-790.
57. Sadur U.N., Yost T.J., Eckel R.H. Insulin Responsiveness of Adipose Tissue Lipoprotein Lipase Is Delayed but Preserved in Obesity. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 1984; **59**:1176-1182.
58. Lewis G.F., Carpentier A., Adeli K., Giacca A. Disordered Fat Storage and Mobilization in the Pathogenesis of Insulin Resistance and Type 2 Diabetes. *Endocrine Reviews* 2002; **23**:201-229.
59. Pan D.A., Lillioja S., Kriketos A.D. et al. Skeletal muscle triglyceride levels are inversely related to insulin action. *Diabetes* 1997; **46**:983-988.
60. Boden G., Cheung P., Stein T.P., Kresge K., Mozzoli M. FFA cause hepatic insulin resistance by inhibiting insulin suppression of glycogenolysis. *American Journal of Physiology - Endocrinology And Metabolism* 2002; **283**:E12-E19.
61. Sniderman A.D., Scantlebury T., Cianflone K. Hypertriglyceridemic HyperapoB: The Unappreciated Atherogenic Dyslipoproteinemia in Type 2 Diabetes Mellitus. *Annals of Internal Medicine* 2001; **135**:447-459.
62. Borggreve S.E., De Vries R., Dullaart R.P.F. Alterations in high-density lipoprotein metabolism and reverse cholesterol transport in insulin resistance and type 2 diabetes mellitus: role of lipolytic enzymes, lecithin:cholesterol acyltransferase and lipid transfer proteins. *European Journal of Clinical Investigation* 2003; **33**:1051-1069.
63. Randle P.J., Garland P.B., Hales C.N., Newsholme E.A. The glucose fatty-acid cycle. Its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. *The Lancet - British Edition* 1963; **1**:785-789.
64. Kahn S.E., Hull R.L., Utzschneider K.M. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature* 2006; **444**:840-846.
65. Faraj M., Messier L., Bastard J. et al. Apolipoprotein B: a predictor of inflammatory status in postmenopausal overweight and obese women. *Diabetologia* 2006; **49**:1637-1646.

66. Xu H., Barnes G.T., Yang Q. et al. Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *J Clin Invest* 2003; **112**:1821-1830.
67. Faraj M., Lavoie M.-È., Messier L., Bastard J.P., Prud'homme D. Reduction in serum apoB is associated with reduced inflammation and insulin resistance in post-menopausal women: A MONET study. *Atherosclerosis* 2010; **211**:682-688.
68. Onat A., Can G., Hergenc G., Yazici M., Karabulut A., Albayrak S. Serum apolipoprotein B predicts dyslipidemia, metabolic syndrome and, in women, hypertension and diabetes, independent of markers of central obesity and inflammation. *Int J Obes* 2007; **31**:1119-1125.
69. Ley S.H., Harris S.B., Connelly P.W. et al. Association of Apolipoprotein B with Incident Type 2 Diabetes in an Aboriginal Canadian Population. *Clin Chem* 2010; **56**:666-670.
70. Canadian Diabetes Association Clinical Practice Guidelines for the prevention and management of Diabetes in Canada. *Canadian Journal of Diabetes* 2008; **32**.
71. Naoto Fukuyama, azuhiro Homma, oriaki Wakana et al. Validation of the Friedewald Equation for Evaluation of Plasma LDL-Cholesterol. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition* 2007; **43**:1-5.
72. Weinsier R.L., Nagy T.R., Hunter G.R., Darnell B.E., Hensrud D.D., Weiss H.L. Do adaptive changes in metabolic rate favor weight regain in weight-reduced individuals? An examination of the set-point theory. *The American Journal of Clinical Nutrition* 2000; **72**:1088-1094.
73. Yalow R.S., Berson S.A. Immunoassay of endogenous plasma insulin in man. *J Clin Invest* 1960; **39**:1157-1175.
74. Antuna-Puente B., Disse E., Faraj M. et al. Evaluation of insulin sensitivity with a new lipid-based index in non-diabetic postmenopausal overweight and obese women before and after a weight loss intervention. *European Journal of Endocrinology* 2009; **161**:51-56.
75. Bastard J.P., Vandernotte J.M., Faraj M. et al. Relationship between the hyperinsulinemic-euglycaemic clamp and new simple index assessing insulin sensitivity in overweight and obese postmenopausal women. *Diabetes & Metabolism* 2007; **33**:261-268.
76. Plank L.D. Dual-energy X-ray absorptiometry and body composition. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care* 2005; **8**:305-309.

77. Bosevski M., Borozanov V., Tosev S., Peovska I., Meskovska-Bongard S., Georgievska-Ismail L. Predictors for Peripheral and Carotid Revascularization in a Population-Based Cohort With Type 2 Diabetes. *Angiology* 2009; **60**:46-49.
78. Wang Y., Moss J., Thisted R. Predictors of body surface area. *Journal of Clinical Anesthesia* 2001; **4**:4-10.
79. Golay A., obbioni E. The role of dietary fat in obesity. *International journal of obesity* 1997; **21**:S2-11.
80. Compher C., Frankenfield D., Keim N., Roth-Yousey L. Best Practice Methods to Apply to Measurement of Resting Metabolic Rate in Adults: A Systematic Review. *Journal of the American Dietetic Association* 2006; **106**:881-903.
81. St-Onge M., Mignault D., Allison D.B., Rabasa-Lhoret R.+. Evaluation of a portable device to measure daily energy expenditure in free-living adults. *The American Journal of Clinical Nutrition* 2007; **85**:742-749.
82. Weir J.B. New methods for calculating metabolic rate with special reference to protein metabolism. *The Journal of Physiology* 1949; **109**:1-9.
83. Bligh E.G., Dyer W.J. A RAPID METHOD OF TOTAL LIPID EXTRACTION AND PURIFICATION. *Can J Biochem Physiol* 1959; **37**:911-917.
84. Touchstone J.C. Thin-layer chromatographic procedures for lipid separation. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications* 1995; **671**:169-195.
85. Faraj M., Jones P., Sniderman A.D., Cianflone K. Enhanced dietary fat clearance in postobese women. *Journal of Lipid Research* 2001; **42**:571-580.
86. Brenna J.T., Corso T.N., Tobias H.J., Caimi R.J. High-precision continuous-flow isotope ratio mass spectrometry. *Mass Spectrom Rev* 1997; **16**:227-258.
87. Muccio Z., Jackson G.P. Isotope ratio mass spectrometry. *Analyst* 2009; **134**:213-222.
88. Binnert C., Laville M., achiaudi C., igalleau V., eylot M. Use of gas chromatography/isotope ratio-mass spectrometry to study triglyceride metabolism in humans. *Lipids* 1995; **30**:869-873.
89. Knuth N.D., Remias D.B., Horowitz J.F. Adding carbohydrate to a high-fat meal blunts postprandial lipemia in women and reduces meal-derived fatty acids in systemic circulation. *Applied Physiology, Nutrition, Metabolism* 2008; **33**:315-325.

90. Binnert C., Pachiaudi C., Beylot M. et al. Metabolic fate of an oral long-chain triglyceride load in humans. *American Journal of Physiology - Endocrinology And Metabolism* 1996; **270**:E445-E450.
91. Schoeller D.A., Klein P.D., Watkins J.B., Heim T., MacLean W.C. ¹³C abundances of nutrients and the effect of variations in ¹³C isotopic abundances of test meals formulated for ¹³CO₂ breath tests. *The American Journal of Clinical Nutrition* 1980; **33**:2375-2385.
92. Maheux P., Azhar S., Kern P.A., Chen Y.D., Reuven G.M. Relationship between insulin-mediated glucose disposal and regulation of plasma and adipose tissue lipoprotein lipase. *Diabetologia* 1997; **40**:858.
93. Sadur U.N., Yost T.J., Eckel R.H. Insulin Responsiveness of Adipose Tissue Lipoprotein Lipase Is Delayed but Preserved in Obesity. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 1984; **59**:1176-1182.
94. Wang H., Eckel R.H. Lipoprotein lipase: from gene to obesity. *AJP - Endocrinology and Metabolism* 2009; **297**:E271-E288.
95. Eriksson J.W., Burθn J., Svensson M., Olivecrona T., Olivecrona G. Postprandial regulation of blood lipids and adipose tissue lipoprotein lipase in type 2 diabetes patients and healthy control subjects. *Atherosclerosis* 2003; **166**:359-367.
96. Faraj M., Sniderman A.D., Cianflone K. ASP enhances in situ lipoprotein lipase activity by increasing fatty acid trapping in adipocytes. *Journal of Lipid Research* 2004; **45**:657-666.
97. Colberg S.R., Simoneau J.A., Thaete F.L., Kelley D.E. Skeletal muscle utilization of free fatty acids in women with visceral obesity. *J Clin Invest* 1995; **95**:1846-1853.
98. Kelley D.E., Simoneau J.A. Impaired free fatty acid utilization by skeletal muscle in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1994; **94**:2349-2356.
99. Kelley D.E., Mandarino L.J. Fuel selection in human skeletal muscle in insulin resistance: a reexamination. *Diabetes* 2000; **49**:677-683.
100. Masella R., Var∞ R., D'Archivio M. et al. Oxidised LDL modulate adipogenesis in 3T3-L1 preadipocytes by affecting the balance between cell proliferation and differentiation. *FEBS Letters* 2006; **580**:2421-2429.
101. Yudkin J.S., Stehouwer C.D.A., Emeis J.J., Coppack S.W. C-Reactive Protein in Healthy Subjects: Associations With Obesity, Insulin Resistance, and Endothelial

Dysfunction : A Potential Role for Cytokines Originating From Adipose Tissue? *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 1999; **19**:972-978.

102. Pickup J., Mattock M., Chusney G., Burt D. NIDDM as a disease of the innate immune system: association of acute-phase reactants and interleukin-6 with metabolic syndrome X. *Diabetologia* 1997; **40**:1286-1292.
103. Yokota T., ansson G.K. Immunological mechanisms in atherosclerosis. *Journal of internal medicine* 1995; **238**:479-489.
104. Bastard J.P., Jardel C., Bruckert E. et al. Elevated Levels of Interleukin 6 Are Reduced in Serum and Subcutaneous Adipose Tissue of Obese Women after Weight Loss. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2000; **85**:3338-3342.
105. Rotter V., Nagaev I., Smith U. Interleukin-6 (IL-6) Induces Insulin Resistance in 3T3-L1 Adipocytes and Is, Like IL-8 and Tumor Necrosis Factor, Overexpressed in Human Fat Cells from Insulin-resistant Subjects. *Journal of Biological Chemistry* 2003; **278**:45777-45784.
106. Robert J.J. Methods for the measurement of insulin resistance. Hyperinsulinemic euglycemic clamp. *La Presse médicale* 1995; **24**:730-734.
107. Matthews D.R., Hosker J.P, Rudenski A.S., Naylor B.A., Treacher D.F., Turner R.C. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985; **28**:412-419.
108. Katz A., Nambi S.S., Mather K. et al. Quantitative Insulin Sensitivity Check Index: A Simple, Accurate Method for Assessing Insulin Sensitivity In Humans. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2000; **85**:2402-2410.
109. Abdul-Ghani M.A., Matsuda M., Balas B., DeFronzo R.A. Muscle and Liver Insulin Resistance Indexes Derived From the Oral Glucose Tolerance Test. *Diabetes care* 2007; **30**:89-94.
110. Abdul-Ghani M.A., Jenkinson C.P., Richardson D.K., Tripathy D., DeFronzo R.A. Insulin Secretion and Action in Subjects With Impaired Fasting Glucose and Impaired Glucose Tolerance. *Diabetes* 2006; **55**:1430-1435.
111. Sniderman A.D., Furberg C.D., Keech A. et al. Apolipoproteins versus lipids as indices of coronary risk and as targets for statin treatment. *The Lancet* 2003; **361**:777-780.

112. Ryan A.S., Nicklas B.J. Reductions in Plasma Cytokine Levels With Weight Loss Improve Insulin Sensitivity in Overweight and Obese Postmenopausal Women. *Diabetes care* 2004; **27**:1699-1705.
113. Lavoie M.E., Rabasa-Lhoret R., Doucet E. et al. Association between physical activity energy expenditure and inflammatory markers in sedentary overweight and obese women. *Int J Obes* 2010; **34**:1387-1395.
114. Huang P., Shao M., Qi Q. et al. Calorie restriction and endurance exercise share potent anti-inflammatory function in adipose tissues in ameliorating diet-induced obesity and insulin resistance in mice. *Nutrition & metabolism* 2010; **7**:59.
115. Due A., Toubro S., Stender S., Skov A.R., Astrup A. The effect of diets high in protein or carbohydrate on inflammatory markers in overweight subjects. *Diabetes, Obesity and Metabolism* 2005; **7**:223-229.
116. Ryan A.S., Nicklas B.J., Berman D.M. Aerobic Exercise Is Necessary to Improve Glucose Utilization with Moderate Weight Loss in Women[ast]. *Obesity* 2006; **14**:1064-1072.
117. Holme I., H+©stmark A.T., Anderssen S.A. ApoB but not LDL-cholesterol is reduced by exercise training in overweight healthy men. Results from the 1-year randomized Oslo Diet and Exercise Study. *Journal of internal medicine* 2007; **262**:235-243.
118. Riches F.M., Watts G.F., Hua J., Stewart G.R., Naoumova R.P., Barrett P.H.R. Reduction in Visceral Adipose Tissue Is Associated with Improvement in Apolipoprotein B-100 Metabolism in Obese Men. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 1999; **84**:2854-2861.
119. Forster L.F., Stewart G., Bedford D. et al. Influence of atorvastatin and simvastatin on apolipoprotein B metabolism in moderate combined hyperlipidemic subjects with low VLDL and LDL fractional clearance rates. *Atherosclerosis* 2002; **164**:129-145.
120. Vega G.L., Grundy S.M. Effect of statins on metabolism of apo-B-containing lipoproteins in hypertriglyceridemic men. *The American Journal of Cardiology* 1998; **81**:36B-42B.
121. Choi C.U., Seo H.S., Lee E.M. et al. Statins do not decrease small, dense low-density lipoprotein. *Texas Heart Institute journal* 2010; **37**:421-428.

122. Preiss D., Seshasai S.R.K., Welsh P. et al. Risk of Incident Diabetes With Intensive-Dose Compared With Moderate-Dose Statin Therapy. *JAMA: The Journal of the American Medical Association* 2011; **305**:2556-2564.

Annexe 1 : Formulaire de consentement