

Université de Montréal

Le rôle de l'activité et de l'inactivité physiques dans le développement de la  
stéatose hépatique et adipocytaire : implication de la SCD-1

Par

Siham Yasari

Département de kinésiologie

Thèse présentée à la Faculté des études supérieures

En vue de l'obtention du grade de

Philosophiae Doctor (Ph. D.)

En Sciences de l'activité physique

Août, 2007

© Siham Yasari, 2007



GV  
201  
U54  
2008  
v.001

## AVIS

L'auteur a autorisé l'Université de Montréal à reproduire et diffuser, en totalité ou en partie, par quelque moyen que ce soit et sur quelque support que ce soit, et exclusivement à des fins non lucratives d'enseignement et de recherche, des copies de ce mémoire ou de cette thèse.

L'auteur et les coauteurs le cas échéant conservent la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent ce document. Ni la thèse ou le mémoire, ni des extraits substantiels de ce document, ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans l'autorisation de l'auteur.

Afin de se conformer à la Loi canadienne sur la protection des renseignements personnels, quelques formulaires secondaires, coordonnées ou signatures intégrées au texte ont pu être enlevés de ce document. Bien que cela ait pu affecter la pagination, il n'y a aucun contenu manquant.

## NOTICE

The author of this thesis or dissertation has granted a nonexclusive license allowing Université de Montréal to reproduce and publish the document, in part or in whole, and in any format, solely for noncommercial educational and research purposes.

The author and co-authors if applicable retain copyright ownership and moral rights in this document. Neither the whole thesis or dissertation, nor substantial extracts from it, may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms, contact information or signatures may have been removed from the document. While this may affect the document page count, it does not represent any loss of content from the document.

Université de Montréal  
Faculté des études supérieures

Cette thèse intitulée :  
Le rôle de l'activité et de l'inactivité physiques dans le développement de la  
stéatose hépatique et adipocytaire : implication de la SCD-1

Présentée par  
Siham Yasari  
Département de kinésiologie

A été évaluée par un jury composé des personnes suivantes :

SUZANNE LABERGE

---

Présidente-rapporteuse

JEAN-MARC LAVOIE

---

Directeur de recherche

RAYNALD BERGERON

---

Membre du jury

MARTIN BROCHU

---

Examineur Externe

LOUISE BÉLIVEAU

---

Représentante du doyen de la FES

## Résumé

L'obésité poursuit sur sa lancée en touchant près de 14 % de la population québécoise adulte. Entre 1985 et 2001, le taux d'obésité chez les adultes canadiens âgés entre 20 et 64 ans est passé de 5.6 à 14.9%. L'obésité est souvent associée à plusieurs désordres métaboliques dont la stéatose hépatique. Par ailleurs, l'activité physique agit positivement sur l'obésité et la stéatose hépatique alors que l'inactivité physique figure sur la liste des facteurs impliqués dans la pathogenèse de l'obésité. Au cours des dernières années, des études issues de notre laboratoire ont démontré que l'exercice physique, tant aigu que chronique, agit positivement sur la stéatose hépatique subséquente à une diète riche en lipides. Ces effets bénéfiques ont toutefois été attribués à des effets indirects de l'entraînement physique incluant des diminutions de la masse adipocytaire et des AGLs circulants. Cependant, il n'existe aucune évidence de l'action directe de l'exercice sur le foie pour contrer un éventuel développement de la stéatose hépatique. De plus, aucune étude, à notre connaissance, n'a rapporté le lien entre l'inactivité physique et la stéatose hépatique.

Nos efforts au cours des études présentées dans le cadre de cette thèse ont été orientés vers la démonstration que l'arrêt de l'entraînement, modèle pour étudier l'inactivité physique, peut contribuer à la genèse de la stéatose hépatique lors d'une soumission à un stimulus d'obésité (ex : une diète riche en lipides). De plus, nous avons étudié les effets de l'entraînement physique sur la stéatose du foie, et principalement sur l'expression de la SCD-1, enzyme clé de la stéatose hépatique.

Nous avons investigué les effets d'une diète riche en lipides (HF); introduite immédiatement après l'arrêt de l'entraînement dans la première étude, et après 4

semaines de désentraînement dans la deuxième étude. Nos résultats indiquent que les rats désentraînés reprennent l'adiposité perdue, atteignant des niveaux similaires ou supérieurs aux valeurs mesurées chez les rats sédentaires. De plus, le contenu en lipides hépatiques et le niveau des AGLs circulants démontraient des réponses différentes à la diète HF selon la période du désentraînement. Immédiatement après l'arrêt de l'entraînement, les rats désentraînés ont retrouvé le même niveau d'adiposité que les rats sédentaires. Cependant, leur niveau des AGLs circulants et des triacylglycérols hépatiques étaient plus bas que les rats sédentaires. Ces adaptations témoignent d'une protection métabolique pendant la période immédiate de l'arrêt de l'entraînement. Cependant, les rats ayant bénéficié d'une période de 4 semaines d'inactivité, après avoir été soumis à 8 semaines d'entraînement sur tapis roulant, ont exhibé le plus haut niveau d'adiposité. On observait des effets principalement au niveau abdominal et de fortes tendances à avoir le plus haut contenu en lipides hépatiques et en AGLs circulants. Ces résultats font foi d'une certaine susceptibilité aux détériorations métaboliques suite à l'arrêt de l'entraînement. Cette sensibilité semble s'accroître chez les rats prédisposés à l'obésité. Globalement, plus la période d'arrêt d'entraînement se prolonge (4 semaines), plus la tendance à développer l'obésité et la stéatose hépatique augmente. À plus long terme, nous ignorons si cette susceptibilité persistera ou si à l'inverse, les rats préalablement entraînés et désentraînés démontreront une réponse métabolique similaire aux rats sédentaires lors d'une soumission à une diète riche en lipides.

Dans la troisième étude, nous avons démontré, pour la première fois, que l'entraînement amène des adaptations moléculaires au sein du foie. Un programme de 8 semaines d'entraînement sur tapis roulant a provoqué une baisse significative

de l'expression de la SCD-1 hépatique. Cette baisse constitue, en soi, une protection contre la stéatose hépatique chez les rats entraînés nourris d'une diète riche en lipides. Nous avons aussi démontré que les effets de l'entraînement physique sur l'expression de la SCD-1 étaient atténués lorsque les rats avaient accès à une diète riche en fructose (HC). De plus, cette même diète HC a provoqué une augmentation de la lipogenèse hépatique *de novo* chez des rats entraînés soumis à un jeûne- réalimentation lors de la 4<sup>ème</sup> étude. Nos résultats suggèrent que la production de VLDL serait stimulée chez des rats entraînés nourris principalement de fructose après une période de jeûne.

Dans leur ensemble, ces quatre études soutiennent l'existence d'une puissante régulation du niveau d'adiposité induisant un regain inévitable de la masse adipeuse suite à sa perte. Nos études indiquent également que le foie subit des adaptations moléculaires suite à l'entraînement physique. Il s'agit principalement de la baisse de l'expression de la SCD-1 lorsque les rats sont nourris d'une diète riche en lipides. De plus, lors d'un jeûne-réalimentation à base de fructose connu pour stimuler la lipogenèse *de novo*, le foie serait plus porté à augmenter la production de VLDL. La baisse de la SCD-1 chez des rats entraînés pourrait persister à court terme après l'arrêt de l'entraînement protégeant ainsi le foie contre les effets d'une diète riche en lipides. À la lumière de nos résultats, nous sommes portés à croire qu'à moyen terme, un foie préalablement entraîné souffrirait d'une grande susceptibilité à développer la stéatose hépatique en réponse à une diète riche en lipides en comparaison avec un foie non-entraîné. Nous ignorons cependant si cette susceptibilité s'émoussera ou s'aggraverà à plus long terme après l'arrêt de l'entraînement.

**Mots-clés**

Adiposité

Arrêt d'entraînement physique

Désentraînement

Diète riche en fructose

Diète riche en lipides

Entraînement physique

Obésité

SCD-1

Stéatose hépatique



## Summary

The prevalence of obesity has now reached 14 % of Quebec adult population. Furthermore, between 1985 and 2001, the rate of obesity raised from 5.6 to 14.9 % in Canadians aged between 20 to 64 years old. Obesity is associated to several metabolic disorders including hepatic steatosis. On the other hand, physical activity has beneficial effects on obesity and liver lipid infiltration, while physical inactivity seems to be involved in the pathogenesis of obesity. Studies done by our group indicate that acute and chronic exercise decrease hepatic steatosis consequent to high-fat (HF) diet. However, these exercise training effects were mainly attributed to a decrease in adiposity and plasma free fatty acids levels. There is, to our knowledge, no information on intra-hepatic molecular effects of exercise training providing protection against liver lipid infiltration. There is also no information, in the literature, regarding effects of detraining on hepatic steatosis.

Studies carried out in this present thesis aimed to demonstrate that detraining might be implicated in the pathogenesis of hepatic steatosis under high-fat diets. We also investigated the effects of exercise training on the expression of SCD-1, a key enzyme of hepatic steatosis.

We first studied the effects of a high-fat diet introduced either immediately after training cessation (study 1) or after 4 weeks of detraining (study 2). Our results indicate that detrained rats regain fat mass lost during training, and showed different responses in liver lipid content and plasma FFA level when submitted to HF diet depending on the duration of training cessation. Rats submitted to HF diets immediately after training regain fat mass to the same level found in sedentary rats and showed a lower level of liver triacylglycerol (TAG) and FFA in comparison to sedentary animals. These responses indicate a residual metabolic protection under an early detraining state. On the opposite, animals that were allowed to detrain for 4

weeks, before being submitted to the HF diets showed a higher level of adiposity and a tendency to accumulate the higher levels of liver TAG and plasma FFA levels. These results suggest that rats might exhibit a higher susceptibility to metabolic deteriorations after a longer period of training cessation. We ignore however if this susceptibility will be blunted or even aggravated on a longer term basis. This vulnerability might be even worse in obesity-prone animals.

In the third study, we demonstrated, for the first time, that training induces intra-hepatic molecular effects. An 8-wk treadmill training program decreased significantly SCD-1 expression under a high-fat diet-induced obesity. This significant effect was blunted when animals were fed a high-fructose (HC) diet. On the opposite to the high-fat diet, results of our fourth study indicate that HC diet induces hepatic lipogenesis in trained rats under a fasting-refeeding state. Results of this last study may indicate a higher rate of VLDL production in trained rats fed fructose-rich diet after a period of fasting.

Taken together, these four studies support a subjectif regulation of adiposity level inducing an unavoidable fat regain after fat loss. These studies indicate that liver undergoes molecular adaptations under a training state. The most powerful effect of exercise was the decrease of SCD-1 transcript in liver when rats were fed with a high-fat diet. Under a fasting-refeeding fructose-rich-diet situation, liver might enhance the VLDL production. SCD-1 downregulation following exercise might persist shortly after training cessation and protect liver against liver lipid infiltration. After a longer period of detraining (4 wks), the beneficial effects of training might not exist anymore and previously trained animals might become more susceptible to obesity and hepatic steatosis than sedentary rats. More work needs to be done to verify this durability and/or the aggravation of this vulnerability to hepatic steatosis after training cessation.

## **Keywords**

Adiposity

Detraining

Hepatic steatosis

High-fat diet

High-fructose diet

Obesity

SCD-1

Training

Training cessation

## Table des matières

<b>Résumé</b>	<b>iii</b>
<b>Mots-Clés</b>	<b>vi</b>
<b>Summary</b>	<b>vii</b>
<b>Keywords</b>	<b>ix</b>
<b>Table des matières</b>	<b>x</b>
<b>Liste des tableaux</b>	<b>xiii</b>
<b>Liste des figures</b>	<b>xiv</b>
<b>Liste des sigles et abréviations</b>	<b>xvii</b>
<b>Remerciements</b>	<b>xx</b>
<b>Introduction générale de la thèse</b>	<b>1</b>
<b>1. Chapitre 1- Revue de littérature</b>	<b>4</b>
<b>1.1. Concept de l'inactivité physique dans le développement de l'obésité</b>	<b>4</b>
1.1.1. L'inactivité physique : état de la question	5
1.1.2. Conséquences de l'inactivité physique sur l'obésité	6
1.1.3. Conséquences métaboliques du désentraînement	7
1.1.3.1. La résistance à l'insuline	8
<b>1.2. Jeûne-réalimentation : phénomène semblable au désentraînement</b>	<b>10</b>
1.2.1. Mécanismes régulateurs	11
1.2.2. Implication de la SCD-1	15
1.2.3. Implication du système nerveux	18
<b>1.3. La stéatose hépatique non-alcoolique et la SCD-1</b>	<b>20</b>
1.3.1. Rôle de la résistance à la leptine et à l'insuline dans la pathogenèse de la stéatose hépatique non-alcoolique	22
1.3.1.1. La leptine	24
1.3.2. Effets de la leptine sur la SCD-1	26
<b>1.4. La Stearoyl-CoA desaturase</b>	<b>29</b>
1.4.1. La famille de la stearoyl-CoA desaturase	29

1.4.2.	Action de la stearoyl-CoA desaturase	30
1.4.3.	Le modèle de la souris déficiente en stearoyl-CoA desaturase	32
1.4.4.	Implication de la SCD-1 dans l'obésité	34
1.4.4.1.	Effets de la SCD-1 sur la dépense énergétique	36
1.4.4.1.1.	Effets de la SCD-1 sur la régulation de la thermogenèse	36
1.4.4.2.	La SCD-1 dans le muscle	37
1.4.5.	Implication clinique de la SCD-1	38
1.4.5.1.	L'athérosclérose	38
1.4.5.2.	La résistance périphérique à l'insuline	41
1.4.5.3.	La stéatose hépatique non-alcoolique	43
1.4.6.	Régulation de l'expression de la SCD-1	47
1.4.6.1.	Action centrale vs action périphérique de la leptine	47
1.4.6.2.	Régulation nutritionnelle : lipides et hydrates de carbone	49
1.4.6.2.1.	Particularité du fructose	50
1.4.6.3.	Régulation hormonale	52
<b>1.5.</b>	<b>Les effets de l'exercice physique sur la stéatose hépatique</b>	<b>53</b>
1.5.1.	Lien entre la perte de poids et l'amélioration de la stéatose hépatique	53
1.5.2.	Lien entre la restriction calorique et l'amélioration de la stéatose hépatique	54
1.5.3.	Interaction entre la diète et l'entraînement physique	55
1.5.4.	Effets de l'entraînement physique sur la stéatose hépatique : mécanismes impliqués	55
1.5.4.1.	Effets de l'entraînement physique sur l'oxydation des lipides hépatiques	56
1.5.4.2.	Effets de l'entraînement physique sur la lipogenèse	57
1.5.4.2.1.	Implication de l'insuline dans la lipogenèse	58
1.5.4.3.	Effets de l'entraînement physique sur la leptine	59
<b>1.6.</b>	<b>Hypothèses et objectifs des études de la thèse</b>	<b>62</b>
<b>2.</b>	<b>Chapitre 2 – Études expérimentales</b>	<b>65</b>
2.1.	Étude 1-	65
2.2.	Étude 2-	99
2.3.	Étude 3-4	131

<b>3. Chapitre 3- Discussion</b>	<b>183</b>
<b>3.1. Discussion generale</b>	<b>183</b>
<b>3.2. Conclusion et perspectives</b>	<b>195</b>
<b>4. Chapitre 4- Bibliographie</b>	<b>197</b>

**Liste des tableaux**

Tableau 1. Facteurs impliqués dans la régulation de la stearyl-CoA désaturase.

Adapté de Ntambi et Miyazaki (144)

**49**

## Liste des figures

- Figure 1.** Schéma illustrant le maintien d'une basse dépense énergétique et d'une accélération du regain de masse grasse (catch-up fat) chez des rats soumis à un modèle de demi-jeûne-réalimentation. Tiré de Dulloo et al (50). **13**
- Figure 2.** Modèle illustrant les mécanismes impliqués dans la régulation de la SCD-1 dans le muscle pouvant contribuer à la suppression de la thermogénèse. Adapté de Mainieri et al (122). **17**
- Figure 3.** Figure synthèse illustrant les 4 voies principales ainsi que les facteurs régulateurs du développement de la stéatose hépatique non-alcoolique. Adapté de Lavoie et Gauthier (102). **21**
- Figure 4.** Schéma simplifiant la voie de signalisation partagée par l'insuline et la leptine. Adapté de Gerozissis (69). **23**
- Figure 5.** Boucle de régulation de la masse adipeuse par rétroaction. Tiré de Schwartz et al (177). **25**
- Figure 6.** Image de souris ob/ob et de souris ob/ob SCD-1 -/- Tirée du site-web de l'Université Rockefeller, NY, NY. **28**
- Figure 7.** Schéma illustrant l'action de la stearoyl-CoA désaturase-1. **31**



**Figure 8.** Les effets métaboliques de la déficience de la stearoyl-CoA desaturase 1 (SCD-1) au niveau du foie, du muscle et du tissu adipeux brun. Tiré de Dobrzyn et Ntambi (41). **33**

**Figure. 9.** Schéma comparatif entre des souris normales et des souris SCD-1 -/-. Tiré de Ntambi et al (149). **35**

**Figure 10.** Rôle de la SCD dans la synthèse et la sécrétion des triglycérides, des cholestérol-esters et des VLDL. Tiré de Miyazaki et Ntambi (128). **40**

**Figure 11.** Illustration des mécanismes par lesquels les acides gras induisent la résistance à l'insuline dans le muscle. Adapté de Shulman (187). **42**

**Figure 12.** Schéma illustrant les effets de l'activation de l'AMPK hépatique suite à la déficience de SCD-1. Tiré de Dobrzyn et al, (45). **44**

**Figure 13.** Schématisation de quelques molécules potentiellement impliquées dans les effets de l'inhibition de la SCD-1 par oligonucleotides anti-sens (ASOs). Adapté de Jiang et al (90). **46**

**Figure 14.** Schéma représentatif du rôle potentiel de la SCD-1 et de l'oléate dans l'induction de la lipogénèse induite par le fructose. Adapté de Miyazaki et al (131). **51**

- Figure 15.** Concentration de la leptine plasmatique exprimée en valeurs relatives à l'adiposité. Tiré de Gauthier et al (67). **61**
- Figure 16.** Schéma représentant une vue d'ensemble du schème expérimental de l'étude 1. **184**
- Figure 17.** Schéma représentant une vue d'ensemble du schème expérimental de l'étude 2. Adapté de Yasari et al (211). **188**
- Figure 18.** Vue d'ensemble du schème expérimental de l'étude 3. **191**
- Figure 19.** Figure représentative du modèle expérimental de l'étude 4. **193**

## Liste des sigles et abréviations

<b>ABCA1</b>	ATP-binding cassette transporter A1
<b>ACAT</b>	Acyl-CoA cholesterol acyltransferase
<b>ACC</b>	Acétyl-CoA carboxylase
<b>ACC1</b>	Acétyl-CoA carboxylase-1
<b>ACC2</b>	Acétyl-CoA carboxylase-2
<b>AGL</b>	Acides gras libres
<b>AgRP</b>	Agouti-related protein
<b>AMPK</b>	Adenosin monophosphate-activated protein kinase
<b>ARNm</b>	Acide ribonucléique messenger
<b>ASO</b>	Antisense oligonucleotide inhibitors
<b>ATP</b>	Adénosine triphosphate
<b>CART</b>	Cocaine and amphetamine-regulated transcript
<b>ChREBP</b>	Carbohydrate-resposne-element-binding protein
<b>CPT</b>	Carinitine palmitoyl transferase
<b>CPT-1</b>	Carinitine palmitoyl transferase-1
<b>CPT-2</b>	Carinitine palmitoyl transferase-2
<b>DGAT</b>	Diacylglycerol acyltransférase
<b>DNL</b>	De novo lipogenesis
<b>FAS</b>	Fatty acid synthase
<b>FAT/CD36</b>	Fatty acid translocase / cluster of differenciation 36b
<b>FFA</b>	Free fatty acids

<b>GLUT-4</b>	Glucose transporter-4
<b>HC</b>	High-carbohydrate diet
<b>HCLF</b>	High-carbohydrate low fat diet
<b>HDL</b>	High-density lipoprotein
<b>HF</b>	High-fat diet
<b>IL6</b>	Interleukin-6
<b>IR</b>	Insulin receptor
<b>IRS</b>	Insulin receptor substrate
<b>IRS-1</b>	Insulin receptor substrate-1
<b>IRS-2</b>	Insulin receptor substrate-2
<b>JAK-2</b>	Janus kinase-2
<b>LIRKO</b>	Liver-specific insulin receptor knock-out
<b>LR</b>	Leptin receptor
<b>LXR</b>	Liver X receptor
<b>MUFA</b>	Mono-unsaturated fatty acids
<b>NPY</b>	Neuropeptide-Y
<b>ob/ob</b>	Leptin-deficient
<b>ObR</b>	Leptin receptor
<b>ObR-a</b>	Leptin receptor-a
<b>ObR-b</b>	Leptin receptor-b
<b>ObR-e</b>	Leptin receptor-e
<b>PCD-1</b>	Palmitoyl-CoA desaturase-1
<b>PGC-1<math>\alpha</math></b>	Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1alpha
<b>PI3K</b>	Phosphatidyl-inositol-3-kinase
<b>PKC</b>	Protéine kinase C

<b>POMC</b>	Proopiomelanocortin
<b>PPAR<math>\alpha</math></b>	Peroxisomal proliferator-activated receptors alpha
<b>SCD</b>	Stearoyl-CoA desaturase
<b>SCD-1 -/-</b>	Stearoyl-CoA desaturase knock-out
<b>SCD-1</b>	Stearoyl-CoA desaturase-1
<b>SCD-2</b>	Stearoyl-CoA desaturase-2
<b>SCD-3</b>	Stearoyl-CoA desaturase-3
<b>SCD-4</b>	Stearoyl-CoA desaturase-4
<b>SD</b>	Standard diet
<b>SREBP-1</b>	Sterol-regulatory-element binding protein-1
<b>SREBP-1c</b>	Sterol-regulatory-element binding protein-1c
<b>STAT3</b>	Signal transducers and activators of transcription
<b>TAG</b>	Trigacylglycérols
<b>UCP</b>	Uncoupling protein
<b>UCP1</b>	Uncoupling protein-1
<b>UCP2</b>	Uncoupling protein-2
<b>UCP3</b>	Uncoupling protein-3
<b>VLDL</b>	Very –low density lipoprotein

## Remerciements

Je remercie vivement mon directeur de recherche le Dr Jean-Marc Lavoie de la bienveillance et de l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de diriger mes études de maîtrise et de doctorat. Je garde d'excellents souvenirs de sa durable disponibilité et son enseignement très pertinent tant sur le plan théorique que sur le plan pratique de la recherche.

J'aimerais également remercier tous mes professeurs et tous ceux et celles qui m'ont aidée de près ou de loin à la réalisation de cette thèse. Un grand merci pour mes collaborateurs de l'hôpital Sainte-Justine : le Dr Émile Levy, le Dr Alain Montoudis et Madame Carole Garofalo pour leur compétence et leurs qualités humaines qui ont suscité mon admiration. Merci aux membres de l'équipe du laboratoire de biochimie cardio-vasculaire de l'hôpital Hôtel-Dieu qui ont toujours trouvé le moyen de m'aider : la Dr Jolanta Gutkowska, le Dr Marek Jankowski, le Dr Donghao Wang, la Dr Suhayla Mukaddam-Daher et le Dr Ahmed Menouar. Ils trouveront ici l'expression de mon profond respect et de ma grande reconnaissance. Un merci tout spécial au Dr Juris Ozols de l'Université du Connecticut pour sa grande générosité. Je remercie également le Dr Denis Prud'homme de l'Université d'Ottawa d'avoir été un collaborateur fidèle, je le remercie pour sa simplicité et ses qualités professionnelles qui méritent toute admiration et tout respect. Je remercie aussi le département de Kinésiologie, la FES et la fondation J. A. Desève pour leur support financier.

Un grand merci pour le personnel du département de Kinésiologie, mais surtout Chantal Lalande, Francine Normandeau, Lucille Caron, Jacques Nadeau et Pierre Beauchamp de m'avoir facilité la vie et de m'avoir donné la bonne information au bon moment. Je remercie également la Dr Louise Béliveau, ancienne directrice du département de kinésiologie de m'avoir donné la chance d'enseigner des cours de physiologie durant mes études doctorales.

Un énorme merci à mes amis et collègues de travail : Mairé Bavarday, Maha Ghozayel, Maximilian Leger, Marc-Étienne Cloutier, Isabel Filguiera, Vladimir Gilbert et Élise Dufresne. Je les remercie de m'avoir dépannée durant mes projets, d'avoir accepté d'entraîner mes rats les 25 et le 31 décembre, d'être venus prendre soin de mes animaux les samedis et dimanches et de m'avoir donné un coup de main précieux pour passer à travers les difficultés techniques de la recherche. Ces quelques lignes ne sauraient leur exprimer ma reconnaissance et ma gratitude. Je leur souhaite beaucoup de bonheur et de succès.

Puisse ce travail être pour moi l'occasion d'exprimer mes sentiments d'amour et d'affection pour mes parents, mes sœurs Latifa et Amina et mes frères Said et Youssef. Je les remercie de m'avoir épaulée dans les moments durs et d'avoir partagé mes joies et mon bonheur.

Merci aux concepteurs des Têtes à claques de m'avoir fait rire et d'avoir embelli plus d'une journée grise. Merci également à mes amis, Mélie, Mathil (Cindy), Sébastien, Julien, David, Sandra et Isabelle d'avoir su partager les blagues, les conneries et les folies avec moi.

## Introduction générale de la thèse

Durant l'évolution de l'humanité, et en partie à cause de la disponibilité intermittente de la nourriture, l'homme devait demeurer actif afin de se nourrir (13, 15, 110). Conséquemment, l'expression de nos gènes s'est adaptée à un certain niveau d'activité physique et à la rareté de la nourriture. Il s'est toutefois produit un changement drastique dans l'environnement de l'homme au cours du dernier siècle. La vie moderne a fait en sorte que l'humain est devenu de plus en plus inactif dans un environnement où la nourriture se trouve en abondance. Il est alors légitime d'imaginer qu'il s'est produit un déséquilibre entre l'expression des gènes et certains facteurs environnementaux (15). Le mode de vie sédentaire a suscité un certain intérêt chez les chercheurs au cours des décennies 70 et 80. Toutefois, ce n'est que récemment que l'inactivité physique est redevenue un sujet d'actualité. Cela est indubitablement lié au fait que l'inactivité physique occupe maintenant le 3<sup>ième</sup> rang des causes de mortalité aux États-Unis et est reconnu comme étant impliquée dans la pathogenèse de certaines maladies et désordres dont l'obésité et le cancer (14, 15, 60, 138).

L'obésité a maintenant pris des proportions épidémiques et est devenue un problème réel de santé publique (43). Combattre l'obésité représente un défi de taille pour les pays développés et ceux en voie de développement. L'obésité est souvent associée à une multitude de désordres métaboliques regroupés sous le thème du syndrome métabolique. Avec le phénomène de l'obésité, de nouvelles manifestations métaboliques telle la stéatose hépatique sont apparues. La stéatose hépatique est essentiellement une accumulation anormale de lipides dans le foie. Dans la majorité des cas, les patients sont asymptomatiques et la découverte de cette pathologie est purement fortuite. Elle se fait à l'occasion d'une échographie



hépatique. La stéatose du foie est normalement bénigne, cependant elle peut générer une nécrose et même une insuffisance hépatique (21). Cette pathologie est d'importance puisqu'il est maintenant reconnu par plusieurs experts que la stéatose hépatique non-alcoolique fait partie du syndrome métabolique (11, 123). La stéatose hépatique non-alcoolique a fait l'objet d'un nombre impressionnant de recherches au cours des dernières années. Pour leur part, un certain nombre de chercheurs dont le secteur d'intérêt touche l'activité physique ont démontré que l'entraînement physique agit positivement sur la stéatose hépatique en diminuant le contenu des lipides dans le foie chez le rongeurs et plus récemment chez l'humain (53, 67, 68, 140, 157, 198). Ces adaptations résultant de l'activité physique ont été principalement attribuées à des effets indirects comme la diminution de l'adiposité et des lipides circulants (68). Il n'existe cependant aucune évidence de l'action directe de l'exercice sur les mécanismes moléculaires responsables de ces adaptations dans le foie.

Dans le but d'approfondir les connaissances des effets de l'activité et de l'inactivité physiques ainsi que de la nature moléculaire de ces changements sur la stéatose hépatique, nous avons réalisé les quatre études faisant l'objet de la présente thèse. Ces études ont été réalisées sous la direction du Dr Jean-Marc Lavoie du laboratoire de recherches métaboliques sur le foie et l'exercice. Les intérêts de recherche premiers de mon directeur visent à étudier la stéatose hépatique en lien avec l'activité et l'inactivité physique. Au cours des dernières années, le Dr Lavoie et ses collaborateurs ont étudié différents modèles d'infiltration des lipides au foie. Ils ont également étudié les désordres liés à la stéatose telle que la résistance hépatique à l'insuline et au glucagon subséquente à une diète riche en lipides chez le rat. Depuis déjà plusieurs années, le Dr Lavoie s'intéresse également à l'étude de

la stéatose hépatique chez la rate ovariectomisée mimant ainsi l'absence ostrogénique observée chez la femme ménopausée. En bref, l'équipe du Dr Lavoie tente d'examiner le lien entre le tissu adipeux et le foie et leur rôle respectif dans la gestion des lipides circulants.

Les études présentées dans le cadre de cette thèse s'inscrivent dans cette thématique. Deux objectifs principaux étaient visés:

- 1) La mise à jour des effets physiologiques suscités par l'arrêt de l'activité physique en lien avec le gain d'adiposité et l'infiltration lipidique au foie.
- 2) L'identification de mécanismes moléculaires hépatiques liés à l'action de l'exercice physique sur la stéatose hépatique induite par une diète riche en lipides ou en hydrates de carbone.

Le contenu de cette thèse comprend trois chapitres. La première section comporte une revue de littérature faisant le point sur l'état des connaissances : **1)** des effets métaboliques de l'inactivité physique, ainsi que ceux d'une restriction calorique suivie d'un retour à une alimentation normale, (deux situations physiologiques induisant un regain d'adiposité); **2)** de la stearoyl-CoA desaturase-1, (enzyme clé du métabolisme des lipides); **3)** des effets de l'entraînement sur la stéatose hépatique. À la fin de cette première section, les objectifs spécifiques de la thèse seront présentés. Le deuxième chapitre de cette thèse sera consacré à la présentation des études expérimentales qui ont été réalisées dans le cadre de mon doctorat. Finalement, le troisième chapitre sera réservé à une discussion générale des résultats obtenus lors des études faisant l'objet de cette thèse.

## 1. Chapitre1- Revue de littérature

La présente revue de littérature comporte deux parties traitant de l'obésité et du développement de la stéatose hépatique. Dans la première partie, la documentation relative au concept d'inactivité physique ou du désentraînement comme élément déclencheur d'un processus de regain d'adiposité est traitée. La deuxième partie de cette revue qui se veut plus spécifique traite des mécanismes régulateurs impliqués dans le développement et la résorption de la stéatose hépatique. La littérature relative à l'action de la stéaroyl-CoA desaturase-1 (SCD-1), enzyme clé du métabolisme des lipides hépatiques, est décrite de même que les effets de l'entraînement sur la stéatose hépatique.

### 1.1. Concept de l'inactivité physique dans le développement de l'obésité

La majorité des études traitant de l'activité physique font appel à des sujets sédentaires ou inactifs comme groupe témoin. Cette façon de faire a vu le jour avec le changement des habitudes de vie entre les années 1900 et aujourd'hui. Selon un rapport de Booth et Lees (14), les sujets constituant le groupe témoin dans les années 1900 étaient généralement des étudiants en éducation physique en santé et en bonne forme physique. Ces étudiants, déjà actifs à la base, étaient soumis à des exercices physiques additionnels égalant ou approchant le niveau athlétique élite dans le but d'étudier les effets de l'entraînement. Le groupe témoin comprenait des étudiants actifs à la base mais non-soumis à un entraînement additionnel. Les individus qualifiés de sédentaires étaient une quasi-rareté dans les années 1900, époque avant l'ère de l'automobile et de l'ordinateur (14). Cent ans plus tard, les groupes expérimentaux n'ont pas beaucoup changé vu que le traitement consiste

toujours à un entraînement physique. Néanmoins, l'état du groupe témoin a passé d'actif à sédentaire. Subséquemment, les études sur l'activité physique réalisées au 20<sup>ième</sup> siècle ont utilisé principalement des sujets sédentaires comme groupe témoin. L'état d'entraînement des sujets témoins qui a passé d'actif à sédentaire constitue un biais d'erreur dans l'interprétation des résultats. Un sujet sédentaire n'équivaut pas forcément à un sujet en santé !

### **1.1.1. L'inactivité physique : état de la question**

Si d'une part, l'activité physique régulière représente un traitement de première ligne pour l'obésité et le diabète de type 2 (86, 106), d'autre part, l'inactivité physique joue un rôle important dans la prévalence des maladies (60). Les conséquences de la sédentarité vont souvent au delà des dysfonctions métaboliques bénignes. L'inactivité physique a été déclarée comme étant impliquée dans la pathogenèse de plusieurs problèmes de santé dont la maladie d'Alzheimer, le cancer du sein et du colon, l'obésité, l'ostéoporose et la sarcopénie (14). L'organisation "The U. S. Center for Disease Control" a rapporté que l'inactivité physique occupe le 3<sup>ième</sup> rang des causes de mortalité aux États-Unis (15, 138). Pourtant, les mécanismes par lesquels ce mode de vie affecte la santé des gens ne sont pas clairement établis. Le génome humain semble avoir été programmé pour un mode de vie actif à travers l'évolution (15). L'inactivité physique interagirait donc probablement avec les gènes et favoriserait alors des conditions physiopathologiques. Il est probable que les humains aient des besoins biologiques intrinsèques pour un certain seuil minimal d'activité physique (15). Le non-respect de ce seuil d'activité physique prévu par les gènes entraînerait l'apparition de certaines dysfonctions et l'induction de pathologies (15).

En résumé, l'inactivité physique, surtout en association à une mauvaise nutrition et spécialement une diète riche en lipides, est devenue un ennemi pour la santé publique (13, 14, 15, 159, 182).

### **1.1.2. Conséquences de l'inactivité physique sur l'obésité**

Un alitement ou un séjour prolongé en microgravité sont les situations les plus souvent étudiées comme modèle d'inactivité. Cependant, le modèle le plus représentatif de la réalité est d'imposer un arrêt de l'entraînement à des sujets actifs. Ce modèle, communément appelé "désentraînement", a été utilisé pour la première fois par Hearn en 1965 (13, 78). Par la suite, l'arrêt de l'entraînement a reçu une attention particulière durant les années 70 et 80. Les études publiées au cours de ces années nous ont permis d'établir que le désentraînement résulte en une prise rapide d'adiposité et une augmentation du diamètre et du nombre de cellules adipeuses chez le rat et chez le hamster (4, 16, 33, 46, 103, 199). L'augmentation de la capacité lipogénique du tissu adipeux semble contribuer à ce gain d'adiposité chez le rat après deux semaines d'arrêt d'entraînement (4). Chez l'humain, par contre, les études portant sur le désentraînement se font plus rares à cause des risques potentiels pour la santé. Les athlètes hautement entraînés ne semblent bénéficier d'aucun effet résiduel de l'entraînement une fois celui-ci arrêté (159). Au contraire, le désentraînement induit non seulement une réversibilité totale des effets de l'entraînement mais en plus, il a été rapporté que le profil métabolique de sujets très entraînés ayant arrêté l'entraînement pendant 52 semaines était aussi détérioré que chez des sujets sédentaires souffrant d'embonpoint (178). Une année de désentraînement était suffisante pour augmenter le pourcentage d'adiposité de 12 à 20% de la masse corporelle totale (159). Le gain d'adiposité résultant de la

cessation de l'entraînement semble se localiser préférentiellement au niveau abdominal. Laye et al (103) ont rapporté que des rats ont augmenté de 50 % leur adiposité au niveau épидидymal et de 90 % au niveau rétro-péritonéale après seulement 173 heures (~ 7 jours) d'arrêt d'entraînement. Il est intéressant de rappeler à cet effet qu'Applegate et al. (4) avaient préalablement qualifié l'arrêt de l'entraînement comme étant un état de pré-obésité. Des données récentes apportent toutefois une perspective nouvelle des effets du désentraînement. Patterson et Levin (153) ont rapporté que l'arrêt de l'entraînement induit inévitablement un regain d'adiposité chez le rat, à moins que l'entraînement physique ait été commencé très tôt après la naissance. Ils ont démontré que chez ces animaux, les effets de l'exercice physique étaient toujours préservés et les animaux maintenaient un bas niveau d'adiposité plusieurs semaines après l'arrêt de l'entraînement. La conservation de ces effets semble être la conséquence de changements dans l'expression de neuropeptides au sein de l'hypothalamus ainsi qu'au niveau du signal de la leptine, facteurs responsables de la régulation du poids et de l'adiposité (153).

### **1.1.3. Conséquences métaboliques du désentraînement**

L'inactivité excessive induit une perte rapide et importante de la masse musculaire ainsi qu'un dysfonctionnement de la majorité des tissus de l'organisme (13). Pendant les périodes d'inactivité, certains processus impliqués dans l'oxydation des substrats peuvent devenir sous-utilisés. Cette perte d'équilibre entre le stockage et la dépense d'énergie induirait une altération de la synchronisation entre les gènes et l'environnement (13). L'arrêt de l'activité physique ou l'inactivité a donc un impact

métabolique dont particulièrement la résistance à l'insuline qui sera présentée dans le cadre de cette revue.

### **1.1.3.1. La résistance à l'insuline**

Si la sensibilité à l'insuline est élevée chez les sujets physiquement actifs, elle est nettement diminuée au bout de trois jours d'inactivité (13). Plus spécifiquement, la sensibilité à l'insuline peut atteindre des niveaux de sédentarité entre 38-60h après l'arrêt de l'exercice aussi bien chez les humains que chez les rats (24, 99, 151). Les transporteurs au glucose dans le muscle (GLUT-4) sont impliqués dans ce phénomène. La contraction musculaire joue un rôle régulateur dans la prise de glucose par le muscle squelettique. Il a été démontré que durant la contraction musculaire, la translocation des GLUT-4 et l'entrée du glucose sont indépendantes de l'action de l'insuline (13, 81). Après l'exercice physique et lorsque les réserves en glycogène sont restaurées dans le muscle, la sensibilité à l'insuline diminue, d'où la nécessité de répéter fréquemment l'exercice afin de bénéficier d'une bonne action de l'insuline (13, 81). Un arrêt d'entraînement de seulement 2 jours chez les rats et de 6 jours chez les humains est associé à des diminutions des niveaux protéiques des GLUT-4 dans le muscle. Ces niveaux sont comparables à des sédentaires (13, 14, 99, 204).

Les effets précoces du désentraînement touchent également les adaptations mitochondriales. Dans le muscle, la densité mitochondriale est grandement diminuée limitant ainsi sa capacité oxydative suite à une activité prolongée (55). Ainsi, Krieger et al (98) ont démontré que la capacité de production d'ATP par phosphorylation oxydative des mitochondries sous-sarcolemmales était augmentée de 47% après 12-16 semaines de course. Cette densité mitochondriale était

diminuée de 37% suite à une immobilisation de seulement deux jours. De plus, la baisse de mitochondries sous-sarcolemmales semble induire directement des défauts de signalisation de la PI3K impliquée dans la voie de l'insuline (50). Conséquemment, il est possible que la diminution de la densité mitochondriale suite au désentraînement, soit impliquée dans la pathogenèse de la résistance à l'insuline.

En résumé, il semble évident que l'inactivité physique ou l'arrêt de l'entraînement est rapidement associé à des désordres métaboliques. Malgré que la combinaison de l'activité physique et de la restriction calorique semble être idéale pour prévenir l'obésité et les maladies associées, les mécanismes impliqués au niveau de chacune des stratégies semblent être différents (113). Cependant, leur arrêt semble avoir les mêmes effets. La restriction alimentaire suivie d'une période d'arrêt ou de réalimentation s'apparente donc au phénomène de la cessation de l'entraînement.



## 1.2. Jeûne-réalimentation : phénomène semblable au désentraînement

La survie des espèces dépend principalement de leur capacité à se nourrir et à se reproduire tandis que la survie des individus dépend uniquement de la disponibilité de la nourriture et de la capacité à faire des réserves ! (110). La majorité des mammifères, incluant les humains, ont évolué dans un environnement où la disponibilité de la nourriture se faisait intermittente (110). Les survivants ont donc développé une capacité à stocker le plus d'énergie possible lorsque la nourriture était disponible afin de se protéger contre d'éventuelles périodes de famine. Pendant les périodes où la nourriture se faisait rare, les survivants ont alors développé une capacité à diminuer leur dépense énergétique afin de préserver leurs réserves le plus longtemps possible. Finalement, lorsque la nourriture était disponible à nouveau, les survivants rétablissaient les réserves perdues. Les sujets reprennent en général le même poids perdu après une période de famine ou de diètes restrictives (50). Dulloo et al (50) citent qu'en 1946, il a été noté que les prisonniers des camps allemands, ayant survécu à des périodes de grave famine, ont augmenté leur adiposité après leur transfert dans les hôpitaux français (37). Dulloo et al (50) précisent que ce gain d'adiposité a été qualifié d'obésité post-famine (95). Comme c'est le cas après l'arrêt de l'entraînement, le regain de poids après le jeûne est majoritairement de type adipeux au dépend de la masse musculaire (159). Il semblerait alors que le poids corporel mais surtout l'adiposité soient hautement régulés ou même défendus. Leur régulation ressemblerait à celles de d'autres paramètres physiologiques vitaux comme l'osmolarité plasmatique, la tension artérielle et la glycémie (176).

L'entraînement-désentraînement ainsi que le jeûne-réalimentation résultent tous les deux en une baisse de réserves énergétiques suivie du rétablissement de celles-ci

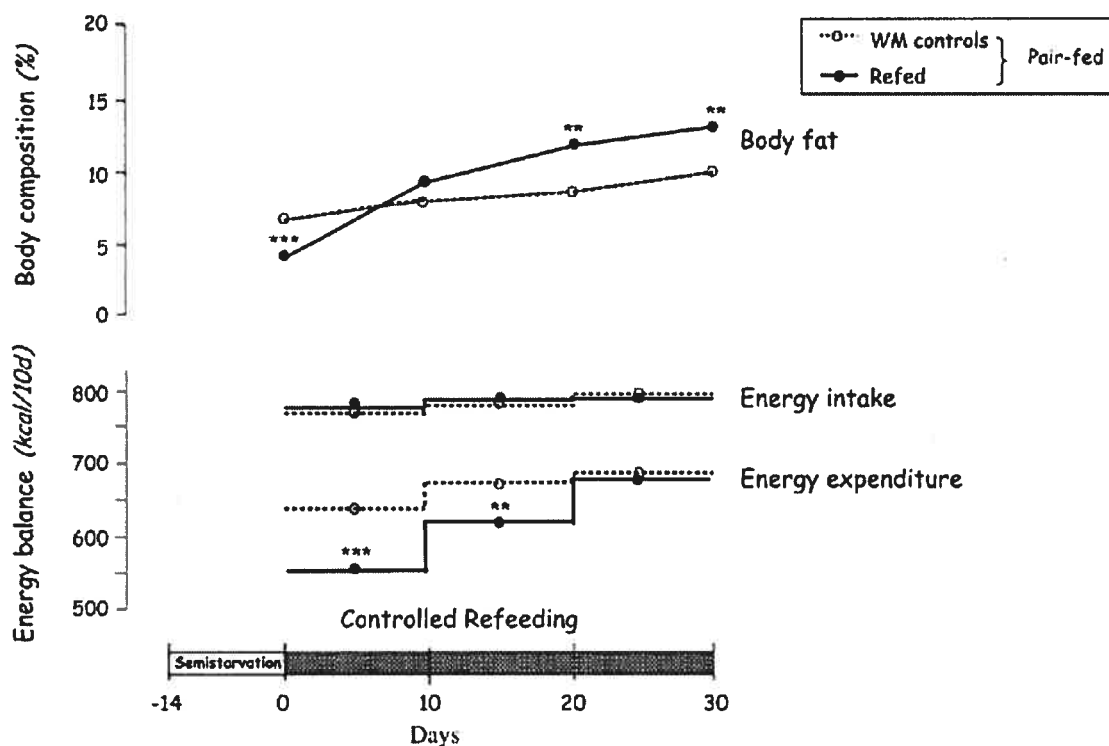
(119). La fluctuation des réserves induit donc un regain d'adiposité inévitable après l'arrêt de l'entraînement ou suite à la réalimentation succédant au jeûne ou demi-jeûne (80, 114, 117). Ce phénomène de regain d'adiposité a également été observé chez des personnes récupérant d'une perte de poids résultant d'une pathologie ou d'un désordre nutritionnel tel la malnutrition, l'anorexie nerveuse ou le cancer (50).

### 1.2.1. Mécanismes régulateurs

La régulation du regain de masse grasse est complexe. Elle semble être sous le contrôle du cerveau ainsi que des signaux hormonaux et métaboliques originant de la périphérie (110). Il semble alors que les systèmes engagés lors de la reconstitution des réserves sont les mêmes qui opèrent pendant la restriction calorique. Les mécanismes impliqués dans le regain de masse grasse peuvent se résumer en trois points principaux interagissant les uns avec les autres (50): **1)** une hyperphagie, **2)** une nouvelle répartition des substrats entre le muscle et le tissu adipeux et **3)** une augmentation de l'efficacité métabolique accompagnée d'une suppression de la thermogénèse.

L'hyperphagie suite à une restriction calorique est importante si la nourriture comprend principalement des aliments riches en lipides ou en hydrates de carbone raffinés; ce qui résultent en une prise de poids (35, 50). Effectivement le gain d'adiposité, suite à l'arrêt de l'entraînement, a été principalement attribué à une augmentation de l'ingestion alimentaire (3, 4). Néanmoins, une restriction calorique ne semble pas prévenir le gain d'adiposité associé à la cessation d'entraînement (103). En effet, la quantité de calories ingérées à elle seule ne semble pas être la

cause exclusive de l'augmentation de l'adiposité suite à l'arrêt de l'entraînement (103). D'autre part, une restriction calorique au même niveau que les sujets témoins ne prévient pas le regain de masse grasse. Il semble donc qu'une augmentation de l'efficacité énergétique soit la raison la plus plausible pour justifier le gain d'adiposité après que l'entraînement eut cessé (6, 101) (Fig. 1).



**Figure 1.** Schéma illustrant le maintien d'une basse dépense énergétique et d'une accélération du regain de masse grasse (catch-up fat) chez des rats soumis à un modèle de demi-jeûne-réalimentation. Les mesures d'adiposité ont été faites durant trois périodes successives de 10 jours. Durant ces périodes, les animaux nourris de nouveau mangeaient la même quantité de calories que les animaux du groupe témoin (WM: weight-matched). La baisse de la dépense énergétique, responsable du regain de masse grasse, était maintenue pendant 2-3 semaines. Ce phénomène a été principalement causé par la suppression de la thermogenèse. \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$  en comparaison avec le groupe témoin WM. Tiré de Dulloo et al (50).

Pendant la phase du regain de masse grasse, le glucose semble être préférentiellement utilisé pour la lipogenèse de novo dans le tissu adipeux blanc afin d'être stocké au lieu d'être utilisé à des fins oxydatives (50). Ceci est soutenu par une augmentation de l'activité enzymatique de la FAS (25). Néanmoins, la sensibilité à l'insuline s'adapte de façon inhabituelle. Le tissu adipeux devient hypersensible alors que le muscle devient résistant à l'insuline (25, 50). Conséquemment, le stockage des lipides dans le tissu adipeux est favorisé. La résistance à l'action de l'insuline au muscle ne semble donc pas être liée à l'augmentation du stockage lipidique mais plutôt à une diminution de leur utilisation comme conséquence de la suppression de la thermogenèse (49, 209) (Fig. 1). Ces évidences proviennent des études chez le rat et nous ignorons si le même phénomène est responsable du regain d'adiposité chez l'humain.

La suppression de la thermogenèse dans le muscle et le tissu adipeux est une façon de conserver l'énergie (110). Elle semble être le résultat d'une altération de la cascade de signalisation de l'insuline, plus spécifiquement la PI3K ainsi qu'une interférence au niveau de la voie de l'AMPK (50). Ces changements résulteraient en une baisse de la dépense énergétique alimentaire et de repos favorisant ainsi un regain de masse grasse (110).

La suppression de la thermogenèse semble être régie par une autorégulation étant sous le contrôle intrinsèque du tissu adipeux (48). Lorsque les réserves adipeuses sont épuisées suite à une perte de poids, il y a génération de signaux qui diminueront la thermogenèse (47, 177). La perte de poids suite à une restriction calorique baisse les niveaux de leptine qui à leur tour activent les voies anaboliques et inhibent les voies cataboliques (177). Ces changements initieront la récupération du poids perdu. En plus de la baisse de leptine, la perte de la masse musculaire

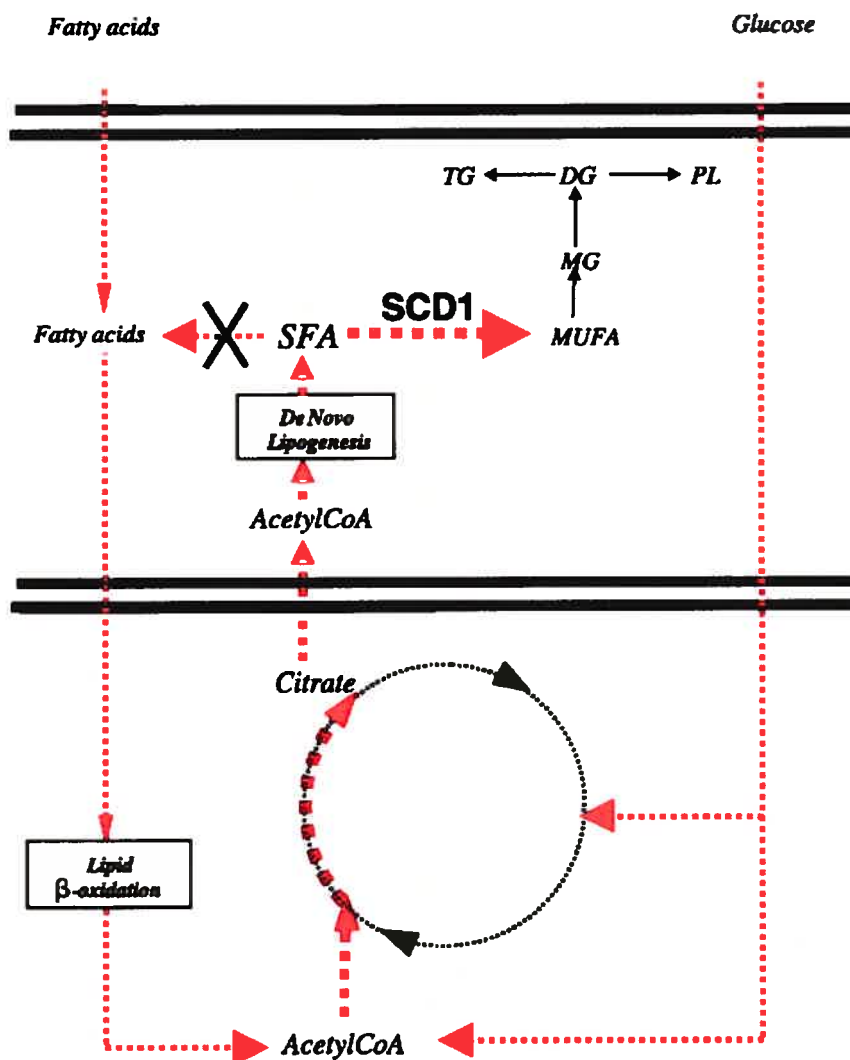
durant des périodes caractérisées par la rareté de la nourriture induiraient la baisse de la dépense énergétique et la suppression de la thermogénèse sous ses différentes formes comme moyen de conservation d'énergie (48, 114, 117, 120, 121). Plus la déplétion des réserves est grande pendant la période de restriction, plus le degré de suppression de la thermogénèse sera amplifié lorsque le stimulus de déplétion cessera (47, 50). De plus, une baisse de la densité mitochondriale (34) comme cela est le cas avec l'arrêt de l'entraînement pourrait contribuer à la suppression de la thermogénèse. L'exercice est connu pour son rôle dans la stimulation de la dépense énergétique au repos chez les rongeurs mâles et femelles (166). Cette dépense a été attribuée entre autres à une augmentation de la thermogénèse au sein du tissu adipeux (153). Il serait alors légitime de postuler que l'arrêt de l'entraînement soit associé à une baisse ou à une suppression de la thermogénèse au repos.

### **1.2.2. Implication de la SCD-1**

La SCD-1 est enzyme principalement inhibée par l'action de la leptine (l'action de cet enzyme sera discutée plus en détails dans le 2<sup>ième</sup> partie de cette revue). La leptine est une hormone thermogénique (181). Il a été rapporté que l'absence de la SCD-1 stimule la thermogénèse basale et lors de l'exposition au froid chez la souris (104). Cette stimulation de la thermogénèse est en lien avec l'augmentation de l'expression des protéines découplantes (UCP) au sein du tissu adipeux brun. Il n'est pas donc pas étonnant que l'augmentation de la SCD-1 au muscle soit observée en lien avec une baisse de la thermogénèse lié au regain de masse grasse. Effectivement, Mainieri et al (122) rapportent une régulation rapide de l'expression de la SCD-1 au muscle pendant la période de restriction calorique qui a

été maintenue pendant la période d'abondance de nourriture subséquente. Cette régulation de la SCD-1 implique un changement de la composition des lipides intramusculaires. Ces changements pourraient agir directement ou indirectement sur les mécanismes de la dépense énergétique et particulièrement ceux de la thermogénèse. Il a été rapporté par Cohen et Friedman (29) que les acides gras saturés mais pas les acides gras mono-insaturés, inhibent l'ACC, enzyme de la biosynthèse des lipides. En inhibant la SCD-1, responsable de la synthèse des acides gras mono-insaturés, les lipides seront orientés vers la voie oxydative plutôt que celle du stockage. Conséquemment, comme cela est le cas de la situation jeûne-réalimentation, une augmentation de l'expression de SCD-1, ayant comme conséquence l'abondance des acides gras mono-insaturés (MUFA) favoriserait le stockage des lipides au lieu de leur utilisation. Ceci résulterait forcément en une baisse de l'oxydation des lipides et une diminution de la thermogénèse (122). (Fig. 2).

## Semistarved/ Refed



**Figure 2.** Modèle illustrant les mécanismes impliqués dans la régulation de la SCD-1 dans le muscle pouvant contribuer à la suppression de la thermogénèse. Durant la situation de demi-jeûne-réalimentation, l'augmentation de SCD-1 pourrait augmenter la désaturation *de novo* des acides gras. Cette désaturation détournera les acides gras de la  $\beta$ -oxydation vers leur stockage résultant en une suppression de la thermogénèse. Adapté de Mainieri et al (122).



Le regain de la masse grasse perdue est inévitable et semble être indépendant du niveau d'adiposité précédant la restriction alimentaire (108, 120, 121). Ce regain de masse grasse vise à restaurer l'adiposité exactement à son niveau de pré-restriction (120, 121, 114, 117). Cela indique l'existence de seuils de régulation intrinsèque "set-points". Ces seuils régulateurs sont fixés de façon bien précise. Ils sont réglables surtout vers la hausse et quasiment jamais vers la baisse (115). La baisse de ce seuil de régulation est possible seulement avec une chirurgie, un traitement médicamenteux, ou une maladie (110). Cette régulation du regain de masse grasse vise donc à maintenir le poids et l'adiposité et à les réguler vers la hausse (112). Malheureusement, même les personnes obèses pourvues d'une grande masse adipeuse sont exposées à regagner le poids perdu suite à une diète restrictive (116). Le métabolisme serait enclenché sur un mode anabolique jusqu'à restauration complète des réserves perdues (107, 113, 114, 117). Ce phénomène de regain d'adiposité va donc au-delà de la notion de survie et serait même la cause principale de l'échec des tentatives du maintien de la perte de poids suite à des régimes alimentaires.

### **1.2.3. Implication du système nerveux**

Le regain d'adiposité, résultat d'un déséquilibre énergétique favorisant le stockage plutôt que la dépense, est la conséquence d'un dialogue continu entre le cerveau et de la périphérie (111). Ce contrôle comporte des signaux génétiques, environnementaux et psychosociaux. La leptine ainsi que l'insuline sont deux hormones qui informent le cerveau sur le niveau de l'adiposité (210). Ces deux hormones possèdent des récepteurs au cerveau et plus spécifiquement au niveau de neurones spécialisées appelées "metabolic sensing neurons" (118). Une fois

l'information traitée par ces neurones, il se produit un changement du potentiel membranaire, de la sécrétion de neurotransmetteurs ainsi que de la transcription de certains gènes. Suite à ces événements, l'homéostasie énergétique sera régulée tant sur le plan neuroendocrinien que comportemental. La baisse du niveau d'insuline et de leptine pendant les périodes de restriction calorique engendrera une stimulation du NPY impliquée dans la prise alimentaire et le métabolisme passerait à un mode anabolique (111).

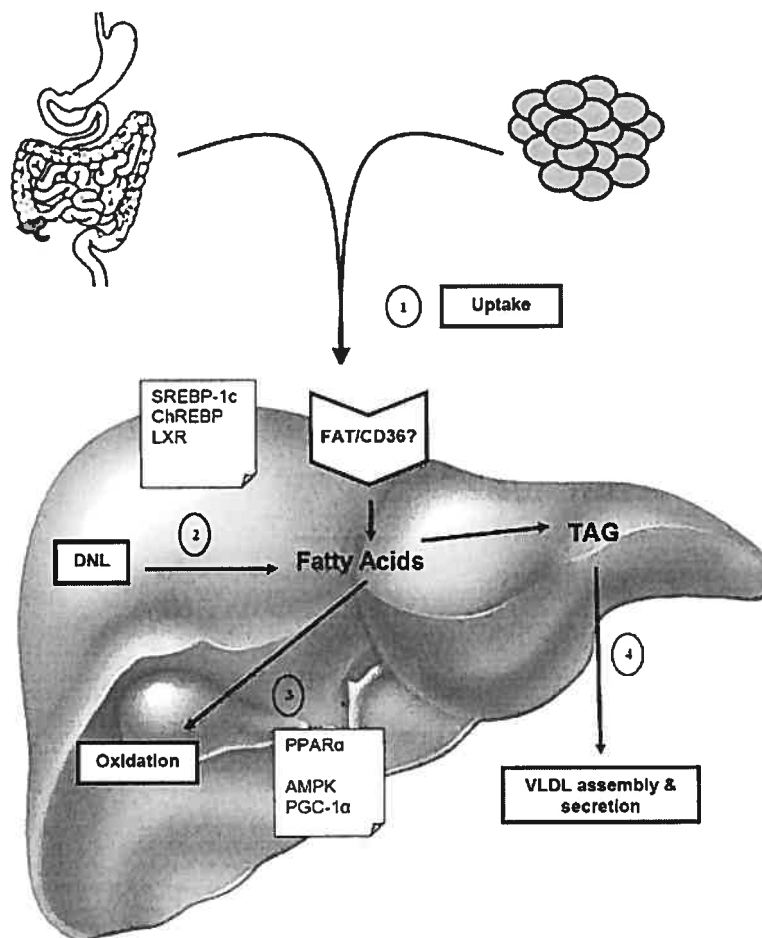
Il semble que n'importe quel stimulus causant une diminution de l'adiposité ou interférant avec l'insuline et/ou la leptine au niveau central provoquerait inévitablement un mode anabolique central et périphérique favorisant un état d'obésité (111). A ce propos, Rosenbaum et al (167) ont suggéré le remplacement de la leptine afin d'inhiber toute amorce d'événements résultant en un déplacement vers une plus grande efficacité métabolique durant la baisse du niveau de leptine avec la perte de poids. Cependant, cette administration de leptine dans le but de prévenir le gain d'adiposité induirait sûrement une résistance à la leptine !

S'il existe d'une part certaines évidences au sujet des effets de l'arrêt du jeûne ou de l'activité physique sur le regain de poids et de la masse grasse, nous ne savons pas dans quelle mesure ces actions favorisent le développement de la stéatose hépatique. Nous ignorons si le foie se comporte comme le tissu adipeux ou comme le muscle lors du regain de masse grasse. Nous ignorons également si le foie se comporte de façon similaire suite à un arrêt d'entraînement ou un jeûne-réalimentation. La suite de cette revue a donc pour but de décrire ce que nous savons au sujet des mécanismes impliqués dans le développement et dans la résorption de la stéatose hépatique.

### 1.3. La stéatose hépatique non-alcoolique et la SCD-1

La stéatose hépatique non-alcoolique est la conséquence d'une accumulation importante de lipides dans les hépatocytes, indépendamment de la consommation d'alcool (141). Ces lipides sont majoritairement des triacylglycérols (TAG) (18). Selon Thomas et al (197), un foie normal peut contenir jusqu'à 5.5% de son poids sec sous forme de TAG. Un contenu hépatique en TAG de 8% ou plus est un signe d'une stéatose hépatique chez l'humain. L'importance de cette accumulation de lipides est soulignée par le fait que la stéatose hépatique est maintenant reconnue comme étant une composante du syndrome métabolique (11, 123). Elle est souvent associée à l'obésité mais surtout à l'insulino-résistance (179). Quoique la stéatose du foie soit normalement bénigne, elle peut générer une nécrose et même une insuffisance hépatique (21, 22). L'éthio-pathologie de la stéatose hépatique repose sur une multitude de désordres métaboliques. Globalement, l'accumulation accrue des lipides dans le foie est le résultat d'un déséquilibre entre leur production et leur utilisation (38, 174). Les mécanismes impliqués dans la pathogenèse de la stéatose hépatique peuvent être résumés selon les 4 points suivants : (58, 102) (Fig. 3).

- 1) Une augmentation du flux d'acides gras au niveau du foie.
- 2) Une augmentation de la lipogenèse *de novo*.
- 3) Une diminution de l'oxydation des lipides hépatiques.
- 4) Une diminution de l'assemblage et de l'exportation des lipoprotéines de très faible densité (VLDL).

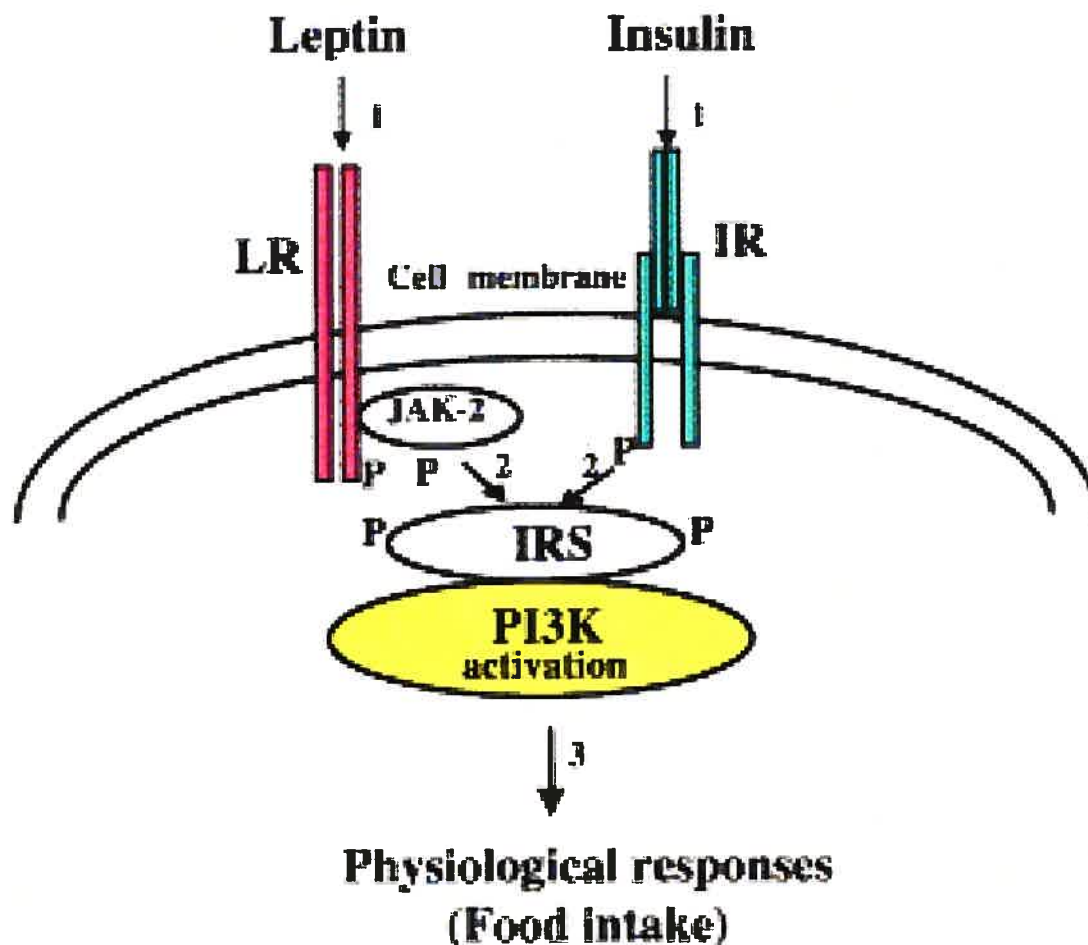


**Figure 3.** Figure synthèse illustrant les 4 voies principales ainsi que les facteurs régulateurs du développement de la stéatose hépatique non-alcoolique. Les voies de la stéatose sont 1) une augmentation de la prise des acides gras par le foie. 2) une augmentation de la lipogenèse *de novo* (DNL). 3) une diminution de l'oxydation des lipides. 4) un défaut de la synthèse et de la sécrétion des VLDL. FAT/CD36, fatty acid translocase/ cluster of differentiation 36; SREBP-1c, sterol-regulatory-element binding protein-1c; ChREBP carbohydrate-resposne-element-binding protein; LXR, liver X receptors; PPAR $\alpha$ , peroxisomal proliferator-activated receptors alpha ; AMPK, AMP-activated poetin kinase, PGC-1 $\alpha$ , peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 alpha. Adapté de Lavoie et Gauthier (102).

Si d'une part on peut facilement comprendre qu'un arrivage accru de lipides au foie augmente la stéatose, les mécanismes impliqués dans les actions métaboliques de la lipogénèse, de l'oxydation des lipides et de la synthèse des VLDL sont moins apparents. Un élément clé de ces activités métaboliques semble être l'action de la leptine au foie. Toutefois l'action de la leptine est souvent liée à celle de l'insuline au foie (2, 21, 22, 29, 58, 126, 142).

### **1.3.1. Rôle de la résistance à la leptine et à l'insuline dans la pathogenèse de la stéatose hépatique non-alcoolique**

La résistance à l'insuline et la résistance à la leptine se développent en parallèle. De plus, les efforts pour améliorer l'action de l'une induisent des changements de l'action de l'autre (184, 188, 206). Le "dialogue" entre la leptine et l'insuline est complexe. Il y a effectivement un chevauchement entre l'action de la leptine et celle de l'insuline. Alors que l'insuline augmente la sécrétion de leptine par les cellules adipeuses, la leptine inhibe celle de l'insuline par le pancréas (180). Même si les deux hormones possèdent des récepteurs distincts, elles partagent la même voie de signalisation, celle de l'IRS-PI3K (69, 143) (Fig. 4). De plus, la transcription de l'IRS-PI3K, molécule clé de la voie de signalisation de l'insuline, semble être sous le contrôle des STAT3 faisant partie de la voie de signalisation de la leptine (143).



**Figure 4.** Schéma simplifiant la voie de signalisation partagée par l'insuline et la leptine. L'insuline se lie à son récepteur (IR) (1) induisant ainsi une activation intrinsèque de la tyrosine kinase. Ceci résulte en une autophosphorylation de la tyrosine et une l'activation de l'IRS (insulin receptor substrate; 2). La stimulation de l'IRS active à son tour des cibles en aval dont la phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K). La leptine se lie à son récepteur (LR) (1) ce qui active le JAK-2, Janus kinase. Ces événements induisent la phosphorylation de l'IRS (2) qui active à son tour la PI3K. Plusieurs réponses physiologiques (3) induites par l'insuline et la leptine au niveau de l'hypothalamus peuvent avoir lieu grâce à l'utilisation de cette voie de signalisation commune. Adapté de Gerozissis (69).

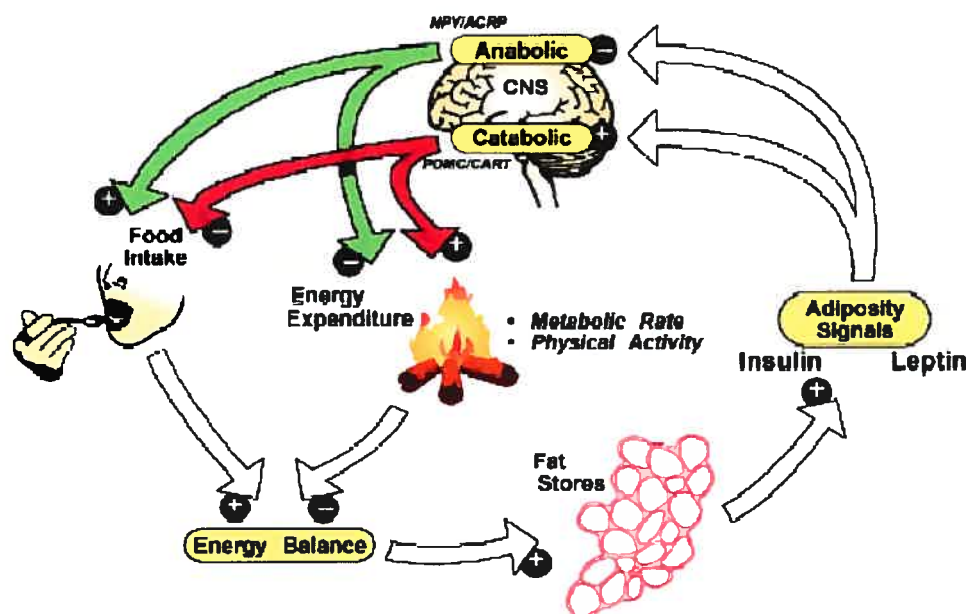
La leptine et l'insuline peuvent partager la même voie de signalisation. Cependant, dans le cas de la stéatose hépatique, la résistance à l'insuline à elle seule ne semble pas être la cause principale de la stéatose hépatique. Plusieurs arguments ont été avancés pour supporter la non-implication directe de la résistance à l'insuline dans la pathogenèse de la stéatose hépatique. **1)** Des animaux diabétiques avec une résistance sévère à l'insuline ne semblent présenter aucun signe de stéatose hépatique (58). **2)** L'accumulation des triglycérides au foie semble même précéder la résistance à l'insuline (172). **3)** Au contraire, la stéatose hépatique semble être impliquée dans la pathogenèse du diabète de type 2 (157). Par contre, la leptine, indépendamment de l'insuline, semble être directement impliquée dans la genèse de la stéatose hépatique. Biddinger et al (12) ont récemment démontré que la leptine inhibait l'expression de la SCD-1, enzyme clé de la stéatose hépatique, même en cas d'absence de l'action insulinémique au foie. Dans la même étude, les souris déficientes en récepteurs hépatiques à l'insuline (LIRKO), répondaient normalement à l'action de la leptine visant à supprimer l'expression et l'activité de la SCD-1 (12).

Conséquemment, la leptine mais pas nécessairement l'insuline, semble jouer un rôle central dans l'accumulation des lipides dans le foie. Ce rôle de la leptine en regard de la stéatose hépatique sera donc décrit plus en détails dans les sections suivantes.

#### **1.3.1.1. La leptine**

La leptine est une cytokine synthétisée principalement par le tissu adipeux blanc (17). Elle est impliquée dans la régulation de la prise alimentaire, de la dépense

énergétique ainsi que dans le stockage des lipides (186). Elle régule, au niveau hypothalamique, la balance énergétique en modifiant la prise alimentaire et la dépense énergétique (177) (Fig. 5).



**Figure 5.** Boucle de régulation de la masse adipeuse par rétroaction. La leptine et l'insuline sont deux signaux qui reflètent l'adiposité et agissent sur l'hypothalamus pour stimuler les voies cataboliques (POMC/CART) et anaboliques (NPY/AgRP). Ces voies agissent sur la prise calorique et la dépense énergétique et par le fait même, sur la régulation du stockage de l'énergie dans le tissu adipeux. La perte de poids induite par une restriction calorique baisse le niveau de l'insuline et de la leptine. Ces changements activeront par la suite les voies anaboliques et inhiberont les effecteurs cataboliques. Tiré de Schwartz et al (177).



En dépit de l'implication de la leptine dans la régulation de la balance énergétique, ses effets métaboliques ne peuvent être tous expliqués uniquement par ses effets anorexiques au cerveau (30). L'expression du récepteur de la leptine est présente également au niveau des tissus non-neuraux comme le muscle, le tissu adipeux, le foie et le cœur (75).

La leptine procure une protection des organes autres que le tissu adipeux contre l'accumulation des lipides (93). Elle affecte directement le contenu hépatique en TAG et exerce son effet anti-stéatotique en stimulant l'oxydation des lipides et en diminuant la lipogénèse (105, 203). La leptine désactive l'ACC probablement via l'action de l'AMPK et du PGC-1 $\alpha$ . L'AMPK inactive l'ACC et bloque ainsi la formation du malonyl-CoA. Cette action lève l'inhibition qu'exerçait le malonyl CoA sur la CPT-1, augmentant ainsi l'oxydation mitochondriale des acides gras (203). Le PGC-1 $\alpha$  induit aussi la biogénèse mitochondriale (favorisant le métabolisme oxydatif et la thermogénèse).

Récemment, il a été rapporté que l'action de la leptine au niveau hépatique passe principalement par la régulation du gène de la SCD-1 (30). La leptine baisse le niveau de l'activité enzymatique et de l'expression de ce gène, acteur clé de la stéatose hépatique (12). Cette régulation serait le mécanisme par excellence de l'action de la leptine sur la stéatose hépatique.

### **1.3.2. Effets de la leptine sur la SCD-1**

En plus d'une stéatose hépatique sévère, les souris ob/ob (déficientes en leptine) ont 5 fois plus de masse adipeuse que les souris normales (30). Lorsque les souris

ob/ob reçoivent des injections de leptine, leur obésité est corrigée et elles deviennent visiblement normales. Pour élucider le mécanisme derrière ces changements, les découvreurs de la leptine, Cohen et al (30), ont identifié les gènes ciblés par cette cytokine au niveau hépatique. Il fut démontré que la leptine agit sur plusieurs gènes. Cependant, c'est la SCD-1 qui a démontré la plus forte réponse à l'action de la leptine. Cohen et al (30) ont également démontré que l'expression, l'activité enzymatique de la SCD-1, ainsi que le taux des MUFA au foie, étaient significativement élevés chez les souris ob/ob et que ces paramètres diminuaient drastiquement après l'injection de la leptine. Ceci constitue les premiers résultats suggérant que l'inhibition de la SCD-1 figure parmi les effets métaboliques de la leptine au foie. Ces résultats suggèrent également que la SCD-1 est requise pour le développement de l'obésité et de la stéatose hépatique chez les souris ob/ob. Les souris obèses ob/ob retrouvaient leur santé métabolique après délétion du gène de la SCD-1. Par la suite, ce même groupe de chercheurs ont développé un modèle de souris avec une double mutation génétique (leptine et SCD-1) (30). Ces souris doublement mutées ont également eu la même correction phénotypique que les souris ob/ob ayant reçu un remplacement de la leptine. Les souris ob/ob, SCD-1 -/- étaient résistantes à l'obésité et à la stéatose hépatique (30) (Fig. 6).

Il a été conclu que la SCD-1 représentait une composante importante de l'action de la leptine au niveau du foie.



**Figure 6.** Image de souris ob/ob (bas) et de souris ob/ob SCD-1 -/- (haut). (image tirée du site-web de l'Université Rockefeller, NY, NY).

## **1.4. La Stearoyl-CoA desaturase**

### **1.4.1. La famille de la stearoyl-CoA desaturase**

Différents isoformes de la stearoyl-CoA desaturase (SCD) ont été identifiés chez différentes espèces dont la levure (191), le *Caenorhabditis elegans* (208), le mouton (207), le hamster (84), le rat (127), la souris (92, 148, 216) ainsi que chez l'humain (213, 214). Cependant, la raison de l'existence de ces différents isoformes reste toujours inconnue.

Il existe, actuellement, quatre isoformes différents de la SCD chez la souris (SCD1-4). Tandis que, chez le rat, seulement 2 isoformes ont été identifiés (127, 196). Chez différentes souches de souris, tous les isoformes de la SCD sont localisés sur le chromosome 19 (129) alors que chez l'humain, un seul gène fonctionnel de la SCD a été caractérisé à proximité du chromosome 10. Un deuxième pseudo-gène de la SCD a été également caractérisé et localisé sur le chromosome 17 (213).

Le gène de la SCD a été principalement étudié chez la souris. Les quatre isoformes partagent 75 % de la séquence des nucléotides :

- 1)** La SCD-1 est exprimée dans les tissus lipogéniques incluant le foie et le tissu adipeux (129, 134, 136, 137, 148).
- 2)** La SCD-2 est exprimée principalement dans le cerveau et le tissu nerveux; de façon plus marquée lors de la période de myélinisation néonatale (92).
- 3)** L'expression de la SCD-3 est restreinte aux cellules sébacées de la peau, de la glande préputiale et la glande de Harder (133, 134, 136, 137, 216). La glande préputiale se situe sur les organes génitaux de certains mammifères. Cette glande produit les phéromones et est connue sous le nom de la glande du clitoris chez la femelle. Pour ce qui est de la glande de Harder, il s'agit d'une structure mal-connue

située dans l'orbite antérieure de l'œil. Elle est présente chez la plupart des vertébrés terrestres. La glande de Harder peut agir comme un accessoire à la glande lacrymale. Elle excrète des fluides facilitant le mouvement de la paupière (134, 136, 137, 165). Cette glande est absente chez l'humain à l'âge adulte et sa détection se fait plutôt à l'étape foetale et néonatale (164).

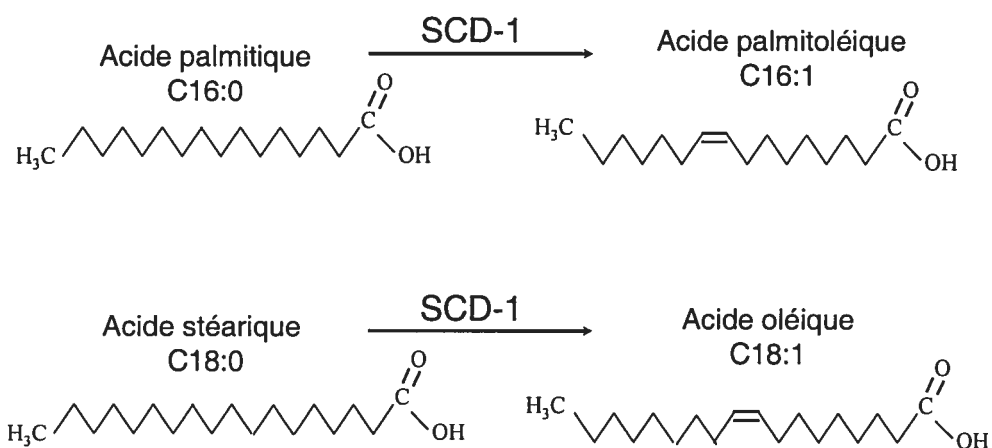
4) La SCD-4 est généralement manifestée dans le cœur (129).

Les isoformes 1 et 2 de la SCD sont les plus étudiés et les mieux caractérisés grâce aux modèles de souris déficientes en SCD-1 et SCD-2 (130, 137).

#### **1.4.2. Action de la stearoyl-CoA desaturase**

Les quatre isoformes de la SCD ou de la  $\Delta$ -9 desaturase sont requis pour la synthèse des acides gras mono-insaturés (129, 147). Ils introduisent un double lien au niveau du carbone situé dans la position 9-10 à partir du groupe carboxylique (139) (Fig. 7). La SCD-1 et la SCD-2 sont capables de désaturer l'acide stéarique et l'acide palmitique avec une préférence deux fois plus élevée pour l'acide stéarique (129). Cependant, la SCD-3 désature uniquement l'acide palmitique mais pas l'acide stéarique. C'est la raison pour laquelle il serait préférable de lui donner le nom de PCD-1 (palmitoyl-coA desaturase-1) au lieu de SCD-3 (129). Pour sa part, la SCD-4 semble désaturer les deux acides gras saturés mentionnés ci-dessus de façon moins importante que les autres isoformes. Le degré de préférence pour chaque acide gras reste à déterminer (129).

## Action de la SCD-1



**Figure 7.** Schéma illustrant l'action de la stearoyl-CoA désaturase-1.

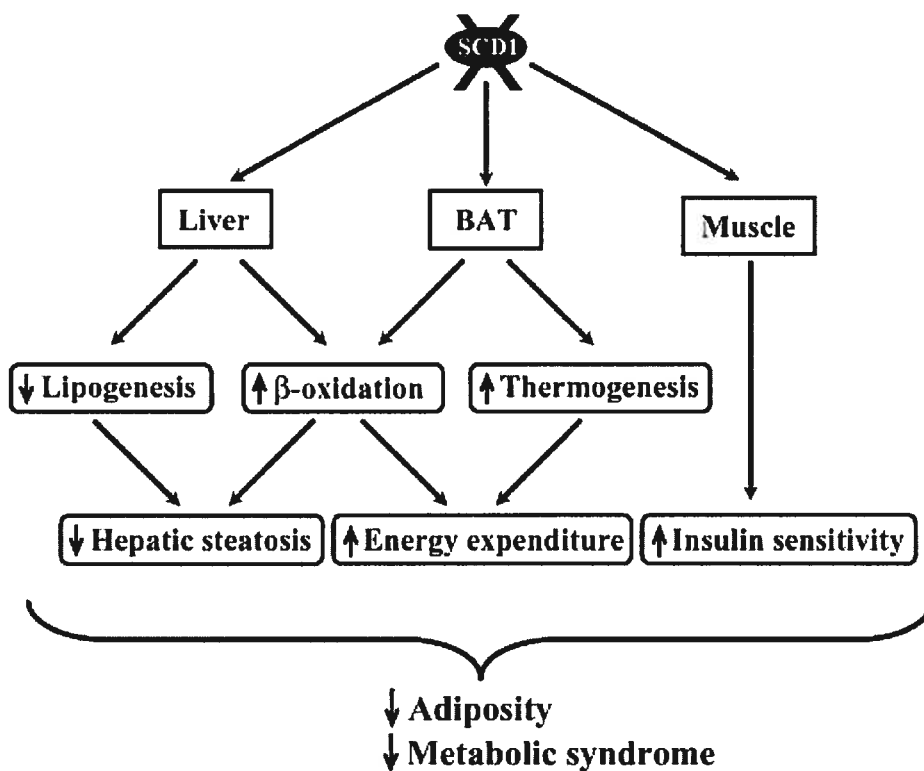
Ces désaturases transforment l'acide palmitique (C16) en acide palmitoléique et l'acide stéarique en acide oléique (C18) (147). Ces acides gras mono-insaturés résultant de l'action de la SCD, représentent les principales formes contenues dans la structure des triglycérides (10, 128, 133).

### 1.4.3. Le modèle de la souris déficiente en stearoly-CoA desaturase

La répression de la SCD-1, à elle seule, représente un facteur de protection contre l'obésité et contre la stéatose hépatique, et ce même chez la souris ob/ob (29). Ce facteur anti-obésité est dû principalement à la capacité de ces animaux à oxyder les lipides et ainsi diminuer l'accumulation des triglycérides dans le foie et dans le tissu adipeux (29, 41) (Fig. 8).

Les seuls inconvénients de l'absence de la SCD-1, à notre connaissance, sont l'alopecie (perte de poils) et la présence d'une fissure au niveau de la paupière (30, 137, 149). En revanche, les souris déficientes en SCD-2 montrent un défaut de la barrière de perméabilité de la peau et des problèmes de la synthèse des lipides tôt après leur naissance (130). Il semble donc que la SCD-2 contrôle le métabolisme des lipides tôt dans la vie tandis que SCD-1 s'avère plus importante à l'âge adulte. (129).

Compte tenue des études publiées jusqu'à aujourd'hui, cette revue se limitera à l'étude du modèle de la souris déficiente en SCD-1.



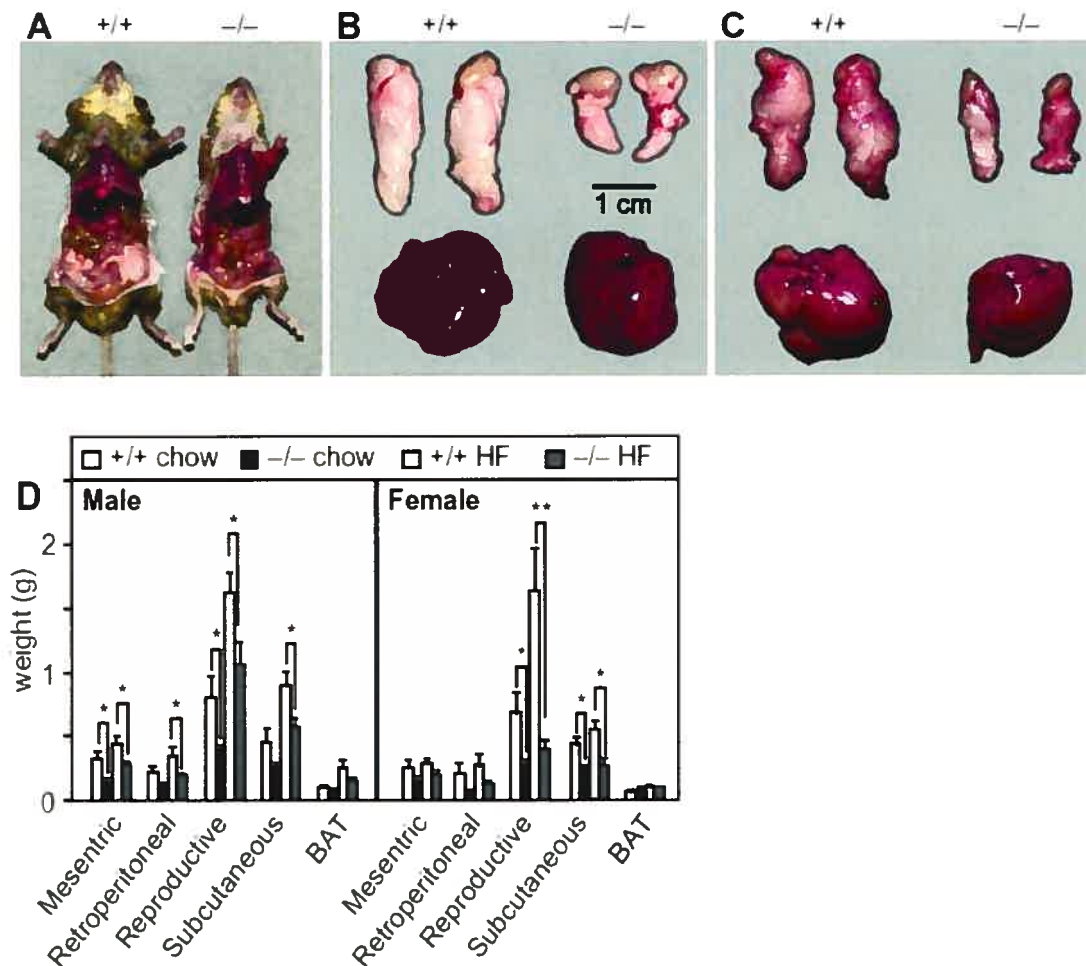
**Figure 8.** Les effets métaboliques de la déficience de la stearoyl-CoA desaturase-1 (SCD-1) au niveau du foie, du muscle et du tissu adipeux brun. Ces effets se résument par la diminution de l'accumulation des lipides et l'amélioration du syndrome métabolique. Tiré de Dobrzyn et Ntambi (41).



#### 1.4.4. Implication de la SCD-1 dans l'obésité

La SCD-1 représente l'enzyme clé de la synthèse des acides gras mono-insaturés qui se trouvent à être les principales composantes des triglycérides, des phospholipides ainsi que des cholestérol-esters (10, 133). De plus, ces acides gras mono-insaturés peuvent jouer le rôle de médiateur et de signal pour la différenciation ou l'apoptose de la cellule (41). La SCD-1 représente également le point de contrôle de la régulation de la lipogenèse hépatique et de l'oxydation des lipides (41). Dobrzyn et Ntambi (41) suggèrent que la SCD-1 pourrait être une cible thérapeutique dans le traitement de plusieurs désordres liés au métabolisme des lipides dont le diabète de type 2. Le modèle de la souris déficiente en SCD-1 semble bien appuyer cette prétention.

En effet, les souris déficientes en SCD-1 (SCD-1  $-/-$ ) bénéficient d'une protection contre l'obésité et la stéatose hépatique même lorsque soumises à des diètes riches en lipides (Fig. 9). Étonnamment, ces souris déficientes en SCD-1 consomment 25% plus de nourriture que les souris normales (wild-type) et pourtant, elles sont plus minces et accumulent moins d'adiposité (30, 149). Il a été démontré que la SCD-1 contribue à la différenciation adipocytaire et synthétise les acides gras mono-insaturés qui seront incorporés dans les triglycérides des adipocytes matures (72). Ce rôle additionnel de la SCD-1 pourrait expliquer en partie la résistance à l'obésité chez les souris déficientes en SCD-1. Il semble alors que l'activation de la SCD-1 soit impliquée dans l'obésité et que son absence procure une protection contre celle-ci.



**Figure 9.** Schéma comparatif entre des souris normales et des souris SCD-1  $-/-$ .

A) Vue abdominale des dépôts adipeux sous-cutanés de souris mâles SCD-1  $-/-$  ainsi que des souris normales toutes âgées de 23 semaines.

B) La graisse epididymale et le foie prélevés chez des souris normales et chez de souris déficientes en SCD-1 soumis à une diète standard.

C) La graisse epididymale et le foie prélevés chez des souris normales et chez des souris déficientes en SCD-1 soumis à un régime riche en lipides.

D) Poids de différents dépôts adipeux prélevés chez des souris mâles et femelles normales ou génétiquement mutées nourries avec une diète normale ou riche en lipides. Tiré de Ntambi et al (149).

#### **1.4.4.1. Effets de la SCD-1 sur la dépense énergétique**

La notion de dépense énergétique fait référence au total des calories dépensées pendant une période de 24 heures. Cette dépense énergétique résulte de l'activité physique (volontaire et involontaire), de l'effet thermogénique de la digestion ainsi que du métabolisme basal (41, 42). Les individus ayant un métabolisme basal bas courent un plus grand risque de devenir obèses que les individus ayant un métabolisme basal élevé (163). Comme il a été mentionné plutôt dans cette revue, la déficience en SCD-1 chez la souris résultait en 25 % de plus de calories ingérées avec une moins grande accumulation de masse adipeuse comparativement aux souris normales (30, 149). Cette observation peut s'expliquer par le fait que les souris SCD-1<sup>-/-</sup> ont un taux de consommation d'oxygène très élevé en comparaison aux souris normales, et ce, autant le jour que la nuit (149). Une information plus récente montre également que la bêta-oxydation dans le tissu adipeux brun est plus active chez les souris SCD-1<sup>-/-</sup> ; expliquant ainsi le plus haut taux de consommation d'oxygène (45, 104).

##### **1.4.4.1.1. Effets de la SCD-1 sur la régulation de la thermogénèse**

La thermogénèse représente la dépense énergétique sous forme de chaleur. Ce mécanisme joue un rôle important dans le maintien de la balance énergétique. La thermogénèse est influencée par l'activité des protéines mitochondriales découplantes (UCP). Les UCPs dévient la respiration oxydative de la synthèse de l'ATP vers la dissipation d'énergie sous forme de chaleur. Lee et al (104) rapporte que la déficience en SCD-1 induit une augmentation de l'expression des UCPs-1

dans le tissu adipeux brun. L'absence de la SCD-1 amplifie le signal provenant de l'activation des récepteurs  $\beta$ 3-adrénergiques responsables de l'activation des UCP-1 (104). Ceci résulte en une augmentation de la thermogénèse du tissu adipeux brun. Les effets de la thermogénèse s'ajoutent donc à ceux de la  $\beta$ -oxydation dans le but d'augmenter la dépense énergétique totale et de réduire l'adiposité.

#### 1.4.4.2. La SCD-1 dans le muscle

L'activité de la SCD-1 dans le muscle corrèle positivement avec le pourcentage d'adiposité chez l'humain (91). Son absence induit une augmentation significative du taux de la  $\beta$ -oxydation dans les muscles de type oxydatif, mais pas de type glycolytique (i.e. soléaire et gastrocnémien), via une activation possible de la voie de l'AMPK (44). Les effets de l'absence de SCD-1 sont similaires aux effets du traitement à la leptine; sachant que la leptine stimule la voie de l'AMPK dans les muscles de type oxydatif (45). L'absence de la SCD-1 stimule aussi l'activité de la CPT-1. Donc, la SCD-1 semble être une composante en aval de la voie de signalisation de la leptine au niveau du muscle, comme cela a été démontré au niveau du foie (30, 194).

En résumé, l'absence de la SCD-1 favorise l'utilisation des acides gras dans le muscle. Cet effet préviendrait le stockage des lipides et améliorerait la sensibilité à l'insuline du muscle. Effectivement, les animaux déficients en SCD-1 ont une plus grande sensibilité à l'insuline que les souris normales. Ces animaux ont également une plus grande tolérance au glucose (161). Cependant le mécanisme exact par lequel l'absence en SCD-1 améliore cette sensibilité à l'insuline au niveau du muscle reste à définir.

### **1.4.5. Implication clinique de la SCD-1**

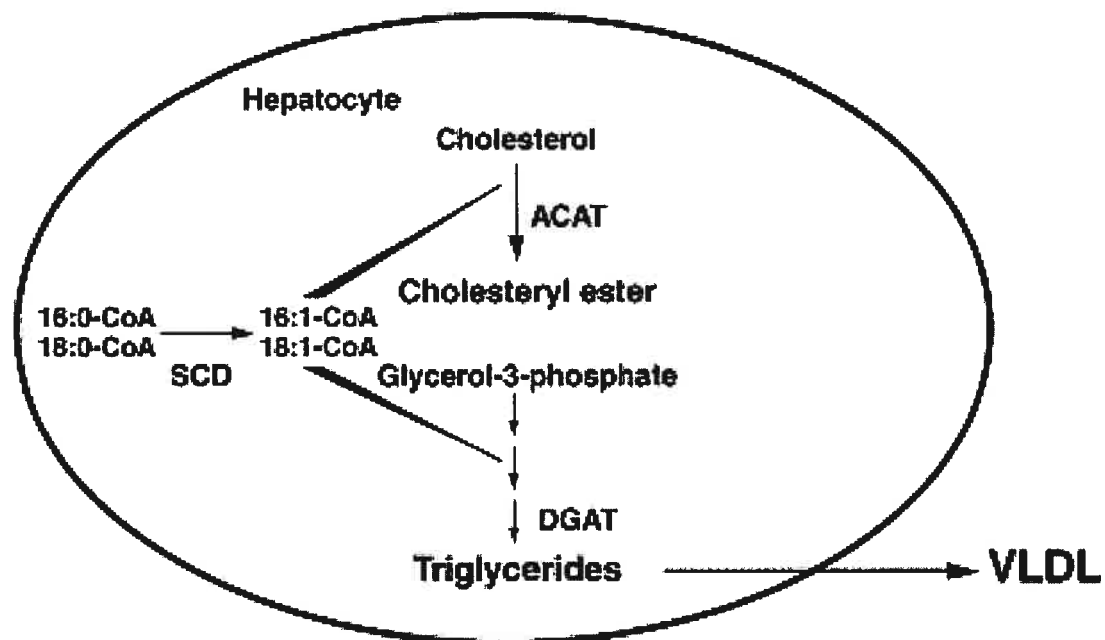
L'obésité est souvent associée au risque de développer des désordres métaboliques et des pathologies associés à une diminution de la qualité et l'espérance de vie. Parmi ceux-ci, il faut noter, la résistance à l'insuline, le diabète de type 2, les maladies cardio-vasculaires, ainsi que la stéatose hépatique non-alcoolique (59, 77, 97). Si d'une part, des études récentes démontrent qu'une perte de poids de seulement 5kg, chez des sujets obèses, diminue significativement la sévérité du diabète et améliore la condition générale des sujets (96, 201), d'autre part, la SCD-1 semble jouer un rôle crucial dans la régulation du métabolisme des lipides (128) ainsi que dans la régulation du poids corporel (43). Conséquemment, la SCD-1 représenterait une cible thérapeutique dans les stratégies du traitement de l'obésité et les désordres métaboliques associés (41).

#### **1.4.5.1. L'athérosclérose**

Des niveaux élevés de l'expression et de l'activité de la SCD-1 ont été positivement corrélés à l'athérosclérose alors que son inhibition semble procurer une protection contre cette pathologie (31). L'hypertriglycéridémie, facteur indépendant du développement de l'athérosclérose, est associée à une activité enzymatique élevée de la SCD-1. Les facteurs agissant sur le niveau des triglycérides plasmatiques le font via la régulation de l'activité de la SCD-1 hépatique (7). À l'opposé, l'absence de la SCD-1 au foie diminue considérablement le taux de synthèse des triglycérides mais aussi celui du cholestérol-ester et de la production et de la sécrétion de VLDL (7, 135). La déficience en SCD-1 est également associée à des diminutions de la synthèse de VLDL chez les souris ob/ob (30). Un des mécanismes de cette action

se ferait via l'ACAT (Acyl-CoA Cholesterol Acyl Transferase) ainsi la SCD-1 introduit une double liaison au niveau de l'acide stéarique le transformant en acide oléique (substrat par excellence de l'ACAT), l'enzyme clé de l'estérification du cholestérol au foie nécessaire à la synthèse des VLDL (23) (Fig. 10). Une diminution de SCD-1 entraîne donc une diminution de l'activité de l'ACAT. Par ailleurs, Sun et al (192) ont rapporté que l'augmentation de l'activité de la SCD-1 inhibait l'ABCA1 (ATP-binding cassette transporter A1) qui assure l'efflux du cholestérol des cellules périphériques vers le foie, diminuant ainsi la formation des HDL-chol (diminution du transport inverse). On peut donc assumer qu'une diminution de l'activité de la SCD-1 favoriserait une plus grande concentration des HDL-chol circulants.

Si la SCD-1 semble être impliquée dans la pathogenèse de l'athérosclérose via son action sur le métabolisme des lipides et des lipoprotéines, nous ignorons l'existence des mécanismes directs de la SCD-1 sur cette pathologie (ex : action directe sur la lésion athéromateuse).

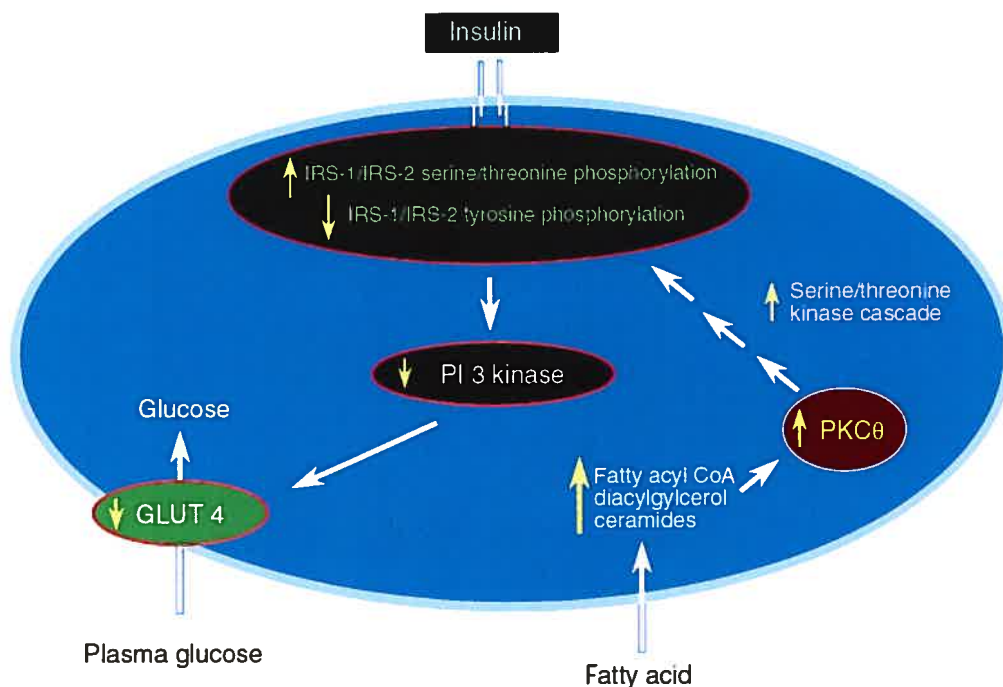


**Figure 10.** Rôle de la SCD dans la synthèse et la sécrétion des triglycérides, des cholestérol-esters et des VLDL. SCD, stearoly-CoA desaturase; ACAT, acyl-CoA cholesterol acyltransferase; DGAT, diacyl glycerol acyltransférase; VLDL, very-low-density lipoprotein. Tiré de Miyazaki et Ntambi (128).

#### 1.4.5.2. La résistance périphérique à l'insuline

Pendant longtemps, le diabète a été considéré comme étant une défectuosité du métabolisme des glucides. Cependant, plusieurs scientifiques sont convaincus, aujourd'hui, que le métabolisme des lipides fait partie de la maladie (125, 187). Le lien physiologique entre l'obésité et la résistance à l'insuline pourrait résider dans le fait que l'accumulation des lipides dans les tissus sensibles à l'insuline (ex : muscle) induit des défauts de la voie de signalisation de l'insuline (187). Il a été suggéré que les acides gras ainsi que leurs dérivés tels que la céramide, le diacylglycérol et le « fatty-acyl CoA » pourraient inhiber ou altérer la voie de signalisation de l'insuline (125, 187). Ces composés chimiques sont capables d'activer la protéine kinase C (PKC) qui à son tour serait impliquée dans la baisse de l'activité de l'IRS-1 et l'IRS-2 (insulin receptor substrate 1-2) entravant ainsi la signalisation de l'insuline (Fig. 11). Il a été rapporté que la déficience en SCD-1 diminue l'accumulation des lipides dans le muscle et améliore la sensibilité à l'insuline au niveau musculaire ainsi que dans le tissu adipeux brun (161, 162). Le nombre des GLUT-4 (transporteurs du glucose), est plus élevé chez la souris déficiente en SCD-1 à l'état basal et après stimulation à l'insuline (161). Ces informations suggèrent que la SCD-1 pourrait être considérée comme une cible thérapeutique dans le traitement de la résistance périphérique à l'insuline et du diabète de type 2.



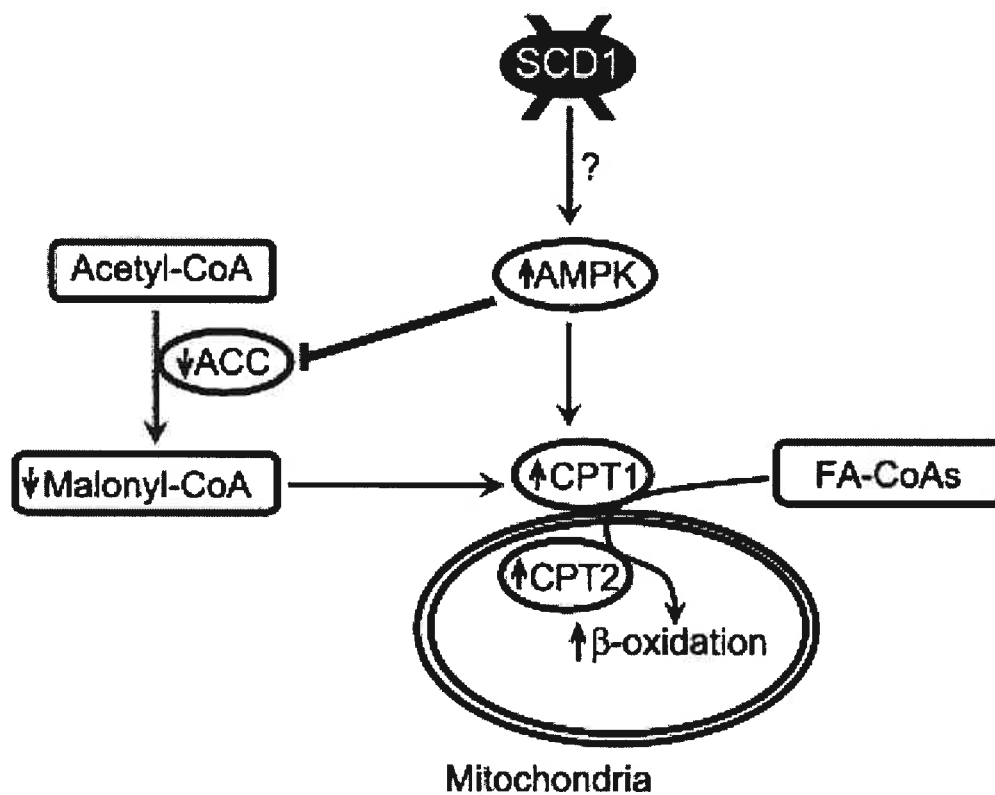


**Figure 11.** Illustration des mécanismes par lesquels les acides gras induisent la résistance à l'insuline dans le muscle. Une augmentation de l'arrivage et/ou une diminution de l'utilisation des acides gras par le muscle induisent une augmentation des métabolites tels le diacylglycerol, les fatty acyl-CoA, et les céramides. Ces métabolites activent une cascade de sérine/thréonine kinase (probablement via la protéine kinase C). Ceci mènera à une phosphorylation des sites de sérine/thréonine sur le IRS-1 et IRS-2 (insulin receptor substrate). Par la suite, il y aura une baisse de la capacité de l'IRS à activer la PI3-kinase. Conséquemment, le transport du glucose ainsi que d'autres événements en aval du signal généré par le récepteur insulínémique seront défectueux. Adapté de Shulman (187).

#### 1.4.5.3. La stéatose hépatique non-alcoolique

La stearoyl-CoA desaturase-1 ainsi que ses produits endogènes jouent un rôle crucial dans la régulation de l'accumulation des lipides au foie (30, 135, 136, 149). Miyazaki et al (131, 132) rapportent que l'absence de la SCD-1 protège les souris déficientes en leptine contre le gain d'adiposité ainsi que la stéatose hépatique. La protection contre la stéatose réside dans la diminution du contenu hépatique en triglycérides grâce à la stimulation de l'oxydation des lipides et la diminution de la lipogénèse (29). Cependant, les mécanismes exacts justifiant cette action anti-stéatotique de la déficience en SCD-1 au niveau du foie ne sont pas encore bien définis.

Dobrzyn et al (45) ont identifié l'AMPK comme mécanisme plausible responsable de la baisse de la stéatose chez les souris déficientes en SCD-1 (Fig. 12). L'AMPK inhibe l'action de l'ACC induisant ainsi une diminution du contenu en malonyl-CoA. Le malonyl-CoA est en même temps un intermédiaire de la lipogénèse et un inhibiteur de la CPT-1. Pour sa part, la CPT-1 contrôle l'entrée des acides gras dans la mitochondrie. Donc une baisse du niveau du malonyl-CoA dans la cellule augmenterait le taux d'oxydation des lipides, et en même temps, inhiberait la synthèse de ceux-ci (45). Cependant, le lien direct entre l'absence de SCD-1 et l'activation de l'AMPK n'est pas encore établi.

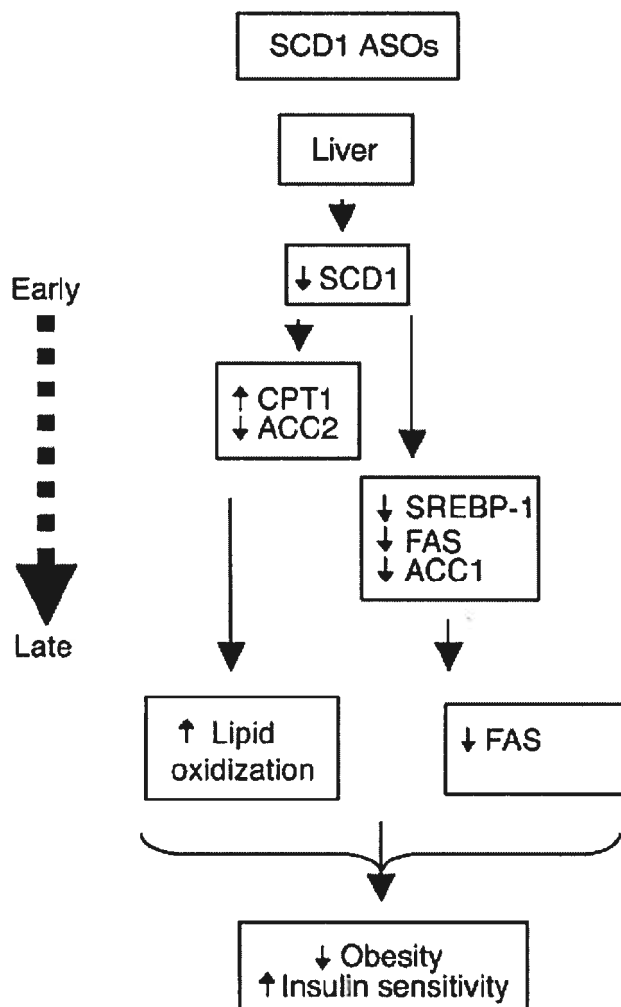


**Figure 12.** Schéma illustrant les effets de l'activation de l'AMPK hépatique suite à la déficience de SCD-1. L'activation de l'AMPK diminue l'activité de l'ACC, qui diminue à son tour le niveau du malonyl-CoA au niveau du foie. La baisse du contenu en malonyl-CoA stimule la CPT-1 et augmente le transport des acides gras dans la mitochondrie à des fins oxydatives. Le mécanisme d'activation de l'AMPK suite à la déficience en SCD-1 demeure toujours méconnu. Tiré de Dobrzyn et al, (45)

D'autres mécanismes impliquant des facteurs de transcription pourraient s'ajouter au rôle de l'AMPK dans l'explication du rôle anti-stéatotique joué par l'absence du gène de la SCD-1 (Fig. 13).

**1)** l'absence de la SCD-1 diminue l'expression du SREBP-1c (90, 136). Cet effet sur l'expression du SREBP-1c aurait comme conséquence une diminution de l'expression des enzymes de la lipogenèse (ex : la FAS) (Fig. 13).

**2)** l'absence de la SCD-1 stimule l'expression des gènes de la  $\beta$ -oxydation (ex : la CPT-1) (90).



**Figure 13.** Schématisation de quelques molécules potentiellement impliquées dans les effets de l'inhibition de la SCD-1 par oligonucleotides anti-sens (ASOs). Suite à cette inhibition, il se produit une augmentation de l'oxydation et une diminution de la synthèse des lipides dans le foie. Cette inhibition génétique provoque une augmentation des niveaux de la CPT-1 ainsi qu'une baisse de SREBP-1, de FAS, d'ACC1 et d'ACC2. Il serait probable que la baisse de FAS, d'ACC1 et d'ACC2 soit le résultat de la baisse du SREBP-1. Adapté de Jiang et al (90).

L'absence de la SCD-1 stimule l'expression des gènes de la  $\beta$ -oxydation dans le foie. Néanmoins, l'expression des PPAR $\alpha$ , un facteur de transcription stimulant l'expression de gènes à vocation oxydative, ne semblent pas figurer sur la liste de ces gènes (132). Miyazaki et al (132) ont démontré que la déficience en SCD-1, est capable d'augmenter l'oxydation des lipides, et ce même chez les souris déficientes en PPAR $\alpha$ . Les souris déficientes en SCD-1 et PPAR $\alpha$  semblent être protégées contre le gain d'adiposité ainsi que la stéatose hépatique. Conséquemment, l'implication des PPAR $\alpha$  dans l'activité oxydative stimulée par la baisse de la SCD-1 demeure donc à démontrer.

#### **1.4.6. Régulation de l'expression de la SCD-1**

##### **1.4.6.1. Action centrale vs action périphérique de la leptine**

La littérature traitant de la nature des effets de la leptine au foie demeure très controversée. Biddinger et al (12) rapportent que la leptine agit sur le système nerveux central plutôt que sur la périphérie afin de réguler l'expression de la SCD-1 dans le foie. De même, Ntambi et Miyazaki (144) rapportent que l'absence des récepteurs de la leptine au niveau central (hypothalamus) provoque une stéatose du foie même après injection de leptine. De plus, l'absence des récepteurs de la leptine au foie ne semble provoquer aucun signe de la stéatose hépatique (32). En outre, l'injection centrale du lactate, ayant des effets leptino-mimétiques, baisse significativement l'expression et l'activité enzymatique de la SCD-1 au foie (100, 116). Ces effets disparaîtraient après la section du nerf vague (100). La leptine, via son action centrale, activerait le système nerveux sympathique qui, à son tour, agirait sur la SCD-1 au niveau du foie dans le but de diminuer la stéatose hépatique

(87). Cependant, Lee et al (105) rapportent des résultats totalement opposés. La surexpression des récepteurs à la leptine spécifiques au foie diminuait le niveau des triglycérides hépatiques chez le rat Fa/Fa, souffrant d'une déficience du récepteur leptinémique (105). Selon ces différents scénarios, il semble que la leptine agirait directement sur le foie et/ou via l'hypothalamus pour réguler l'expression et l'activité de la SCD-1 dans le but de diminuer la stéatose hépatique. L'action périphérique de la leptine sur la SCD-1 pourrait exiger son action centrale !

Lee et al (105) ont proposé un concept qui raillerait ces différents mécanismes de l'action de la leptine sur le foie. D'après ces auteurs la leptine agit principalement sur le système nerveux central lorsque son taux plasmatique est bas ( $< 5$  ng/mL). La leptine agirait directement sur le foie via les récepteurs hépatiques dans les cas d'hyperleptinémie associée à une nutrition excessive ou une hyperphagie (64, 105). En résumé, le mécanisme de l'action de la leptine sur le foie doit être précisé. Il semble que les taux circulants de leptine représenteraient un déterminant important pour le site de son action.

En plus de la leptine, plusieurs facteurs hormonaux et nutritionnels, généralement reliés à la balance énergétique, régulent l'expression de la SCD-1 (144). Ces facteurs sont résumés dans le tableau 1.

**Tableau 1.** Facteurs impliqués dans la régulation de la stearoyl-CoA désaturase. Adapté de Ntambi et Miyazaki (144).

Dietary factors	Hormones	Other
▲ Glucose	▲ Insulin	▲ Temperature
▲ Fructose	▲ Growth hormone	▲ Iron
▲ Vitamin A	▲ Estrogen	▲ Liver-X-receptor agonist
▲ Cholesterol	▲ Androgen	▲ TGF- $\beta$
▲ Vitamin D	▼ Leptin	▲ Light
▼ Polyunsaturated fatty acids	▼ Glugacon	▲ $\beta$ -Amyloid
▲▼ Alcohol	▼ Thyroid hormone	▼ Thiazolidinediones
▲▼ Conjugated linoleic acid		▼ TNF- $\alpha$

#### 1.4.6.2. Régulation nutritionnelle : lipides et hydrates de carbone

La synthèse de la SCD-1 dans le foie est régulée positivement par les acides gras saturés (52) et négativement par les acides gras insaturés (88) chez le rat. Les études traitant de la régulation de l'expression de la SCD-1 avec un modèle diététique le font majoritairement dans une situation de jeûne-réalimentation. La cinétique de l'induction de l'expression de la SCD-1 avec ce modèle diététique est rapide. En recensant ces études, on se rend compte que l'expression de la SCD-1 est baissée drastiquement suite à un jeûne. Elle est ensuite stimulée fortement par l'ingestion d'une diète riche en hydrates de carbone et pauvre en lipides (HCLF) (92, 148). L'expression de la SCD-1 peut augmenter de deux fois après 6 heures et de 45 fois après 36 heures suite à ces manipulations (145). Par contre, l'expression de la SCD-1 diminue drastiquement lorsque la diète HCLF a été enrichie en acides gras polyinsaturés (145, 146). Cette cinétique de régulation suggère que :



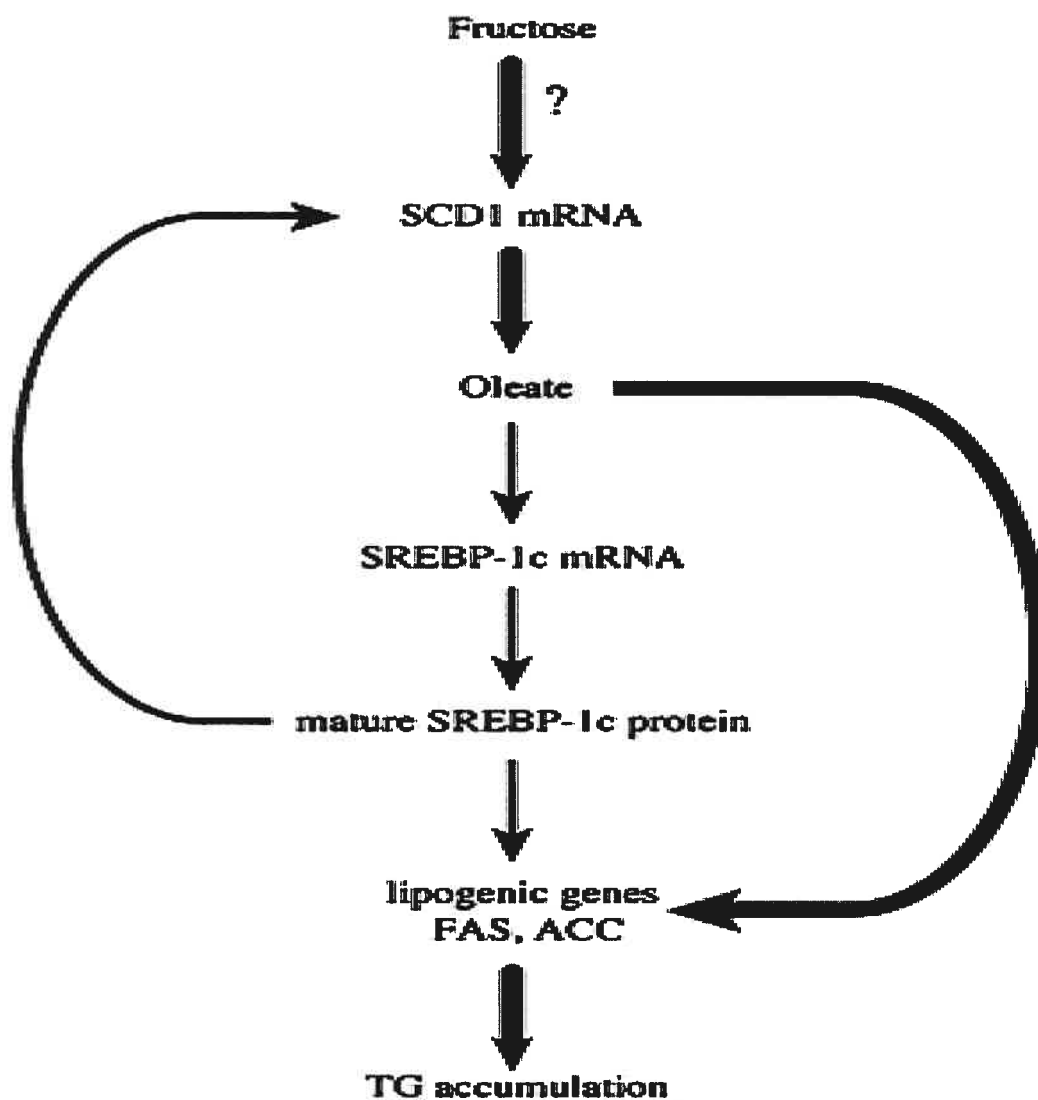
- 1) les hydrates de carbone ou leurs métabolites sont des inducteurs puissants de l'expression de la SCD-1 (contrôle positif).
- 2) les acides gras polyinsaturés ou leurs métabolites décroissent l'expression de SCD-1 (contrôle négatif).
- 3) la régulation de l'expression de SCD-1 par la diète est le résultat du contrôle de sa transcription.

#### 1.4.6.2.1. Particularité du fructose.

Le fructose induit l'expression génique de facteurs pro-lipogéniques dont le SREBP-1c ainsi que les gènes stimulés par ces facteurs dont la SCD-1 (131). Cependant, le fructose ne peut stimuler l'expression du SREBP-1c ni celle des autres gènes de la lipogenèse chez la souris SCD-1<sup>-/-</sup> (131, 132). De plus, l'expression de la SCD-1 est stimulée par le fructose même chez les souris déficientes en SREBP-1c. Conséquemment, la SCD-1 et son produit l'oléate semblent jouer un rôle régulateur dans l'expression de SREBP-1c lors d'une diète riche en fructose plutôt que l'inverse (Fig. 14).

Le fructose, par des mécanismes inconnus, induit l'expression de la SCD-1 qui par la suite stimule l'expression du SREBP-1c. Donc l'expression du SREBP-1c peut être le résultat de la stimulation de la SCD-1 plutôt que l'inverse lors de l'ingestion de fructose à forte concentration.

Ces résultats, dans leur ensemble, indiquent clairement la forte implication du fructose et l'importance de la SCD-1 dans l'induction de la lipogenèse hépatique. Par contre, l'absence de la SCD-1 protège contre la lipogenèse même lorsqu'elle est induite par de puissants stimuli comme le fructose.



**Figure 14.** Schéma représentatif du rôle potentiel de la SCD-1 et de l'oléate dans l'induction de la lipogenèse par le fructose. Le fructose induit l'expression du gène de la SCD-1. Cette induction permet la synthèse *de novo* de l'oléate. Cet acide gras mono-insaturé devient le médiateur de la lipogenèse résultant de l'ingestion du fructose par des facteurs dépendants et indépendants du SREBP-1c. Adapté de Miyazaki et al (131).

### 1.4.6.3. Régulation hormonale

La régulation nutritionnelle de la SCD-1 semble être le résultat d'une régulation hormonale. La diminution de l'expression de SCD-1 durant le jeûne et sa stimulation durant la réalimentation sont corrélées avec l'insuline et le glucagon (145). Durant la période de jeûne, le niveau plasmatique de glucagon est élevé induisant ainsi une inhibition de la synthèse des enzymes lipogéniques. Par contre, après la période de réalimentation, le niveau d'insuline est élevé ce qui stimule la synthèse des enzymes lipogéniques (145). Cependant, comme mentionné ci-haut, les acides gras saturés et polyinsaturés ont des effets opposés sur la synthèse des enzymes lipogéniques. Cette différence de réponse aux différents types d'acides gras ne peut malheureusement être expliquée par les taux plasmatiques d'insuline sachant qu'en phase postprandiale, l'insuline augmente indépendamment du type d'acide gras. Les acides gras polyinsaturés pourraient toutefois avoir un effet additif à l'action du glucagon ou la baisse de l'insuline sur l'inhibition de la synthèse des enzymes lipogéniques (145).

En résumé, il apparaît évident que la SCD-1 est un enzyme clé du métabolisme des lipides au foie. L'action de cet enzyme a des implications métaboliques importantes dans la pathologie de la stéatose hépatique et autres désordres en lien avec le syndrome métabolique.

### **1.5. Les effets de l'exercice physique sur la stéatose hépatique :**

Comme il a été mentionné plus tôt dans cette revue, la stéatose hépatique non-alcoolique est une composante du syndrome métabolique et est souvent associée à l'obésité et au diabète du type 2. Si d'une part, les effets bénéfiques de l'exercice physique sur la gestion du poids et du diabète sont bien documentés (86), d'une autre part, les effets de l'activité physique sur la stéatose hépatique sont moins bien connus, et ce même si la sédentarité fait partie de la liste des facteurs impliqués dans l'accumulation des lipides au foie (40). En raison de son appartenance au syndrome métabolique, il serait donc légitime de penser que la stéatose hépatique pourrait être traitée ou même prévenue par une approche non-pharmacologique englobant des changements du niveau d'activité physique et des habitudes alimentaires (26).

Récemment, Perseghin et al (157) ont rapporté que le niveau d'activité physique était inversement proportionnel à la quantité de lipides intra-hépatiques chez des sujets humains non-alcooliques et apparemment en bonne santé. De plus, Lavoie et Gauthier (102), dans un article revue, ont rapporté des données indiquant que l'entraînement physique peut inverser la stéatose hépatique chez le rat. Cependant, les effets de l'entraînement sur la stéatose hépatique, indépendamment de la perte de poids et des changements d'habitudes alimentaires, restent à démontrer.

#### **1.5.1. Lien entre la perte de poids et l'amélioration de la stéatose hépatique**

La majorité des études chez l'humain évaluent les bienfaits de l'exercice physique par le degré de la perte de poids. Hamaguchi et al (76) rapportent qu'une perte de

poids de 2.5kg sur une période de 1 à 2 ans était associée à la disparition de la stéatose hépatique. Par la suite, il a été démontré que les analyses biochimiques, histologiques et ultra-sono-graphiques du foie s'amélioraient suite à une perte de poids (27, 28, 71). Il semble alors que même de modestes pertes de poids améliorent la stéatose hépatique ainsi que la sensibilité à l'insuline. Ce n'est que récemment que l'exercice physique a été reconnu comme étant une approche bénéfique pour améliorer la stéatose hépatique et la sensibilité à l'insuline indépendamment de la perte de poids (26, 189).

#### **1.5.2. Lien entre la restriction calorique et l'amélioration de la stéatose hépatique**

Chez l'humain, l'exercice physique semble diminuer significativement la stéatose hépatique seulement lorsque jumelé à une restriction calorique (26). À cet effet, Ueno et al (202) ont rapporté que l'état de la stéatose hépatique s'était nettement amélioré du point de vue histologique chez des sujets obèses suite à un programme de trois mois d'activité physique jumelé à un régime alimentaire. Étonnamment, Terao et al (195) ont rapporté que la natation diminue la stéatose hépatique chez le rat seulement lorsque les exercices étaient effectués dans l'eau froide. Plus spécifiquement, les résultats chez l'humain et chez le rat suggèrent que les effets de l'activité physique sur la stéatose hépatique sont en général dépendants de la perte de poids et/ou de l'augmentation de la dépense énergétique.

### **1.5.3. Interaction entre la diète et l'entraînement physique**

Les études ayant rapporté des effets significatifs de l'entraînement physique sur la stéatose hépatique sans restriction calorique étaient en majorité associées à un régime riche en lipides. Néanmoins, Gauthier et al (67, 68) ont rapporté qu'un entraînement de 8 semaines diminuait significativement la stéatose hépatique associée à une diète riche en lipides chez le rat. Dans la première étude (68), l'entraînement était introduit au même moment que la diète. Dans la deuxième étude (67), l'entraînement physique de 8 semaines était introduit au milieu d'une diète riche en lipides de 16 semaines. Ces deux études issues de notre laboratoire confirment les résultats obtenus par Narayan et al (140) Trudell et al (198) et Estadella et al (53), rapportant tous qu'un entraînement physique diminue l'impact de la stéatose hépatique lorsqu'il est jumelé à une diète riche en lipides ou en alcool chez le rat.

En conclusion, il semble que l'entraînement physique sans restriction calorique diminue significativement la stéatose hépatique seulement lorsqu'il est jumelé à des diètes riches en lipides ou en éthanol. On ignore alors si l'entraînement physique serait bénéfique lorsque la stéatose a une cause autre que le modèle diététique.

### **1.5.4. Effets de l'entraînement physique sur la stéatose hépatique : mécanismes impliqués**

Les études au sujet des effets de l'entraînement sur la stéatose hépatique ont majoritairement été limitées à la quantification des triglycérides hépatiques. Les effets de l'entraînement ont été représentés comme indirects. Ces effets indirects sont la diminution de la lipolyse périphérique induisant une réduction du niveau

d'acides gras circulants et une augmentation de l'oxydation des lipides en périphérie (68, 102). Donc, malgré les évidences de l'impact positif de l'activité physique sur la stéatose hépatique, il reste que les mécanismes directs de l'entraînement au niveau du foie ne sont que partiellement établis. Dans la littérature, seulement le volet de l'oxydation et de la synthèse des lipides ont été caractérisés lors d'une situation d'entraînement physique. Les adaptations de la synthèse et de l'exportation des VLDL sont ceux les moins élucidés. Actuellement, des études en cours, à notre laboratoire tentent d'éclaircir cet aspect des adaptations de la gestion des lipides hépatiques suite à l'entraînement physique.

#### **1.5.4.1. Effets de l'entraînement physique sur l'oxydation des lipides hépatiques**

Au niveau du foie, l'entraînement physique chronique stimule l'activité de l'AMPK en plus d'augmenter l'expression et le contenu protéique des sous-unités  $\alpha 1$  et  $\alpha 2$  (193). L'AMPK est activée par l'exercice aigu et cette activation persiste en post-exercice au niveau du muscle, du foie et du tissu adipeux (168). Comme il a été décrit plutôt dans cette revue, l'activation de l'AMPK stimule la CPT-1 au niveau hépatique (45). Conséquemment, l'activation de l'AMPK avec l'entraînement augmenterait le taux d'oxydation des lipides hépatiques (45).

Si on admet que l'entraînement physique possède le potentiel pour augmenter l'oxydation hépatique des lipides, il n'est pas certain que ce mécanisme ne soit pas sans effet délétère. Ainsi, une oxydation accrue des acides gras impliquant l'activation des PPAR $\alpha$  pourrait engendrer un stress oxydatif au foie. Selon la théorie de Day et Daly (36), la production des radicaux libres et la peroxydation des

lipides, (impliquant entre autres les PPAR $\alpha$ ), seraient impliquées dans la genèse de l'inflammation transformant la stéatose hépatique en stéato-hépatite. Par ailleurs, il a été rapporté que l'exercice physique aigu augmente l'oxydation des lipides au foie et aide à diminuer le contenu hépatique en lipides (8). Cependant, aucune étude à notre connaissance n'a traité des effets directs de l'entraînement physique chronique sur l'oxydation des lipides ainsi que sur l'expression des PPAR $\alpha$ . En conséquence, nos connaissances des effets de l'entraînement chronique sur l'oxydation des lipides au niveau hépatique restent limitées à l'induction de la réponse de l'AMPK.

#### **1.5.4.2. Effets de l'entraînement physique sur la lipogenèse**

L'entraînement diminue le potentiel du foie à synthétiser les acides gras (74). L'induction de l'AMPK par l'exercice aigu et chronique au niveau hépatique semble être impliquée dans ce processus. L'AMPK inhibe la synthèse des lipides en inactivant l'ACC et en activant la malonyl-CoA décarboxylase; cette dernière étant responsable de la dégradation du malonyl-CoA. (45). L'AMPK supprime l'expression génétique de l'ACC1 et celle de la FAS, probablement via la diminution de l'expression du facteur de transcription SREBP-1c (217).

De plus, l'entraînement physique aigu et chronique semble diminuer l'expression de la FAS dans le foie (57). Les effets de l'entraînement seraient dépendants du type de la diète. De façon plus spécifique, l'exercice physique aigu et chronique diminuerait significativement la lipogenèse hépatique chez le rat nourri avec une diète riche en hydrates de carbones complexes. Les effets de l'entraînement sur la lipogenèse sont atténués lors de l'ingestion d'une diète riche en fructose (57). Les principaux mécanismes responsables de cette baisse de la lipogenèse dans le foie



ont été attribués aux variations hormonales de l'insuline et du glucagon pendant l'exercice aigu.

#### **1.5.4.2.1. Implication de l'insuline dans la lipogenèse**

Il est bien connu que l'insuline stimule la lipogenèse dans le foie (154). D'autre part, l'entraînement diminue la concentration d'insuline (57). En conséquence, la baisse de l'insuline suite à l'entraînement pourrait être à l'origine de la diminution de la lipogenèse hépatique. Cependant, il a été démontré que les effets de l'entraînement sur la lipogenèse hépatique étaient indépendants des concentrations d'insuline (56). L'exercice baisse les niveaux de la FAS aussi bien chez des rats normaux que chez des rats diabétiques (56). Un autre argument pourrait supporter la dissociation entre l'insuline et la lipogenèse dans le foie: le fructose stimule fortement la lipogenèse hépatique *de novo* sans stimuler la sécrétion d'insuline pour autant (83). Le fructose en stimulant la glycolyse fournirait des intermédiaires qui seraient impliqués dans la fourniture de précurseurs lipogéniques.

A notre connaissance, seulement la FAS a fait l'objet des études sur les adaptations moléculaires induites par l'entraînement physique sur la lipogenèse hépatique.

### 1.5.4.3. Effets de l'entraînement physique sur la leptine

Comme il a été mentionné plus tôt dans cette revue, la leptine peut protéger les organes autres que le tissu adipeux contre l'accumulation des lipides (105, 203). De plus, la résistance à la leptine a été récemment considérée comme étant la cause principale de l'accumulation des lipides dans le foie (58). Il a été rapporté également que l'administration de leptine chez des humains et des souris déficients en leptine diminuerait la sévérité de la stéatose hépatique (30). L'infusion de leptine chez des rats non-déficients mais plutôt résistants à son action, baisse significativement le contenu hépatique en lipides (58). Il est donc intéressant d'étudier les effets de l'entraînement sur la leptine.

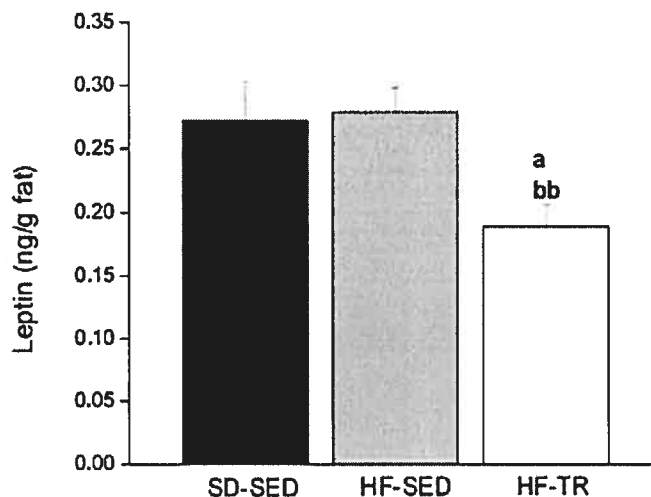
En dépit du fait que le taux plasmatique de la leptine corrèle positivement avec l'adiposité, l'entraînement physique diminue ce taux plasmatique indépendamment du niveau d'adiposité chez l'humain et l'animal (67, 79, 89) (Fig. 15). La diminution de la leptine avec l'entraînement est très rapide. Elle peut avoir lieu après seulement une semaine d'entraînement alors que le niveau d'adiposité était toujours similaire entre les animaux sédentaires et entraînés (données non-publiées issues de notre laboratoire).

En bref, l'entraînement physique baisse rapidement et significativement le taux plasmatique de la leptine, hormone anti-stéatotique par excellence, au-delà des changements d'adiposité. Étonnamment, l'entraînement physique baisse le taux plasmatique de la leptine tout en procurant une protection contre la stéatose hépatique (67, 68). Ces observations soulèvent les questions suivantes :

1) Comment l'exercice physique peut-il maintenir cette capacité à diminuer l'infiltration lipidique au foie malgré une baisse de leptinémie? Un élément de réponse à cette question nous est fourni par les travaux récents de Lam et al (100). Pendant l'exercice, il y a une libération importante de lactate et d'IL6 par les muscles (100, 155). Ces deux facteurs potentialisent l'action centrale et périphérique de la leptine (116). Conséquemment, on pourrait spéculer que la production de lactate et d'IL6 potentialise l'action de la leptine comme adaptation à l'entraînement.

2) La leptine fonctionne-t-elle encore comme agent anti-stéatotique dans une situation d'entraînement physique ? Premièrement, comme il a été déjà mentionné dans cette revue, le taux plasmatique de la leptine pourrait déterminer le site central et/ou périphérique de son action (105). La leptine semble agir principalement au niveau de l'hypothalamus, plutôt qu'en périphérie, lorsque son niveau plasmatique est bas (105). Conséquemment, la baisse de leptinémie suite à l'entraînement physique serait un indicateur du déplacement de l'action de celle-ci du foie vers le système nerveux central (l'hypothalamus). De plus, une augmentation de la sensibilité à l'action centrale de la leptine suite à un programme d'entraînement comme il a été rapporté par Patterson et Levin (153) pourrait être une possibilité selon laquelle la leptine continuerait à protéger le foie contre la stéatose hépatique dans une situation d'entraînement physique.

La baisse de la leptine ainsi que les mécanismes responsables de cette baisse représentent toujours des inconnus en regard de l'activité physique. Cependant, une hypothèse intéressante serait que l'entraînement physique fasse en sorte que la gestion métabolique de l'action de la leptine passe par le cerveau.



**Figure 15.** Concentration de la leptine plasmatique exprimée en valeur relative par rapport à l'adiposité. SD, diète standard; HF, diète riche en lipides; SED, animaux sédentaires; TR, animaux entraînés. a: significativement différent du groupe nourri de la diète SD  $P < 0.05$ . bb: significativement différent du groupe nourri de la diète HF  $P < 0.01$ . Tiré de Gauthier et al (67).

En résumé, il existe des évidences scientifiques que l'exercice physique exerce un effet positif sur l'accumulation des lipides au foie chez l'humain et l'animal. Par contre il n'existe aucune information précise sur les mécanismes moléculaires potentiellement responsables de cette action.

## 1.6. Hypothèses et objectifs des études de la thèse

En recensant les études traitant du désentraînement, il est évident que le muscle et le tissu adipeux sont les principaux tissus ayant retenu l'attention au fil des années. Les études indiquent que l'arrêt de l'entraînement induit une prise rapide d'adiposité et une résistance à l'action de l'insuline au muscle chez les rongeurs et chez l'humain (4,16, 24, 33, 46, 99, 103, 151, 200). Il n'existe cependant aucune étude, à notre connaissance, qui s'est intéressée à la réponse métabolique du foie suite à l'arrêt de l'entraînement. De plus, aucune étude n'a traité des effets concomitants de l'arrêt de l'entraînement et d'un stimulus d'obésité telle une diète riche en lipides.

Afin de palier à cette lacune, nous avons réalisé **l'étude 1**. Cette première étude avait pour but de vérifier l'existence d'effets résiduels suite à l'entraînement pouvant prévenir les désordres métaboliques et hépatiques induits par une diète riche en lipides.

Les principaux résultats indiquent que les animaux reprenaient la graisse perdue suite à l'arrêt de l'entraînement et atteignaient exactement le même niveau d'adiposité que chez les rats sédentaires soumis à une diète riche en lipides. Ce regain d'adiposité n'a pu être prévenu par une restriction calorique. Cependant, le foie semblait être protégé contre les effets de l'arrêt de l'entraînement même lorsqu'une diète riche en lipides était introduite directement après la cessation de l'entraînement physique. Ceci pouvant être attribué au niveau d'acides gras libres circulants maintenu bas après l'arrêt de l'entraînement.

En continuité avec ces résultats, nous avons réalisé **une seconde étude** dans le but de vérifier la durabilité des effets résiduels de l'entraînement physique au niveau de la prévention des détériorations métaboliques associés au regain d'adiposité. Pour ce faire, les rats préalablement entraînés ont bénéficié d'une période d'arrêt d'entraînement de 4 semaines suite à un programme d'entraînement de 8 semaines. Par la suite, nous avons soumis les animaux à une diète riche en lipides. Nos principaux résultats mettent en doute la réversibilité des effets de l'entraînement. Nos résultats indiquent qu'à moyen terme après la cessation d'entraînement, il n'existe aucune protection métabolique. Au contraire, les animaux préalablement entraînés semblent être plus vulnérables aux effets d'une diète riche en lipides que les animaux sédentaires ou les animaux venant tout juste de terminer leur programme d'entraînement de 8 semaines. Nous ignorons cependant si cette vulnérabilité se neutralisera ou au contraire s'aggravera à plus long terme après l'arrêt de l'entraînement.

Les études 3 et 4 ont été réalisées afin d'investiguer les effets de l'entraînement sur les adaptations intra-hépatiques survenant suite à des modèles diététiques pro-lipogéniques.

Dans **l'étude 3** nous avons ainsi examiné les effets de l'entraînement physique en association avec une diète riche en lipides ou en hydrates de carbone sur la stéatose hépatique. Cette étude a mis en évidence les effets directs de l'activité physique sur les mécanismes intra-hépatiques de la gestion des lipides. Les principaux résultats de cette troisième étude indiquent que l'entraînement physique diminue significativement l'expression (ARNm) et la quantité protéique de la stéaroyl-CoA desaturase-1 (SCD-1), enzyme clé de la synthèse des triglycérides

dans le foie lorsque les animaux étaient nourris d'une diète riche en lipides. Les effets de l'entraînement sur la SCD-1 étaient diminués lorsque les animaux étaient soumis à une diète riche en hydrates de carbone constitués principalement de fructose.

Finalement, **l'étude 4** a été réalisée dans le but d'étudier les effets de l'entraînement sur un arrivage accru de lipides au foie. Pour ce faire, nous nous sommes inspirés du modèle de jeûne suivi d'une réalimentation normale. Ce modèle a été initialement utilisé pour étudier le regain d'adiposité lorsque la nourriture redevenait abondante après une restriction calorique (80, 114, 117). Nous avons extrapolé ce modèle au foie sachant que cet organe joue un rôle crucial dans le tamponnage de l'excès des lipides circulants. Nous avons alors soumis les animaux entraînés ou sédentaires à un jeûne suivi d'une réalimentation d'une diète normale ou d'une diète riche en lipides ou en fructose pendant 24 heures avant le sacrifice. Les résultats de cette étude indiquent que l'entraînement peut stimuler la lipogenèse *de novo* suite à une diète riche en fructose, suggérant ainsi une augmentation de la synthèse et de l'exportation des VLDL.

**Les résultats des études 3 et 4** font l'objet d'un seul manuscrit.

## 2. Chapitre 2- études expérimentales

### 2.1. Étude 1-

#### **Titre**

Effects of ingestion a high-fat diet upon exercise training cessation on fat accretion in the liver and adipose tissue in rats.

#### **Auteurs**

Siham Yasari, Amélie Paquette, Alexandre Charbonneau, Marie-Soleil Gauthier, Roland Savard et Jean-Marc Lavoie

#### **Journal**

Étude publiée dans le *Applied Physiology Nutrition and Metabolism* en 2006.

Appl. Physiol. Nutr. Metab. 2006, 31 : 367-375.



**EFFECTS OF INGESTING A HIGH-FAT DIET UPON EXERCISE TRAINING  
CESSATION ON FAT ACCRETION IN THE LIVER AND ADIPOSE TISSUE IN  
RATS**

Siham Yasari<sup>1</sup>, Amélie Paquette<sup>1</sup>, Alexandre Charbonneau<sup>1</sup>, Marie-Soleil Gauthier<sup>1</sup>,  
Roland Savard<sup>2</sup>, and Jean-Marc Lavoie<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Kinesiology, University of Montreal, and <sup>2</sup>Department of Biological  
Sciences, University of Quebec in Montreal, Montreal, Canada

Running title: Effects of training cessation and high-fat diet in rodents

Mailing proofs: Dr. Jean-Marc Lavoie  
Département de kinésiologie  
Université de Montréal  
C.P. 6128, Succ. centre-ville  
Montréal (Québec) Canada H3C 3J7  
Tel: (514) 343-7044  
Fax: (514) 343-2181



**Abstract:** The purpose of the present study was to determine if exercise trained rats might benefit from protection against fat accumulation in response to an obesity stimulus initiated upon training cessation. Two groups of female rats were either treadmill trained for 8 weeks (DTr) or remained sedentary (Sed). They were then submitted either to a high-fat diet (HF; 42 E%) or kept on a standard diet (SD; 12.5 E% lipids) for another 6 weeks while remaining sedentary. Fat accumulation in liver and adipocytes along with fat-cell diameter and plasma free fatty acid (FFA) levels were measured 0, 2, and 6 weeks after training cessation. Immediately after the training period ( $t = 0$ ), DTr rats exhibited similar body mass and higher dietary intake but smaller body fat content (4 fat pads) compared with Sed rats. DTr rats, under both diets, exhibited higher gains in body fat than Sed rats (DTr vs. Sed, 71% vs. 8% and 132% vs. 55% for SD and HF, respectively), such that fat mass in all 4 depots was similar to Sed rats 6 weeks after training cessation. Despite higher adipocyte fat accretion, liver lipid infiltration was not increased in DTr animals and plasma FFA levels were lower throughout the detraining period. In addition, plasma leptin levels remained lower in DTr animals throughout the detraining period under the HF diet condition. The present results indicate that previously exercise trained rats are not protected against adipocyte fat accumulation whether they ingest a standard or a high-fat diet.

*Key words:* fat cell size, caloric intake, hepatic steatosis, leptin, plasma lipids.

**Résumé :**

Cette étude se propose de vérifier si des rats entraînés à l'effort physique bénéficient d'une protection contre l'accumulation de gras provoqué par un stimulus obésigène présenté à la cessation de l'entraînement. Des rats sont réparties dans deux groupes : un groupe témoin sédentaire (Sed) et un groupe soumis à un programme d'entraînement (DTr) sur tapis roulant d'une durée de 8 semaines. Après la période d'entraînement, les 2 groupes sont soumis durant 6 semaines soit à un régime hyperlipidique (HF; 42 % de l'énergie totale) soit à un régime normal (SD; 12,5 % de l'énergie totale) tout en demeurant inactifs. Dès la cessation, 2 semaines après et 6 semaines après la fin de l'entraînement, on mesure l'accumulation de gras dans le foie et dans les adipocytes ainsi que le diamètre des adipocytes et la concentration plasmatique d'acides gras libres. Dès la fin de la période d'entraînement ( $t = 0$ ), les rats entraînés (DTr), comparativement aux rats témoins (Sed), ont la même masse corporelle, mangent plus, mais affichent moins de gras corporel (quatre coussinets adipeux). Quel que soit le régime adopté à la suite de la période d'entraînement, les rats entraînés augmentent davantage leur masse corporelle que les rats sédentaires (DTr vs. Sed, 71 vs. 8 % et 132 vs. 55 % en SD et HF, respectivement) à un tel point que, 6 semaines après la cessation, le contenu adipeux de leurs 4 coussinets adipeux est le même que celui observé chez les rats sédentaires. Malgré une plus grande accumulation de gras dans les adipocytes, on observe chez les DTr moins d'infiltration hépatique des lipides et une plus faible concentration d'acides gras libres tout au long de la période post-entraînement. De plus, on observe chez les rats entraînés des concentrations moindres de leptine tout au long de la période post-entraînement dans la condition HF. Nos observations indiquent que des rats ayant eu un programme

d'entraînement ne sont pas protégés contre l'accumulation de gras dans les adipocytes quel que soit le régime alimentaire : régulier ou hyperlipidique.

*Mots clés* : dimension des adipocytes, apport calorique, stéatose hépatique, leptine, lipides plasmatiques.

## Introduction

Exercise training is an important component for the successful treatment and management of obesity and type 2 diabetes (see Jakicic and Otto 2006 for a review). Recent studies from this laboratory have indicated a marked beneficial effect of exercise training against liver lipid infiltration, fat deposition in all visceral fat depots in rats, and plasma free fatty acid (FFA) concentrations in response to high-fat feeding in rats (Gauthier et al. 2003, 2004). Although the exact mechanisms remain unknown, these data do demonstrate the beneficial effect of regularly performed exercise on reducing fat accumulation and deterioration of the plasma lipid profile under high-fat diet conditions. Obesity and its associated metabolic deteriorations are often associated with high-fat diet regimens and a lack of physical activity (Satia-Abouta et al. 2002). With respect to this effect, it is important to recall previous data on training cessation that may have been overlooked in view of the epidemic development of obesity and type 2 diabetes in recent years. It has been reported in numerous studies published in the 1970s and 1980s that cessation of exercise training results in rapid fat accretion and increased fat cell size in rats (Applegate et al. 1984; Booth et al. 1974; Craig et al. 1983; Dohm et al. 1977) and in hamsters (Tsai et al. 1982). Body fat accretion with detraining is attributed to increased food intake in some studies (Applegate et al. 1984; Applegate and Stern 1987), but associated to an increased energetic efficiency in others (Arnold and Richard 1987; Lambert et al. 1994). Overall, however, it seems that this phenomenon, which may be somewhat similar to the fast re-feeding phenomenon (Hill et al. 1988; Levin and Dunn-Meynell 2000), is not clearly understood and on a clinical basis has not been really considered.

Cessation of exercise has spurred recent interest not only because it results in body fat accretion, but also because it may constitute a stimulus for the development of

obesity and its associated disorders (Shepard et al. 2001; Petibois et al. 2004). Applegate et al. (1984) suggested that detraining may represent a pre-obese state. It is not known if the combination of training cessation and fat ingestion might constitute an increased risk of developing obesity or if previously trained animals are more resistant to fat gain in response to this obesity stimulus, as is the case when they exercise regularly. A similar combination was previously investigated in hamster (Sandretto and Tsai 1988; Tsai and Gong 1987) and in human (Shepard et al. 2001). However, in those studies, discontinuation of training was limited to a short period of time (1 to 7 or 8 days) and the high-fat (HF) diet did not enhance body fat gain (Sandretto and Tsai 1988; Tsai and Gong 1987). It is also not known if trained rats who recently stopped exercising are as susceptible as or less susceptible so than sedentary persons to the development of liver lipid infiltration in response to HF feeding. Exercise training has been reported to be more efficient in preventing fat accumulation in liver than in adipocytes in HF-fed rats (Gauthier et al. 2003). Thus, the question of liver lipid infiltration with training cessation is of particular importance. To our knowledge, this question has been considered in only 1 study in which rats were detrained for only 3 d (Lowney et al. 1988). Finally, data on the effects of training cessation on blood lipid profile have been limited to measurements of blood cholesterol and triacylglycerol levels, whether in rat or in human (Motoyama et al. 1995; Sandretto and Tsai 1988; Tsai and Gong 1987). Consequently, no information exists on the effects of training cessation on plasma FFA levels. This information is important, since plasma FFA level is an important contributor of hepatic lipid uptake and thus liver lipid infiltration (Gauthier et al. 2003).

The purpose of the present study was to test the hypothesis that exercise-trained rats may benefit from protection against fat accretion in liver and adipocytes and

against deteriorations of plasma FFA levels in response to an HF diet initiated upon training cessation.

## Materials and methods

### Animal care

Female Sprague–Dawley rats ( $n = 100$ , Charles River, St-Constant, Que.), weighing 180–200 g (6 weeks of age) upon their arrival were housed individually and had ad libitum access to food and tap water. Female rats were used in the present study to avoid the important effect of exercise training on body mass in male rats (Hoffman-Goetz and MacDonald 1983). The diet, now referred to as the standard diet (SD, 12.5 energy% (E%) lipid, 63.2 E% carbohydrate, and 24.3 E% protein) consisted of usual pellet rat chow (Agribands Purina Canada, Woodstock, Ont.). Their environment was controlled in terms of light (12 h light :12 h dark cycle starting at 06:00), humidity, and room temperature (20–23 °C). All experiments described in this report were conducted according to the directives of the Canadian Council on Animal Care.

### Exercise and diet protocol

#### Phase 1

Four days after their arrival, all animals were randomly assigned to a sedentary (Sed) or an exercise-trained group. Exercise training consisted of continuous running on a motor-driven rodent treadmill (Quinton Instruments, Seattle, Wash.) 5 times each week for 8 weeks. As in one of our previous studies (Gauthier et al. 2003), the exercise intensity was progressively increased from 15 min/d at 15 m/min, 0% slope, up to 60 min/d at 26 m/min, 10% slope, for the last 4 weeks. At the end of this 8 week period, 2 groups of 10 animals, 1 Sed and 1 trained, were sacrificed ( $t = 0$ ) to provide baseline values for the training effects. Trained animals



were sacrificed 48 h after the last training session to eliminate the acute effects of the last exercise bout while being fed the SD diet. All other trained animals stopped exercising; from that point in time, all animals remained sedentary.

## **Phase 2**

Immediately after training cessation, Sed and trained rats, the latter from now on referred to as detrained (DTr), were subdivided into 2 groups. One sub-group of animals was assigned to an HF diet. The diet consisted of 42 E% lipids (80% lard, 20% corn oil), 36 E% carbohydrate, and 22 E% protein provided in small pellets from ICN Biomedicals LTD (Costa Mesa, Calif.). The other sub-group continued to be fed with the standard diet (SD). Hence, the 4 experimental groups consisted of Sed rats fed ad libitum either an HF or an SD diet and DTr rats also fed ad libitum an HF or an SD diet. The 4 groups were Sed-SD, DTr-SD, Sed-HF, and DTr-HF rats, each of which consisted of 20 rats. Ten animals in each of these 4 groups were sacrificed 2 and 6 weeks ( $t = 2$  and  $t = 6$ ) after training cessation. Rats were weighed daily and their food intake in grams was monitored daily throughout the 2nd phase of the protocol, making corrections for food found at the bottom of the cage.

## **Blood and tissue sampling**

At the end of their respective dietary manipulation following training cessation ( $t = 0$ , 2, or 6), animals were sacrificed between 09:00 and 11:00. Access to food was removed from the animals at least 3 h before sacrifice. After complete anaesthesia (pentobarbital sodium, 50 mg/kg i.p.), the abdominal cavity was rapidly opened following the median line of the abdomen. Blood was rapidly (<45 s) drawn from the abdominal vena cava (~4 mL) into syringes pretreated with EDTA (15%). Thereafter, blood was centrifuged (3000 r/min (2000g) for 8 min at a temperature of 4 °C). The

liver and the mesenteric (Mes), urogenital (Ug), retroperitoneal (Rp), and subcutaneous (Sc) fat depots were excised and weighed in that order. The Mes fat pad consisted of adipose tissue surrounding the gastrointestinal tract from the gastro-oesophageal sphincter to the end of the rectum, with special care taken in distinguishing and removing any pancreatic cells. The Ug fat pad included adipose tissue surrounding the kidneys, ureters, and bladder, as well as around the ovaries, oviducts, and uterus. The Rp fat pad was taken as the distinct deposit behind each kidney and along the lumbar muscles. For the Sc depot measurement, a rectangular piece of skin was taken on the right side of each animal, from the median line of the abdomen to the spine and from the right hip to the last rib (Krotkiewski and Bjorntorp 1976). All tissue samples that were not immediately used were frozen in liquid nitrogen after being weighed. The liver median lobe was freeze clamped and used for triacylglycerol (TAG) determinations. All plasma and tissue samples were stored at  $-78^{\circ}\text{C}$  until analysis.

### **Fat cell diameter**

After weighing, 300 mg of each fat pad was rapidly processed for determination of fat cell diameter as described by Després et al. (1983). Briefly, pieces of tissue were minced in polyethylene vials containing Krebs – albumin bicarbonate buffer and 1 mg/mL collagenase (Roche 1213865, Roche Diagnostics, Mannheim, Germany). Thereafter, the atmosphere of the flasks was saturated with 95%  $\text{O}_2$  and 5%  $\text{CO}_2$ . Adipocytes were then incubated in a shaking water bath at  $37^{\circ}\text{C}$  for 30 min (40 min for subcutaneous cells) with a shaking frequency of 100 cycles/min. The digested pieces were filtered through a nylon mesh for separation of fat cells from the stroma. The filtrate was collected in a graduated polyethylene tube to avoid cell breakage. The infranatant was aspirated with polyethylene pipets. The floating adipocytes were

then resuspended in 5 mL of fresh Krebs–albumin. This process was repeated 4 times to eliminate any remaining collagenase. The adipocytes were stored in the Krebs–albumin for 2 min between 2 washes. The final suspension was gently stirred and 50  $\mu$ L was taken and dropped in 25  $\mu$ L of 0.4% trypan blue.

Fat cell size was assessed microscopically in the hour following their mixing with Trypan blue with the use of a Nikon-optiphot microscope (10 $\times$ ) and the Image Pro 4.5 program (Media Cybernetics, Markham, Ont.). At least 100 cells per sample were used for each determination.

### **Total DNA content**

Total DNA content, which is consistent with the number of adipocytes, was determined from the mesenteric tissue stored at  $-78^{\circ}\text{C}$  (Cariou et al. 2004). About 100 mg of tissue was homogenized, and genomic DNA was extracted using TriReagent (Molecular Research Center, Cincinnati, Ohio). DNA was measured by spectrophotometry and total DNA content from the mesenteric fat pad was determined by multiplying DNA concentration in each sample by the total fat pad mass relative to body mass for each rat (Cariou et al. 2004).

### **Analytic procedures**

Plasma FFA concentrations were measured by colorimetric assay with commercially available kits from Roche Diagnostics. Plasma leptin concentrations were measured by radioimmunoassay with commercially available kits from Linco (St. Charles, Miss.). Liver TAG concentration was estimated from glycerol released after ethanolic KOH hydrolysis by colorimetry using commercial kits (Roche Diagnostics). Although this method does not discriminate between glycerol from phospholipids or TAG,

Frayn and Maycock (1980) have shown that omitting removal of phospholipids leads to only a  $\pm 2\%$  error in the determination of tissue TAG.

### **Statistical analysis**

Values were expressed as means  $\pm$  SE. Statistical analyses were performed by 2-way analysis of variance (ANOVA) for nonrepeated measures using training state and time as main effects. Since the present study was not designed to study the effects of an HF vs. an SD diet, each diet condition was analysed separately. Fisher's post hoc test was used in the event of a significant ( $p < 0.05$ )  $F$  ratio in both of these analyses.

## Results

### Body mass and caloric intake

There was no significant ( $p > 0.05$ ) difference in body mass between the trained and sedentary rats at the end of the training program ( $t = 0$ , [Table 1](#)). Under the SD diet condition, body mass was not changed in any group 2 weeks after cessation of training. Six weeks after cessation of training, however, body mass was significantly ( $p < 0.01$ ) increased in the DTr group. Under the HF diet condition, body mass was increased in both Sed and DTr groups after 2 and 6 weeks, but the increase was more accentuated in the DTr group such that significantly ( $p < 0.05$ ) higher body masses were found in the DTr than in the Sed group. The 8 week training period was associated with an approximately 16% higher ( $p < 0.05$ ) caloric intake in trained rats ( $t = 0$ , [Table 1](#)). Under the SD diet condition, the higher caloric intake was also observed in DTr rats 2 and 6 weeks after cessation of training ( $p < 0.05$ ). Under the HF diet condition, cessation of training was associated with an even greater ( $p < 0.01$ ) caloric intake in DTr than in Sed rats in the first 2 weeks, but the difference in caloric intake between DTr and Sed rats was no longer observed after 6 weeks.

### Mesenteric tissue DNA content

Total DNA content measured from the mesenteric tissue, was significantly ( $p < 0.05$ ) higher at the end of the detraining period ( $t = 6$ ) under the HF diet condition in both Sed and DTr rats ([Table 1](#)).

### Fat gain under the SD diet condition

As expected, exercise training resulted in significantly ( $p < 0.05$ ) lower values in the sum of the intra-abdominal fat depots (Mes, Ug, and Rp) and in the Sc fat pads

(Fig. 1,  $t = 0$ ). These lower fat mass values with training were still observed 2 weeks after cessation of training under the SD diet condition in the intra-abdominal ( $p < 0.05$ ; Fig. 1A) but not in the Sc ( $p > 0.05$ ) fat depots (Fig. 1B). Remarkably, there was no significant ( $p > 0.05$ ) gain in fat mass in any of the fat sites for either group during the first 2 weeks after training cessation under the SD diet condition. The initial difference in fat mass values between DTr and Sed animals, however, completely disappeared 6 weeks after cessation of training under the SD diet condition, as a significant ( $p < 0.05$ ) increase in fat mass was found in DTr rats between the 2nd and 6th week in the sum of the intra-abdominal fat sites and in the Sc fat pads (Fig. 1A).

#### **Fat gain under the HF diet condition**

When rats were assigned to an HF diet after cessation of training, a significant ( $p < 0.01$ ) gain in fat deposition was observed after 2 and 6 weeks, compared with week 0, in the sum of the intra-abdominal and in the Sc fat pads ( $p < 0.05$ ) in both groups (Fig. 1). However, the fat gain under these circumstances was more important in DTr than in Sed rats, since the lower fat pad weights observed in DTr animals ( $t = 0$ ) were no longer significant ( $p > 0.05$ ) in intra-abdominal and Sc fat depots 2 and 6 weeks after cessation of training. A significant ( $p < 0.01$ ) increase in fat pad mass in DTr rats between the 2nd and the 6th weeks of HF feeding was observed for the intra-abdominal fat pads (Fig. 1A).

#### **Fat cell diameter under the SD diet condition**

There were no significant effects ( $p > 0.05$ ) of the 8 week exercise training program on cell diameter of all 4 fat depots, although a tendency for the fat cell diameter to be lower in trained than in Sed rats can be observed ( $t = 0$ ; Figs. 2 and 3).

Significantly ( $p < 0.05$ ) smaller fat cell diameters in DTr than in Sed rats were actually observed in cells of 3 of the 4 fat depots (Ug, Rp, and Sc) 2 weeks after cessation of training under the SD diet condition (Figs. 2B, 3A, and 3B). Fat cell diameter, however, increased significantly ( $p < 0.05$ ) in Ug, Rp, and Sc depots between week 2 and 6 under the SD diet condition such that no differences between DTr and Sed rats were observed anymore after 6 weeks (Figs. 2B, 3A, and 3B).

#### **Fat cell diameter under the HF diet condition**

Fat cell diameter increased ( $p < 0.05$ ) rapidly (2 weeks) after cessation of training under the HF diet condition in both DTr and Sed animals (Figs. 2 and 3). Smaller fat cell diameters in DTr compared with Sed rats were observed after 2 weeks of HF feeding in the Mes and Ug tissues (Fig. 2); however, as under the SD diet condition, no difference between DTr and Sed rats were observed after 6 weeks of HF feeding in all 4 depots.

#### **Liver TAG**

A small but significantly ( $p < 0.05$ ) higher level of liver triacylglycerol was measured in DTr rats than in Sed rats 6 weeks after training cessation under the SD diet condition (Fig. 4A). Under the HF diet condition, however, a somewhat different pattern of liver TAG response was observed. Liver TAG was significantly ( $p < 0.01$ ) increased in Sed animals 2 weeks after the initiation of the HF diet compared with time 0, and significantly ( $p < 0.05$ ) decreased to their initial levels between weeks 2 and 6. This pattern was not observed in DTr rats.

### **Plasma FFA**

Plasma FFA levels were significantly ( $p < 0.05$ ) lower in DTr rats at the end of the training period ( $t = 0$ ) and remained significantly ( $p < 0.05$ ) lower throughout the 6 weeks period after training cessation under the SD diet condition (Fig. 4B). Under the HF diet condition, plasma FFA levels at 6 weeks were significantly higher compared with time 0 ( $p < 0.01$ ) and with levels 2 weeks after training cessation ( $p < 0.05$ ) in both Sed and DTr rats (Fig. 4B). Nevertheless, lower initial levels of FFA in DTr compared with Sed rats were maintained throughout the 6 week detraining period ( $p < 0.05$ ).

### **Plasma leptin**

Leptin concentrations were significantly ( $p < 0.05$ ) lower in DTr than in Sed rats at the end of the training period ( $t = 0$ ) and 2 weeks after training cessation under the SD diet condition (Fig. 4C). DTr animals depicted significantly ( $p < 0.01$ ) higher concentrations of leptin after 6 weeks compared with 0 and 2 weeks, such that there were no differences between Sed and DTr rats at this point in time. Under the HF diet condition, leptin concentrations were higher ( $p < 0.01$ ) after 2 and 6 weeks compared with their initial values (week 0), whether in Sed or DTr rats, but the initial difference between Sed and DTr rats was still found ( $p < 0.05$ ) during the detraining period (Fig. 4C).



## Discussion

The present study was designed to answer the question as if previously trained rats might benefit from some protection against fat accretion upon the undertaking of an HF diet or if, alternatively, detraining might constitute a stimulus for the development of obesity.

The first finding of the present study is that the level of fat mass reached 6 weeks after cessation of training conducted concurrently with a regimen of HF feeding was identical in Sed and DTr rats (Fig. 1). This indicates that not only did previously trained rats attain the normal fat accumulation of age-matched Sed rats, as reported in previous studies (Applegate et al. 1984; Craig et al. 1983), but they also reached the increased fat accumulation as a result of the HF diet. Therefore, previously exercise-trained rats do not seem to benefit from any protection against fat accumulation in adipocytes in response to HF feeding. On the other hand, they do not suffer from an overwhelming increase in fat accumulation due to their previous exercise-trained state. The only effect of the HF diet was that it accelerated the gain of fat in DTr animals (significant increase after 2 weeks, which was not seen in SD-fed rats). Increased tissue sensitivity to insulin and increased lipoprotein lipase activity have been reported to play a role in enhancing adipocyte lipid uptake after cessation of training (Applegate et al. 1984; Craig et al. 1983; Lambert et al. 1994). Reduced resting and exercise-induced energy expenditure after cessation of training is also a likely explanation for the increased body fat accumulation (Hill et al. 1983). More recently, Kump and Booth (2005) reported a rapid increase (5–53 h) in epididymal fat mass with the cessation of 21 days of voluntary wheel running in male rats. This response was associated with an overshoot of triacylglycerol synthesis

attributed to an increased mitochondrial glycerol-3-phosphate acyltransferase protein and enzyme activity (Kump and Booth 2005; Kump et al. 2005).

As for fat accretion, body mass increased more in previously trained rats after cessation of exercise than in rats that had remained sedentary. As a result, DTr rats showed higher body mass values than Sed rats as soon as 2 weeks after training cessation under the HF diet condition and 6 weeks after training cessation under the SD diet condition. This suggests that weight gain after cessation of training represents more than just a compensatory weight gain, as reported in other studies using male rats (Arnold and Richard 1987). The larger gain of body fat in DTr than in Sed rats most likely explains the higher body mass reached by the DTr rats after training cessation. It can be argued that the increased food intake in DTr than in Sed animals contributed to the higher gain in body fat and consequently in body mass in the former. However, the higher food intake in DTr than in Sed rats was observed only after week 2 in the HF diet condition. In addition, in subsequent experiments (unpublished data), we found that food restriction in DTr rats to the same amount ingested by age-matched Sed rats under an HF diet resulted in the same fat accumulation as DTr rats fed ad libitum 6 weeks after training cessation. This suggests, as previously reported, an increase in feeding efficiency in rats after cessation of exercise (Arnold and Richard 1987; Lambert et al. 1994).

As for fat accretion, fat cell diameter in DTr rats was not increased 2 weeks after cessation of training under the SD diet condition and significantly lower fat cell diameter was measured in DTr than in Sed rats in 3 of the 4 fat depots (Figs. 2B, 3A, and 3B). Craig et al. (1983) also found that adipocytes of rats that had stopped training for 9 d were smaller than those of sedentary control rats. Fat cell diameter was, however, increased in all groups 2 weeks after cessation of training under the HF diet condition. Nevertheless, significantly lower fat cell diameter was measured in

DTr than in Sed rats in 2 of the 4 fat depots (Figs. 2A and 2B). This indicates that 2 weeks after cessation of training, fat cell diameter in DTr rats was, on the whole, only modestly increased and remained lower than fat cell diameter in Sed rats under both diet conditions. The increase in fat cell diameter in DTr was, however, more important between the 2nd and 6th week, reaching levels similar to Sed rats under both diet conditions. On the whole, it appears that the response of fat cell diameter to training cessation, whether under the SD or the HF diet, follows a pattern similar to fat accretion in adipocytes. Tremblay et al. (1984) have suggested that deviations in adipocyte size following exercise training from those found in normal sedentary individuals set in motion regulatory mechanisms that tend to return fat cell size to normal upon its cessation. On the other hand, it has also been previously suggested (Applegate et al. 1984) that the large gain in fat with detraining may result in an increased cell number (hyperplasia). Total DNA content, which is consistent with an increased number of adipocytes (Cariou et al. 2004), was higher in the mesenteric tissue with the HF diet, but show only a tendency to be more elevated in DTr than in Sed rats (Table 1). Although the present study does not provide any firm evidence in this direction, it is still possible that cessation of exercise may constitute a stimulus for fat cell proliferation. Future work should consider the effects of training cessation on the expression of regulators of adipocyte differentiation such as peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ .

Liver lipid infiltration in Sed rats was increased transiently 2 weeks after undertaking the high-fat diet, and decreased thereafter (Fig. 4A). In DTr rats, however, the increase in liver lipid infiltration after 2 weeks of HF feeding was not observed, as liver triacylglycerol concentrations remained within normal range throughout the 6-week period after training cessation. These results indicate that despite an important gain in fat deposition in adipocytes following a HF diet, training cessation does not

result in higher liver lipid infiltration. On the other hand, liver lipid infiltration was higher in DTr than in Sed rats 6 weeks after training cessation under the SD diet. All of these values were, however, in the same range as those measured at time 0 week.

Even though the precise mechanisms involved in the pathogenesis of HF-diet-induced hepatic steatosis remains nebulous, recent studies in human and in animals have identified the circulating FFA as a key factor (Festi et al. 2004; Samuel et al. 2004). It is not known if training cessation is associated with a change in plasma FFA levels. The only data available on this matter have been obtained with oral fat tolerance tests in human (Gill et al. 2003; Herd et al. 1998). Significantly lower levels of plasma FFA were observed in rats subjected to the present training program, as compared to Sed rats ( $t = 0$ ). The same observation was made in one of our previous study using a similar training program (Gauthier et al. 2003). Surprisingly, however, DTr rats maintained their lower levels of plasma FFA acquired at the end of the training program throughout the 6 weeks of training cessation (Fig. 4B). This was observed under the SD diet condition, but also under the HF diet condition in spite of the fact that plasma FFA levels were increased by the HF feeding. This might explain the absence of any gain in liver lipid infiltration observed in DTr rats. The lower plasma FFA levels in DTr rats raise the interesting hypothesis that the present previously trained rats not only may have a larger ability for lipid uptake, as previously suggested (Applegate et al. 1984; Craig et al. 1983), but may also have an increased capacity of lipid sequestration in the adipocytes in response to the HF diet. In support of this hypothesis, we recently observed (unpublished data) that trained rats depicted a lower in vitro stimulated lipolysis in the mesenteric fat depot when given an HF diet.

An additional indication that some of the effects of training were still present in post-trained animals in the current study is the fact that leptin levels stayed lower in DTr than in Sed rats after training cessation in HF fed rats ([Fig. 4C](#)). In a previous study, we reported that exercise-trained animals still depicted lower leptin values even when expressed per gram of fat ([Gauthier et al. 2004](#)). It has been suggested that the changes in plasma leptin levels with exercise training might be related to energy expenditure ([Zheng et al. 1996](#)). On the whole, the present data are compatible with the interpretation that some aspects of metabolic regulation at the intra-cellular level in the adipocytes are still under the influence of the training state 6 weeks after training cessation.

In conclusion, the present data extend the phenomenon of fat accretion upon training cessation by specifying that when combined with an HF diet, training cessation still results in an accumulation of fat in adipocytes at the same level as that of HF-fed rats kept sedentary. In spite of this, however, exercise-training cessation combined with an HF diet did not result in a significant gain in liver lipid infiltration and was associated with a smaller deterioration of plasma FFA profile and lower plasma leptin levels compared with age-matched rats kept sedentary. Altogether, these results suggest a role for the adipocyte itself in regulating fat accretion upon cessation of training.

**Table 1.** Body mass, energy intake, and DNA content in sedentary (Sed) and detrained (DTr) rats immediately after ( $t = 0$ ) and 2 and 6 weeks after cessation of training while fed a standard (SD) or high-fat (HF) diet.

Weeks	SD diet		HF diet	
	0	2	2	6
<b>Body mass (g)</b>				
Sed	302±9.7	307±10.6	318±5.9	338±7.9 <sup>b</sup>
DTr	312±8.3	324±7.1	358±10.5 <sup>a, c, d</sup>	365±8.5 <sup>a, e</sup>
<b>Energy intake (kcal/d)</b>				
Sed	68.4±3.2	69.6±2.9	64.3±1.9	65.3±2.9 <sup>f</sup>
DTr	79.6±3.9 <sup>e</sup>	78.7±2.3 <sup>e</sup>	74.5±3.0 <sup>e</sup>	72.6±2.9 <sup>f</sup>
<b>DNA content (<math>\mu</math>g DNA/rat)</b>				
Sed	205±46.8	302±68.9	360±77.8	404±83.8 <sup>e</sup>
DTr	189±35.8	340±74.2	298±71.6	487±103.8 <sup>b</sup>

Note: Values are means  $\pm$  SE,  $n = 10$  rats/group. Values at time 0 are the same in SD and HF fed animals. DNA content is for the mesenteric fat depot.

<sup>a</sup>Significantly different from corresponding values at time 0 week,  $p < 0.05$ .

<sup>b</sup>Significantly different from corresponding values at time 0 week,  $p < 0.01$ .

<sup>c</sup>Significantly different between DTr and Sed groups,  $p < 0.01$ .

<sup>d</sup>Significantly different from corresponding values at time 2 weeks,  $p < 0.05$ .

<sup>e</sup>Significantly different between DTr and Sed groups,  $p < 0.05$ .

<sup>f</sup>Significantly different from corresponding values at time 2 weeks,  $p < 0.01$ .

**Table 1.** Body mass, energy intake, and DNA content in sedentary (Sed) and detrained (DTr) rats immediately after ( $t = 0$ ) and 2 and 6 weeks after cessation of training while fed a standard (SD) or high-fat (HF) diet.

## Legends

**Fig. 1.** Sum of the 3 intra-abdominal (Mes, Ug, and Rp) and Sc fat mass (WT) in sedentary (Sed) and detrained (DTr) rats immediately after ( $t = 0$ ) and 2 and 6 weeks after cessation of training while fed a standard (SD) and a high-fat (HF) diet. Values are means  $\pm$  SE,  $n = 10$  rats/group. Values at time 0 are the same in SD and HF fed animals. Letters correspond to significance levels as described in Table 1 as follows: *a*, significantly different from corresponding values at week 0,  $p < 0.05$ ; *b*, significantly different from corresponding values at week 0,  $p < 0.01$ ; *d*, significantly different from corresponding values at 2 weeks,  $p < 0.05$ ; *e*, significantly different between DTr and Sed groups,  $p < 0.05$ ; *f*, significantly different from corresponding values at 2 weeks,  $p < 0.01$ .

**Fig. 2.** Diameter of fat cells from mesenteric (Mes) and urogenital (Ug) depots in sedentary (Sed) and detrained (DTr) rats immediately after ( $t = 0$ ) and 2 and 6 weeks after cessation of training while fed a standard (SD) and a high-fat (HF) diet. Values are means  $\pm$  SE,  $n = 7-8$  rats/group. Values at time 0 are the same in SD and HF fed animals. Letters correspond to significance levels as described in Table 1 as follows: *a*, significantly different from corresponding values at week 0,  $p < 0.05$ ; *b*, significantly different from corresponding values at week 0,  $p < 0.01$ ; *d*, significantly different from corresponding values at 2 weeks,  $p < 0.05$ ; *e*, significantly different between DTr and Sed groups,  $p < 0.05$ ; *f*, significantly different from corresponding values at 2 weeks,  $p < 0.01$ .

**Fig. 3.** Diameter of fat cells from retroperitoneal (Rp) and subcutaneous (Sc) depots in sedentary (Sed) and detrained (DTr) rats immediately after ( $t = 0$ ) and 2 and

6 weeks after cessation of training while fed a standard (SD) and a high-fat (HF) diet. Values are means  $\pm$  SE,  $n = 7-8$  rats/group. Values at time 0 are the same in SD and HF fed animals. Letters correspond to significance levels as described in Table 1 as follows: *a*, significantly different from corresponding values at week 0,  $p < 0.05$ ; *b*, significantly different from corresponding values at week 0,  $p < 0.01$ ; *c*, significantly different between DTr and Sed groups,  $p < 0.01$ ; *d*, significantly different from corresponding values at 2 weeks,  $p < 0.05$ ; *f*, significantly different from corresponding values at 2 weeks,  $p < 0.01$ .

**Fig. 4.** Liver triacylglycerol (TAG), plasma free fatty acids and leptin concentrations in sedentary (Sed) and detrained (DTr) rats immediately after ( $t = 0$ ) and at 2 and 6 weeks after cessation of training while fed a standard (SD) and a high-fat (HF) diet. Values are means  $\pm$  SE,  $n = 10$  rats/group. Values at time 0 are the same in SD and HF fed animals. Letters correspond to significance levels as described in Table 1 as follows: *b*, significantly different from corresponding values at week 0,  $p < 0.01$ ; *c*, significantly different between DTr and Sed groups,  $p < 0.01$ ; *d*, significantly different from corresponding values at 2 weeks,  $p < 0.05$ ; *e*, significantly different between DTr and Sed groups,  $p < 0.05$ ; *f*, significantly different from corresponding values at 2 weeks,  $p < 0.01$ .



## References

1. Applegate, E.A., Upton, D.E., and Stern, J.S. (1984). Exercise and detraining: effect on food intake, adiposity and lipogenesis in Osborne-Mendel rats made obese by a high-fat diet. *J. Nutr.* 114: 447-459.
2. Applegate, E.A., and Stern, J.S. (1987). Exercise termination effects on food intake, plasma insulin, and adipose lipoprotein lipase activity in the Osborne-Mendel rat. *Metabolism* 36: 709-714.
3. Arnold, J., and Richard, D. (1987). Detraining of exercise-trained rats: effects on Energetic efficiency and brown adipose tissue thermogenesis. *Br. J. Nutr.* 57: 363-370.
4. Booth, M.A., Booth, M.J., and Taylor, A.W. (1974). Rat fat cell size and number with exercise training, detraining and weight loss. *Federation Proc.* 33: 1959-1963.
5. Cariou, B., Postic, C., Boudou, P., Burcelin, R., Kahn, C.R., Girard, J., Burnol, A.-F., and Mauvais-Jarvis, F. (2004). Cellular and molecular mechanisms of adipose tissue plasticity in muscle insulin receptor knockout mice. *Endocrinology* 145: 1926-1932.
6. Craig, B.W., Thompson, K., and Holloszy, J.O. (1983). Effects of stopping training on size and response to insulin of fat cells in female rats. *J. Appl. Physiol.* 54: 571-575.
7. Després, J.-P., Bouchard, C., Bukowiecki, L., Savard, R., and Lupien, J. (1983). Morphology and metabolism of human fat cells: a reliability study. *Int. J. Obes.* 7: 231-240.
8. Dohm, G.L., Barakat, H.A., Tapscott, E.B., and Beecher, G.R. (1977). Changes in body fat and lipogenic enzyme activities in rats after termination of exercise training. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 155: 157-159.

9. Festi, D., Colecchia, A., Sacco, T., Bondi, M., Roda, E., and Marchesini, G. (2004). Hepatic steatosis in obese patients: clinical aspects and prognostic significance. *Obes. Rev.* 5: 27-42.
10. Frayn, K.N., and Maycock, P.F. (1980). Skeletal muscle triacylglycerol in the rat: methods for sampling and measurement and studies of biological variability. *J. Lipid Res.* 21: 139-144.
11. Gauthier, M.-S., Couturier, K., Charbonneau, A., and Lavoie, J.-M. (2004). Effects of introducing physical training in the course of a 16-week high-fat diet regimen on hepatic steatosis, adipose tissue fat accumulation, and plasma lipid profile. *Int. J. Obes.* 28: 1064-1071.
12. Gauthier, M.-S., Couturier, K., Latour, J.-G., and Lavoie, J.-M. (2003). Concurrent Exercise prevents high-fat-diet-induced macrovesicular hepatic steatosis. *J. Appl. Physiol.* 94: 2127-2134.
13. Gill, J.M.R., Caslake, M.J., McAllister, C., Tsofliou, C.F., Ferrell, W.R., Packard, C.J., and Malkova, D. (2003). Effects of short-term detraining on postprandial metabolism, endothelial function, and inflammation in endurance-trained men: dissociation between changes in triglyceride metabolism and endothelial function. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 88: 4328-4335.
14. Herd, S.L., Hardman, A.E., Boobis, L.H., and Cairns, C.J. (1998). The effect of 13 weeks of running training followed by 9 d of detraining on postprandial lipaemia. *Br. J. Nutr.* 80: 57-66.
15. Hill, J.O., Davis, J.R., and Tagliaferro, A.R. (1983). Effects of diet and exercise training on thermogenesis in adult female rats. *Physiol. Behav.* 31: 133-135.

16. Hill, J.O., Thacker, S., Newby, D., Sykes, M.N., and Digirolamo, M. (1988). Influence of food restriction coupled with weight cycling on carcass energy restoration during ad-libitum refeeding. *Int J Obes* 12: 547-555.
- Hoffman-Goetz, L., and MacDonald, M.A. (1983). Effect of treadmill exercise on food intake and body weight in lean and obese rats. *Physiol. Behav.* 31: 343-346.
17. Jakicic, J.M., and Otto, A.D. (2006). Treatment and prevention of obesity: what is the role of exercise? *Nutr. Rev.* 64 (2 Pt 2): S57-61.
18. Krotkiewski, M., and Bjorntorp, P. (1976). The effect of progesterone and of insulin administration on regional adipose tissue cellularity in the rat. *Acta. Physiol. Scand.* 96: 122-127.
19. Kump, D.S., and Booth, F.W. (2005). Sustained rise in triacylglycerol synthesis and increased epididymal fat mass when rats cease voluntary wheel running. *J. Physiol.* 565: 911-925.
20. Kump, D.S., Laye, M.J., and Booth, F.W. (2005). Increased mitochondrial glycerol-3-phosphate acyltransferase protein and enzyme activity in rat epididymal fat upon cessation of wheel running. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 290: E480-E489.
21. Lambert, E.V., Wooding, G., Lambert, M.I., Koeslag, J.H., and Noakes, T.D. (1994). Enhanced adipose tissue lipoprotein lipase activity in detrained rats: independent of changes in food intake. *J. Appl. Physiol.* 77: 2564-2571.
22. Levin, B.E., and Dunn-Meynell, A.A. (2000). Defense of body weight against chronic caloric restriction in obesity-prone and -resistant rats. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 278: R231-R237.
23. Lowney P, Lee VM, Hansen RJ, Stern JS. (1988). Effects of exercise, detraining, starvation, and refeeding on lipogenic capacity of Osborne-Mendel rat. *Am. J. Physiol. Regulat. Integr. Comp. Physiol.* 254: R648-R654.

24. Motoyama, M., Sunami, Y., Kinoshita, F., Irie, T., Sasaki, J., Arakawa, K., Kiyonaga, A., Tanaka, H., and Shindo, M. (1995). The effect of long-term low intensity aerobic training and detraining on serum lipid and lipoprotein concentrations in elderly men and women. *Eur. J. Appl. Physiol.* 70: 126-131.
25. Petibois, C., Cassaigne, A., Gin, H., and Déléris, G. (2004). Lipid profile disorders induced by long-term cessation of physical activity in previously highly endurance trained subjects. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 89: 3377-3384.
26. Samuel, V.T., Liu, Z.-X., Qu, X., Elder, B.D., Bilz, S., Belfroy, D., Romanelli, A.J., and Shulman, G.I. (2004). Mechanism of hepatic insulin resistance in non-alcoholic fatty liver disease. *J. Biol. Chem.* 279: 32345-32353.
27. Sandretto, A.M., and Tsai, A.C. (1988). Effects of fat intake on body composition and hepatic lipogenic enzyme activities of hamsters shortly after exercise cessation. *Am. J. Clin. Nutr.* 47: 175-179.
28. Satia-Abouta, J., Patterson R.E., Schiller, R.N., and Kristal, A.R. (2002). Energy from fat is associated with obesity in US men: results from the Prostate Cancer Prevention Trial. *Prev. Med.* 34: 493-501.
29. Shepard, T.Y., Weil, K.M., Sharp, T.A., Grunwald, G.K., Bell, M.L., Hill, J.O., and Eckel, R.H. (2001). Occasional physical inactivity combined with a high-fat diet may be important in the development and maintenance of obesity in human subjects. *Am. J. Clin. Nutr.* 73: 703-708.
30. Tremblay, A., Després, J.-P., and Bouchard, C. (1984). Adipose tissue characteristics of ex-obese long-distance runners. *Int. J. Obes.* 8: 641-648.
31. Tsai, A.C., and Gong, T.-W. (1987). Modulation of the exercise and retirement effects by dietary fat intake in hamsters. *J. Nutr.* 117: 1149-1153.

32. Tsai, A.C., Rosenberg, R., and Borer, K.T. (1982). Metabolic alterations induced by voluntary exercise and discontinuation of exercise in hamsters. *Am. J. Clin. Nutr.* 35: 943-949.
33. Zheng, D., Wooter, M.H., Zhou Q., and Dohm, G.L. (1996). The effect of exercise on ob gene expression. *Biochem. Biophys. Res. Com.* 225: 747-750.

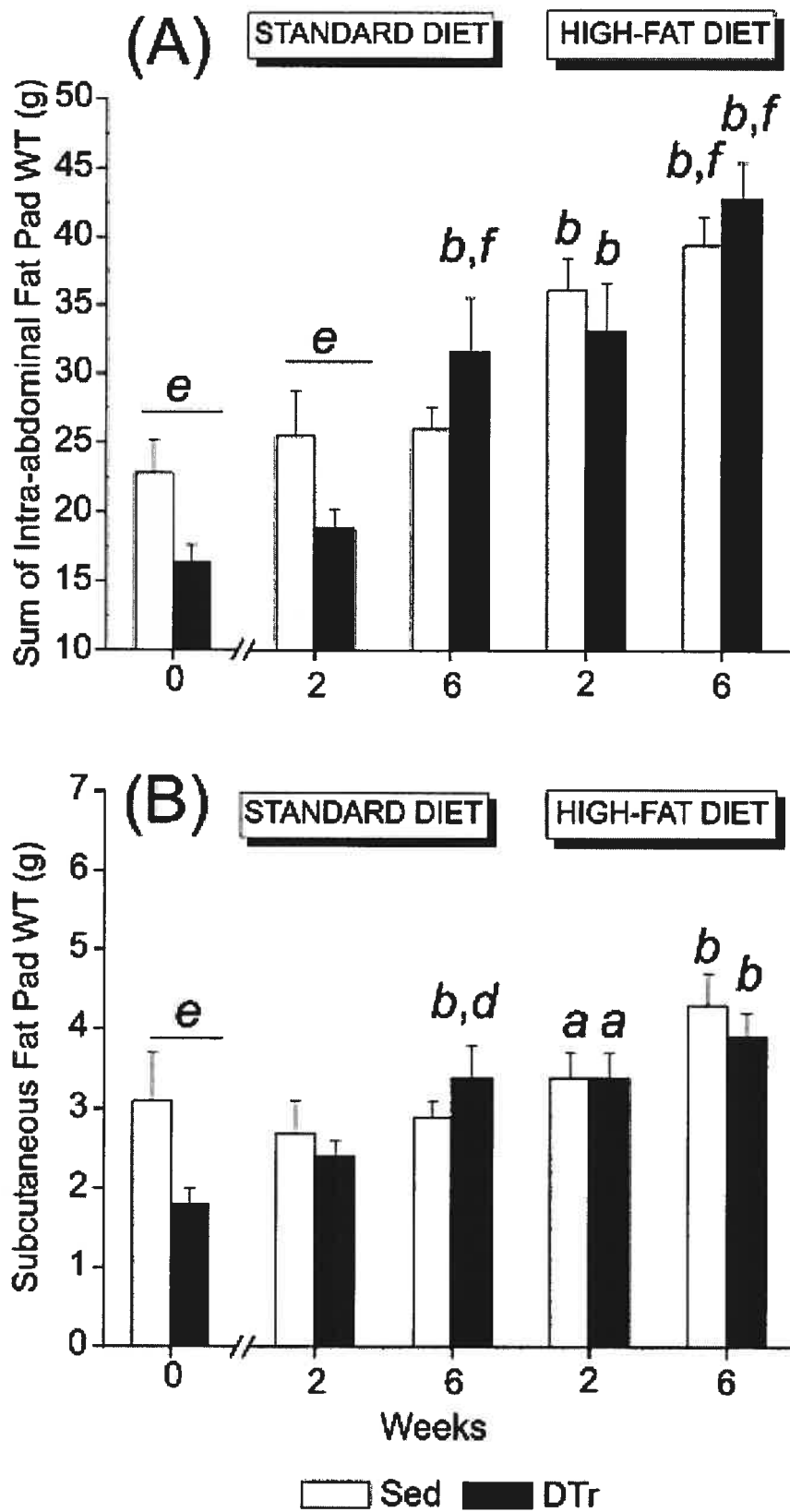


Figure 1.

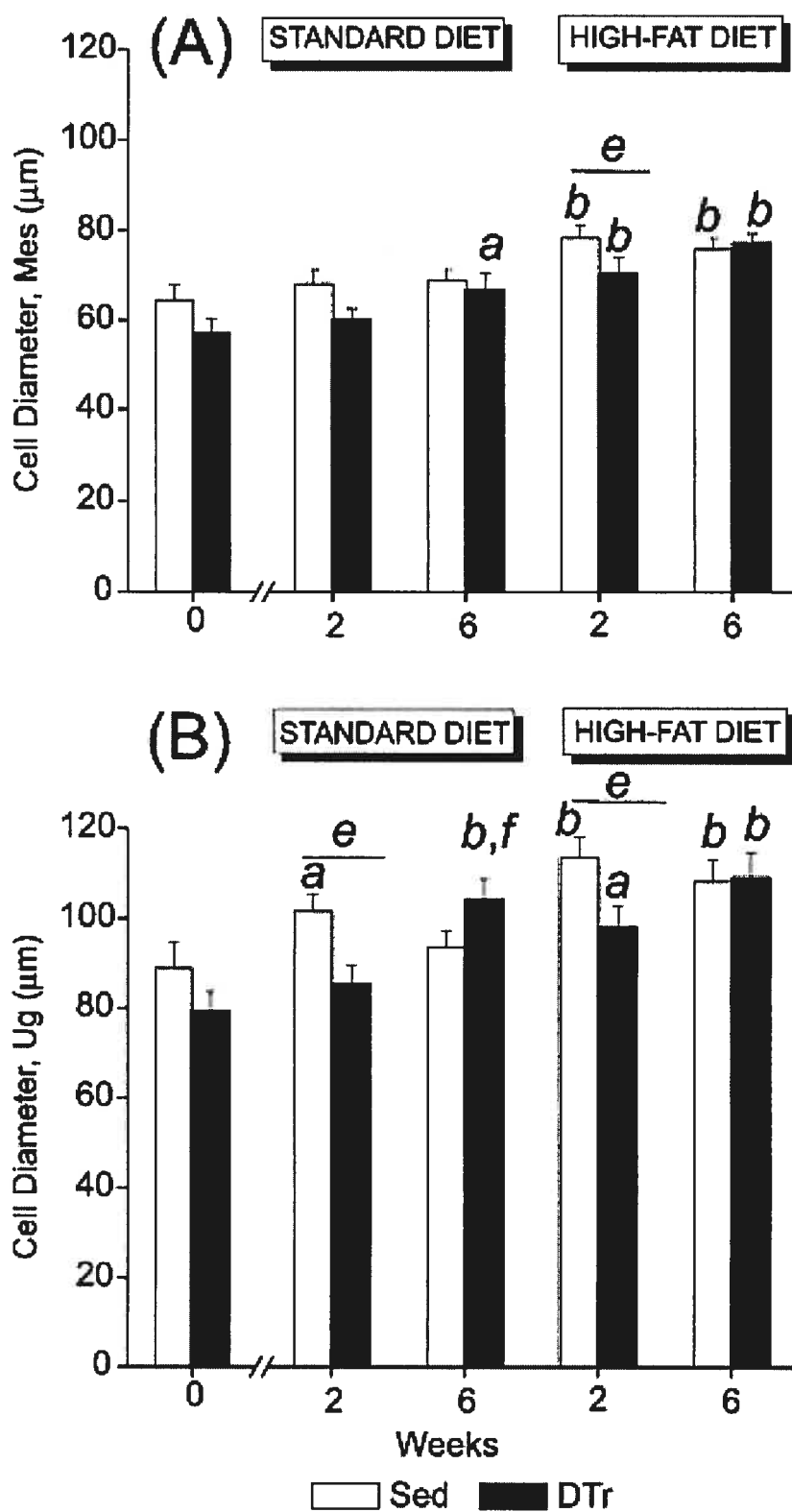


Figure 2.

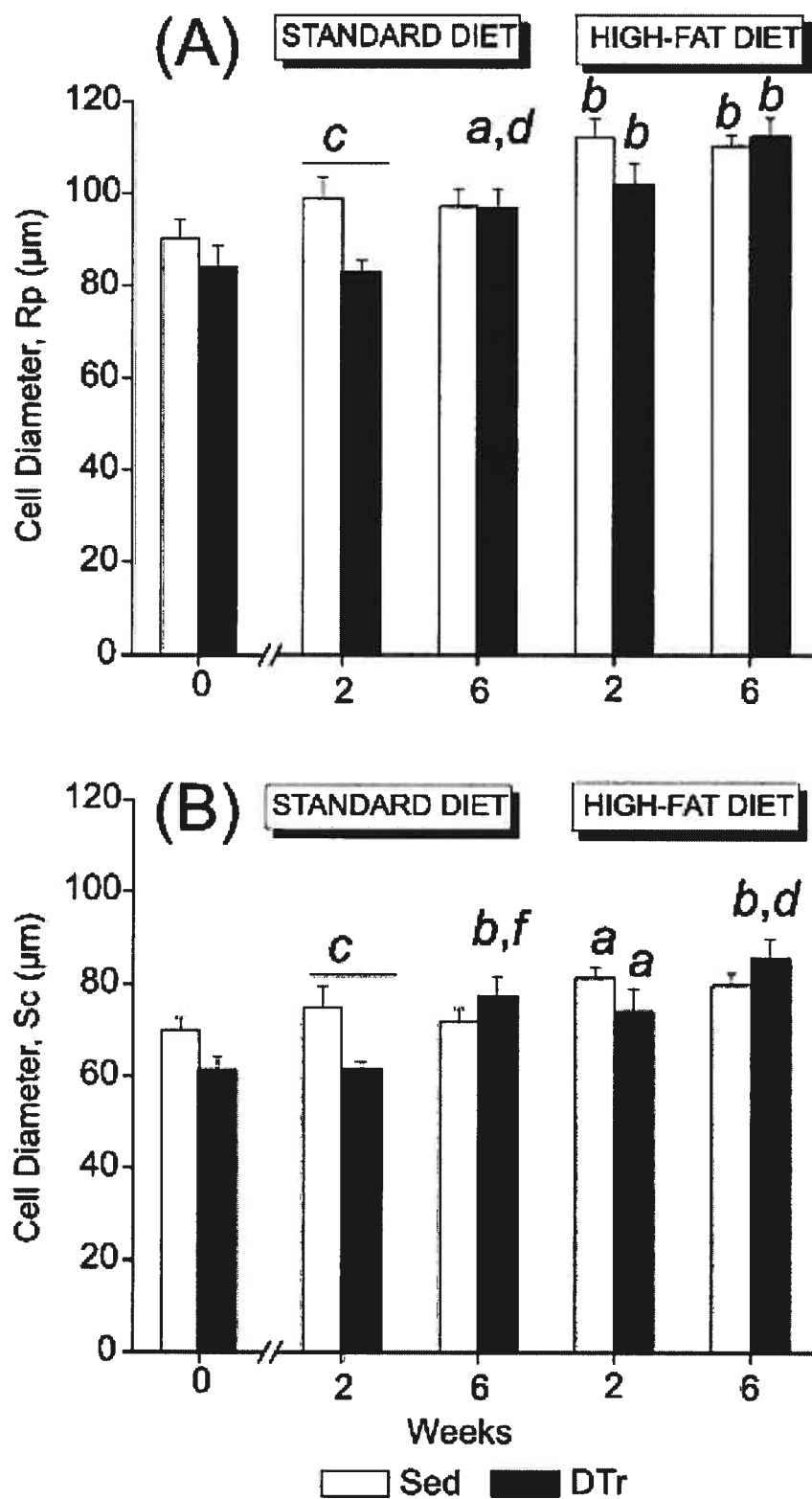


Figure 3.



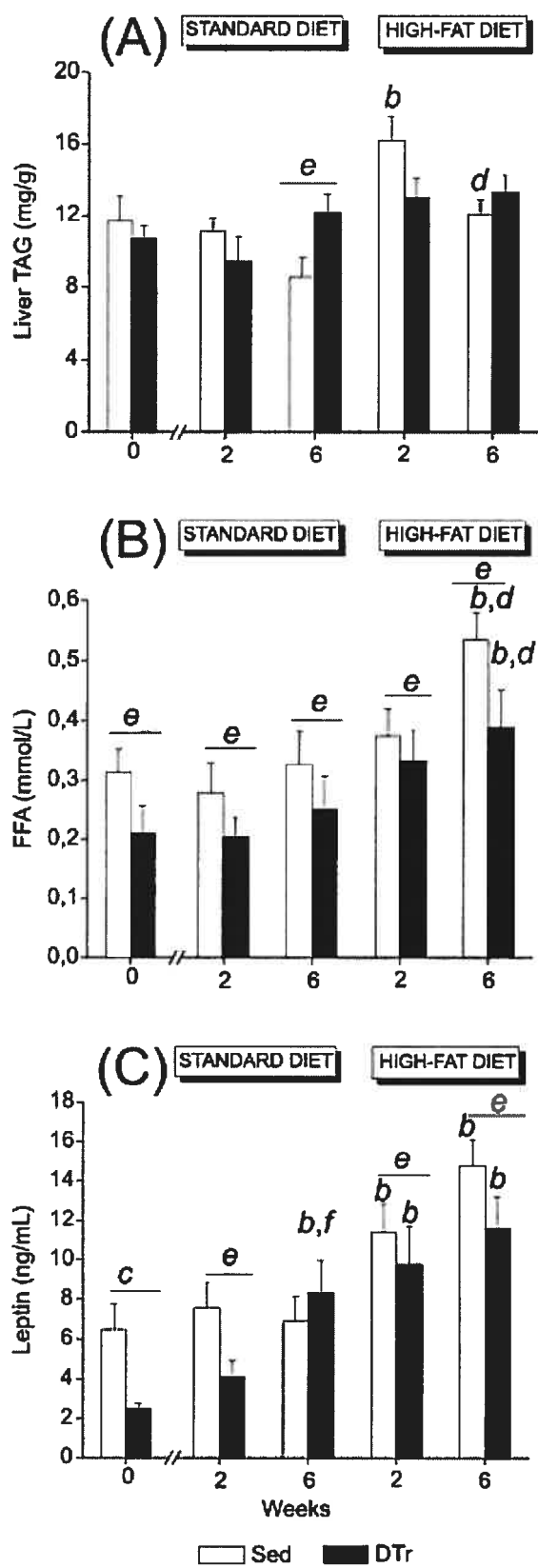


Figure 4.

## 2.2. Étude 2-

### Titre

Effect of the detraining status on high-fat diet induced fat accumulation in the adipose tissue and liver in female rats

### Auteurs

Siham Yasari, Élise Dufresne, Denis Prud'homme et Jean-Marc Lavoie

### Journal

Étude publiée dans le *Physiology and Behavior* en 2007.

Physiol. Behav. 2007, 91 : 281-289.

**EFFECT OF THE DETRAINING STATUS ON HIGH-FAT DIET INDUCED FAT  
ACUMULATION IN THE ADIPOSE TISSUE AND LIVER IN RATS**

Siham Yasari<sup>1</sup>, Élise Dufresne<sup>1</sup>, Denis Prud'homme<sup>2</sup> and Jean-Marc Lavoie<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Kinesiology, University of Montreal, Montreal, Québec, Canada

<sup>2</sup>School of Human Kinetics, University of Ottawa, Ottawa, Ontario, Canada

Running title: Detraining and high-fat diet in rodents

Mailing proofs: Dr. Jean-Marc Lavoie

Département de kinésiologie


Université de Montréal

C.P. 6128, Succ. centre-ville

Montréal (Québec) Canada H3C 3J7

Tel: (514) 343-7044

Fax: (514) 343-2181



**Abstract**

The purpose of the present study was to investigate the effects of a high-fat diet (HFD) in previously trained rats that have been detrained for different periods. Two groups of female rats were, first, either treadmill trained for 8 weeks or remained sedentary (Sed). Trained animals, thereafter, remained inactive for 4 weeks (Inact-4 weeks), while fed a standard diet, before being submitted to a high-fat diet (42% kcal of fat) for an additional 2 or 6 weeks. The order was reversed in a 3rd group in which rats were first kept sedentary for 4 weeks before being submitted to the same 8-week training program that ended with the initiation of the HFD (Inact-0 week). Fat accumulation in the mesenteric depot ( $P < 0.05$ ) and in the sum of 3 intra-abdominal (urogenital, retroperitoneal, and mesenteric;  $P = 0.065$ ) tissues in response to the HF feeding was higher in trained rats kept inactive for 4 weeks than in Sed and Inact-0 week animals. Liver triacylglycerol accumulation also showed a tendency to be higher ( $P < 0.07$ ) in Inact-4 weeks than in Inact-0 week rats. These changes were not associated with significant changes in fat cell diameter and number in the mesenteric adipose tissue. When rats in all groups were subdivided into obesity prone (OP) and obesity resistant (OR) on the basis of the change in body weight gain in response to the HFD, liver lipid infiltration was higher ( $P < 0.01$ ) in OP Inact-4 weeks rats than in all other groups. The present results indicate that previously trained rats that have been inactive for a while maintain higher body adiposity in response to a HFD than in freshly inactive and sedentary rats.

**Keywords:** Hepatic steatosis; Fat mass regain; Fat cell diameter; Obesity prone; Free fatty acids

## Introduction

In recent years, reduced physical activity (PA) has been pointed out as a major lifestyle factor contributing to obesity [2] and [14]. One approach to study the effect of physical inactivity on body weight is to determine the changes in weight and especially in fat mass when exercise trained animals return to a sedentary state [16] and [17]. Training cessation in rats has for many years been reported to result in a rapid gain of fat mass [3], [5] and [18] and has even been considered as a pre-obesity state [1]. More recent studies have indicated that training cessation may constitute a stimulus for the development of obesity in human, especially when combined to a high-fat diet (HFD) [21] and [23].

It is well established that high-fat-diets induce several obesity-related metabolic deteriorations, including liver lipid infiltration, which is now recognised as an integral feature of the metabolic syndrome [22]. However, there is a lack of information on exercise training cessation and liver lipid infiltration. Because exercise training has been reported to be more efficient in preventing fat accumulation in liver than in adipocytes in high-fat fed rats [8], the question of liver lipid infiltration following exercise training cessation is thus of importance. Recently, we reported that HFD upon exercise training cessation in rats resulted in an accumulation of fat in adipocytes to the same level than in rats kept sedentary [24]. This rapid gain in fat mass with exercise training cessation to the level of sedentary animals was associated with a catching up phenomenon derived from the concept of the defended body weight [19]. The concept of defended body weight explains the how you gain exactly the weight you lost as soon as one stops exercise training or food restriction. In spite of the rapid gain in fat mass, liver lipid infiltration in that study [24] was not increased in detrained animals and plasma levels of free fatty acids were

lower throughout the detraining period. This raised the possibility that fat accumulation in adipocytes and in the liver with exercise training cessation might not be limited to catching up phenomenon but some residual metabolic effects of exercise may persist for a certain time following cessation of training. In the present study, we attempted to dissociate the rapid regain in fat mass that is associated with short-term exercise training cessation from more long-term effects of exercise following training cessation. To do that, rats previously trained for 8 weeks were submitted to a 2 or 6 weeks period of high-fat diet either immediately upon training cessation or after 4 weeks of inactivity while fed a standard diet. More specifically, the present study was designed to test the hypothesis that previously trained rats that have been inactive for a period of time show higher adiposity level when submitted to a HFD than rats that have just stopped training.

## Methods

### *Animal care*

Female Sprague–Dawley rats (Charles River, St-Constant, PQ, Canada), weighing 180–200 g (6 weeks of age) upon their arrival were housed individually and had *ad libitum* access to food and tap water. Female rats were used in the present study to avoid the effect of exercise training on body weight in male rats and to assure some continuity with our previous study [13] and [24]. The diet, now referred to as the standard diet (SD; 12.5% lipid, 63.2% carbohydrate, and 24.3% protein; kcal) consisted of usual pellet rat chow (Agribands Purina Canada, Woodstock, ON). Their environment was controlled in terms of light (12:12-h light-dark cycle starting at 6:00 AM), humidity and room temperature (20–23 °C). All experiments described in this report were conducted according to the directives of the Canadian Council on Animal Care.

### *Phase 1. Phase of animal preparation (12 weeks): sedentary or exercise training state*

An overview of the experimental design is presented in [Fig. 1](#). Four days after their arrival, all animals were randomly assigned to a sedentary (Sed) or an exercise trained group. The trained group was subdivided into two subgroups. One subgroup of animals were first submitted to an 8-week training program and remained sedentary for the next 4 weeks (Inact-4 weeks). The other subgroup of animals remained sedentary for 4 weeks and, thereafter, was submitted to the same 8-week training program (Inact-0 week). Exercise training consisted of continuous running on a motor-driven rodent treadmill (Quinton Instruments, Seattle, WA) 5 times/week

for 8 weeks. Exercise intensity was progressively increased from 15 min/day at 15 m/min, 0% slope, up to 60 min/day at 26 m/min, 10% slope, for the last 4 weeks of the program.

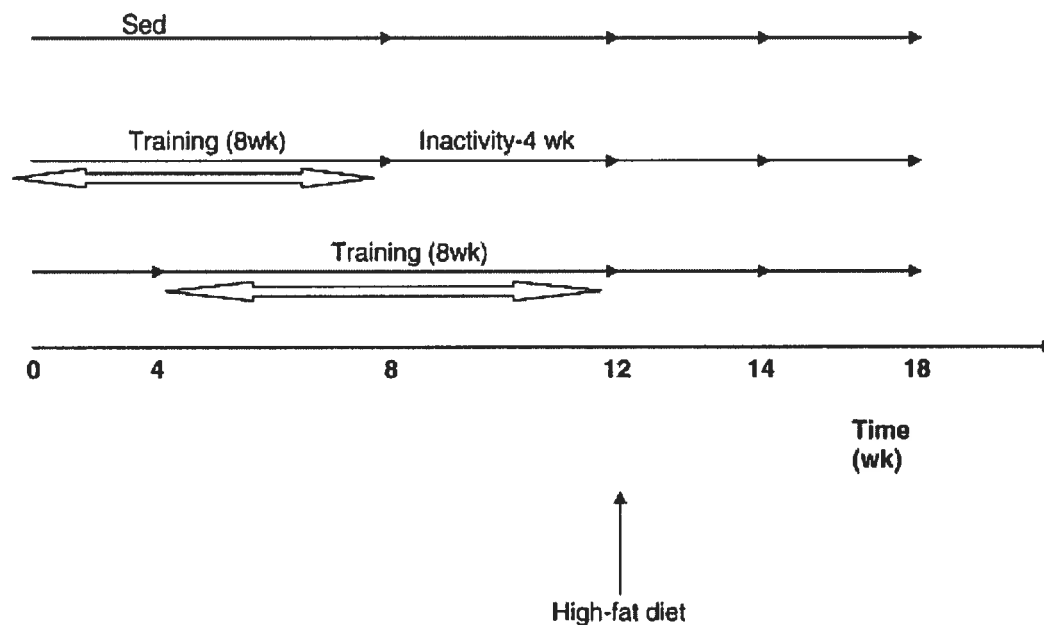


Fig. 1. Overview of the experimental design. Sed: sedentary.

### *Phase 2. High-fat diet regimen*

At the end of this 12-week period, Sed, Inact-0 week, and Inact-4 weeks animals were submitted to a high-fat diet regimen for an additional period of 2 or 6 weeks. The HFD consisted of 42% lipids (80% lard, 20% corn oil), 36% carbohydrate, and 22% protein (kcal) and was provided in small pellets from ICN Biomedicals LTD (Costa Mesa, CA). Details of the diets have been presented elsewhere [8] and [9].



Body weight and food intake were monitored 3 days/week in all rats. For the second part of the study, sedentary and trained rats submitted to the HFD for either 2 or 6 weeks were classified according to their weight gain. The four or five rats showing the highest weight gain (for sample size of 7 and 9 rats, respectively) and the four or five showing the lowest weight gain were further classified as obesity prone (OP) and obesity resistant (OR).

### **Blood and tissue sampling**

All animals were sacrificed between 09:00 and 11:00 AM. Food was removed from the animals' cage at least 3 h before sacrifice. After complete anaesthesia (pentobarbital sodium, 50 mg/kg ip), the abdominal cavity was rapidly opened following the median line of the abdomen. Blood was rapidly (< 45 s) drawn from the abdominal vena cava (~ 4 ml) into syringes pre-treated with EDTA (15%). Thereafter, blood was centrifuged (3000 rpm for 10 min, 4 °C). The liver and the mesenteric (Mes), urogenital (Ug), retroperitoneal (Rp), and subcutaneous (Sc) fat deposits were excised and weighed in that order. Mesenteric fat pad consisted of adipose tissue surrounding the gastro-intestinal tract from the gastro-oesophageal sphincter to the end of the rectum with special care taken in distinguishing and removing pancreatic cells. Urogenital fat pad included adipose tissue surrounding the kidneys, ureters, and bladder as well as ovaries, oviducts and uterus. Retroperitoneal fat pad was taken as that distinct deposit behind each kidney along the lumbar muscles. For subcutaneous deposit measurement, a rectangular piece of skin was taken on the right side of each animal, from the median line of the abdomen to the spine and the right hip to the last rib [15]. Skeletal muscles

(plantaris, soleus, medial and lateral gastrocnemius) of the right limb were, thereafter, removed and weighed. All tissue samples were frozen in liquid nitrogen immediately after being weighed. The liver median lobe was freeze-clamped and used for triacylglycerol (TAG) determinations. All plasma and tissue samples were stored at  $-78^{\circ}\text{C}$  until analyses.

#### *Fat cells number and diameter*

After weighing, 250–350 mg of mesenteric and subcutaneous fat pads tissues was rapidly processed for determination of fat cell diameter and cell number as described by Després et al. [4]. Briefly, pieces of tissue were minced in polyethylene vials containing 3 ml of Krebs–Albumin bicarbonate buffer and 1 mg/ml collagenase (Roche 1213865). Thereafter, the atmosphere of the flasks was saturated with 95%  $\text{O}_2$  and 5%  $\text{CO}_2$ . Adipocytes were then incubated in a shaking water bath at  $37^{\circ}\text{C}$  for 30 min (40 min for subcutaneous cells) with a shaking frequency of 100 cycles/min. The digested pieces were filtered through a nylon mesh for separation of fat cells from the stroma. The filtrate was collected in a graduated polyethylene tube to avoid cell breakage. The infranatant was aspirated with polyethylene pipettes. The floating adipocytes were then resuspended in 5 ml of fresh Krebs–Albumin. This process of washing was repeated four times to eliminate the remaining collagenase. The adipocytes were stored in the Krebs–Albumin for 2 min between 2 washes. The final suspension was gently stirred and 50  $\mu\text{l}$  was taken and dropped in 25  $\mu\text{l}$  of 0.4% trypan blue. Fat cell number and cell size were assessed microscopically in the hour following their mixing with trypan blue with the use of a Nikon-optiphot microscope (10x) and the Image Pro 5.0 program (Media Cybernetics). All the cells

in the 75  $\mu$ l solution were calculated for the cell number and at least 100 cells/tissue/rat were used for determining the cell diameter. Fat cell number was expressed per fat pad weight using fat cell number per mg of tissue times the weight of the fat pad.

#### *Analytical procedures*

Plasma free fatty acid (FFA) concentrations were measured by a colorimetric assay with commercially available kits from Roche Diagnostics (Penzberg, Germany). Plasma TAG was measured using a colorimetric method estimating glycerol from Sigma (St-Louis, Missouri, USA). Liver TAG concentration was estimated from glycerol released after ethanolic KOH hydrolysis also by colorimetric method using commercial kits from Sigma (St-Louis, Missouri, USA). Although this method does not discriminate between glycerol from phospholipids or TAG, Frayn and Maycock [6] have shown that omitting removal of phospholipids leads to only a  $\pm 2\%$  error in the determination of tissue TAG. Total cholesterol concentrations were determined by colorimetric method with commercially available kits from Roche/Hitachi (Manheim, Germany). HDL cholesterol concentrations were also determined by colorimetric method with commercially available kits from Roche (Manheim, Germany). Plasma glucose concentration was determined with the use of a glucose analyser Yellow Springs Instruments 2300 (Yellow Springs, Ohio, USA). Plasma insulin and leptin concentrations were measured with commercially available radioimmunoassay kits (Linco Research, St-Charles, Missouri, USA).

### *Statistical analysis*

Values are expressed as means  $\pm$  S.E. Statistical analyses were performed using a two-way ANOVA for non-repeated measures using condition and time as main effects. In the second part of the study, obesity prone and obesity resistant rats in each experimental condition were compared using a three-way ANOVA for non-repeated measures design with phenotype (OP, OR), condition, and time as main effects. Fisher LSD *post-hoc* test was used in the event of a significant ( $P < 0.05$ )  $F$  ratio in all of these analyses. All statistical analyses were conducted with the use of Statistica 6.0.

## Results

There was no statistical difference in body weight and energy intake between groups at all times (Fig. 2A, C). Body weight increased ( $P < 0.01$ ) in all groups in response to the high-fat feeding. Energy intake also increased ( $P < 0.01$ ) in all groups after the first 2 weeks of HF feeding and decreased ( $P < 0.01$ ) in all groups between week 2 and 6. Weight gain was similar in all groups throughout the experimental period. Weight gain was, however, lower during periods – 4 to 0 week and 0 to 2 weeks than in all other periods. As expected, the sum of 3 intra-abdominal fat depots was increased ( $P < 0.01$ ) in all groups when rats were submitted to the HF diet (Fig. 2D). Interestingly, however, intra-abdominal fat pad weights tended to be higher (condition effect  $P = 0.065$ ) in rats detrained for 4 weeks than in the two other groups. There was no difference between groups and with time in the sum of the 4 muscle weights (Fig. 2E).

Description of two fat depots (mesenteric and subcutaneous) in terms of weight, cell diameter, and cell number is presented in Fig. 3. A significant condition effect ( $P < 0.05$ ) was found for the mesenteric fat pad weight. Further analyses of this condition effect revealed significant higher values in the Inact-4 weeks compared to the Inact-0-week ( $P = 0.013$ ) and to the Sed animals ( $P = 0.057$ ; Fig. 3A). On the other hand, the weight of the subcutaneous fat depot increased similarly with the HF feeding in all groups (Fig. 3B). Fat cell diameter of the mesenteric fat depot was increased (week 6;  $P < 0.01$ ) with the HF feeding in all groups but remained unchanged in the subcutaneous tissue (Fig. 3C, D). Fat cell number in the mesenteric ( $P < 0.01$ ) and subcutaneous ( $P < 0.01$ ) tissues was increased with the HF feeding in all groups (Fig. 3E, F).

Liver TAG as well as plasma FFA and TAG levels were increased ( $P < 0.01$ ) by the HF feeding in all groups (Fig. 4). However, a trend condition effect at the level of  $P = 0.069$  was found for the liver TAG concentrations with higher values found in Inact-4 weeks compared to Inact-0 week animals (Fig. 4A). Plasma HDL and total cholesterol levels were not affected either by the detraining status or the HF diet (Fig. 4D, E). Plasma glucose concentrations were not changed by the HF feeding in any groups (Table 1). On the other hand, plasma insulin and leptin concentrations were similarly increased ( $P < 0.05$ ) by the HF feeding in all groups.

#### *Comparisons of high-fat fed obesity-prone and obesity-resistant rats*

To further characterize how the detraining status influence the metabolic responses to high-fat feeding, we proceeded to a supplementary analysis of the main results. Rats that had the highest and the lowest body weight after high-fat feeding (week 2 and 6) were designated as OP and OR, respectively, and compared according to their phenotype. As expected, OP rats gained significantly ( $P < 0.01$ ) more weight and abdominal fat mass than OR along with higher ( $P < 0.01$ ) plasma FFA values whether in the Sed or in the two detrained groups (Fig. 5A, C, D). A main group effect was found with the Inact-4 weeks rats showing significantly higher values for body weight ( $P < 0.05$ ) and intra-abdominal adiposity ( $P < 0.01$ ) than Sed and Inact-0 week animals. A main condition effect was also found for plasma FFA levels between Inact-4 weeks and Inact-0 week rats (Fig. 5D). Surprisingly, liver TAG concentrations showed a statistical interaction ( $P < 0.01$ ) between phenotype and condition. *Post-hoc* tests revealed that Inact-4 weeks rats in the OP phenotype had

higher ( $P < 0.01$ ) levels of liver TAG in comparison to all other groups whether after 2 or 6 weeks of HF feeding (Fig. 5B).

## Discussion

In a recent study [24], we reported that the initiation of HFD immediately upon training cessation resulted in a similar level of adiposity in previously trained rats as in sedentary rats after a period of 6 weeks. Part of this response was attributed to a rapid fat regain corresponding to what may be associated with a catching up phenomenon after training cessation. It is well documented that body weight of food restricted sedentary rats returns to the higher levels of sedentary-*ad lib* rats when they were allowed free access to food [11] and [20]. The situation seems to be similar with exercise cessation [16], [17] and [24]. Regular exercise has been shown to lower the defended body weight and adiposity level in rats [19]. This, similarly to the food restriction–refed situation, predisposes to a rapid weight and fat regain upon cessation of regular exercise training program. The aim of the present study was to go one step further and address the question if there are still residual effects of training on adipocytes and liver fat accumulation after rats were allowed a period of inactivity corresponding to 50% of the duration of the training program. To better understand the impact of exercise cessation in conjunction with an obesity stimulus, the residual effects of training were studied in response to a high-fat diet regimen. Results of this approach first reveal that previously 8-week trained rats that have been inactive for 4 weeks under normal feeding accumulate more fat in the mesenteric tissue and to a large extent ( $P = 0.06$ ) in the sum of 3 intra-abdominal tissues than rats of the same age that were either kept sedentary or that just completed the same training program. This response was observed at time 0 and throughout the HF feeding period. Although the statistical analysis did not show a time–condition interaction, fat accumulation in the Mes tissue was  $\sim 6$  times higher in Inact-4-week compared to Inact-0-week after 6 weeks of HF feeding than at time



0 week. This indicates that Inact-4-weeks animals maintained higher fat accumulation when submitted to the HF feeding. A group effect, showing higher fat accumulation in the sum of the 3 intra-abdominal fat depots in Inact-4 weeks animals than in the two other groups, was also observed when rats were subdivided into OP and OR. Taken together, these data indicate that the gain of fat mass upon training cessation is not limited to a short-term fat regain phenomenon. More residual effects of training favouring fat mass accumulation intervene when rats stop exercising and are later on submitted to a HFD. It is possible that training cessation results in a higher defended body adiposity that is maintained in response to a HFD. This concept is in line with what has been put forward by Levin et al. [19] that chronic exercise lowers the defended body adiposity in diet-induced obesity in rats.

In addition, to higher adipocytes fat mass, previously trained rats inactive for 4 weeks tended to accumulate more fat in the liver than rats that just completed the same training program when fed a HFD. Most interestingly, subdivision of rats into OP and OR resulted in a higher liver lipid accumulation in Inact-4 weeks OP animals than in all other groups. The absence of differences in liver lipid accumulation between OP and OR animals kept sedentary is in agreement with what we previously observed [9]. It is revealing that this absence of difference in liver lipid infiltration between OP and OR rats kept sedentary is also seen in Inact-0 week animals despite a significant increase in liver TAG. This may simply be attributed to the fact that in spite of an important gain in peripheral adiposity, trained rats immediately fed a HFD upon training cessation did not show liver lipid infiltration. However, when trained rats are given a period of inactivity under normal feeding before being submitted to the HFD, liver TAG as well as plasma FFA levels increase, especially in OP animals. This indicates that Inact-4 weeks animals

showing the OP phenotype lost their ability to properly handle the increased fat load as compared to Inact-0 week animals. This strengthened the interpretation that beyond the short-term fat regain period, a reduction in exercise may cause longer term effects that are metabolically deleterious.

As mentioned above, mesenteric fat pad weight was higher in Inact-4 weeks animals than in Sed and Inact-0 week rats. These changes were not, however, observed when fat cell diameter and fat cell number were considered. Fat cell diameter and fat cell number in the Mes tissue were increased in all groups with the HFD. However, the extent of these increases, especially between week 0 and 2, suggest that the gain of fat under the present experimental conditions is more dependent on adipocytes differentiation than on cell hypertrophy.

The higher adipose tissue fat accumulation in Inact-4 weeks than in Sed and Inact-0 week animals was not accompanied with corresponding changes in the plasma lipid profile. However, there was a tendency for plasma FFA to be the highest in Inact-4 weeks rats and to be the lowest in Inact-0 week animals at week 6. Accordingly, a group effect between Inact-4 weeks and Inact-0 week rats was statistically measured when rats were subdivided into OP and OR sub-groups. Since circulating levels of FFA are a key factor in the development of hepatic steatosis, they might explain the tendency for larger increase in liver TAG levels in Inact-4 weeks rats. In conclusion, the present data suggest that if there is still some protective residual effects of training on plasma FFA accumulation immediately after exercise training cessation in response to a HFD, as previously postulated [24], this effect disappears when rats are given a period of rest and normal feeding.

The present study was not aiming at identifying specific mechanisms that might be involved in the higher fat accumulation of Inact-4 weeks animals in response to the HFD. Nevertheless, it is clear that previously exercise-trained rats, given a period of rest, retain a capacity to accumulate fat mass when fed a HF diet. Energy intake in the present study was increased by the HFD. However, the HF-diet-induced increase in energy intake was only observed during the first two weeks of the diet and to a similar extent in all three groups. Fat mass accumulation is the result of a balance between storage and utilisation. Increased lipid storage after cessation of exercise training has been attributed to multiple factors including increased tissue sensitivity to insulin, increased lipoprotein lipase activity, and reduced resting and exercise-induced energy expenditure [1], [3], [10] and [18]. Results of the present study, as well as our previous work [24], support the postulate that previously exercise-trained rats retain a higher capacity for fat accumulation in response to a HFD. In a recent study, using a much shorter time frame, it was reported that triacylglycerol synthesis in rat epididymal fat overshoots sedentary levels at 53 h of rest after 21 days of wheel running [17]. Although these data can hardly be extrapolated to the longer time frame of the present study, they do indicate that exercise training cessation is associated with an increased fat storage. It is difficult to know if the same results would have been obtained if the present experiment would have been pursued for a longer time sequence. It may be speculated that the effects of training, whether on the capacity to oxidize or store fat will vanish with time. However, the gain of fat resulting from training cessation may represent a new set point of body adiposity.

In addition to the factors mentioned above, it is possible that exercise training cessation may result in the activation of transcription factors regulating lipogenic

metabolism (*i.e.* PPAR  $\gamma$ ). On the other hand, it is well known that exercise training favours fat utilisation during exercise. It is plausible, albeit to our hypothesis, that fat oxidation is increased in the resting state in exercise trained animals and that this adaptation still remains for a certain time after cessation of exercise training but progressively decreased. This would provide an explanation as to why Inact-0-week rats accumulate less fat than Inact-4-week animals. It is also possible that while trained animals progressively lose their ability to oxidize fat upon cessation of exercise training, they retain for a longer period of time an increased capacity for fat storage. As a result, the residual effect of training on fat accumulation is as much, and may be more, deleterious after a period of rest and normal feeding than immediately upon cessation of exercise training.

It is appropriate to question the possibility that exercise training cessation, especially under the present HFD condition, might result in the development of a state of insulin resistance. Although the present study did not specifically address this question an increase in plasma insulin levels without a change in plasma glucose was measured under the HFD condition. However, hyper-insulinemia was similar in all three groups indicating that the increase in plasma insulin levels is more related to the HFD than to the detraining state. It is intriguing that the plasma leptin response to the HFD was similar in all groups. In a previous study, we observed that exercise-trained animals still depicted lower leptin values even when expressed per gram of fat [7]. It has been suggested that the leptin response with exercise training, and most likely with detraining, is more related to energy expenditure than to adipocytes fat accumulation [25]. Finally, it is appropriate to recall that the present results as well as the results of our previous study [24] were obtained in female rats. It is possible that different results might have been obtained in male rats.

In summary, results of the present study indicate that 8-week exercise trained rats that rest for 4 weeks, thus allowing a short-term fat mass regain maintain higher adiposity level in the Mes tissue in response to a HFD regimen than age-matched rats that remained sedentary and rats that just completed the same exercise training program. On a clinical point of view, the current study reiterates the importance of physical activity to prevent increases in abdominal fat [12]. It may also offer an explanation as to why decreased exercise interacting with the typical Western high-fat diet result in a rise in obesity in humans.

Table 1. Plasma glucose, insulin, and leptin concentrations in sedentary rats (Sed), rats detrained for 4 wk while fed a standard diet (Inact-4 wk), and rats that just completed their training programme (Inact-0 wk). Measurements were taken before and after 2 and 6 wk of high-fat feeding.

<i>WEEKS</i>	<i>0</i>	<i>2</i>	<i>6</i>
<b>Glucose (mmol/L)</b>			
Sed	6.08 ± 0.12	7.06 ± 0.13	6.47 ± 0.22
Inact-4 wk	6.42 ± 0.19	6.78 ± 0.23	6.75 ± 0.20
Inact-0 wk	7.12 ± 0.61	6.89 ± 0.30	6.84 ± 0.17
<b>Insulin (pM)</b>			
Sed	600 ± 141	864 ± 116 *	841 ± 108 *
Inact-4 wk	505 ± 74	746 ± 94 *	739 ± 104 *
Inact-0 wk	630 ± 138	857 ± 131 *	709 ± 68 *
<b>Leptin (ng/ml)</b>			
Sed	4.86 ± 1.16	10.09 ± 3.53 ***	12.91 ± 1.32 ***
Inact-4 wk	4.79 ± 0.88	7.81 ± 1.47 **	12.82 ± 2.24 **
Inact-0 wk	4.45 ± 1.27	9.92 ± 1.76 ***	9.17 ± 1.21 ***

Values are means ± SE,  $n = 7-9$  rats/group. \* Significantly different from corresponding values at time 0 wk,  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$ .

**Acknowledgements**

This work was supported by grants from the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (JML) and from the Canadian Institute of Health Research (JML and DP).

## Legends

Fig. 2. Body weight, weight gain, energy intake, the sum of three intra-abdominal fat pad weights (mesenteric, urogenital, and retroperitoneal), and the sum of four muscle weight (plantaris, soleus, medial and lateral gastrocnemius) in sedentary rats (Sed), rats at rest for 4 weeks while fed a standard diet (Inact-4 weeks), and rats that just stop their exercise training program (Inact-0 week). Measurements were taken before and after 2 and 6 weeks of high-fat feeding. Values are means  $\pm$  SE,  $n = 7-9$  rats/group. <sup>aa</sup> Significantly different from corresponding values at all preceding times,  $P < 0.01$ ; <sup>a</sup>  $P < 0.05$ .  $\alpha$  Significantly different from corresponding values at time periods - 12 to - 8, - 8 to - 4, and 2 to 6 weeks,  $P < 0.05$ . <sup>\*\*</sup> Significantly different from corresponding values at time 0 week,  $P < 0.01$ .  $\&\&$  Significantly different from corresponding values at time 2 weeks,  $P < 0.01$ . <sup>#</sup> Significantly different from Sed and Inact-0 week,  $P = 0.065$ .

Fig. 3. Fat pad weight, fat cell diameter and number in the mesenteric (Mes) and the subcutaneous (Sc) tissue in sedentary rats (Sed), rats at rest for 4 weeks while fed a standard diet (Inact-4 weeks), and rats that just stop their exercise training program (Inact-0 week). Measurements were taken before and after 2 and 6 weeks of high-fat feeding. Values are means  $\pm$  SE,  $n = 7-9$  rats/group. <sup>\*</sup> Significantly different from corresponding values at time 0 week,  $P < 0.05$ ; <sup>\*\*</sup>  $P < 0.01$ .  $\&$  Significantly different from corresponding values at time 2 weeks,  $P < 0.05$ ;  $\&\&$   $P < 0.01$ . <sup>#</sup> Significantly different from Sed,  $P = 0.057$  and Inact-0 week,  $P = 0.013$ .

Fig. 4. Liver and plasma triacylglycerol (TAG), free fatty acids (FFA), high density lipoproteins-cholesterol (HDL-C) and total cholesterol in sedentary rats (Sed), rats at



rest for 4 weeks while fed a standard diet (Inact-4 weeks), and rats that just stop their exercise training program (Inact-0 week). Measurements were taken before and after 2 and 6 weeks of high-fat feeding. Values are means  $\pm$  SE,  $n = 7-9$  rats/group. \*\*Significantly different from corresponding values at time 0 week,  $P < 0.01$ . A significant condition effect at  $P < 0.07$  was found between Inact 0-week and Inact-4 weeks in liver TAG.

Fig. 5. Body weight, liver triacylglycerol (TAG), the sum of 3 intra-abdominal fat pad weights, and plasma free fatty acids (FFA) in sedentary rats (Sed) rats, rats at rest for 4 weeks while fed a standard diet (Inact-4 weeks), and rats that just stop their exercise training program (Inact-0 week) further classified as rats prone (OP;  $n = 4-5$ ) or resistant (OR;  $n = 4-5$ ) to high-fat diet-induced obesity. Values are means  $\pm$  SE. && Significantly different from corresponding values at time 2 weeks,  $P < 0.01$ . # Significantly different from Sed and Inact-0 week,  $P < 0.05$ ; ##  $P < 0.01$ . \$ Significantly different from Inact-4 weeks,  $P < 0.05$ . bb Significantly different from all other groups,  $P < 0.01$ .  $\epsilon\epsilon$  Significantly different from corresponding OR values,  $P < 0.01$ .

## References

- [1] E.A. Applegate, D.E. Upton and J.S. Stern, Exercise and detraining: effect on food intake, adiposity and lipogenesis in Osborne–Mendel rats made obese by a high-fat diet, *J Nutr* **114** (1984), pp. 447–459.
- [2] F.W. Booth, M.V. Chakravarthy, S.E. Gordon and E.E. Spangenburg, Waging war on physical inactivity: using modern molecular ammunition against an ancient enemy, *J Appl Physiol* **93** (2002), pp. 3–30.
- [3] B.W. Craig, K. Thompson and J.O. Holloszy, Effects of stopping training on size and response to insulin of fat cells in female rats, *J Appl Physiol* **54** (1983), pp. 571–575.
- [4] J.P. Després, C. Bouchard, L. Bukowiecki, R. Savard and J. Lupien, Morphology and metabolism of human fat cells: a reliability study, *Int J Obes* **7** (1983), pp. 231–240.
- [5] G.L. Dohm, H.A. Barakat, E.B. Tapscott and G.R. Beecher, Changes in body fat and lipogenic enzyme activities in rats after termination of exercise training, *Proc Soc Exp Biol Med* **155** (1977), pp. 157–159.
- [6] K.N. Frayn and P.F. Maycock, Skeletal muscle triacylglycerol in the rat: methods for sampling and measurement and studies of biological variability, *J Lipid Res* **21** (1980), pp. 139–144.
- [7] M.S. Gauthier, K. Couturier, A. Charbonneau and J.M. Lavoie, Effects of introducing physical training in the course of a 16-week high-fat diet regimen on hepatic steatosis, adipose tissue fat accumulation, and plasma lipid profile, *Int J Obes* **28** (2004), pp. 1064–1071.

- [8] M.S. Gauthier, K. Couturier, J.G. Latour and J.M. Lavoie, Concurrent exercise prevents high-fat-diet-induced macrovesicular hepatic steatosis, *J Appl Physiol* **94** (2003), pp. 2127–2134.
- [9] M.S. Gauthier, R. Favier and J.M. Lavoie, Time course of the development of non-alcoholic hepatic steatosis in response to high-fat diet-induced obesity in rats, *Br J Nutr* **95** (2006), pp. 273–281.
- [10] J.O. Hill, J.R. Davis and A.R. Tagliaferro, Effects of diet and exercise training on thermogenesis in adult female rats, *Physiol Behav* **31** (1983), pp. 133–135.
- [11] J.O. Hill, S. Thacker, D. Newby, M.N. Sykes and M. Digirolamo, Influence of food restriction coupled with weight cycling on carcass energy restoration during *ad-libitum* refeeding, *Int J Obes* **11** (1987), pp. 251–262.
- [12] J.O. Hill, H.R. Wyatt, G.W. Reed and J.C. Peters, Obesity and the environment: where do we go from here?, *Science* **299** (2003), pp. 853–855.
- [13] L. Hoffman-Goetz and M.A. MacDonald, Effect of treadmill exercise on food intake and body weight in lean and obese rats, *Physiol Behav* **31** (1983), pp. 343–346.
- [14] F.B. Hu, Sedentary lifestyle and risk of obesity and type 2 diabetes, *Lipids* **38** (2003), pp. 103–108.
- [15] M. Krotkiewski and P. Bjorntorp, The effect of progesterone and of insulin administration on regional adipose tissue cellularity in the rat, *Acta Physiol Scand* **96** (1976), pp. 122–127.

- [16] D.S. Kump and F.W. Booth, Alterations in insulin receptor signalling in the rat epitrochlearis muscle upon cessation of voluntary exercise, *J Physiol* **562** (2005), pp. 829–838.
- [17] D.S. Kump and F.W. Booth, Sustained rise in triacylglycerol synthesis and increased epididymal fat mass when rats cease voluntary wheel running, *J Physiol* **565** (2005), pp. 911–925.
- [18] E.V. Lambert, G. Wooding, M.I. Lambert, J.H. Koeslag and T.D. Noakes, Enhanced adipose tissue lipoprotein lipase activity in detrained rats: independent of changes in food intake, *J Appl Physiol* **77** (1994), pp. 2564–2571.
- [19] B.E. Levin and A. Dunn-Meynell, Chronic exercise lowers the defended body weight gain and adiposity in diet-induced obese rats, *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **286** (2004), pp. R771–R778.
- [20] B.E. Levin and A.A. Dunn-Meynell, Defense of body weight against chronic caloric restriction in obesity-prone and -resistant rats, *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **278** (2000), pp. R231–R237.
- [21] C. Petibois, A. Cassaigne, H. Gin and G. Déléris, Lipid profile disorders induced by long-term cessation of physical activity in previously highly endurance trained-trained subjects, *J Clin Endocrinol Metab* **89** (2004), pp. 3377–3384.
- [22] J. Satia-Abouta, R.E. Patterson, R.N. Schiller and A.R. Kristal, Energy from fat is associated with obesity in US men: results from the Prostate Cancer Prevention Trial, *Prev Med* **34** (2002), pp. 493–501.
- [23] T.Y. Shepard, K.M. Weil, T.A. Sharp, G.K. Grunwald, M.L. Bell and J.O. Hill *et al.*, Occasional physical inactivity combined with a high-fat diet may be important in

the development and maintenance of obesity in human subjects, *Am J Clin Nutr* **73** (2001), pp. 703–708.

[24] S. Yasari, A. Paquette, A. Charbonneau, M.S. Gauthier, R. Savard and J.M. Lavoie, Effect of ingesting a high-fat diet upon exercise training cessation on fat accretion in the liver and adipose tissue in rats, *Appl Physiol Nutr Metab* **31** (2006), pp. 1–9.

[25] D. Zheng, M.H. Wootter, Q. Zhou and G.L. Dohm, The effect of exercise on ob gene expression, *Biochem Biophys Res Commun* **225** (1996), pp. 747–750.

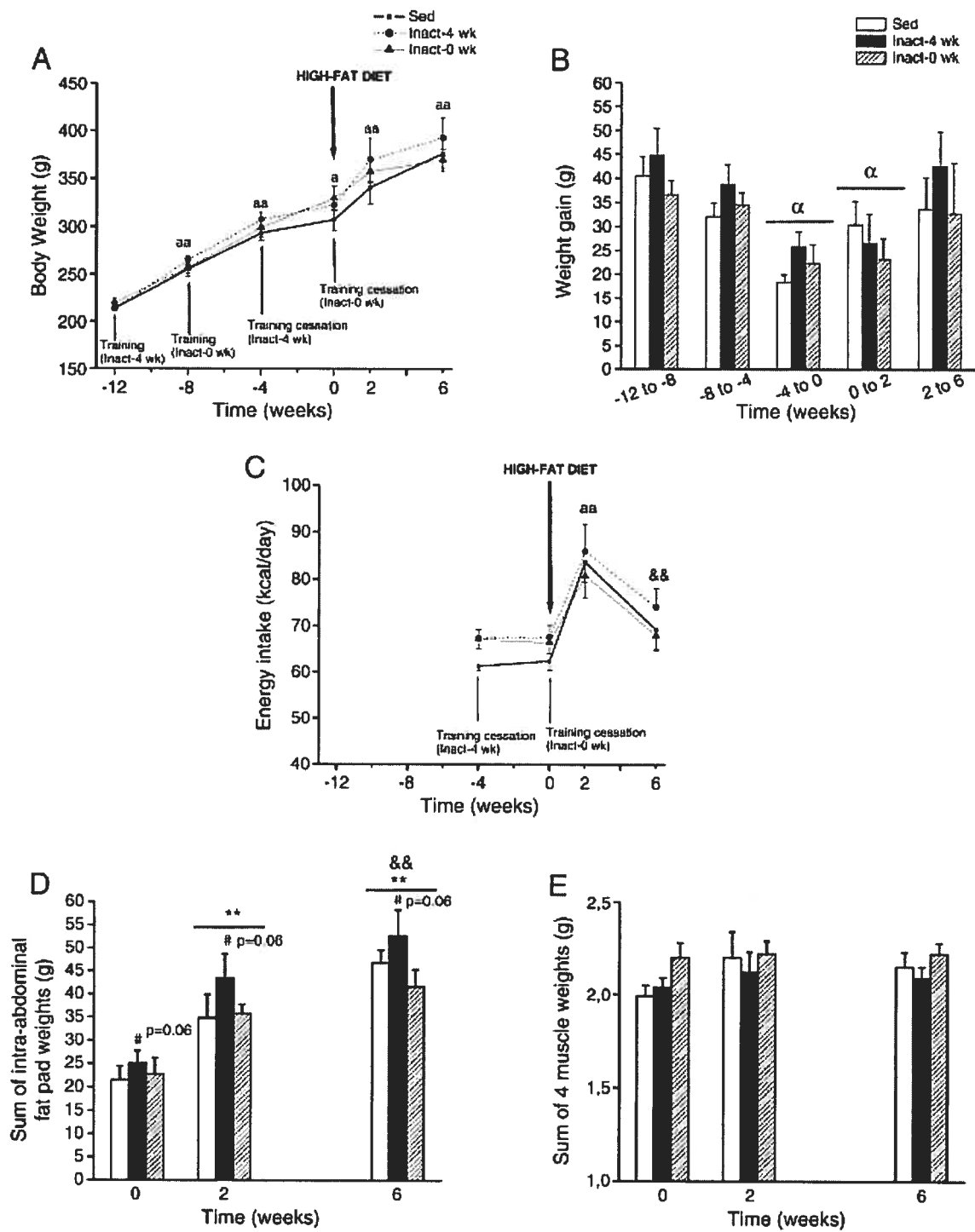


Figure 2.

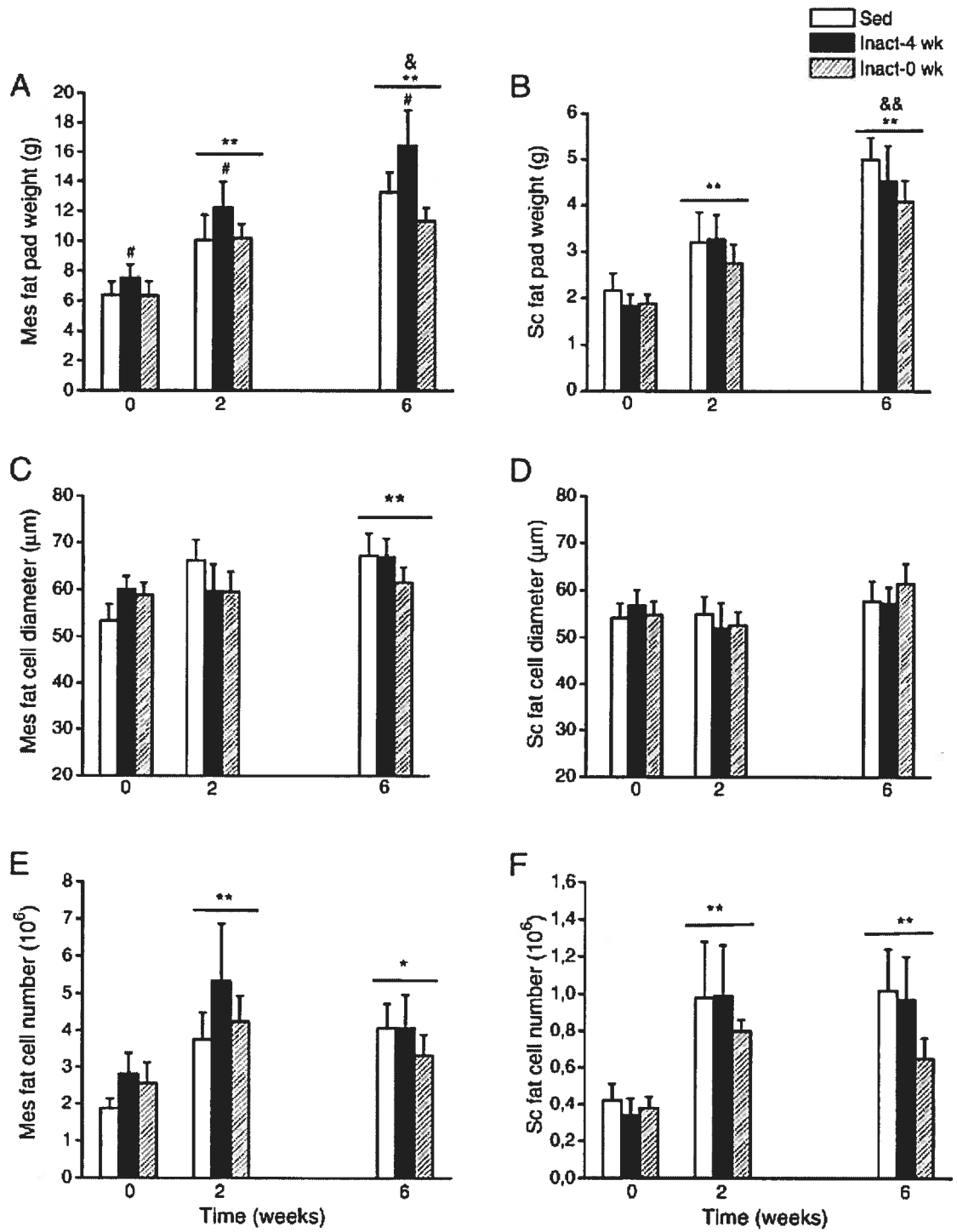


Figure 3.

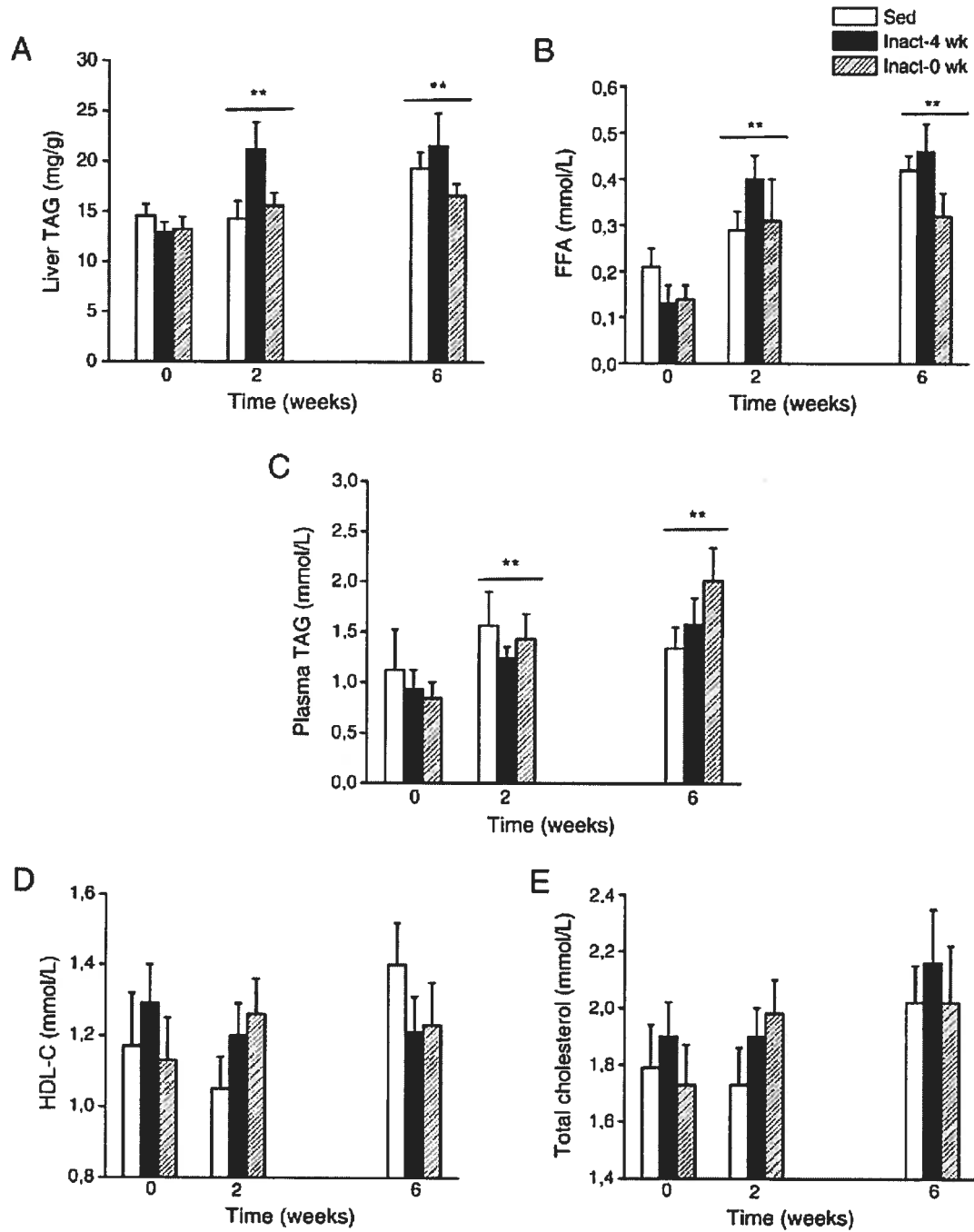


Figure 4



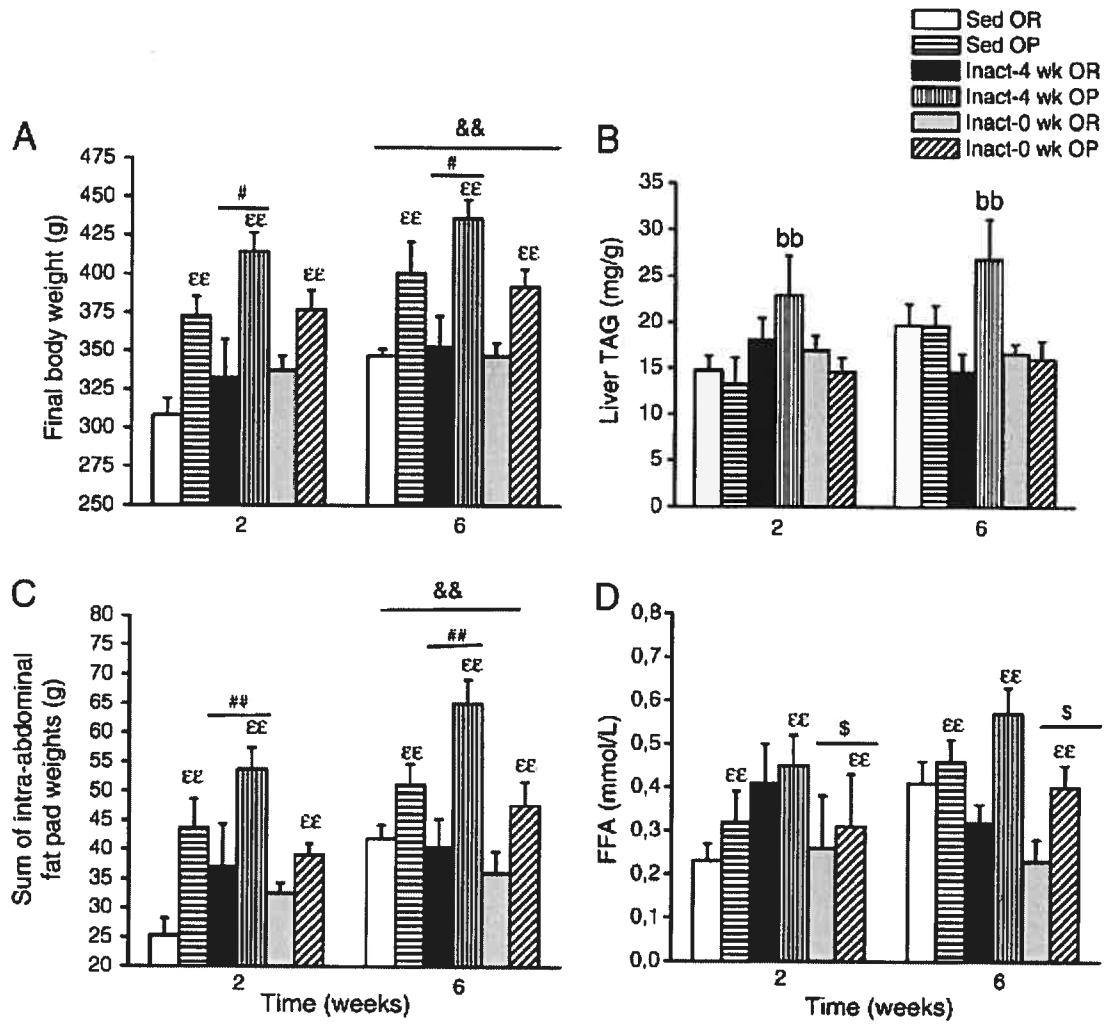


Figure 5.

### 2.3. Étude 3-4-

#### Titre

Exercise training downregulates hepatic SCD-1 and ObR expression while inceasing *de novo lipogenesis* in rats.

#### Auteurs

Siham Yasari, Donghao Wang, Denis Prud'homme, Marek Jankowski, Émile Levy, Jolanta Gutkowska, and Jean-Marc Lavoie.

#### Journal

Étude en préparation pour le Federation of American Societies for Experimental Biology Journal (FASEB J.)

**EXERCISE TRAINING DOWNREGULATES HEPATIC SCD-1 AND ObR  
EXPRESSION WHILE INCREASING *DE NOVO LIPOGENESIS* IN RATS.**

Siham Yasari<sup>1</sup>, Donghao Wang<sup>2</sup>, Denis Prud'homme<sup>3</sup>, Marek Jankowski<sup>2</sup>, Émile  
Levy<sup>4</sup>, Jolanta Gutkowska<sup>2</sup>, and Jean-Marc Lavoie<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Department of Kinesiology, University of Montreal. Montreal, Canada.

<sup>2</sup> Research Center, Cardiovascular Biochemistry Laboratory, CHUM-Hôtel-Dieu,  
University of Montreal. Montreal, Canada.

<sup>3</sup> School of Human Kinetics, Faculty of Health Sciences, University of Ottawa.  
Ottawa, Canada.

<sup>4</sup> Research Center, Sainte-Justine Hospital and Department of Nutrition, University  
of Montreal. Montreal, Canada.

**Running title:** Exercise training and SCD-1 expression in liver.

Mailing proofs: Dr. Jean-Marc Lavoie

Département de kinésiologie  
Université de Montréal  
C.P. 6128, Succ. centre-ville  
Montréal (Québec) Canada H3C 3J7  
Tel: (514) 343-7044  
Fax: (514) 343-2181



## Abstract

Stearoyl-CoA desaturase-1 (SCD-1) is a key enzyme of hepatic fat regulation and a determinant factor in liver triacylglycerol (TAG) assembly. Moreover, exercise training is known to decrease liver TAG content. The present investigation was designed to test the hypothesis that exercise training in rats suppresses the expression of SCD-1 in liver. In addition, we tested the hypothesis that exercise training **1)** is associated with an increase in the expression of hepatic leptin receptors (ObR) **2)** facilitates the hepatic acute management of substrates following a fast-refed situation. Female rats, exercised (TR) for 8 wk or kept sedentary (Sed) were submitted to nutritional challenges using two approaches. In study 1, rats were sacrificed after ingesting either a standard (SD), a high fat (HF; 42% kcal) or a high carbohydrate (HC, 99% fructose; 66% kcal) diet during the last 14 days of the 8 wk experimental period. In the second approach, 8-wk normally fed TR and Sed rats were subjected to a fast-refeed regimen with diets over the last 24h prior to sacrifice being either SD, HF, or HC. Exercise training resulted in a decrease ( $P < 0.05$ ) in SCD-1 expression and protein content in HF fed rats. Opposite to our hypothesis, hepatic ObR-a,-b, and -e expressions were lower in TR compared to Sed rats in almost all our experimental conditions. Exercise training in 2-wk HF and HC fed animals resulted in lower expression of the transcription factor ChREBP without affecting the expression of SREBP-1c and, surprisingly in lower expression of catabolic transcription factors PPAR $\alpha$  and PGC-1 $\alpha$ . Finally, exercise training in rats fast-refed with the HC diet resulted in higher liver desaturation indexes, C 16:1 and C 18:1 percentage, and MUFA/SFA ratio indicating an increased capacity of the liver to synthesize mono-unsaturated fatty acids under this condition. It is concluded that

exercise training increases the metabolic flexibility of the liver to adequately respond to the types of substrates by stimulating the appropriate disposal.

**Key words:** transcription factors; gene expression, desaturation index; hepatic lipids; high fat diet; high fructose diet; fat accumulation.

## Introduction

SCD-1 is the rate limiting enzyme in the biosynthesis of monounsaturated fats from saturated fats (1). The most targeted substrates for SCD-1 are palmitic (C16:0) and stearic acids (C18:0) to generate palmitoleic (C16:1) and oleic acids (C18:1), respectively. These products are the most abundant fatty acids found in triglycerides, cholesterol esters, and phospholipids (1). The interest in this enzyme has been stimulated by the finding that a deficiency in SCD-1 decreases liver steatosis and hepatomegaly in *ob/ob* mice (2). Moreover, liver triglycerides and *de novo* lipogenesis are reduced in SCD-1 knockout mice (3). These mice are resistant to diet-induced weight-gain and high-fat diet-induced hepatic steatosis (3, 4). The importance of SCD-1 is such that it is now considered a central control factor in lipid homeostasis and body weight regulation (5-7). Not surprisingly, SCD-1 was suggested to be a promising therapeutic target in the treatment of obesity and associated disorders (8, 9).

It has been demonstrated by our group (10) and others (11) in high-fat fed rats and more recently by Perseghin et al. (12) in humans that exercise training pursued for a certain period of time decreases liver lipid content. There is also some evidence that exercise training may downregulate hepatic lipogenic enzymes (13). These observations support the concept that liver lipid metabolism is regulated by exercise training. However, there is a paucity of experimental evidence documenting the molecular events by which a better regulation of hepatic lipid metabolism is achieved through exercise training. Such knowledge is important since it may have a therapeutic value. Based on what is known on SCD-1 action, we speculate that the beneficial effects of exercise training on the liver are mediated by a downregulation of SCD-1 expression. The first purpose of the present study was, therefore, to test

the hypothesis that exercise training decreases liver SCD-1 expression. This was complemented by the measurement of several transcription factors known to regulate or to be regulated by SCD-1 and by the measurement of the hepatic and plasma levels of C16:1 / C16:0 and C 18:1 / C18:0 fatty acids (desaturation index). To maximize the hepatic adaptations to exercise training, Sed and TR animals were studied under a standard diet condition and in response to a HF and a HC diet for two wks.

One of the mechanisms by which hepatic SCD-1 activity is thought to be modulated is leptin action (2, 14). SCD-1 repression and leptin action have both been associated with a reduction in liver lipid content (2, 15). It could, therefore be inferred that possible SCD-1 repression in liver with exercise training might be caused by leptin action. However, plasma leptin concentrations are known to decrease following exercise training even when corrected for fat mass decrease (16). There is, at the present time, no clear information on how lower plasma leptin levels resulting from exercise training relate to leptin action. One avenue might be leptin receptors. Hepatic leptin receptors have been suggested to be strongly influenced by leptin treatment and food deprivation (17). It is not known if the expression of ObR in the liver is modified with exercise training. In an attempt to document leptin action to exercise training, we tested the hypothesis that exercise training will upregulate the expression of the leptin receptors in the liver under the same conditions used for the measurement of SCD-1 expression.

One situation under which SCD-1 expression in liver has been reported to respond rapidly is the nutritional manipulation of two cycles of starvation followed by refeeding with a fat-free diet (18, 19). This situation *per se* constitutes an interesting experimental approach to examine if exercise training may affect hepatic SCD-1

expression. In addition, the fast-refed situation presents the advantage of providing an *in vivo* situation where the management of a substrate load can be studied under sedentary and trained states. There is, to our knowledge, no information regarding the impact of exercise training on the acute hepatic management of an increased arrival of substrates. In the second part of the present study we examined the effects of exercise training on liver SCD-1, Ob receptors, and several transcription factors expression along with hepatic desaturation indexes (C16:1 / C16:0 and C 18:1 / C18:0) in 24-h fasted rats refed for 24 h with a standard, a HF or a HC diet. Results of the present study indicate that exercise training is associated with a reduction in the expression and the protein level of liver SCD-1, especially under the HF diet, and a decrease in the reduction of all hepatic Ob receptors in almost all dietary conditions. In addition, exercise training increased the liver desaturation indexes in the fast-refed situation in response to the HC diet.



## **MATERIALS AND METHODS**

### **Animal care**

Female Sprague-Dawley rats (Charles River, St-Constant, PQ, Canada), weighing 180-200 g (6 wk of age) upon their arrival were housed individually and had *ad libitum* access to food and tap water ( $n = 120$ ). Female rats were used in the present study to avoid the decrease in food intake and body weight observed in exercise-trained male rats (20, 21). Their environment was controlled in terms of light (12:12-h light-dark cycle starting at 6:00 AM), humidity, and room temperature (20-23°C). All experiments described in this report were conducted according to the directives of the Canadian Council on Animal Care after institutional approval.

### **Exercise training protocol**

Four days after their arrival, all animals were randomly assigned to a sedentary (Sed) or an exercise-trained group (TR). Exercise training consisted of continuous running on a motor-driven rodent treadmill (Quinton Instruments, Seattle, WA) 5 times/wk for 8 wk. Exercise intensity was progressively increased from 15 min/day at 15 m/min, 0% slope, up to 60 min/day at 26 m/min, 10% slope, for the last 4 wk of the program. Based on previous measurements of oxygen consumption during a progressive exercise test in rats, it is estimated that exercise intensity during the last 4 wks of the training program was ~65% of maximal oxygen consumption (22). At the end of this 8-wk period, animals were sacrificed 36 to 48 h after the last exercise session.

### **Dietary treatment protocols**

Rats in the present study were submitted to two nutritional approaches described under studies 1 and 2.

#### **Study 1: Continuous feeding (n = 60).**

During the first 6 wk of this first experiment, all animals had free access to a standard diet and tap water. The diet, now referred to as the standard diet (SD; 12.5% lipid, 63.2% carbohydrate, and 24.3% protein; kcal) consisted of usual pellet rat chow (Agribrands Canada, Woodstock, ON). At the beginning of the seventh wk, both TR and Sed rats were subdivided into three subgroups for a total of 6 subgroups (n = 10 /subgroup). One subgroup of animals continued to be fed the SD diet for the next 2 wks. The 2nd and the 3rd subgroups of animals switched to either a high-fat (HF) or a high-carbohydrate (HC) diet consisting mostly of fructose (99%). Details of the diets are presented in Table 1. Rats were submitted to a 2 wk pro-steatotic diet in order to warrant some continuity with our previous studies (23, 24). In these studies, we observed that liver becomes rapidly and highly infiltrated with lipids after 1-2 wk in response to high fat feeding and then decreases its lipid content during the following wk suggesting an adaptation to the HF diet (23, 24). We choose to use this approach in the present study to maximize the effects of the diets before any adaptations take place and in this way better isolate the effects of training. Since we do not have any precise information on the time course of liver lipid infiltration under the HC diet, we chose to standardize our approach and use the same 2 wk period.

**Study 2: Fast-refed (n = 60)**

In the second study animals were also divided into six subgroups as for the continuous feeding, but the dietary manipulations were different. During the first 7 wk, Sed and TR animals had free access to the SD diet. In order to induce the expression of SCD-1, animals were submitted to two fast-refeeding cycles as described previously (19). Four days prior to sacrifice, animals were starved for 24 h, refed a SD diet for 24 h, starved for another 24 h and then refed the SD, the HF, or the HC diet 24 h prior to their sacrifice. Body weight and food intake were monitored 3 times / wk in all rats in both protocols and every day during the fast-refed period.

**Blood and tissue samplings**

All animals were sacrificed between 09:00 and 11:00 AM. Food was removed from the animals' cage at least 3 h before sacrifice. After complete anaesthesia (pentobarbital sodium, 50 mg/kg ip), the abdominal cavity was rapidly opened following the median line of the abdomen. Blood was rapidly (< 45 s) drawn from the abdominal vena cava (~ 4ml) into syringes pre-treated with EDTA (15%). Thereafter, blood was centrifuged (3,000 rpm for 10 min, 4 °C). The liver median lobe was freeze-clamped and used for mRNA, Western blot, and lipid analysis. The mesenteric (Mes), urogenital (Ug), retroperitoneal (Rp), and subcutaneous (Sc) fat deposits were excised and weighed in that order. Mesenteric fat pad consisted of adipose tissue surrounding the gastro-intestinal tract from the gastro-oesophageal sphincter to the end of the rectum with special care taken in distinguishing and removing pancreatic cells. Urogenital fat pad included adipose tissue surrounding the kidneys, ureters, and bladder as well as ovaries, oviducts and uterus.

Retroperitoneal fat pad was taken as that distinct deposit behind each kidney along the lumbar muscles. For subcutaneous deposit measurement, a rectangular piece of skin was taken on the right side of each animal, from the median line of the abdomen to the spine and the right hip to the last rib (25). Skeletal muscles (plantaris, soleus, medial and lateral gastrocnemius) of the right limb were, thereafter, removed and weighed. All tissue samples were frozen in liquid nitrogen immediately after being weighed. All plasma and tissue samples were stored at  $-80^{\circ}\text{C}$  until analyses.

### **Analytical procedures**

#### *Western blot analysis*

Liver tissue was prepared by homogenization in RIPA (Radioimmuno Precipitation Assay) buffer (50 mM Tris HCl pH8, 150 mM NaCl, 1% NP-40, 0,5% sodium Deoxycholate, 0,1% sodium dodecyl sulphate (SDS) and  $10^{-5}$  M protease inhibitors (phenylmethyl sulfonyl fluoride (PMSF), EDTA and Pepstatin A) then centrifuged at 10,000 *g* for 20 min, at  $4^{\circ}\text{C}$ . The supernatants were collected, and protein concentrations were determined using Bradford assay. Then, 30  $\mu\text{g}$  of total protein were applied to each well of 12% SDS polyacrylamide gel and electrophoresed at  $4^{\circ}\text{C}$  for 2 h at 130 V. The resolved protein bands were then transferred onto nitrocellulose membranes (Hybond-C Extra; Amersham Biosciences) at 30 V for 120 min, at room temperature. The blots were blocked overnight at  $4^{\circ}\text{C}$  with blocking buffer (10% non-fat milk in 10 mmol/L Tris, pH 7.5, 100 mmol/L NaCl, 0.1% Tween 20). The blots were incubated for 1 h at room temperature with primary antibody rabbit polyclonal anti SCD-1 (1:2000) kindly given by Dr Juris Ozols, then with

horseradish peroxidase-labeled donkey anti-rabbit IgG (1:10000 dilution, Amersham Biosciences UK) for 2 hours at room temperature as secondary antibody. Finally the blots were visualized using ECL (enhanced chemiluminescent, Amersham RPN 2132) and exposed to auto radiography film (Eugene, St-Laurent, QC). Quantification of band density was performed using Photoshop software.

#### *Semiquantitative real-time PCR*

Total RNA was extracted from frozen liver tissue with the use of TRIzol (Invitrogen Canada Inc, Burlington, ON) according to the manufacturer's protocol and thereafter treated with DNase (Invitrogen Canada Inc, Burlington, ON) in order to avoid genomic contamination. Treated RNA (8  $\mu$ g) was reverse transcribed into cDNA using random hexamer primers (Invitrogen) and reverse transcriptase (Invitrogen). We added 2  $\mu$ l cDNA to 18  $\mu$ l of a reaction mixture containing 1X iQ SYBER Green Supermix (Bio-Rad Laboratories Inc.) and all samples were analysed in duplicate. Polymerase Chain Reaction (PCR) was performed in an iCycler IQ Real-Time PCR detection system (Bio-Rad Laboratories, Inc., Hercules, CA) using SYBER Green chemistry. The gene specific primers were purchased from Invitrogen Life Technologies, Inc., and are listed in Table 2. The thermal cycling program was 95°C for 2 min, followed by 40 cycles at 95°C for 25 s, at 60°C for 25 s, and at 72°C for 40 s. Following PCR, the melting curve was completed to ensure that only one PCR product was amplified per reaction. The relative gene expression was calculated as a function of  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  and normalized for  $\beta$ -actin. The equation used in the calculation was as follow: fold induction =  $2^{-\Delta\Delta Ct}$ , where Ct = the threshold cycle, (i.e. the cycle number at which the sample's relative fluorescence rises above background fluorescence) and  $\Delta\Delta Ct = [Ct \text{ gene of interest (unknown sample)} - Ct \text{ } \beta\text{-actin}$

(unknown sample) - Ct gene of interest (calibrator sample) – Ct  $\beta$ -actin (calibrator sample)].

*Liver tissue preparation for lipid analysis using the Folch method (26):*

Samples of 150-200 mg frozen liver tissue were homogenized in a saline buffer supplemented with 1% anti-protease (PMSF, Pepstatin, leupeptin) and 1 % anti-oxidant (butylated hydroxytoluene, BHT). Lipid extraction from liver tissue was performed overnight at 4°C with the use of a 2:1 chloroform-methanol mixture (vol/vol). Then, saline was added and the lower phase was removed into glass vials and dried under a stream of nitrogen (27). Tubes were immediately stored at -80°C for further fatty acid measurements.

*Plasma and liver fatty acid composition analysis and SCD-1 desaturation index*

The method used for fatty acid composition analysis was slightly adapted from the technique described by Lepage and Roy (28). Plasma (100  $\mu$ l) or prepared liver tissue (described above) was used for this analysis. The samples were dissolved in 2 ml methanol-hexane 4:1 (v/v) mixture containing BHT and an internal fatty acid standard (Nonadecenoic acid C19:1; NU-Check Prep. Inc., Elysian, MN, USA). Then, 200  $\mu$ l of acetyl-chloride was added to each tube. Samples were hydrolysed at 100°C for 60 min, followed by the addition of 5 ml of 6 %  $K_2CO_3$ . The upper phase was extracted and then analysed by gas-chromatography. As described by Mainieri et al (27) using the quantitative values of palmitic acid (C16:0), palmitoleic acid (C16:1), stearic acid (C18:0) and oleic acid (C18:1), the desaturation index of SCD-1 was determined using the product/substrate ratio (C16:1/C16:0 and C18:1/C18:0).

### *Liver TAG*

Liver TAG concentration was estimated from glycerol released after ethanolic KOH hydrolysis by a colorimetric method using commercial kits from Sigma (St-Louis, Missouri, USA). Although this method does not discriminate between glycerol from phospholipids or TAG, Frayn and Maycock (29) have shown that omitting removal of phospholipids leads to only a  $\pm 2\%$  error in the determination of tissue TAG.

### *Plasma FFA and TAG*

Plasma total free fatty acid (FFA) concentrations were measured by a colorimetric assay with commercially available kits from Roche Diagnostics (Penzberg, Germany). Plasma TAG was measured using a colorimetric method (Sigma; St-Louis, Missouri, USA).

### *Plasma glucose, insulin and leptin*

Plasma glucose concentrations were determined with the use of a glucose analyser Yellow Springs Instruments 2300 (Yellow Springs, Ohio, USA). Plasma insulin and leptin concentrations were measured with commercially available radioimmunoassay kits (Linco Research, St-Charles, Missouri, USA).

**Statistical analysis**

Values are expressed as means  $\pm$  S.E. Statistical analyses were performed with the use of a two-way ANOVA for non-repeated measures using training status and diet as main effects. Since the present study was not aimed at comparing the effects of the HF vs the HC diet, analyses comparing SD vs HF and SD vs HC diets were performed separately. Fisher LSD post hoc test was applied where appropriate and *P* values  $< 0.05$  were considered significant.



## RESULTS

### Study 1: Continuous feeding

Body weight and food intake were not statistically affected by the two-wk period of HF or HC feeding in the Sed state (Table 3). Although training resulted in higher ( $P < 0.05$ ) body weight in the SD and HC fed animals, it had no significant effect on the amount of food ingested. Interestingly, The intra-abdominal fat pad weights were significantly ( $P < 0.05$ ) higher after the ingestion of the HF, but not the HC diet, whereas the muscle weight was significantly ( $P < 0.05$ ) decreased under the HC feeding in comparison to the SD diet (Table 3). Training resulted in significantly ( $P < 0.05$ ) lower fat mass accumulation in SD and HF fed rats, but not after the HC diet. The muscle mass was higher ( $P < 0.005$ ) after training in all dietary conditions. Plasma FFA levels were significantly ( $P < 0.05$ ) higher after the HF and the HC diets while plasma TAG levels were higher ( $P < 0.005$ ) only after the HC diet. These changes were not different with exercise training. Plasma glucose levels were slightly higher ( $P < 0.05$ ) following the HF and the HC diets while insulin levels were unchanged. Higher values ( $P < 0.05$ ) for plasma glucose levels were measured in TR rats under the SD and HC diets (Table 3).

The HF diet resulted in significantly ( $P < 0.05$ ) lower levels of SCD-1 mRNA, liver and plasma desaturation index (C16: 1 / C16: 0), as well as with a significantly ( $P < 0.005$ ) higher liver TAG content (Fig.1A, C-E; Sed). On the opposite, the fructose-rich diet induced significantly higher ( $P < 0.005$ ) levels of SCD-1 mRNA and its protein content, as well as with higher liver and plasma desaturation indexes (C16:1 / C16: 0 and C18:1 / C18: 0), and liver TAG level (Fig. 1 A-G). These data indicate that both diets had significant although somewhat different effects on lipid

metabolism. Exercise training resulted in significantly ( $P < 0.005$ ) lower levels of SCD-1 mRNA and protein level under the SD and the HF diets, but not under the HC diet (Fig. 1A). The desaturation indexes were not affected by the exercise training with the exception of a lower ( $P < 0.05$ ) plasma desaturation index (C16:1 / C16:0) under the SD and the HC diet (Fig.1E) and an increase in liver desaturation index (C18:1 / C18:0) in HC fed rats (Fig. 1F).

Liver and plasma fatty acid composition is presented in Fig.2. The HF feeding decreased significantly ( $P < 0.05$ ) the level of liver and plasma C16:1 content in addition to plasma PUFA / SFA ratio; while slightly increasing the plasma C18:1 content (Fig. 2A, B, D, F). On the opposite, the high HC diet increases liver and plasma C16:1 and C18:1 content as well as plasma MUFA/SFA while decreasing plasma PUFA/SFA (Fig. 2A-F). Exercise training was associated with significantly ( $P < 0.05$ ) lower liver C16:1 content following the SD and HF diet, and significantly ( $P < 0.005$ ) higher liver C18:1 content following the HC diet.

To obtain complementary information regarding lipids management and SCD-1 transcription following exercise training, we measured the expression of four transcription factors related to liver lipogenesis and oxidation. The expression of SREBP-1c, ChREBP, and PGC1- $\alpha$  was significantly ( $P < 0.05$ ) higher following the HF and the HC diets whereas the expression of PPAR $\alpha$  was significantly ( $P < 0.05$ ) higher following the HF diet (Fig. 3). All responses were significantly different in exercise trained rats with the exception of SREBP-1c (Fig.3A). The transcript level of ChREBP and PGC-1 $\alpha$  were significantly ( $P < 0.05$ ) lowered by training under both

HF and HC diets (Fig. 3 B, D). Also PPAR $\alpha$  showed a significantly ( $P < 0.05$ ) lower expression level after training under the SD and the HC diet (Fig. 3 C).

Plasma leptin concentrations were significantly ( $P < 0.05$ ) higher following the HF, but not the HC diet, whether expressed in absolute or in relative values (Fig. 4A, B). Training resulted in significantly ( $P < 0.05$ ) lower absolute and relative leptin levels in all dietary conditions. The expression of the ObR-b in the liver was the only leptin receptor that showed significantly ( $P < 0.005$ ) higher expression following the HF and the HC diets (Fig. 4D) in Sed rats. Concomitantly with the exercise training-induced lower levels of plasma leptin, the hepatic expression of all ObR isoforms was significantly ( $P < 0.05$ ) lower with training in all dietary conditions with the exception of ObR-b in SD fed animals.

### **Study 2: Fast-refed**

The HF and the HC fast-feeding was not associated with changes in body weight, adiposity, muscle weight, and plasma glucose and insulin even though food intake was higher and lower ( $P < 0.005$ ) after the HF and HC diet, respectively (Table 4). The only significant metabolic effect of the refeeding diets was an increase ( $P < 0.05$ ) in plasma FFA in HC fed animals. Exercise training was associated with significantly ( $P < 0.05$ ) higher food intake under the 3 diet conditions without any changes in body weight. Training also resulted in an increase ( $P = 0.06$ ) in the sum of muscle weights in all 3 diet conditions, while the intra-abdominal adiposity ( $P = 0.058$ ) was lower in SD and HC refed rats. On the other hand, training decreased significantly ( $P < 0.005$ ) plasma FFA level under the HC diet while increasing ( $P < 0.05$ ) plasma TAG under the SD and HC diets (Table 4).

The 24-h HF refeeding was associated with significantly ( $P < 0.01$ ) higher SCD-1 mRNA and liver TAG content, while in addition to these two variables the HC refeeding resulted in higher ( $P < 0.005$ ) SCD-1 protein content and plasma desaturation indexes (Fig. 5). As observed under the continuous feeding condition, exercise training was associated with lower ( $P < 0.05$ ) SCD-1 mRNA after the 24-h HF fast-refed (Fig. 5A). In addition, the desaturation indexes measured in the liver (C16:1 / C16:0 and C18:1 / C18:0) and the plasma (C18:1 / C18:0) were higher ( $P < 0.005$ ) in exercise trained rats following the HC refeeding (Fig. 5D, F, G).

Fig. 6 shows liver and plasma fatty acids composition after the fast-refed protocol. Refeeding with the HF as well as with the HC diet resulted in higher ( $P < 0.005$ ) levels of plasma C18:1 ( $P < 0.05$ ) and ratio of plasma MUFA/SFA as well as with lower levels of liver and plasma PUFA/SFA ( $P < 0.005$ ); thus suggesting an increased fatty acid desaturation activity. In agreement with the response of the desaturation indexes (Fig. 5 D, F, G), liver and plasma C16:1 and C18:1 concentrations as well as liver and plasma MUFA/SFA ratios were higher with exercise training in HC refed animals. These results support the idea of an increased lipid desaturation activity with exercise training in HC fed animals.

In continuity with the analyses carried out in the continuously fed rats, SREBP-1c, ChREBP, PPAR $\alpha$  and PGC-1 $\alpha$  expressions were investigated in the fast-refed animals. The only diet effect found on these variables was higher levels ( $P < 0.05$ ) of SREBP-1c under both the HF and the HC diets (Fig. 7A). The effect of exercise

training was limited to lower ( $P < 0.05$ ) PPAR $\alpha$  mRNA under the SD and HC diets (Fig. 7 C).

Absolute or relative plasma leptin values were significantly higher ( $P < 0.005$ ) when refeeding was carried out using the HF-diet (Fig. 8 A, B). Differently to what has been observed in 2-wk HF or HC fed animals. Exercise training in the fast-refed condition resulted in small but significantly ( $P < 0.05$ ) lower plasma leptin levels in absolute values only in SD and HC diets (Fig. 8A). On the other hand, exercise training induced lower ( $P < 0.05$ ) expression of all forms of ObR in almost all diet conditions, even though the diet effects were mainly observed with higher ( $P < 0.005$ ) levels following the HF refeeding (ObR-b and ObR-e).

## **DISCUSSION**

SCD-1 is a fatty acid desaturase that introduces a double bond at the 9-10 position from the carboxylic end of saturated fatty acids (30). There is strong indication that endogenous synthesis of monounsaturated fatty acids through SCD-1 pathway activation is crucial in mammals (30, 31). For instance, monounsaturated fatty acids dietary supplementation in SCD-1 knockout mice fails to restore normal content to the level found in wild type mice (4). On the other hand, the spontaneous natural absence of SCD-1 in Asebia mice, the targeted disruption of SCD-1 gene in SCD-1 knockout mice, and the inhibition of SCD-1 using specific antisense oligonucleotides protect against liver lipid infiltration (4, 32). The lack of SCD-1 also protects against high-fat diet- and high-fructose-diet- induced hepatic steatosis (33, 34). The hypothesized decrease in SCD-1 gene expression with exercise training may therefore constitute a protection against the deleterious effects of fat accumulation exacerbated by a HF or a HC diet.

### **Effects of exercise training under the continuous feeding state**

The main finding of the present study is that chronic exercise training decreases SCD-1 mRNA and protein level in the liver under the SD, but especially under the HF diet. SCD-1 expression was decreased by ~ 80% following exercise training in HF fed rats, thus indicating a strong synergetic effect between the HF diet and exercise. In the only other study, to our knowledge, on the effects of exercise training on SCD-1 expression, it was found that SCD-1 mRNA is higher in skeletal muscle of trained mice (35). The present data showed a decrease in liver SCD-1 expression and protein content with exercise training under the HF, indicating that SCD-1 adaptation to chronic exercise is tissue specific.

Although exercise training was associated with a decrease in SCD-1 expression and protein content in HF fed animals, there were no effect of exercise training on liver and plasma desaturation index as well as on all of the plasma lipids. There was also no effect of exercise training on the HF-induced increase in liver TAG levels. This indicates that the effect of exercise training on hepatic SCD-1 expression after 2 wk of HF feeding was mainly at the transcription and the protein level and was yet to be translated into a metabolic activity. A possible explanation for this finding may be that SCD-1 regulation is an early step in the overall adaptations of exercise training to an increased arrival of lipids to the liver.

In previous works, we reported that the liver becomes rapidly and highly infiltrated during the first 2 wk of an 8-wk HF feeding period and thereafter decreases its lipid content (23, 24). Based on this information, we chose to study the effects of training after 2 wk of HF feeding to maximize the impact of the HF feeding before the animal adapts to the diet. In our previous works on the effects of exercise training on liver fat accumulation, the positive effects of exercise training was observed only when exercise and HF feeding have been run concurrently for at least 6 to 8 wk (10, 36). In the present study, the absence of translation of the reduction in SCD-1 expression into metabolic activities within the 2-wk period of HF feeding was not therefore unexpected. Supporting the contention of a reduction in SCD-1 expression as a first step adaptation to exercise training is the fact that the desaturases, including SCD-1, are mainly regulated at the transcriptional level (30). On the whole, the present results indicate that HF feeding and exercise training interact to favour a decrease in SCD-1 expression which, most likely, will result in an attenuation of liver lipid accumulation on a longer term basis.

In contrast to the HF diet, training did not decrease the expression of SCD-1 under the HC diet, which mostly contained fructose as carbohydrate. The lack of SCD-1 mRNA decrease under the HC diet may be attributed to the fact that fructose is a strong inducer of SCD-1 that most likely overcame the training effects. Fiebig et al. (37) previously reported that a high fructose diet attenuates training-induced downregulation of fatty acid synthetase in liver. Interestingly, however, we found an increase in liver desaturation index C18:1 / C 18:0 with training under the HC feeding. This is an indication that exercise training did not repress but, on the opposite, stimulated the desaturation activity under the HC feeding.

It is obvious that, as illustrated by the response of SCD-1 expression and protein content as well as all measurements of plasma lipids, that the HC feeding strongly stimulated *de novo* lipogenesis. The increase in liver C18:1 / C18:0 ratio suggests that exercise training under the HC feeding further stimulated lipogenesis. An increase in the *de novo* lipogenesis from fructose would be beneficial by limiting its accumulation in liver and thus providing a protection from its deleterious effects on membrane lipids (38). It may be speculated that exercise training favoured the extra-hepatic disposal of the new synthesized lipids. In this regard, it is interesting to observe that, opposite to what is seen under the SD and the HF diets, the accumulation of intra-abdominal fat was not decreased by exercise training following the HC feeding (Table 3). This unusual finding suggests that the adipose tissue of the trained animals may have contributed to accumulate the large amount of lipids produced by the liver under the HC feeding. Taken together, these results indicate that liver of exercise trained animals responds differently to a two-wk period of HF or HC feeding. In response to HF feeding, training would reduce hepatic fat accumulation by reducing SCD-1 expression and protein content, while in response



to fructose feeding training would favour hepatic lipogenesis and eventually lipid disposal to the periphery.

There are several mechanisms that may explain the decrease in SCD-1 with exercise training under the HF feeding situation. Leptin is well known to repress SCD-1 expression and activity in liver (2). However, plasma leptin levels are decreased with exercise training (16). Consequently, we postulated an alteration in leptin receptor expression in the liver as part of the training adaptations. Our results showed that the decrease observed in SCD-1 expression was accompanied by a decrease in absolute and relative plasma leptin levels, and by a decrease in the expression of hepatic leptin receptors. The decrease in ObR expression was observed for the short (ObR-a) and the long (ObR-b) form of the receptor as well as for the soluble leptin receptor (ObR-e) in all diet conditions. This raises serious question regarding the antisteatotic action of leptin in liver in response to exercise training. In search of an explanation for these observations, it is appropriate to recall the idea that leptin acts as an antilipogenic hormone with a direct antisteatotic activity in nonadipocytes mainly when plasma levels approach or exceed 10 ng/ml (15). Below 5 ng/ml, plasma leptin is presumed to act centrally for control of food intake and thermoregulation. Our results show that plasma leptin levels were decreased under 5ng/ml following exercise training. This raises the interesting hypothesis that training by decreasing plasma leptin levels may favour the action of leptin through the hypothalamic centers. Supporting this contention, Patterson and Levin (39) recently reported that training results in an increase in hypothalamic leptin sensitivity. In addition, Lam et al (40) recently showed that the CNS plays a critical role in the pathogenesis of the metabolic syndrome by acting on VLDL production in the liver through SCD-1 activity. SCD-1 downregulation via the CNS may also be linked to other signalling molecules produced during exercise. In this regard, there is

evidence that interleukin-6 (IL-6), which is actively released from contracting muscles (41) might increase leptin signalling centrally and peripherally (42). This is probably because both cytokines (leptin and IL-6) share the same signalling pathway involving the activation of Jak-STAT even though they have different receptors. The IL-6 release might compensate or even drive the downregulation of leptin secretion with exercise training. On the other hand, plasma and brain lactate, known to increase with exercise have been shown to lower the desaturation index and SCD-1 activity in liver (40). It thus seems that lactate through its central action may be a candidate to explain SCD-1 downregulation with training. The link between exercise training and SCD-1 downregulation could also be made through the action of AMPK. Recently Takekoshi et al (43) reported that a long-term exercise induces an increase in both AMPK activity and  $\alpha_1$ - $\alpha_2$ -subunit mRNA and protein content in the liver. On the other hand, it has been reported that SCD-1 deficiency in SCD-1 knockout mice activates AMPK in liver (7). It is, thus, still unclear whether AMPK activation induces a downregulation of SCD-1 or if a decrease in SCD-1 stimulates AMPK in liver with exercise training. Although the precise mechanism of SCD-1 downregulation with exercise training remains to be clarified, our results on ObR expression in liver suggest that if indeed leptin contributes to the downregulation of SCD-1 expression, then exercise training either improves leptin action in the liver or redirects leptin to act mainly via the central nervous system to decrease SCD-1 in liver.

There is a paucity of information on the effects of physical exercise on the molecular processes that would affect liver fat regulation (44). Since the metabolic changes induced by dietary manipulations are regulated at the anabolic but also at the catabolic gene expression level, we examined the response to exercise training of two anabolic (SREBP-1c and ChREBP) and two catabolic (PPAR $\alpha$  and PGC-1 $\alpha$ ) genes and seek to establish how they link to SCD-1 response. Although liver

SREBP-1c expression was highly stimulated by the HF as well as by the HC diets, it was not affected by exercise training. SREBP-1c is a key transcriptional activator of lipogenic enzymes such as SCD-1. The present results, however, do not indicate that SREBP-1c expression responds to exercise training and that it might be implicated in the exercise training-induced reduction in SCD-1 expression in the liver. On the other hand, ChREBP expression was reduced following exercise training in HF and HC fed rats. ChREBP is activated by glucose, which stimulates gene expression of most enzymes, including SCD-1 (45). Since plasma glucose and insulin levels were affected only to a very small extent by the present dietary and exercise manipulations, it is not clear what caused the decrease in ChREBP expression in liver of exercise trained animals.

An unexpected finding of the present study is the decrease in the transcription factor PPAR $\alpha$  and co-activator PGC-1 $\alpha$  following exercise training under the HF and the HC feeding. The expression of genes encoding hepatic beta-oxidation is under the control of the transcriptional factor PPAR $\alpha$  which in turn can be regulated by its interaction with PGC-1 $\alpha$  (46). One may speculate that exercise training reduces fat accumulation in liver by increasing lipid oxidation (44). Acute physical exercise has been reported to stimulate lipid oxidation in liver through the activation of the AMPK pathway (47). However, it is not known if lipid oxidation is indeed increased in exercise trained livers in the resting state. The present decrease in hepatic PPAR $\alpha$  and PGC-1 $\alpha$  following training indicate either an absence of an increase in lipid oxidation in liver or an upregulation of oxidation independently of PPAR $\alpha$ . Contrary to muscle, an increased in lipid oxidation through PPAR $\alpha$  in liver may be associated with deleterious effects. It has been reported that an upregulation of PPAR $\alpha$  is

involved in the increase in oxidative stress in presence of hepatic steatosis, thus inducing ROS production and lipid peroxidation (48). Increased oxidative stress in liver may constitute a second hit in presence of hepatic steatosis (first hit), thus exacerbating the deleterious effects of fat accumulation leading to steatohepatitis (48). It is possible that exercise training, by reducing the expression of catabolic transcription factors and co-activators PPAR $\alpha$  and PGC-1 $\alpha$ , acts to protect the liver against the deleterious effects of an excess lipid oxidation.

#### **Effects of exercise training under fast-refed.**

Exercise training in the fast-refed approach confirms the results found with the continuous feeding situation, that exercise training decreases SCD-1 mRNA under the HF diet along with a decrease in almost all ObR isoforms in all diet conditions. The decrease in liver ObR expression was not accompanied by a decrease in plasma leptin in most of the conditions. This suggests that the decrease in liver ObR is an adaptation of exercise training that might, as above suggested, be regulated through the brain.

The most novel finding of the fast-refed experiments is the higher rate of fatty acid synthesis in the liver of TR compared to Sed rats refed with the HC diet as determined from the compositional changes in both liver and plasma lipids. Under this condition, plasma TAG, liver and plasma C16:1 and C18:1 levels, as well as liver and plasma MUFA/SFA ratio were increased while plasma FFA levels and PUFA/SFA ratio were decreased following exercise training. As a result, liver desaturation indexes were increased in exercise trained rats. This indicates that livers from exercise trained animals had a higher capacity to synthesize unsaturated fatty acids from fructose. Part of this response may be attributed to the larger amount of food ingested by the TR rats in this fast-refed situation. However, it is

worth recalling that liver desaturation index (C18:1/C18:0) was also increased with training in rats continuously fed a high-carbohydrate diet for 2 wk. In spite of the increase in liver desaturation indexes with exercise training, liver TAG accumulation was not higher in exercise trained rats. This suggests that exercise training not only favoured the synthesis of new lipids under this acute HC feeding but also that it favoured their exportation to the circulation. It seems that newly synthesized fatty acids are channelled preferentially into very low density lipoproteins for exportation (49). Training would thus, synergistically with the HC diet, amplify this response indicating an increased metabolic flexibility in an acute feeding situation. It is not known if exercise training increases VLDL production. Although the liver desaturation indexes were increased with training, neither SCD-1 expression nor protein content was changed with exercise training. Since both SCD-1 expression and protein content were already stimulated by the diet, it would appear that the effects of exercise training on lipogenesis under the HC feeding takes place at the activity level. In this regard, it is revealing that none of the transcription factors, with the exception of a slight decrease in PPAR $\alpha$ , were affected by exercise training under the fast-refed situation.

In summary, results of the present study indicate several new findings on the effects of exercise training on diet-induced molecular and metabolic activity in the liver in relation to nutritional challenges. First, SCD-1 expression was reduced in 8-wk exercise trained rats fed a HF diet for the last two wk. It is suggested that the decrease in SCD-1 constitutes a first line protection against fat accumulation in liver in this nutritional situation. In addition, plasma leptin levels and all isoforms of ObR expression in liver were reduced with exercise training, especially when the molecular expression of these receptors was stimulated by the HF or the HC diet. This speaks in disfavour of a direct action of leptin on liver following exercise

training. Exercise training in two-wk HF fed animals was also associated with a decrease in PPAR $\alpha$  and PGC1 $\alpha$ , two factors known to stimulate lipid oxidation. It is possible that chronic exercise acts to reduce the oxidative stress in liver with fat accumulation. Finally, exercise training increases the liver desaturation indexes (C 16:1 / C 16:0 and C 18:1 / C18:0) in rats submitted to a 2-day fast-refed protocol using a high fructose diet. This indicates that exercise training increases fructose-induced lipogenesis in liver under an acute high ingestion rate. It is concluded that exercise training increases the metabolic flexibility of the liver to favour the appropriate disposal of an excess in substrates.

**TABLE 1** Composition of the diets

Ingredients	Amount (Kcal %)		
	<u>SD diet</u> ‡	<u>HF diet</u> †	<u>HC diet</u> *
<b>Fat</b>	<b>12.5%</b>	<b>42.89%</b>	<b>13%</b>
Saturated	30%	35.19%	41.4%
Unsaturated	70%	64.44%	58%
MUFA	55%	70.2%	82.4%
PUFA	45%	29.8%	17.6%
<b>Carbohydrate</b>	<b>63.2%</b>	<b>38.54%</b>	<b>66.8%</b>
<b>Protein</b>	<b>24.3%</b>	<b>18.75%</b>	<b>20.2%</b>

SD: standard diet. HF: high fat diet. HC: high carbohydrate diet. MUFA: monounsaturated fatty acids. PUFA: polyunsaturated fatty acids.

‡ Standard laboratory rat chow (rodent 5075, Charles River).

† High-fat diet (TD 06092, Harlan Teklad).

MUFA are **C18:1** (92.15 % weight), **C16:1** (5.5 % weight), **C20:1** (2.32 % weight)

\* High- carbohydrate diet (TD 89247, Harlan Teklad).

The main carbohydrate is fructose (99.23 % of total carbohydrate)

**TABLE 2** Real Time PCR primer sequences

Gene	Sense (5'-3')	Antisense (5'-3')	Accession No
ChREBP	CTGGGGAGCTAAGCAGGAGC	GAAGCCACCCTGTAGCTCCC	NM_021455
ObR-a	TTTCCAAAAGAGAGCGGACAC	AGGTTGGTAGATTGGATTCATCTGT	AF304191
ObR-b	AAAGCCTGAAACATTTGAGCATC	CCAGAAGAAGAGGACCAAATATCAC	U52966
ObR-e	CCTTACGTTCTCATGGCCCAT	GGTTGACATCCTTGCTTGAGGTTGTC	AF007819
PGC-1 $\alpha$	ACCCACAGGATCAGAACAAACC	GACAAATGCTCTTTGCTTTATTGC	AY237127
PPAR $\alpha$	TGCGGACTACCACTACTTAG	CGACACTCGATGTTTCAGTGC	NM_011144
<b>SCD-1</b>	CCTTAACCCTGAGATCCCGTAGA	AGCCCATAAAAGATTTCTGCAAA	J02585
SREBP-1c	ACGACGGAGCCATGGATTGCAC	CCGGAAGGCAGGCTTGAGTACC	L16995
$\beta$ -actin	CATGAAGATCAAGATCATTGCTCCT	CTGCTTGCTGATCCACATCTG	V01217

ChREBP: Carbohydrate Response Element-Binding Protein.

ObR-a: Leptin receptor a. ObR-b: Leptin receptor b. ObR-e: Leptin receptor e.

PGC-1 $\alpha$  : Peroxisome proliferator –activated receptor-Gamma Co-activator-1  $\alpha$ .

PPAR $\alpha$  : Peroxisome Proliferator-Activated Receptor $\alpha$ .

SCD-1: Stearoyl-CoA desaturase-1.

SREBP-1c: Sterol-Regulatory Element-Binding Protein-1c.



**TABLE 3** Body weight, food intake, sum of intra-abdominal fat pad weights (mesenteric, urogenital, and retroperitoneal), sum of 4 muscle weights (soleus, plantaris, medial and lateral gastrocnemius), plasma free fatty acid (FFA), triacylglycerol (TAG), glucose, and insulin in sedentary (Sed) and trained (TR) rats fed a standard diet (SD) for 8 wk or during 6 wk followed by 2 wk of high-fat (HF) or high-carbohydrate (HC) feeding prior to sacrifice.

Diets	<u>SD diet</u>		<u>HF diet</u>		<u>HC diet</u>	
	Sed	TR	Sed	TR	Sed	TR
<b>Body weight (g)</b>	270 ± 4	305 ± 10 <sup>+</sup>	303 ± 7	315 ± 11	280 ± 6	310 ± 9 <sup>+</sup>
<b>Food intake (Kcal / last 24 hours)</b>	54.2 ± 4.4	62.3 ± 4.8	55.5 ± 2	60.1 ± 5.2	55.3 ± 5.6	59.5 ± 5
<b>Sum of Intra-abdominal fat pad weights (g)</b>	24.4 ± 1.3	16.9 ± 1.9 <sup>+</sup>	29.5 ± 3.5 <sup>&amp;</sup>	24.7 ± 2.7 <sup>&amp;,+</sup>	21.6 ± 2.4	21.2 ± 1.7
<b>Sum of 4 muscle weights (g)</b>	1.9 ± 0.04	2.17 ± 0.06 <sup>+++</sup>	1.9 ± 0.03	2.0 ± 0.05 <sup>+++</sup>	1.8 ± 0.03 <sup>&amp;</sup>	2.04 ± 0.06 <sup>&amp;,+</sup>
<b>Plasma FFA (mmol/L)</b>	0.088 ± 0.01	0.077 ± 0.02	0.143 ± 0.02 <sup>&amp;</sup>	0.015 ± 0.03 <sup>&amp;</sup>	0.16 ± 0.03 <sup>&amp;&amp;</sup>	0.155 ± 0.02 <sup>&amp;&amp;</sup>
<b>Plasma TAG (mmol/L)</b>	0.79 ± 0.10	0.69 ± 0.11	0.80 ± 0.16	0.72 ± 0.17	1.69 ± 0.33 <sup>&amp;&amp;&amp;</sup>	2.81 ± 0.64 <sup>&amp;&amp;&amp;</sup>
<b>Plasma glucose (mmol/L)</b>	6.9 ± 0.2	7.7 ± 0.17 <sup>+</sup>	7.6 ± 0.23 <sup>&amp;</sup>	7.4 ± 0.18	7.7 ± 0.29 <sup>&amp;</sup>	8.0 ± 0.25 <sup>&amp;,+</sup>
<b>Plasma insulin (pM)</b>	471 ± 62	520 ± 64	577 ± 49	543 ± 73	384 ± 26	512 ± 68

All measurements were taken at time 8 wk. Values are means ± SE, n= 10 rats /group.

& Significantly different from corresponding values under the SD diet,  $P < 0.05$ , &&  $P < 0.01$ , &&&  $P < 0.005$ . + Significantly different from Sed rats under the same diet condition,  $P < 0.05$ , +++  $P < 0.005$ .

**TABLE 4** Body weight, food intake, sum of intra-abdominal fat pad weights (mesenteric, urogenital, and retroperitoneal), sum of 4 muscle weights (soleus, plantaris, medial and lateral gastrocnemius), plasma free fatty acid (FFA), triacylglycerol (TAG), glucose, and insulin in sedentary (Sed) and trained (TR) rats submitted to a fast-refeeding protocol. Animals were starved for 24 h and fed a SD diet for 24 h and starved for another 24 h and then fed the standard (SD), the high-fat (HF) or the high-carbohydrate (HC) diet 24 h prior to sacrifice.

Diets	SD diet		HF diet		HC diet	
	Sed	TR	Sed	TR	Sed	TR
<b>Body weight (g)</b>	281 ± 8	292 ± 8	286 ± 8	298 ± 8	287 ± 9	291 ± 7
<b>Food intake (Kcal / last 24 hours)</b>	84.7 ± 2.9	88.2 ± 4.2 <sup>+</sup>	100.3 ± 3.3 <sup>&amp;&amp;&amp;</sup>	119.5 ± 6.3 <sup>&amp;&amp;&amp;,+</sup>	57.9 ± 4.5 <sup>&amp;&amp;&amp;</sup>	74.9 ± 4.9 <sup>&amp;&amp;&amp;,+</sup>
<b>Sum of Intra-abdominal fat pad weights (g)</b>	16.12 ± 1.9	15.2 ± 1.6 <sup>+</sup> <sub>p=0.038</sub>	19.2 ± 2.4	17.3 ± 1.08	21.3 ± 2.37	14.8 ± 1.58 <sup>+</sup> <sub>p=0.058</sub>
<b>Sum of 4 muscle weights (g)</b>	1.96 ± 0.05	2.08 ± 0.05 <sup>+</sup> <sub>p=0.06</sub>	1.93 ± 0.04	2.05 ± 0.07 <sup>+</sup> <sub>p=0.06</sub>	1.97 ± 0.04	2.07 ± 0.05 <sup>+</sup>
<b>Plasma FFA (mmol/L)</b>	0.029 ± 0.005	0.029 ± 0.004	0.031 ± 0.005	0.044 ± 0.007	0.092 ± 0.01 <sup>&amp;&amp;&amp;</sup>	0.055 ± 0.01 <sup>&amp;,+</sup> <sub>+++</sub>
<b>Plasma TAG (mmol/L)</b>	0.46 ± 0.06	0.65 ± 0.09 <sup>+</sup>	0.55 ± 0.04	0.56 ± 0.10	0.77 ± 0.10	1.37 ± 0.28 <sup>&amp;&amp;&amp;,+</sup>
<b>Plasma glucose (mmol/L)</b>	7.7 ± 0.3	8.1 ± 0.3	7.5 ± 0.2	7.6 ± 0.2	8.1 ± 0.4	7.3 ± 0.22
<b>Plasma insulin (pM)</b>	456 ± 67	573 ± 66	510 ± 77	528 ± 52	437 ± 65	447 ± 59

All measurements were taken at time 8 wk immediately at the end of the fasting-refeeding cycle. Values are means ± SE, n= 10 rats /group. & Significantly different from corresponding values under the SD diet,  $P < 0.05$ , &&&  $P < 0.005$ . + Significantly different from Sed rats under the same diet condition,  $P < 0.05$ , +++  $P < 0.005$ .

**Acknowledgments**

The authors thank Dr. Juris Ozols for the gracious gift of the SCD-1 antibody and Mrs Carole Garofalo and Dr. Alain Montoudis for excellent technical assistance with the lipid measurements.

## Legends

**Fig. 1** Liver stearoyl-CoA desaturase-1 (SCD-1) mRNA relative to  $\beta$ -actin and protein content, liver triacylglycerol (TAG), liver and plasma desaturation indexes expressed under the form of the ratio of monounsaturated (C16:1, C18:1) over saturated (C16:0, C18:0) fatty acids in sedentary (Sed) and trained (TR) rats fed a standard diet (SD) for 8 wk or during 6 wk followed by 2 wk of high-fat (HF) or high-carbohydrate (HC) feeding prior to sacrifice. All measurements were taken at time 8 wk. Values are means  $\pm$  SE,  $n = 10$  rats /group for all parameters except for SCD-1 protein level ( $n = 5-6$  rats /group) and liver desaturation indexes ( $n = 5$  rats/group). & Significantly different from corresponding values under the SD diet,  $P < 0.05$ , &&&  $P < 0.005$ . + Significantly different from Sed rats under the same diet condition,  $P < 0.05$ , +++  $P < 0.005$ .

**Fig. 2** Liver and plasma monounsaturated fatty acids (C16:1, C18:1) composition expressed in % of total detected fatty acids, ratio of plasma monounsaturated to saturated fatty acids (MUFA/SFA) and polyunsaturated to saturated fatty acids (PUFA/SFA) in Sedentary (Sed) and trained (TR) rats fed a standard diet (SD) for 8 wk or during 6 wk followed by 2 wk of high-fat (HF) or high-carbohydrate (HC) feeding prior to sacrifice. All measurements were taken at time 8 wk. Values are means  $\pm$  SE,  $n = 10$  rats /group for plasma parameters and  $n = 5$  rats/group for liver measurements. & Significantly different from corresponding values under the SD diet,  $P < 0.05$ , &&&  $P < 0.005$ . + Significantly different from Sed rats under the same diet condition,  $P < 0.05$ , +++  $P < 0.005$ .

**Fig. 3** Liver sterol regulatory element-binding protein-1c (SREBP-1c) mRNA, carbohydrate response element binding protein (ChREBP) mRNA, peroxisome

proliferator activated receptor  $\alpha$  (PPAR $\alpha$ ) mRNA, and peroxisome proliferator – activated receptor-gamma co-activator 1  $\alpha$  (PGC-1 $\alpha$ ) mRNA relative to  $\beta$ -actin in sedentary (Sed) and trained (TR) rats fed a standard diet (SD) for 8 wk or during 6 wk followed by 2 wk of high-fat (HF) or high-carbohydrate (HC) feeding prior to sacrifice. All measurements were taken at time 8 wk. Values are means  $\pm$  SE,  $n=10$  rats /group. & Significantly different from corresponding values under the SD diet,  $P < 0.05$ , &&  $P < 0.01$ , &&&  $P < 0.005$ . + Significantly different from Sed rats under the same diet condition,  $P < 0.05$ , +++  $P < 0.005$ .

**Fig. 4** Plasma leptin concentration expressed in absolute values and in values relative to the sum of the 3 intra-abdominal fat pad (mesenteric, urogenital, and retroperitoneal) weights, ObR-a (leptin receptor-a), ObR-b (leptin receptor-b), and ObR-e (leptin receptor-e) mRNA relative to  $\beta$ -actin in sedentary (Sed) and trained (TR) rats fed a standard diet (SD) for 8 wk or during 6 wk followed by 2 wk of high-fat (HF) or high-carbohydrate (HC) feeding prior to sacrifice. All measurements were taken at time 8 wk. Values are means  $\pm$  SE,  $n=10$  rats /group. & Significantly different from corresponding values under the SD diet,  $P < 0.05$ , &&&  $P < 0.005$ . + Significantly different from Sed rats under the same diet condition,  $P < 0.05$ , ++  $P < 0.01$ , +++  $P < 0.005$ .

**Fig. 5** Liver stearoyl-CoA desaturase-1 (SCD-1) mRNA relative to  $\beta$ -actin and protein content, liver triacylglycerol (TAG), desaturation indexes expressed under the form of the ratio of monounsaturated (C16:1, C18:1) over saturated (C16:0, C18:0) fatty acids measured in liver and plasma in sedentary (Sed) and trained (TR) rats. Animals were fed a standard (SD) diet during 7 wk and thereafter were submitted to a fast-refeeding protocol. Animals were starved for 24 h and fed with

the SD diet for 24 h and starved for another 24 h and then fed with the SD, high-fat (HF) or the high-fructose (HC) diet 24 h prior to sacrifice. All measurements were taken at time 8 wk corresponding to the end of the fast-refeeding cycle. Values are means  $\pm$  SE,  $n = 10$  rats /group for all parameters except for SCD-1 protein level ( $n = 5-6$  rats /group) and liver desaturation indexes ( $n = 5$  rats/group). && Significantly different from corresponding values under the SD diet,  $P < 0.01$ , &&&  $P < 0.005$ . + Significantly different from Sed rats under the same diet condition,  $P < 0.05$ , +++  $P < 0.005$ .

**Fig. 6** Liver and plasma levels of monounsaturated fatty acids (C16:1, C18:1) expressed in % of total detected fatty acids, ratio of liver and plasma monounsaturated to saturated fatty acids (MUFA/SFA) and polyunsaturated to saturated fatty acids (PUFA/SFA) in sedentary (Sed) and trained (TR) rats. Animals were fed a standard (SD) diet during 7 wk and thereafter were submitted to a fast-refeeding protocol. Animals were starved for 24 h and fed with the SD diet for 24 h and starved for another 24 h and then fed with the SD, high-fat (HF) or the high-fructose (HC) diet 24 h prior to sacrifice. All measurements were taken at time 8 wk corresponding to the end of the fast-refeeding cycle. Values are means  $\pm$  SE,  $n = 10$  rats /group for plasma parameters and  $n = 5$  rats/group for liver measurements. & Significantly different from corresponding values under the SD diet,  $P < 0.05$ , &&&  $P < 0.005$ . + Significantly different from Sed rats under the same diet condition,  $P < 0.05$ , +++  $P < 0.005$ .

**Fig. 7** Liver sterol regulatory element-binding protein-1c (SREBP-1c) mRNA, carbohydrate response element binding protein (ChREBP) mRNA, peroxisome proliferator activated receptor  $\alpha$  (PPAR $\alpha$ ) mRNA, and peroxisome proliferator –

activated receptor-gamma co-activator 1  $\alpha$  (PGC-1 $\alpha$ ) mRNA relative to  $\beta$ -actin in sedentary (Sed) and trained (TR) rats. Animals were fed a standard (SD) diet during 7 wk and thereafter were submitted to a fast-refeeding protocol. Animals were starved for 24 h and fed with the SD diet for 24 h and starved for another 24 h and then fed with the SD, high-fat (HF) or the high-fructose HC diet 24 h prior to sacrifice. All measurements were taken at time 8 wk corresponding to the end of the fasting-refeeding cycle. Values are means  $\pm$  SE,  $n = 10$  rats /group. & Significantly different from corresponding values under the SD diet,  $P < 0.05$ , &&  $P < 0.005$ . + Significantly different from Sed rats under the same diet condition,  $P < 0.05$ .

**Fig. 8** Plasma leptin concentration expressed in absolute values and in values relative to the sum of the 3 intra-abdominal fat pad (mesenteric, urogenital, and retroperitoneal) weights, ObR-a (leptin receptor-a), ObR-b (leptin receptor-b), and ObR-e (leptin receptor-e) mRNA in sedentary (Sed) and trained (TR) rats. Animals were fed a standard (SD) diet during 7 wk and thereafter were submitted to a fast-refeeding protocol. Animals were starved for 24 h and fed with the SD diet for 24 h and starved for another 24 h and then fed with the SD, high-fat (HF) or the high-fructose (HC) diet 24 h prior to sacrifice. All measurements were taken at time 8 wk corresponding to the end of the fasting-refeeding cycle. Values are means  $\pm$  SE,  $n = 10$  rats /group. & Significantly different from corresponding values under the SD diet,  $P < 0.05$ , &&  $P < 0.01$ , &&&  $P < 0.005$ . + Significantly different from Sed rats under the same diet condition,  $P < 0.05$ , +++  $P < 0.005$ .

## **References**

1. Cohen P., and Friedman J. M. (2004) Leptin and the control of metabolism: role for stearoyl-CoA desaturase-1 (SCD-1). *J. Nutr.* 134, 2455S-2463S.
2. Cohen P., Miyazaki M., Socci N. D., Hagge-Greenberg A., Liedtke W., Soukas A. A., Sharma R., Hudgins L. C., Ntambi J. M., and Friedman J. M. (2002) Role for stearoyl-CoA desaturase-1 in leptin-mediated weight loss. *Science* 297, 240-243.
3. Ntambi J. M., Miyazaki M., Stoehr J. P., Lan H., Kendzioriski C. M., Yandell B. S., Song Y., Cohen P., Friedman J. M., and Attie A. D. (2002) Loss of stearoyl-CoA desaturase-1 function protects mice against adiposity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 99, 11482-11486.
4. Miyazaki M., Kim Y. C., Gray-Keller M. P., Attie A. D., and Ntambi J. M. (2000) The biosynthesis of hepatic cholesterol esters and triglycerides is impaired in mice with a disruption of the gene for stearoyl-CoA desaturase 1. *J. Biol. Chem.* 275, 30132-30138.
5. Ntambi J. M., and Miyazaki M. (2003) Recent insights into stearoyl-CoA desaturase-1. *Curr. Opin. Lipidol.* 14, 255-261.
6. Dobrzyn A., and Ntambi J. M. (2004) The role of stearoyl-CoA desaturase in body weight regulation. *Trends Cardiovasc. Med.* 14, 77-81.
7. Dobrzyn P., Dobrzyn A., Miyazaki M., Cohen P., Asilmaz E., Hardie D. G., Friedman J. M., and Ntambi J. M. (2004) Stearoyl-CoA desaturase-1 deficiency increases fatty acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase in liver. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 101, 6409-6414.
8. Sampath H., and Ntambi J. M. (2006) Stearoyl-coenzyme A desaturase 1, sterol regulatory element binding protein-1c and peroxisome proliferator-activated



receptor- $\alpha$ : independent and interactive roles in the regulation of lipid metabolism. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* 9, 84-88.

9. Dobrzyn A., and Ntambi J. M. (2005) Stearoyl-CoA desaturase as a new drug target for obesity treatment. *Obesity reviews* 6, 169-174.
10. Gauthier M. S., Couturier K., Latour J. G., and Lavoie J. M. (2003) Concurrent exercise prevents high-fat diet-induced macrovesicular hepatic steatosis. *J. Appl. Physiol.* 94, 2127-2134.
11. Gorski J., Oscai L. B., and Palmer W. K. (1990) Hepatic lipid metabolism in exercise and training. *Med. Sci. Sports Exerc.* 22, 213-220.
12. Perseghin G., Lattuada G., De Cobelli F., Ragogna F., Ntali G., Esposito A., Belloni E., Canu T., Terruzzi I., Scifo P., Del Maschio A., and Luzi L. (2007) Habitual physical activity is associated with intrahepatic fat content in humans. *Diabetes Care* 30, 683-688.
13. Griffiths M. A., Baker D. H., Novakofski J. E., and Ji L. L. (1993) Effects of exercise training on diet-induced lipogenic enzymes and body composition in rats. *J. Am. Coll. Nutr.* 12, 155-161.
14. Biddinger S. B., Miyazaki M., Boucher J., Ntambi J. M., and Khan C. R. (2006) Leptin suppresses stearoyl-CoA desaturase 1 by mechanisms independent of insulin and sterol regulatory element binding protein-1c. *Diabetes* 55, 2032-2041.
15. Lee Y., Wang M. Y., Kakuma T., Wang Z. W., Babcock E., McCorkle K., Higa M., Zhou Y. T., Unger R. H. (2001) Liporegulation in diet-induced obesity. The antisteatotic role of hyperleptinemia. *J. Biol. Chem.* 276, 5629-5635.
16. Gauthier M. S., Couturier K., Charbonneau A., and Lavoie J. M. (2004) Effects of introducing physical training in the course of a 16-week high-fat diet regimen on hepatic steatosis, adipose tissue fat accumulation, and plasma lipid profile. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* 28, 1064-1071.

17. Cohen P., Yang G., Yu X., Soukas A. A., Wolfish C. S., Friedman J. M., and Li C. (2005) Induction of leptin receptor expression in the liver by leptin and food deprivation. *J. Biol. Chem.* 28, 10034-10039.
18. Thiede M. A., and Strittmatter P. (1985) The induction and characterization of rat liver stearyl-CoA desaturase mRNA. *J. Biol. Chem.* 260, 14459-14463.
19. Ntambi J. M. (1992) Dietary regulation of stearyl-CoA desaturase 1 gene expression in mouse liver. *J. Biol. Chem.* 267, 10925-10930.
20. Schaible T. F., and Scheuer J. (1985) Cardiac adaptations to chronic exercise. *Prog. Cardiovasc. Dis.* 27, 297-234.
21. Hoffman-Goetz L., and MacDonald M. A. (1983) Effect of treadmill exercise on food intake and body weight in lean and obese rats. *Physiol Behav.* 31, 343-346.
22. Bedford T. G., Tipton C. M., Wilson N. C., Oppliger R. A., and Gisolfi C. V. (1979) Maximum Oxygen Consumption Of Rats And Its Changes With Various Experimental Procedures. *J Appl Physiol.* 47, 1278-1283.
23. Gauthier M. S., Favier R., and Lavoie J. M. (2006) Time course of the development of non-alcoholic hepatic steatosis in response to high-fat diet-induced obesity in rats. *Br. J. Nutr.* 95, 273-281.
24. Collin P., Chapados N., Dufresne E., Corriveau P., Imbeault P., and Lavoie J. M. (2006) Time course of changes in vitro lipolysis of intra-abdominal fat depots in relation to high-fat diet-induced hepatic steatosis in rats. *Br. J. Nutr.* 96, 268-275.
25. Krotkiewski M., and Bjorntorp P. (1976) The effect of progesterone and of insulin administration on regional adipose tissue cellularity in the rat. *Acta Physiol Scand.* 96, 122-127.
26. Folch J., Lees M., and Sloane Stanley G. H. (1957) A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226, 497-509.

27. Mainieri D., Summermatter S., Seydoux J., Montani J-P., Rusconi S., Russel A. P., Boss O., Buchala A., and Dulloo A. G. (2006) A role for skeletal muscle stearyl-CoA desaturase 1 in control of thermogenesis. *FASEB J.* 20, E1751-E1170.
28. Lepage G., and Roy C. C. (1986) Direct transesterification of all classes of lipids in one-step reaction. *J. Lipid Res.* 27, 114-120.
29. Frayn K. N., and Maycock P. F. (1980) Skeletal muscle triacylglycerol in the rat: methods for sampling and measurement and studies of biological variability. *J Lipid Res.* 21, 139-144.
30. Nakamura M. T., and Nara T. Y. (2004) Structure, function and dietary regulation of delta6, delta5, and delta9 desaturases. *Ann. Rev. Nutr.* 24, 345-376.
31. Legrand P., Catherine D., Fichot M. C., and Lemarchal P. (1997) Inhibiting delta9-desaturase activity impairs triacylglycerol secretion in cultured chicken hepatocytes. *J. Nutr.* 127, 249-256.
32. Jiang G., Li Z., Liu F., Ellsworth K., Dallas-Yang Q., Wu M., Ronan J., Esau C., Murphy C., Szalkowski D., Bergeron R., Doebber T., and Zhang B. B. (2005) Prevention of obesity in mice by antisense oligonucleotide inhibitors of stearyl-CoA desaturase-1. *J. Clin. Invest.* 115, 1030-1038.
33. Miyazaki M., Dobrzyn A., Sampath H., Lee S. H., Man W. C., Chu K., Peters J. M., Gonzalez F. J., and Ntambi J. M. (2004) Reduced adiposity and liver steatosis by stearyl-CoA desaturase deficiency are independent of peroxisome proliferator-activated receptor-alpha. *J. Biol. Chem.* 279, 35017-35024.
34. Miyazaki M., Dobrzyn A., Man W. C., Chu K., Sampath H., Kim H. J., and Ntambi J. M. (2004) Stearyl-CoA desaturase 1 gene expression is necessary for fructose-mediated induction of lipogenic gene expression by sterol regulatory

- element-binding protein-1c-dependent and -independent mechanisms. *J. Biol. Chem.* 279, 25164-25171.
35. Ikeda S., Miyazaki H., Nakatani T., Kai Y., Kamei Y., Miura S., Tsuboyama-Kasaoka N., and Ezaki O. (2002) Up-regulation of SREBP-1c and lipogenic genes in skeletal muscles after exercise training. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 296, 395-400.
36. Charbonneau A., Couturier K., Gauthier M. S., and Lavoie J. M. (2005) Evidence of hepatic glucagon resistance associated with hepatic steatosis: reversal effect of training. *Int. J. Sports Med.* 26, 432-441.
37. Fiebig R., Griffiths M. A., Gore M. T., Baker D. H., Oscai L., Ney D., and Ji L. L. (1998) Exercise training down-regulates hepatic lipogenic enzymes in meal-fed rats: fructose versus complex-carbohydrate diets. *J. Nutr.* 128, 810-817.
38. Armutcu F., Coskun O., Gürel A., Kanter M., Can M., Ucar F., Unalacak M. (2005) Thymosin alpha 1 attenuates lipid peroxidation and improves fructose-induced steatohepatitis in rats. *Clin. Biochem.* 38, 540-547.
39. Patterson C. M., and Levin B. E. (2007) Role of exercise in the central regulation of energy homeostasis and in the prevention of Obesity. *Neuroendocrinology* Ahead of print.
40. Lam T. K., Gutierrez-Juarez R., Poci A., Bhanot S., Tso P., Schwartz G. J., and Rossetti L. (2007) Brain glucose metabolism controls the hepatic secretion of triglyceride-rich lipoproteins. *Nat. Med.* 13, 171-180.
41. Pederson B. K., Steensberg A., Fischer C., Keller C., Keller P., Plomgaard P., Wolsk-Peterson E., and Febbraio M. (2004) The metabolic role of IL-6 produced during exercise: is IL-6 an exercise factor? *Proc. Nutr. Soc.* 63, 263-267.

42. Levin B. E., and Dunn-Meynell A. A. (2006) Differential effects of exercise on body weight gain and adiposity in obesity-prone and –resistant rats. *Int. J. Obes. (Lond.)*. 30, 722-727.
43. Takekoshi K., Fukuhara M., Quin Z., Nissato S., Isobe K., Kawakami Y., and Ohmori H. (2006) Long-term exercise stimulates adenosine monophosphate-activated protein kinase activity and subunit expression in rat visceral adipose tissue in liver. *Metabolism* 55, 1122-1128.
44. Lavoie J. M. and Gauthier M. S. (2006) Regulation of fat metabolism in the liver: link to non-alcoholic hepatic steatosis and impact of physical exercise. *Cell. Mol. Life Sci.* 63, 1393-1409.
45. Iizuka K., Bruick R. K., Liang G., Horton J. D., and Uyeda K. (2004) Deficiency of carbohydrate response element-binding protein (ChREBP) reduces lipogenesis as well as glycolysis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 101, 7281-7286.
46. Finck B. N., Gropler M. C., Chen Z., Leone T. C., Croce M. A., Harris T. E., Lawrence J. C., and Kelly D. P. (2006) Lipin is an inducible amplifier of the hepatic PGC-1alpha/PPARalpha regulatory pathway. *Cell. Metab.* 4, 199-210.
47. Ruderman N.B., Park H., Kaushik V. K., Dean D., Constant S., Prentki M., and Saha A. K. (2003) AMPK as a metabolic switch in rat muscle, liver and adipose tissue after exercise. *Acta Physiol. Scand.* 178, 435-442.
48. Day C. P., and Daly A. K. (2005) NASH is a genetically determined disease. In: *Farrell G. C., George J., Hall P., McCullough A. J eds. Fatty liver disease: NASH and related disorders. Malden, MA: Blackwell* 66-75.
49. Duerden J. M., and Gibbons G. F. (1988) Secretion and storage of newly synthesized triacylglycerol fatty acids in vivo in different nutritional states and in diabetes. *Biochem. J.* 255, 929-935.

Continuously fed rats

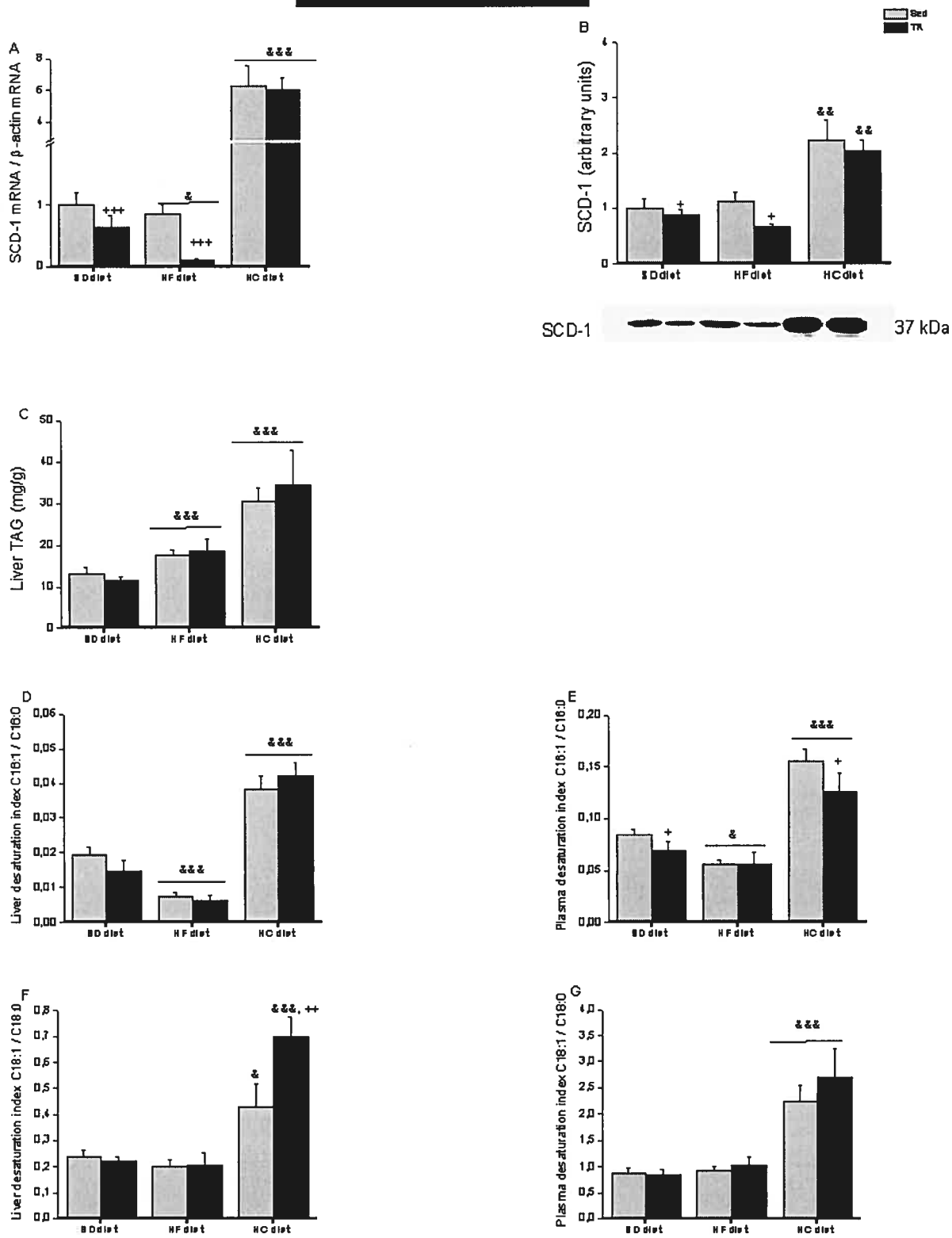


Figure 1

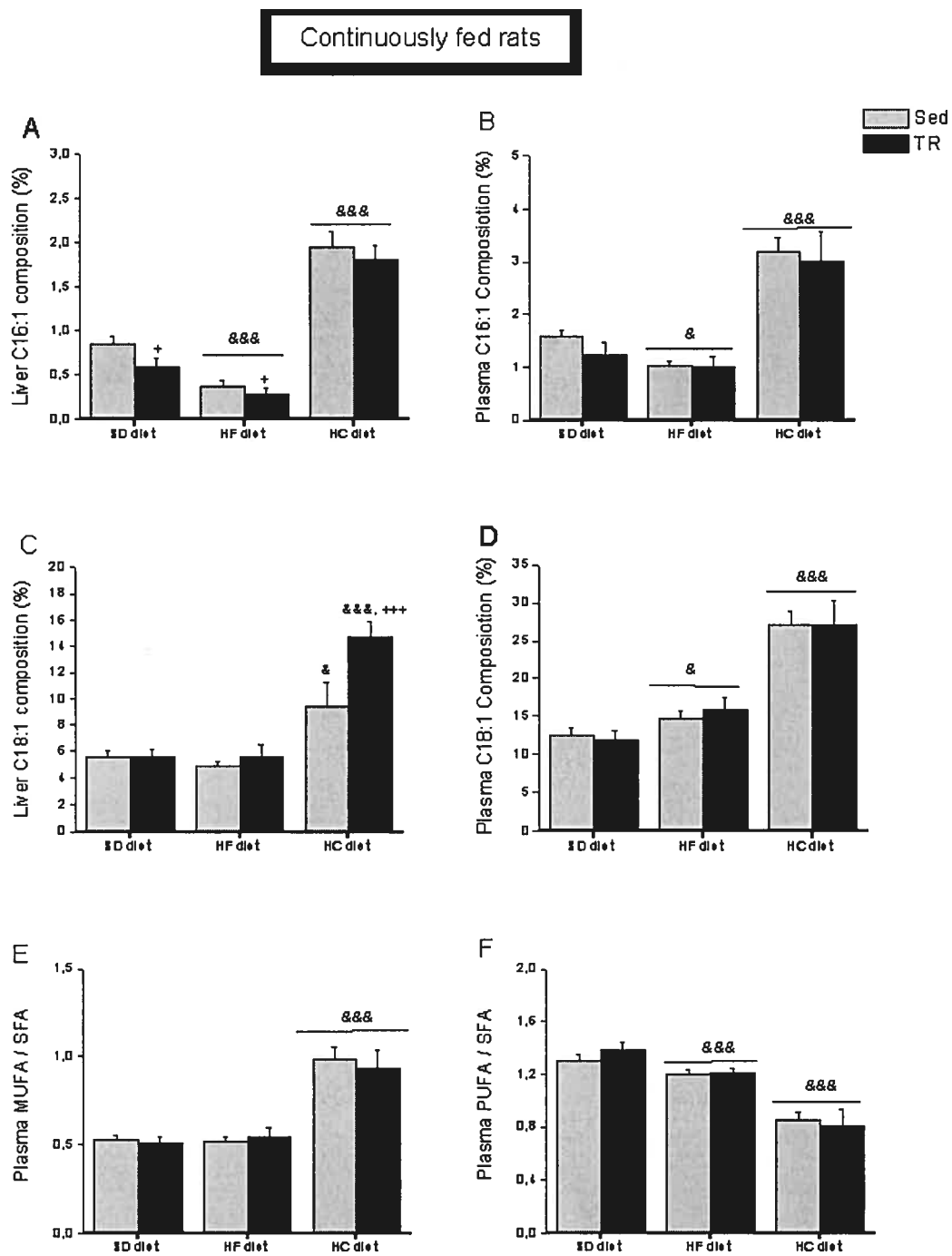


Figure 2

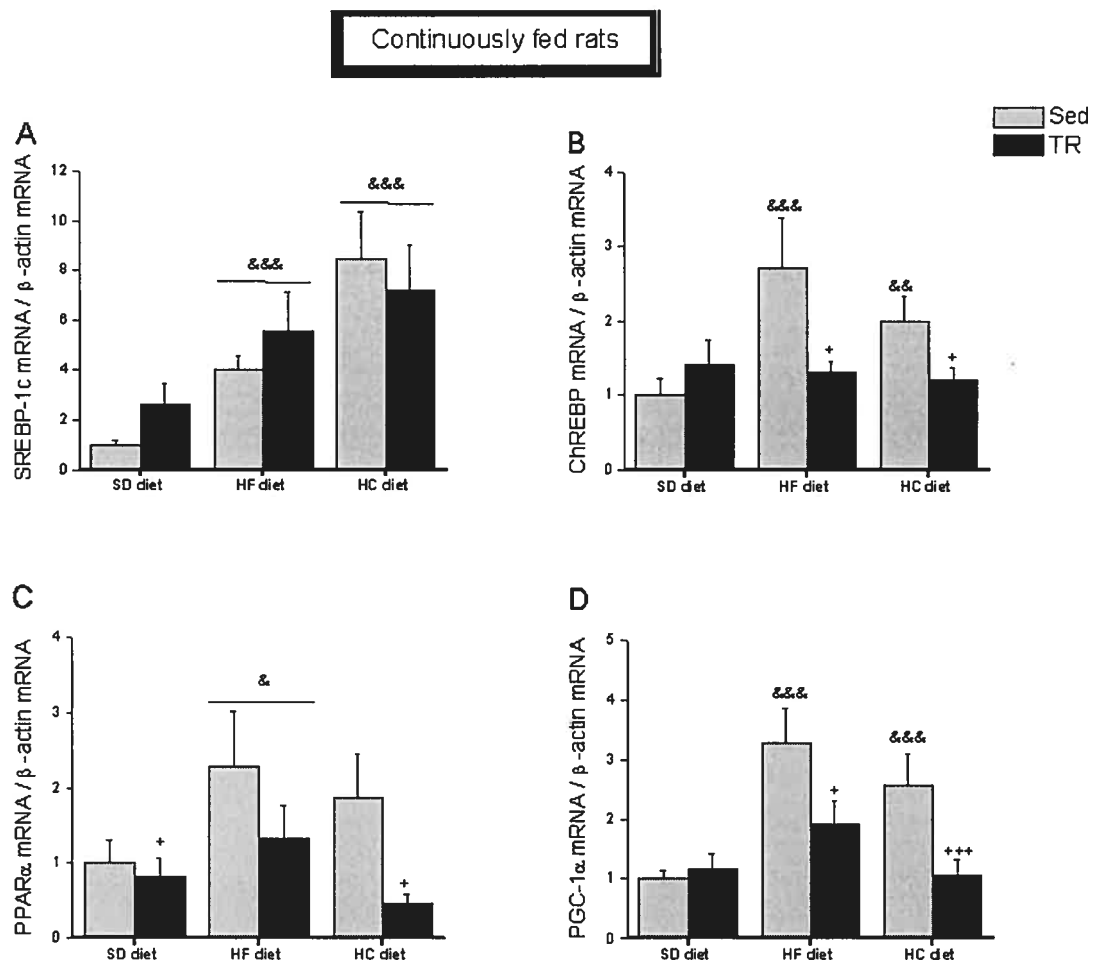


Figure 3.



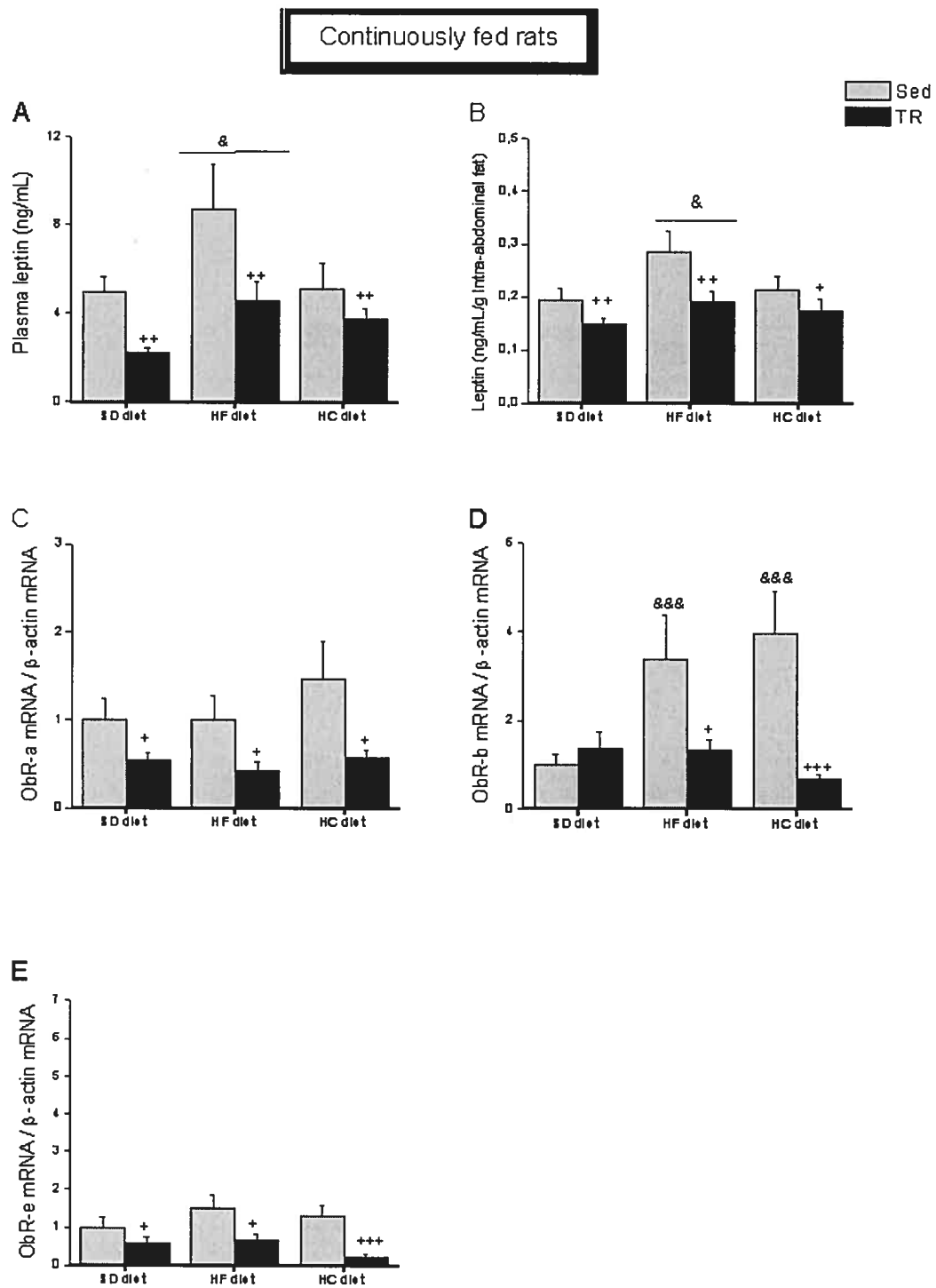


Figure 4.

Fast-refed rats

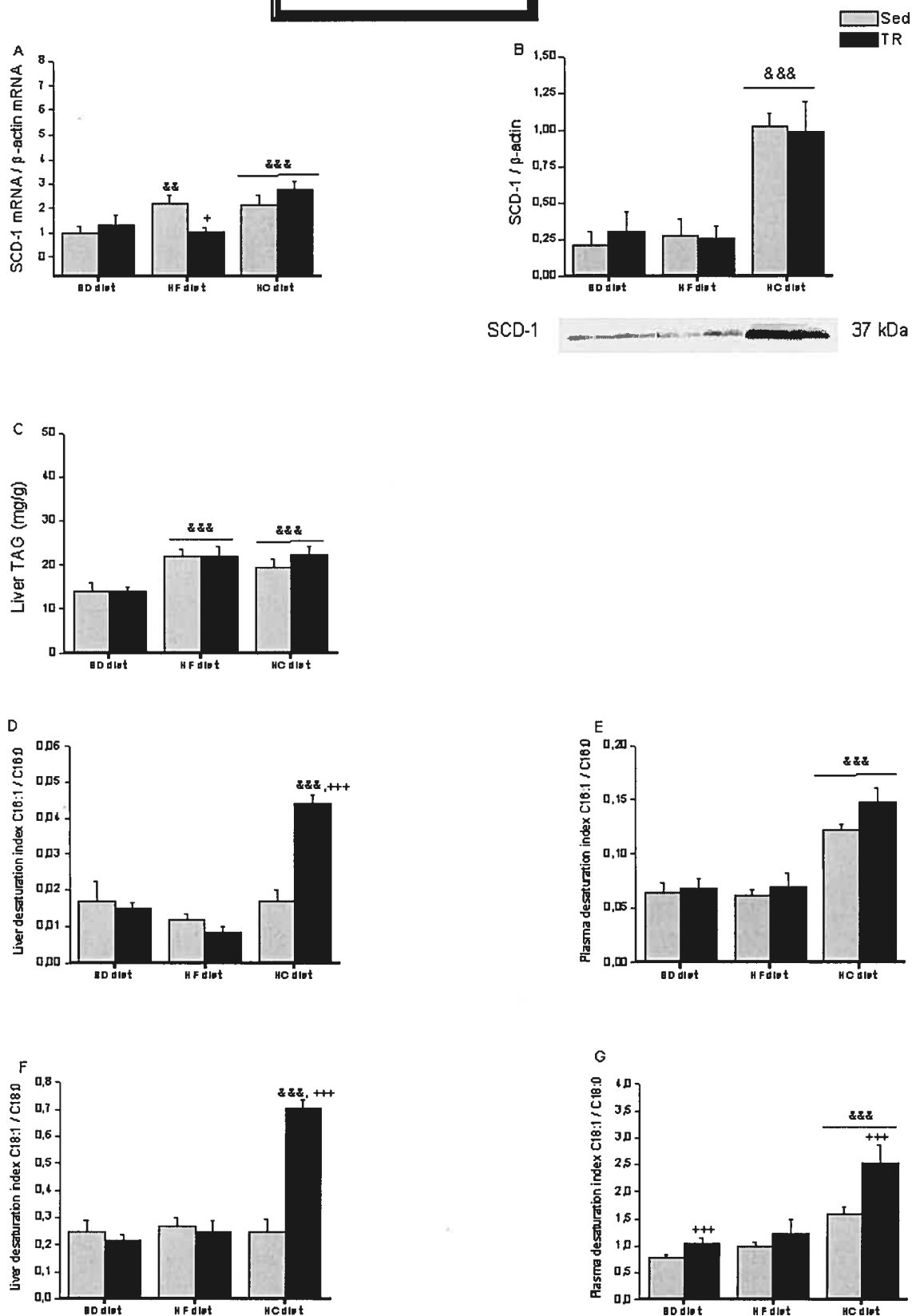


Figure 5

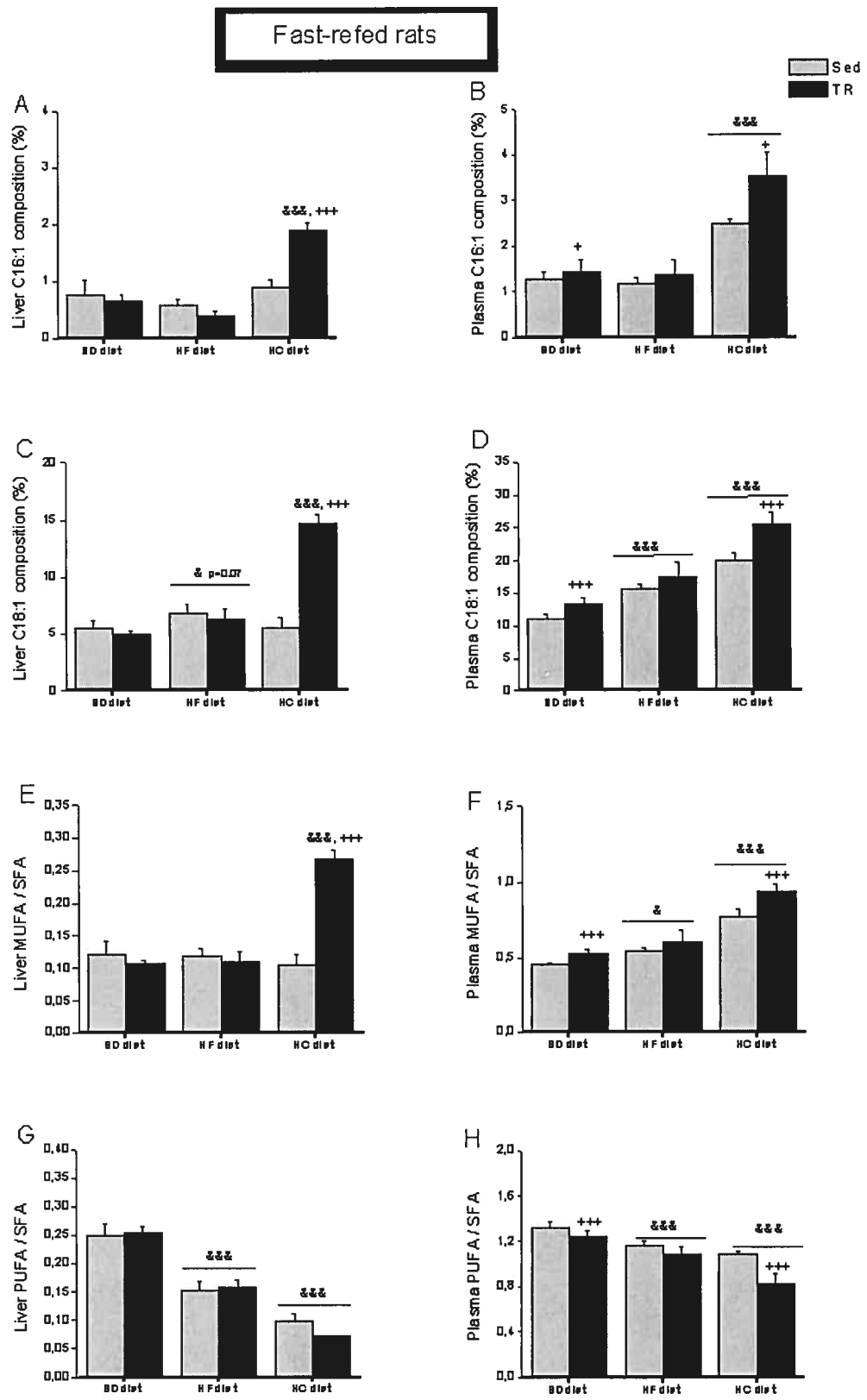


Figure 6.

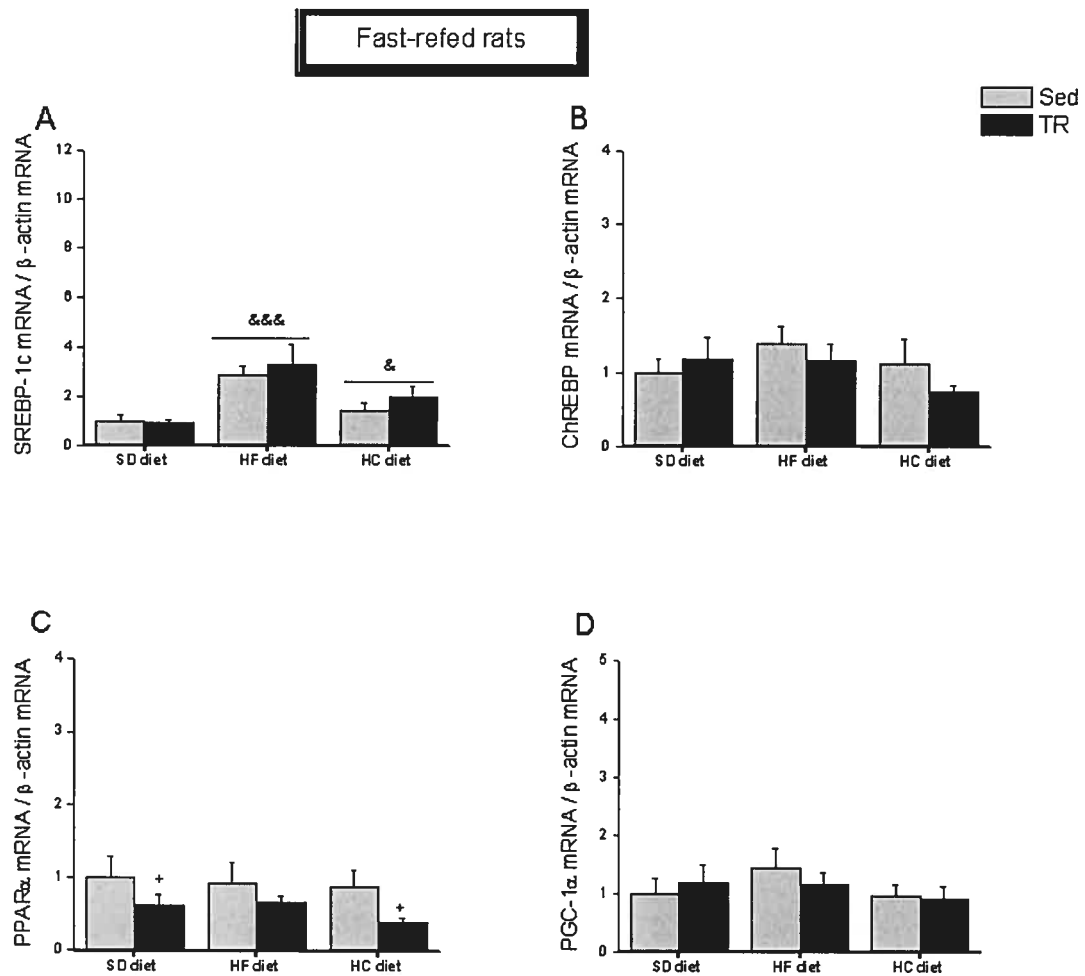


Figure 7

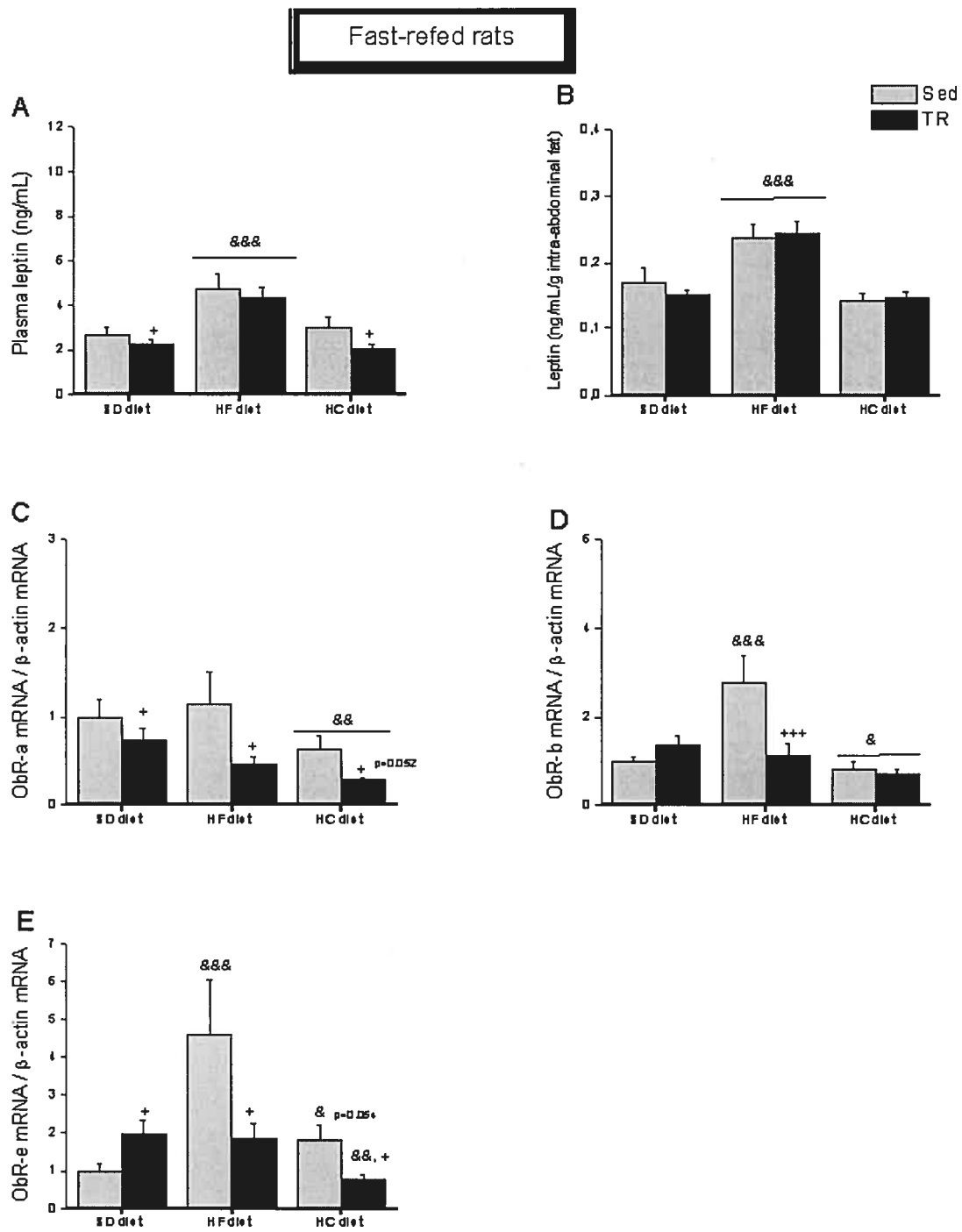


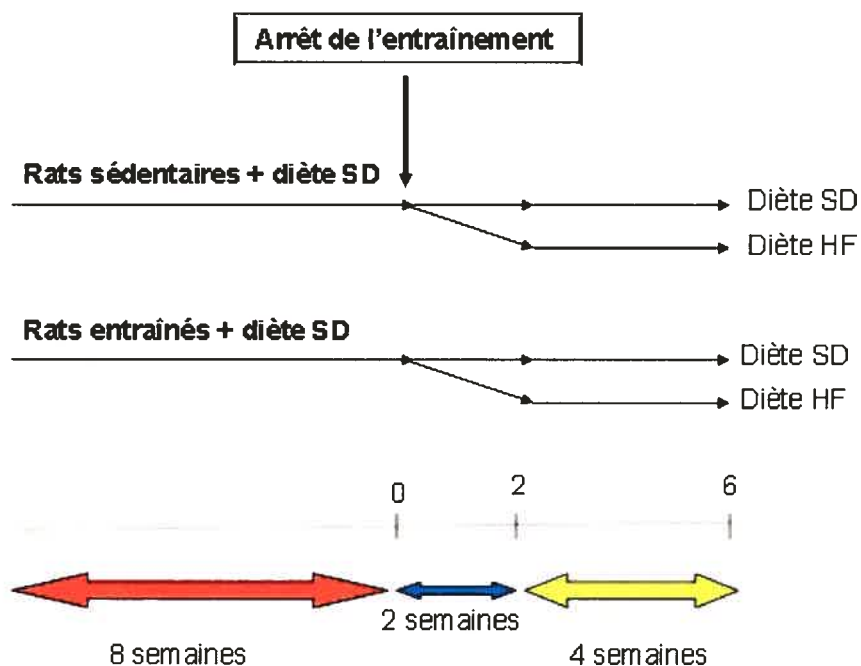
Figure 8.

### 3. Chapitre 3- Discussion

#### 3.1. Discussion générale

Les quatre études présentées dans le cadre de cette thèse ont été réalisées dans le but d'approfondir les connaissances sur les effets de l'activité et de l'inactivité physique en lien avec des diètes riches en lipides ou en hydrates de carbone sur la stéatose hépatique non-alcoolique.

**La première étude** comprenait deux groupes : un groupe de rats sédentaires et un groupe de rats ayant été entraînés pendant 8 semaines sur tapis roulant. Immédiatement après ces 8 semaines préparatoires, tous les animaux sont restés sédentaires et les deux groupes de départ ont été subdivisés en deux sous-groupes. Les rats du premier sous-groupe continuaient à se nourrir d'une diète standard (SD) alors que ceux du deuxième sous-groupe ont changé pour une diète riche en lipides (HF). Les animaux ont été sacrifiés soit à la fin de cette période préparatoire de 8 semaines, soit 2 ou 6 semaines après le début de la deuxième période caractérisée par l'arrêt d'entraînement (Fig. 16).



**Figure 16.** Schéma représentant une vue d'ensemble du schème expérimental de l'étude 1.

Les résultats obtenus lors de cette première étude démontrent que l'arrêt de l'entraînement a induit inévitablement un regain d'adiposité correspondant à ce qui avait été perdue lors de l'entraînement physique et ce, indépendamment du type de diète (Fig.1 A, B article1). De façon surprenante, la diète riche en lipides induit des adaptations similaires à ceux induites par la diète standard. Comme résultat de ce regain rapide d'adiposité, les animaux sédentaires et les animaux préalablement entraînés avaient un niveau identique d'adiposité après 6 semaines d'arrêt d'entraînement.

Ce regain de masse grasse suite à l'arrêt de l'entraînement a été également rapporté lorsqu'une restriction calorique était levée et que les animaux avaient accès à nouveau à la nourriture *ad libitum* (80, 114, 117). Ce regain a été attribué la baisse

de la leptinémie subséquente à la baisse d'adiposité (177). Effectivement, lors de la présente étude, le taux plasmatique de la leptine a été baissé suite au programme d'entraînement et a été maintenu bas pendant la période d'arrêt d'entraînement (Fig. 4C article 1). Comme il a été démontré dans d'autres études, le regain d'adiposité rapporté dans ce projet était localisé au niveau abdominal et était dû à une hyperplasie plutôt qu'une hypertrophie adipocytaire (4, 103). En essayant de justifier cette prise d'adiposité, nous avons vérifié l'ingestion calorique. Il est évident que l'augmentation de l'ingestion calorique observée durant la période d'entraînement et maintenue après l'arrêt de l'entraînement ne pouvait, à elle seule, justifier ce regain de masse grasse chez les rats après l'arrêt de l'entraînement. Des données non-publiées issues de notre laboratoire confirment ceux rapportées par Laye et al (103) démontrant qu'une restriction calorique chez les rats désentraînés n'a pu les empêcher de regagner le niveau d'adiposité observée chez les rats sédentaires tant nourris par la diète standard que par la diète riche en lipides. Malgré le fait que la thermogénèse n'ait pas été mesurée dans le cadre de cette étude, il reste que sa suppression semble être le mécanisme le plus plausible pouvant justifier le regain de masse grasse après l'arrêt de l'entraînement comme cela est le cas après un jeûne-réalimentation (50). Ainsi, la suppression de la thermogénèse pourrait être subséquente à la stimulation de l'expression de la SCD-1 dans le muscle (122). Le résultat de cette régulation génétique conduira inévitablement à l'accumulation d'acides gras mono-insaturés par rapport aux acides gras saturés, ceci favorisant leur stockage plutôt que leur oxydation (29).

Malgré le regain d'adiposité, le niveau des AGL circulants est resté bas et le contenu hépatique en TAG n'a démontré aucune augmentation même sous la condition de la diète riche en lipides après l'arrêt de l'entraînement (Fig. 4 A, B article 1). Il est dès lors possible que les rats désentraînés bénéficient d'une certaine protection

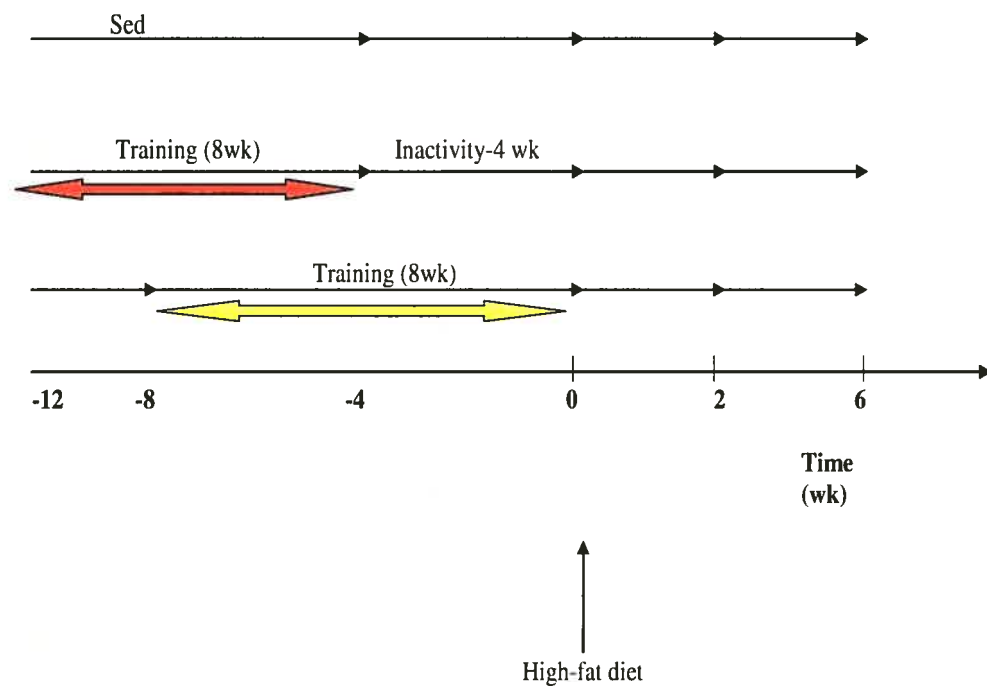


métabolique contre les effets de la diète HF en dépit du regain d'adiposité à court terme. Le regain de masse grasse, en soi, pourrait procurer une protection métabolique après l'arrêt de l'entraînement. En effet, le tissu adipeux possédant une grande capacité de séquestration les lipides empêcherait ceux-ci de se retrouver dans la circulation et de se loger dans d'autres organes. Dans la présente étude, le niveau des AGL circulant est resté bas après l'arrêt d'entraînement probablement à cause d'une séquestration efficace des lipides dans le tissu adipeux. Il est possible que l'expression de la périlipine, une protéine entourant les gouttelettes lipidiques les empêchant ainsi de subir l'action de la lipolyse, est augmentée suite à l'entraînement physique (données non-publiées issues de notre laboratoire). Nous pensons alors qu'une éventuelle augmentation de l'expression de la périlipine, suite à un programme d'activité physique, pourrait être préservée après l'arrêt de l'entraînement. Par contre, la protection contre l'infiltration hépatique de lipides observée après l'arrêt d'entraînement pourrait être le résultat de la baisse du niveau des AGL ou de nouvelles adaptations intra-hépatiques. Une diminution de l'expression de la SCD-1 dans le foie, suite à l'entraînement physique, et son maintien après l'arrêt de l'entraînement physique pourrait constituer un mécanisme intra-hépatique ayant contribué à la protection du foie contre l'infiltration des lipides dans la présente étude.

En conclusion, l'arrêt de l'entraînement était marqué, dans cette première étude, par un stockage de lipides au niveau du tissu adipeux accompagné d'une protection du profil lipidique. Ces réponses métaboliques ressemblent à ceux rapportés lors de l'entraînement physique (68). De plus, la diète riche en lipides n'avait aucun effet délétère sur le profil métabolique chez les rats désentraînés en comparaison à leurs homologues sédentaires. Il serait alors légitime de penser qu'immédiatement après l'arrêt de l'entraînement, les effets résiduelles de l'entraînement physique sont

encore fonctionnels et masqueraient probablement ceux de la diète HF. Nous ignorons ainsi la réponse métabolique à une diète riche en lipides introduite à moyen-long terme après l'arrêt de l'entraînement plutôt qu'immédiatement après celui-ci.

**Dans une deuxième étude**, nous avons tenté de dissocier les effets de l'arrêt de l'entraînement de ceux de la diète riche en lipides. Nous avons étudié trois groupes expérimentaux qui ont été préparés pendant 12 semaines. Un groupe de rats sédentaires, un groupe de rats soumis à 8 semaines d'entraînement suivies de 4 semaines d'arrêt d'entraînement et un troisième groupe qui a commencé son entraînement quatre semaines plus tard que le deuxième groupe. Conséquemment, à la fin de la 12<sup>ième</sup> semaine, nous avons trois groupes : rats sédentaires, rats entraînés pendant 8 semaines et ensuite désentraînés pendant 4 semaines et un 3<sup>ième</sup> groupe de rats qui venaient tout de juste d'achever un programme de 8 semaines d'entraînement. À partir de ce moment, tous les animaux étaient sédentaires se nourrissant d'une diète riche en lipides (Fig. 17).



**Figure 17.** Schéma représentant une vue d'ensemble du schème expérimental de l'étude 2. Adapté de Yasari et al (211).

Lors de cette deuxième étude, nous avons comparé la réponse métabolique à la diète riche en lipides chez des rats en fonction de leur état de désentraînement préalable.

Contrairement à ce que nous avons rapporté lors de la première étude, l'arrêt de l'entraînement n'a pas résulté uniquement en un regain de masse grasse au même niveau que les rats sédentaires, mais plus encore, les animaux qui ont bénéficié d'une période de quatre semaines d'arrêt d'entraînement, ont même dépassé le niveau d'adiposité observée chez les rats sédentaires au cours des quatre semaines de désentraînement (T=0, Fig. 2D, 3A article 2). Lorsque ces animaux ont par la

suite été soumis à la diète riche en lipides, le gain d'adiposité a été maintenu et ce même groupe a démontré un plus haut niveau d'adiposité que les autres groupes. Il semblerait que le niveau du seuil de régulation (set-point) d'adiposité ait été ajusté à la hausse avec l'arrêt de l'entraînement. Suite à l'arrêt de l'entraînement, il ne se produit donc pas nécessairement un simple retour à l'état de sédentarité ou de pré-entraînement, il ne s'agit donc pas d'une simple réversibilité de l'adiposité, mais le regain d'adiposité pourrait être continu et même exagéré sur plus une période prolongée d'arrêt d'entraînement.

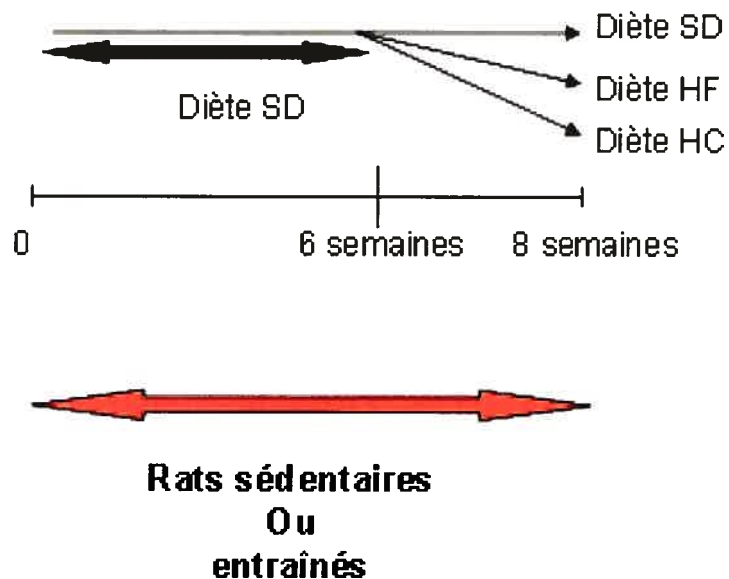
Le niveau des AGL circulants et le contenu hépatique en TAG étaient similaires après les 12 semaines préparatoires (T=0, Fig. 4 A, B article 2). Cependant, après 2 et 6 semaines de diète riche en lipides, les animaux ayant subi un désentraînement de 4 semaines démontraient une forte tendance à avoir les niveaux les plus élevés d'AGL circulants et de contenu hépatique en TAG. La dite protection métabolique après l'arrêt de l'entraînement rapportée dans la première étude a donc disparu. Lorsque les animaux ont été triés selon le degré de leur prise de poids en réponse à une diète riche en lipides, ceux ayant subi 4 semaines de désentraînement préalables et ayant pris plus de poids ont également exhibé le plus haut degré d'infiltration des lipides et d'AGL circulants. Il semblerait qu'une composante génétique prédisposant à l'obésité pourrait représenter le pire scénario d'exposition à des désordres métaboliques suite à l'arrêt d'entraînement.

En résumé, les résultats de ces deux études semblent indiquer qu'un regain d'adiposité est inévitable après l'arrêt de l'entraînement. Immédiatement après l'arrêt de l'entraînement, les effets de l'entraînement physique peuvent être présents procurant ainsi une forme de protection métabolique contre un stimulus d'obésité (e.i une diète riche en lipides). Cependant, à moyen-long terme après l'arrêt d'entraînement, la réversibilité des effets bénéfiques gagnés avec l'entraînement

peut aller au-delà d'atteindre un profil métabolique chez des sujets sédentaires en santé. L'arrêt de l'entraînement pourrait même exposer les sujets à d'éventuels désordres métaboliques. Donc, après l'arrêt de l'entraînement, les effets de celui-ci sur le stockage et la séquestration des lipides semblent persister et semble même être régulés à la hausse alors que la protection contre les effets délétères d'une diète riche en lipides semble disparaître plus vite après l'arrêt de l'entraînement. Nous ignorons, par contre, si cette vulnérabilité persistera à plus long terme après l'arrêt de l'entraînement. Il existe quelques mécanismes qui seraient intéressants d'étudier lors de l'arrêt de l'entraînement. Ces mécanismes sont l'expression de la SCD-1 et des UCPs (uncoupling proteins) dans le muscle et dans le tissu adipeux blanc et brun en lien avec la thermogénèse et dans le foie, en lien avec la protection métabolique résiduelle contre la stéatose hépatique. Finalement, l'étude de la cinétique de l'expression de la périlipine dans le tissu adipeux suite à l'entraînement et à l'arrêt de l'entraînement pourraient élucider le mystère d'une éventuelle détérioration de la séquestration des lipides après un arrêt d'entraînement prolongé.

Dans la troisième et la quatrième étude, nous avons tenté d'élucider les mécanismes moléculaires stimulés par l'entraînement physique spécifiquement au niveau hépatique qui pourraient avoir persisté après l'arrêt de l'entraînement et avoir procuré la protection métabolique rapportée dans l'article 1. Les animaux de **la troisième étude** étaient sacrifiés dans un état d'alimentation *ad libitum* et de façon continue. Cette étude comportait deux groupes d'animaux : des rats sédentaires et des rats entraînés pendant huit semaines sur tapis roulant. Pendant les six premières semaines, les animaux ont été nourris d'une diète standard (SD).

Pendant les deux dernières semaines précédant leur sacrifice, les deux groupes de rats ont été subdivisés en trois sous-groupes. Un premier sous-groupe continuait à être nourri d'une diète SD alors que le deuxième sous-groupe a changé pour une diète riche en lipides (HF), et finalement le 3<sup>ième</sup> sous-groupe a changé pour une diète riche en hydrates de carbones (HC) (Fig. 18).



**Figure 18.** Vue d'ensemble du schéma expérimental de l'étude 3.

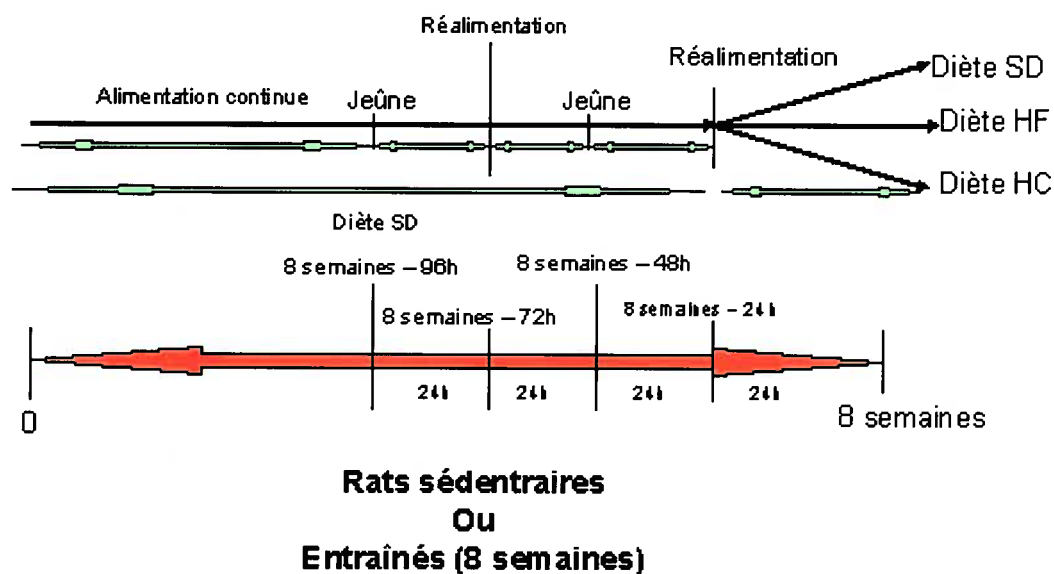
Les résultats principaux de cette étude démontrent que l'entraînement physique agit effectivement sur les mécanismes hépatiques impliqués dans la gestion des lipides. Cette étude représente la première évidence expérimentale, à notre connaissance, démontrant la baisse de l'expression de la SCD-1 hépatique suite à l'entraînement (Fig. 1 A article 3). La baisse de l'ARNm ainsi que du niveau du contenu protéique de la SCD-1 n'était pas accompagnée des mêmes changements au niveau de l'indice de l'activité enzymatique de la SCD-1. Ceci démontre que les effets de l'entraînement sur la SCD-1 étaient de type transcriptionnel. De plus, la baisse de

l'expression de la SCD-1 n'a pas induit une baisse des TAG hépatiques. Cela suggère que la baisse de l'expression de la SCD-1 pourrait représenter la première adaptation de l'entraînement sur le foie. De façon surprenante, la baisse du niveau de l'ARNm et la quantité protéique de la SCD-1 était parallèle à la baisse du taux plasmatique de la leptine, cytokine et hormone connue comme ayant un effet supprimeur sur la SCD-1. De même, des diminutions de l'expression de ses récepteurs au niveau du foie ont été observées. Comme il a été expliqué dans la discussion de l'article 3, ces adaptations survenues au niveau de la leptine pourraient suggérer que l'action de celle-ci sur le foie est améliorée et est régulée principalement centralement plutôt que localement dans une situation d'entraînement physique. De plus, l'entraînement physique pourrait procurer une forme de protection contre la progression de la stéatose hépatique vers la stéato-hépatite caractérisée par un état inflammatoire en baissant l'expression des PPAR $\alpha$  (Fig. 3 article 3) surtout lors de l'infiltration des lipides suite à une diète riche en lipides ou en hydrates de carbone. Cette baisse des PPAR $\alpha$  rapportée dans l'article 3 n'exclue pas la possibilité selon laquelle l'entraînement physique chronique pourrait stimuler l'oxydation des lipides au foie. Cette éventuelle oxydation serait possiblement indépendante de la voie des PPAR $\alpha$ .

Il a été démontré dans le passé que l'ingestion du fructose atténuait les effets de l'entraînement sur la FAS, enzyme impliquée dans la lipogenèse (57). Lors de la 3<sup>ème</sup> étude faisant l'objet de cette thèse, nous avons confirmé que le fructose atténue effectivement les effets de l'entraînement sur la lipogenèse hépatique. Le fructose a induit une augmentation drastique de l'expression du gène la SCD-1, de sa protéine, ainsi que les indices de désaturation reflétant son activité enzymatique au niveau hépatique et au niveau du plasma chez les rats entraînés. Un autre fait

intéressant, à l'opposé des effets de l'entraînement conjointement avec la diète HF, l'entraînement a induit une augmentation de l'indice de désaturation hépatique (C18:1 /C18:0) (Fig. 1 F article 3). Nous avons émis l'hypothèse selon laquelle l'entraînement pourrait amener des adaptations avec les HC différentes de celles rapportées lors de la diète HF.

**L'interaction des effets du fructose avec ceux de l'entraînement ont été regardés de plus près dans l'étude 4** où les animaux ont subi 2 cycles de jeûne-réalimentation successifs sur une période de 96 heures. Suite au dernier jeûne, les animaux entraînés ou sédentaires subissaient un changement de diète. Un sous groupe de chaque groupe continuait à être nourri de la diète SD, tandis que les autres animaux ont changé pour une diète HF ou HC (Fig. 19).



**Figure 19.** Figure représentative du modèle expérimental de l'étude 4.



Les résultats issus de cette dernière étude confirment les observations de l'étude 3 concernant les effets de l'entraînement chez les animaux nourris avec diète riche en hydrates de carbone (99 % de fructose). Dans cette étude, le foie subissait un défi constitué d'un arrivage accru de substrats suite au jeûne-réalimentation. Cette situation physiologique est caractérisée par un regain d'adiposité et principalement une augmentation de la FAS au niveau du tissu adipeux (25). Nous ignorons, cependant, les effets de l'entraînement physique sur l'arrivage aigu de substrats dans le foie lors de cette situation physiologique. Contrairement à ce qui est observé suite à une diète HF (68), l'entraînement a amplifié la lipogenèse *de novo* induite par le fructose possiblement dans le but de :

- 1) protéger le tissu hépatique contre les effets délétères du fructose comme la peroxydation des lipides membranaires (5).
- 2) augmenter l'exportation des lipides vers le tissu adipeux, où ils seront stockés et/ou vers le muscle où ils seront oxydés.

### 3.2. Conclusion et perspectives

À partir de ces quatre études, nous pouvons conclure que l'entraînement physique chronique amène une baisse de l'expression de la SCD-1 au niveau hépatique. Cette baisse est dépendante du type de diète. La baisse de l'expression de la SCD-1 hépatique pourrait être maintenue après l'arrêt de l'entraînement et cela procurerait probablement une protection contre l'infiltration lipidique au foie. Cette protection disparaîtrait à plus long terme suite à l'arrêt d'entraînement. La SCD-1 pourrait cependant devenir exagérément exprimée dans le foie prédisposant à la stéatose hépatique lors d'une soumission à une diète riche en lipides suite à l'arrêt d'entraînement prolongée.

La leptine est une cytokine connue pour diminuer drastiquement l'expression de la SCD-1 dans le foie. Il y a une controverse relative à l'action de la leptine sur la SCD-1 hépatique. Nous ignorons si la leptine agit directement sur le foie ou indirectement via le système nerveux central. Cependant, dans une situation d'entraînement, il y a des indications que la leptine agit principalement sur l'hypothalamus pour baisser l'expression de la SCD-1 au foie. Le cerveau pourrait devenir le site par excellence de la gestion de l'homéostasie des lipides chez un sujet entraîné.

Étonnement, l'entraînement semble favoriser la synthèse *de novo* des lipides et pourrait ainsi stimuler leur exportation sous forme de VLDL dans le but d'être stockés dans le tissu adipeux lorsque la diète est riche en substrats lipogéniques. L'entraînement peut également procurer une protection contre l'inflammation, pouvant transformer la stéatose hépatique bénigne en staéto-hépatite en abaissant

significativement l'expression des PPAR $\alpha$  dans le foie. Conséquemment, la distribution et l'utilisation des lipides par le foie semblent être régulées selon la nature de la diète et de l'état nutritionnel lors d'état d'entraînement physique.

#### 4. Chapitre 4- Bibliographie

1. Andersen P. H., Lund S., Vestergaard H., Junker S., Kahn B. B., and Pederson O. Expression of the major insulin regulatable glucose transporter (GLUT4) in skeletal muscle of noninsulin-dependent diabetic patients and healthy subjects before and after insulin infusion. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1993, 77: 27-32.
2. Angulo P. Nonalcoholic fatty liver disease. *N. Engl. J. Med.* 2002, 346: 1221-1231.
3. Applegate E. A., and Stern J. S. Exercise termination effects on food intake, plasma insulin, and adipose tissue lipoprotein lipase activity in the Osborne-Mendel rat. *Metabolism.* 1987, 36: 709-714.
4. Applegate E. A., Upton D. E., and Stern J. S. Exercise and detraining: effect on food intake, adiposity and lipogenesis in Osborne-Mendel rats made obese by a high-fat diet. *J. Nutr.* 1984, 114: 447-459.
5. Armutcu F., Coskun O., Gürel A., Kanter M., Can M., Ucar F., Unalacak M. Thymosin alpha 1 attenuates lipid peroxidation and improves fructose-induced steatohepatitis in rats. *Clin. Biochem.* 2005, 38, 540-547.
6. Arnold J., and Richard D. Detraining of exercise trained rats effects of energetic efficiency and brown adipose tissue thermogenesis. *Br. J. Nutr.* 1987, 57: 363-370.
7. Attie A. D., Krauss R. M., Gray-Keller M. P., Brownlie A., Miyazaki M., Kastelein J. J. L. L. Lusis A. J. Stalenhoef A. F., Stoehr J. P., Hayden M. R., and Ntambi J. M. Relationship between stearoyl-CoA desaturase activity and plasma triglycerides in human and mouse hypertriglyceridemia. *J. Lipid Res.* 2002, 43: 1899-1907.
8. Barakat H. A., Kasperek G. J., Dohm G. L., Tapscott E. B., and Snider R. D. Fatty acid oxidation by liver and muscle preparations of exhaustively exercised rats. *Biochem. J.* 1982, 208: 419-424.
9. Barzilai N., Wang J., Massilon D., Vuguin P., Hawkins M., and Rossetti L. Leptin selectively decreases visceral adiposity and enhances insulin action. *J. Clin. Invest.* 1997, 100: 3105-3110.
10. Bell J. G., Tocher D. R., MacDonald F. M., and Sargent J. R. Diets riche in eicosapentaenoic acid and gamma-linolenic acid effect phospholipid fatty acid

composition and production of prostaglandins E1, E2 and E3 in turbot (*Scophthalmus maximus*), a species deficient in delta 5 fatty acid desaturase. ***Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty acids***. 1995, 53: 279-289.

11. Bellantani S., Saccoccio G., Masutti F., Croce L. S., Brandi G., Sasso F. Prevalence of and risk factors for hepatic steatosis in Northern Italy. ***Ann. Intern. Med.*** 2000, 132: 112-117.
12. Biddinger S. B., Miyazaki M., Boucher J., Ntambi J. M., and Khan C. R. Leptin suppresses stearoyl-CoA desaturase 1 by mechanisms independent of insulin and sterol regulatory element binding protein-1c. ***Diabetes***. 2006, 55: 2032-2041.
13. Booth F. W., and Lees S. J. Fundamental questions about genes, inactivity, and chronic diseases. ***Physiol. Genomics***. 2007, 28: 146-157.
14. Booth F. W., and Lees S. Physically active subjects should be the control group. ***Med. Sci. Sports Exerc.*** 2006, 38: 405-406.
15. Booth F. W., Chakravarthy M. V., Gordon S. E., and Spangenburg E. E. Waging war on physical inactivity: using modern molecular ammunition against an ancient enemy. ***J. Appl. Physiol.*** 2002, 93: 3-30.
16. Booth M. A., Booth M. J. and Taylor A. W. Rat fat cell size and number with exercise training, detraining and weight loss. ***Fed. Proc.*** 1974, 33: 1959-1963.
17. Bornstein S. R., Abu-Asab M., Glasow A., P ath G., Hauner H., Tsokos M., Chrousos G. P., and Scherbaum W. A. Immunohistochemical and ultrastructural localization of leptin and leptin receptor in human white adipose tissue and differentiating human adipose cells in primary culture. ***Diabetes***. 2000, 49: 532-538.
18. Bradbury M. W., and Berk P. D. Lipid metabolism in hepatic steatosis. ***Clin. Liver. Dis.*** 2004, 8: 639-671.
19. Brandt J. M., Djouadi F., and Kelly D. P. Fatty acids activate transcription of the muscle carnitine palmitoyltransferase I gene in cardiac myocytes via the peroxisome proliferator-activated receptor alpha. ***J. Biol. Chem.*** 1998, 273: 23786-23792.
20. Brown M. S., and Goldstein J. L. The SREBP pathway: regulation of cholesterol metabolism by proteolysis of a membrane-bound transcription factor. ***Cell***. 1997, 89: 331-340.
21. Bugianesi E. Late complications of NASH: a challenge for hepatologists. ***Journal of Hepatology***. 2005, 42: 782-785.

22. Bugianesi E., McCullough A. J., and Marchesini G. Insulin resistance: a metabolic pathway to chronic liver disease. *Hepatology*. 2005, 42: 987-1000.
23. Buhman K. F., Accad M., and Farese R. V. Mammalian acyl-CoA: cholesterol acyltransferases. *Biochim. Biophys. Acta*. 2000, 1529: 142-154.
24. Burstein R., Polychronakos C., Toews C. J., MacDougall J. D., Guyda H. J., and Posner B. I. Acute reversal of the enhanced insulin action in trained athletes. Association with insulin receptor changes. *Diabetes*. 1985, 34: 756-760.
25. Cettour-Rose P., Samec S., Russell A. P., Summermatter S., Mainieri D., Carrillo-Theander C., Montani J. P., Seydoux J., Rohner-Jeanrenaud F., and Dulloo A. G. Redistribution of glucose from skeletal muscle to adipose tissue during catch-up fat: a link between catch-up growth and later metabolic syndrome. *Diabetes*. 2005, 54: 751-756.
26. Chan H. L., de Silva H. J., Leung N. W., Lim S. G., Farrell G. C., the Asia-Pacific working Party on NAFLD. How should we manage patients with non-alcoholic fatty liver disease in 2007? *J. Gastroenterol. Hepatol*. 2007, 22: 801-808.
27. Cinar K., Coban S., Idilman R. et al. Long-term prognosis of non-alcoholic fatty liver disease: is pharmacological therapy actually necessary? *J. Gastroenterol. Hepatol*. 2006, 21: 169-173.
28. Clark J. M. Weight loss as a treatment for nonalcoholic fatty liver disease. *J. Clin. Gastroenterol*. 2006, 40: S39-43.
29. Cohen P., and Friedman J. M. Leptin and the control of metabolism : role for stearoyl-CoA Desaturase-1 (SCD-1). *J. Nutr*. 2004, 134: 2455S-2436S.
30. Cohen P., Miyazaki M., Succi N. D., Hagge-Greenberg A., Liedtke W., Soukas A. A., Sharma R., Hudgins L. C., Ntambi J. M., and Friedman J. M. Role for stearoyl-CoA desaturase-1 in leptin-mediated weight loss. *Science*. 2002, 297: 240-243.
31. Cohen P., Ntambi J. M., and Friedman J. M. Stearoyl-CoA desaturase-1 and the metabolic syndrome. *Curr. Drug Targets Immune Endocr. Metabol. Disord*. 2003, 3: 271-280.
32. Cohen P., Zhao C., Cai X., Montez J. M., Rohani S. C., Feinstein P., Monbaerts P., and Friedman J. M. Selective deletion of leptin receptor in neurons leads to obesity. *J. Clin. Invest*. 2001, 108: 113-1121.

33. Craig B. W., Thompson K., and Holloszy J. O. Effects of stopping training on size and response to insulin of fat cells in female rats. *J. Appl. Physiol.* 1983, 54: 571-575.
34. Crescenzo R., Lionetti L., Mollica M. P., Ferraro M., D'Andrea E., Dulloo A.G., Liverini G., and Iossa S. Altered skeletal muscle subsarcolemmal mitochondrial compartment during catch-up fat after caloric restriction. *Diabetes.* 2006, 55: 2286-2293.
35. Crescenzo R., Samec S., Antic V., Rohner-Jeanrenaud F., Seydoux J., Montani J. P., Dulloo A. G. A role for suppressed thermogenesis favoring catch-up fat in the pathophysiology of catch-up growth. *Diabetes.* 2003, 52: 1090-1097.
36. Day C. P., and Daly A. K. NASH is a genetically determined disease. In: Farrell G. C., George J., Hall P., McCullough A. J. *Fatty liver disease: NASH and related disorders. Malden, MA: Blackwell*, 2005, 66-75.
37. Debray C. Zarakovitch M., Ranson B., Jacquemin J., Robert J., Siraga M. Contribution to the study on the pathology of the deportees. *Seminaire Hôpital de Paris.* 1946, 22: 863-870.
38. den Boer M., Voshol P. J., Kuipers F., Havekes L. M., and Romijn J. A. Hepatic steatosis: a mediator of the metabolic syndrome. Lessons from animal models. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2004, 24: 644-649.
39. Dentin R., Girard J., and Postic C. Carbohydrate responsive element binding protein (ChREBP) and sterol regulatory element binding protein-1c (SREBP-1c): two key regulators of glucose metabolism and lipid synthesis in liver. *Biochimie.* 2005, 87: 81-86.
40. Despres J. P., and Lemieux I. Abdominal obesity and metabolic syndrome. *Nature.* 2006, 444: 881-887.
41. Dobrzyn A., and Ntambi J. M. Stearoyl-CoA desaturase as a new drug target for obesity treatment. *Obesity reviews.* 2005, 6: 169-174.
42. Dobrzyn A., and Ntambi J. M. The role of stearoyl-CoA desaturase in the control of metabolism. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids.* 2005, 73: 35-41.
43. Dobrzyn A., and Ntambi J. M. The role of stearoyl-CoA desaturase in body weight regulation. *Trends Cardiovasc. Med.* 2004, 14: 77-81.
44. Dobrzyn A., Dobrzyn P., Lee S. H., Miyazaki M., Cohen P., Asillmaz E., et al. Stearoyl-CoA desaturase-1 deficiency reduces ceramide synthesis by down-

regulation serine palmitoyltransferase and increasing b-oxidation in skeletal muscle.

**Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.** 2005, 288: E599-E607.

45. Dobrzyn P., Dobrzyn A., Miyazaki M., Cohen P., Asilmaz E., Hardie D. G., Friedman J. M., and Ntambi J. M. Stearoyl-CoA desaturase-1 deficiency increases fatty acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase in liver. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.** 2004, 101: 6409-6414.

46. Dohm G. L., Barakat H. A., Tapscott E. B., and Beecher G. R. Changes in body fat and lipogenic enzyme activities in rats after termination of exercise training. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.** 1977, 155: 157-159.

47. Dulloo a. G., Jacquet J. Adaptive reduction in basal metabolic rate in response to food deprivation in humans: a role for feed back signals form fat stores. **Am. J. Clin. Nutr.** 1998, 68: 599-606.

48. Dulloo A. G., Jacquet J. An adipose-specific control of thermogenesis in body weight regulation. *Int. J. Obes. Rel. Metab. Disord.* 2001, 25: S22-S29.

49. Dulloo A. G., Jacquet J., and Girardier L. Autoregulaiton of body composition during weight recovery in humans: the Minnesota Experiment revisited. **Int. J. Obes.** 1996, 20: 393-405.

50. Dulloo A. G., Jacquet J., Seydoux J., and Montani J. P. The thrifty catch-up fat phenotype: its impact on insulin sensitivity during growth trajectories to obesity and metabolic syndrome. **Int. J. Obes.** 2006, 30: S23-35.

51. Elliott S. S., Keim N. L., Stern J. S., Teff K., and Havel P. J. Fructose, weight gain, and the insulin resistance syndrome. **Am. J. Clin. Nutr.** 2002, 76: 911-922.

52. Enser M., and Roberts J. L. The regulation of hepatic stearoyl-coenzyme A desaturase in obese-hyperglycaemic (ob/ob) mice by food intake and the fatty acid composition of the diet. **Biochem. J.** 1982, 206: 561-570.

53. Estadella D., Oyama L. M., Damaso A. R., Ribeiro E. B., and Oller Do Nascimento C. M. Effect of palatable hyperlipidic diet on lipid metabolism of sedentary and exercised rats. **Nutrition.** 2004, 20: 218-224.

54. Ferré P., and Foufelle F. SREBP-1c transcription factor and lipid homeostasis: clinical perspective. **Horm. Res.** 2007, 68: 72-82.

55. Ferretti G., Antonutto G., Denis C., Hoppeler H., Minetti A. E., Narici M. V., Desplanches D. The interplay of central and peripheral factors in limiting maximal O2 consumption in man after prolonged bed rest. **J. Physiol.** 1997, 501: 677-686.



56. Fiebig F. G., Hollander J. M., and Ji L. L. Exercise down-regulates hepatic fatty acid synthase in streptozotocin-treated rats. *J. Nutr.* 2001, 131: 2252-2259.
57. Fiebig R., Griffiths M. A., Gore M. T., Baker D. H., Oscai L., Ney D., and Ji L. L. Exercise training down-regulates hepatic lipogenic enzymes in meal-fed rats: fructose versus complex-carbohydrate diets. *J. Nutr.* 1998, 128: 810-817.
58. Fishman S., Muzumdar H., Atzmon G., Ma X., Yang X., Einstein F. H., and Barzilai N. Resistance to leptin action is the major determinant of hepatic triglyceride accumulation in vivo. *FASEB J.* 2007, 21: 53-60.
59. Flegal K. M., Carroll M. D., Ogden C. L., and Johnson C. L. Prevalence and trends in obesity among US adults 1999-2000. *Am. J. Med. Assoc.* 2002, 288: 1723-1727.
60. Ford E. S., Kohl H. W., Mokdad A. H., and Ajani U. A. Sedentary behavior, physical activity, and the metabolic syndrome among U. S. adults. *Obes. Res.* 2005, 13: 608-614.
61. Foretz M., Pacot C., Dugail I., Lemarchand P., Guichard C., Le Liepvre X., et al. ADD1/SREBP-1c is required in the activation of hepatic lipogenic gene expression by glucose. *Mol. Cell. Biol.* 1999, 19: 3760-3768.
62. Foufelle F., and Ferré P. New perspectives in the regulation of hepatic glycolytic and lipogenic genes by insulin and glucose: a role for the transcription factor sterol regulatory element binding protein-1c. *Biochem. J.* 2002, 366: 377-391.
63. Friedman J. E., Dohm G. L., Leggett-Frazier N., Elton C. W., Tapscott E. B., Pories W. P., and Caro J. F. Restoration of insulin responsiveness in skeletal muscle of morbidly obese patients after weight loss. Effect on muscle glucose transport and glucose transporter GLUT4. *J. Clin. Invest.* 1992, 89: 701-705.
64. Friedman J. M. Obesity in the new millennium. *Nature*, 2000, 404: 632-634.
65. Frohnert B. I., Hui T. Y., Bernlohr D. A. Identification of a functional peroxisome proliferator-responsive element in the murine fatty acid transport protein gene. *J. Biol. Chem.* 1999, 274: 3970-3977.
66. Garvey W. T., Maianu L., Hancock J. A., Golichowski A. M., and Baron A. gene expression of GLUT4 in skeletal muscle from insulin-resistant patients with obesity, IGT GDM, and NIDDM. *Diabetes.* 1992, 41: 465-475.
67. Gauthier M. S., Couturier K., Charbonneau A., and Lavoie J-M. Effects of introducing physical training in the course of a 16-week high-fat diet regimen on

hepatic steatosis, adipose tissue fat accumulation and plasma lipid profile. *Int. J. Obes.* 2004, 28: 1064-1071.

68. Gauthier M. S., Couturier K., Latour J-G., and Lavoie J-M. Concurrent exercise prevents high-fat-diet-induced macrovesicular hepatic steatosis. *J. Appl. Physiol.* 2003, 94: 2127-2134.

69. Gerozissis K. Brain insulin and feeding: a bi-directional communication. *Eur. J. Pharmacol.* 2004, 490: 59-70.

70. Gilde A. J., Van Der Lee K. A., Willemsen P. H., et al. Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) alpha and PPARbeta/delta, but not PPARgamma, modulate the expression of genes involved in cardiac lipid metabolism. *Circ. Res.* 2003, 92, 518-524.

71. Gill H. K., and Wu G. Y. Non-alcoholic fatty liver disease and the metabolic syndrome: effects of weight loss and a review of popular diets. Are low carbohydrate diets the answer? *World. J. Gastroenterol.* 2006, 12: 345-353.

72. Gomez F. E., Miyazaki M., Kim Y. C., Marwah P., Lardy H. A., Ntambi J. M et al. Molecular differences caused by differentiation of 3T3-L1 preadipocytes in the presence of either dehydroepiandrosterone (DHEA) or 7-oxo-DHEA. *Biochemistry.* 2002, 41: 5473-5482.

73. Goodpaster B. H., He J., Watkins S., and Kelley D. E. Skeletal muscle lipid content and insulin resistance: evidence for a paradox in endurance-trained athletes. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2001, 86: 5755-5761.

74. Gorski J., Oscai L. B., and Palmer W. K. Hepatic lipid metabolism in exercise and training. *Med. Sci. Sports Exerc.* 1990, 22: 213-221.

75. Guerra B., Santana A., Fuentes T., Delgado-Guerra S., Cabrera-Socorro A., Dorado C., Calbet J. A. Leptin receptors in human skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.* 2007, 102: 1786-1792.

76. Hamaguchi M., Kojima T., Takeda N., Nakagawa T., Taniguchi H., Fujii K., Omatsu T., Nakajima T., Sarui H., Shimazaki M., Kato T., Okuda J., and Ida K. The metabolic syndrome as a predictor of non-alcoholic fatty liver disease. *Ann. Intern. Med.* 2005, 143: 722-728.

77. Harris T., Cook E. F., Garrison R., Higgins M., Kannel W., and Goldman L. Body mass index and mortality among non-smoking older persons. The Framingham heart study. *J. Am. Med. Assoc.* 1988, 259: 1520-1524.

78. Hearn G. R. The effects of terminating and detraining on enzyme activities of heart and skeletal muscle of trained rats. *Int. Z Angew Physiol.* 1965, 21: 190-194.
79. Hickey M. S., Houmard J. A., Considine R. V., Tyndall G. L., Midgette J. B., Gavignan K. E., Weidner M. L., McCammon M. R., Israel R. G., and Caro J. F. Gender-dependent effects of exercise training on serum leptin levels in humans. *Am. J. Physiol.* 1997, 272: E562-566.
80. Hill J. O., Thacker S., Newby D., Sykes M. N., and Digirolamo M. Influence of food restriction coupled with weigh cycling on carcass energy restoration during ad-libitum refeeding. *Int. J. Obes.* 1988, 12: 547-555.
81. Holloszy J. O. Exercise-induced increase in muscle insulin sensitivity. *J. Appl. Physiol.* 2005, 99: 338-343.
82. Huang W., Dedousis N., Bandi A., Lopaschuk G. D., and O'Doherty R. M. Liver triglyceride secretion and lipid oxidative metabolism are rapidly altered by leptin in vivo. *Endocrinology.* 2006, 147: 1480-1487.
83. Hyman M. A. Systems biology: the gut-brain-fed cell connection and obesity. *Altern. Ther. Health Med.* 2006, 12: 10-16.
84. Ideta R., Seki T., Adachi K., and Nakayama Y. The isolation and characterization of androgen-dependent genes in the flank organs of golden Syrian hamsters. *Dermatology.* 1998, 196: 47-50.
85. Iizuka K., Bruick R. K., Liang G., Horton J. D., and Uyeda K. Deficiency of carbohydrate response element-binding protein (ChREBP) reduces lipogenesis as well as glycolysis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2004, 101: 7281-7286.
86. Jakicic J. M., and Otto A. D. Treatment and prevention of obesity: what is the role of exercise? *Nutr. Rev.* 2006, 64: S57-S61.
87. Javor E. D., Ghany M. G., Cochran E. K., et al. Leptin reverses nonalcoholic steatohepatitis in patients with severe lipodystrophy. *Hepatology.* 2005 : 41: 753-760.
88. Jeffcoat R., Roberts P. A., Ormsher J., and James A. T. Stearoyl-CoA desaturase : a control enzyme in hepatic lipogenesis. *Eur. J. Biochem.* 1979, 101: 439-445.
89. Jen K-L. C., Buisson A., Pellizzon M., Ordiz F. Jr., Santa Ana L., and Brown J. Differential effects of fatty acids and exercise on body weight regulation and metabolism in female Wistar rats. *Exp. Biol. Med.* 2003, 228: 843-849.

90. Jiang G., Li Z., Liu F., et al. Prevention of obesity in mice by antisense oligonucleotide inhibitors of stearoyl-Coa desaturase-1. *J.Clin. Invest.* 2005, 115: 1030-1038.
91. Jones B. H., Maher M. A., Banz W. J., Zemel M. B., Whelan J., Smith P. J., and Moustaid N. Adipose tissue stearoyl-CoA desaturase mRNA is increased by obesity and decreased by polyunsaturated fatty acids. *Am. J. Physiol.* 1996, 271: E44-E49.
92. Kaestner K. H., Ntambi J. M., Kelly T. J., and Lane M. D. Differentiation-induced gene expression in 3T3-L1 preadipocytes. A second differentially expressed gene encoding stearoyl-CoA desaturase. *J. Biol. Chem.* 1989, 264: 14755-14761.
93. Kakuma T., Lee Y., and Unger R. H. Effects of leptin, troglitazone, and dietary fat on stearoyl-CoA desaturase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2002, 297: 1259-1263.
94. Kersten S., Seydoux J., Peters J. M., et al. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha mediates the adaptive response to fasting. *J. Clin. Investig.* 1999, 103: 1489-1498.
95. Keys A., Brozed J., Henschel A., Mickelson O., and Taylor H. L. The biology of human starvation. *University of Minnesota Press: Minneapolis, MN.* 1950.
96. Knowler W. C., Barrett-Connor E., Fowler S. E., Hamman R. F., Lachin J. M., Walker E. A., et al. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *N. Engl. J. Med.* 2002, 346: 393-403.
97. Kopelman P. G. Obesity as a medical problem. *Nature.* 2000, 404: 635-643.
98. Krieger D. A., Tate C. A., Millin-Wood J., and Booth F. W. Populations of rat skeletal muscle mitochondria after exercise and immobilization. *J. Appl. Physiol.* 1980, 48: 23-28.
99. Kump D. S., and Booth F. W. Alterations in insulin receptor signalling in the rat epitrochlearis muscle upon cessation of voluntary exercise. *J. Physiol.* 2005, 562: 829-838.
100. Lam T. K., Gutierrez-Juarez R., Pocai A., Bhanot S., Tso P., Schwartz G. J., and Rossetti L. Brain glucose metabolism controls the hepatic secretion of triglyceride-rich lipoproteins. *Nat. Med.* 2007, 13: 171-180.
101. Lambert E. V., Wooding G., Lambert M. I., Koeslag J. H., and Noakes T. D. Enhanced adipose tissue lipoprotein lipase activity in detrained rats: independent of changes in food intake. *J. Appl. Physiol.* 1994, 77: 2564-2571.

102. Lavoie J. M., and Gauthier M. S. Regulation of fat metabolism in the liver: link to non-alcoholic hepatic steatosis and impact of physical exercise. *Cell. Mol. Life. Sci.* 2006, 63: 1393-1409.
103. Laye M. J., Thyfault J. P., Stump C. S., and Booth F. W. Inactivity induces increases in abdominal fat. *J. Appl. Physiol.* 2007, 102: 1341-1347.
104. Lee S. H., Dobrzyn A., Dobrzyn P., Rahman S. M., Miyazaki M., and Ntambi J. M. Lack of steraroyl-CoA desaturase 1 upregulates basal thermogenesis, but causes hypothermia in cold environment. *J. Lipid Res.* 2004, 45: 1674-1682.
105. Lee Y., Wang M. Y., Kakuma T., Wang Z. W., Babcock E., McCorkle K., Higa M., Zhou Y. T., Unger R. H. Liporegulation in diet-induced obesity. The antisteatotic role of hyperleptinemia. *J. Biol. Chem.* 2001, 276: 5629-5635.
106. Lees S. J., Booth F. W. Sedentary death syndrome. *Can. J. Appl. Physiol.* 2004, 29: 447-460.
107. Leibel R. L., and Hirsch J. Diminished energy requirements in reduced-obese patients. *Metabolism.* 1984, 33: 164-170.
108. Leibel R. L., Rosenbaum M., Hirsch J. Changes in energy expenditure resulting from altered body weight. *N. Engl. J. Med.* 1995, 332: 621-628.
109. Letexier D., Peroni O., Pinteur C., and Beylot M. In vivo expression of carbohydrate responsive element binding protein in lean and obese rats. *Diabetes Metab.* 2005, 31: 558-566.
110. Levin B. E. Central regulation of energy homeostasis intelligent design: how to build the perfect survivor. *Obesity.* 2006, 14: 192S-196S.
111. Levin B. E. The drive to regain is mainly in the brain. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2004, 287: R1297-R1300.
112. Levin B. E. The obesity epidemic: metabolic imprinting on genetically susceptible neural circuits. *Obes. Res.* 2000, 8: 342-347.
113. Levin B. E., and Dunn-Meynell A. A. Chronic exercise lowers the defended body weight gain and adiposity in diet-induced obese rats. *Am. J. Physiol.* 2004, 286: R771-R778.
114. Levin B. E., and Dunn-Meynell A. A. Defense of body weight against chronic caloric restriction in obesity-prone and -resistant rats. *Am. J. Physiol.* 2000, 278: R231-237.

115. Levin B. E., and Dunn-Meynell A. A. Defense of body weight depends on dietary composition and palatability in rats with diet-induced obesity. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2002, 282: R46-R54.
116. Levin B. E., and Dunn-Meynell A. A. Differential effects of exercise on body weight gain and adiposity in obesity-prone and -resistant rats. *Int. J. Obes.* 2006, 30: 722-727.
117. Levin B. E., and Dunn-Meynell A. A. Sibultramine alters the central mechanisms regulating the defended body weight in diet-induced obese rats. *Am. J. Physiol.* 2000, 279: R2222-2228.
118. Levin B. E., Dunn-Meynell A. A., and Routh V. H. CNS sensing and regulation of peripheral glucose levels. *Int. Rev. Neurobiol.* 2002, 51: 219-258.
119. Lowney P., Lee V. M., Hansen R. J., and Stern J. S. Effects of exercise, detraining, starvation, and refeeding on lipogenic capacity of Osborne-Mendel rat. *Am. J. Physiol. Regulatory Integrative Comp. Physiol.* 1988, 23: R648- R654.
120. MacLean P. S., Higgins J. A., Johnson G. C., et al. Enhanced metabolic efficiency contributes to weight regain after weight loss in obesity-prone rats. *Am. J. Physiol.* 2004, 287: R1306-1315.
121. MacLean P. S., Higgins J. A., Johnson G. C., Fleming-Elder B. K., Peters J. C., and Hill J. O. Metabolic adjustments with the development, treatment and recurrence of obesity in Obesity Prone rats. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2004, 287: R228-R297.
122. Mainieri D., Summermatter S., Seydoux J., Montani J. P., Rusconi S., Russell A. P., Boss O., Buchala A. J., and Dulloo A. G. A role for skeletal muscle stearoyl-CoA desaturase 1 in control of thermogenesis. *FASEB J.* 2006, 20: E1157-E1170.
123. Marchesini G., Brizi M., Bianchi G., Tomassetti S., Bugianesi E., Lenzi M., McCullough A. J., Natale S., Forlani G., Melchionda N. Nonalcoholic fatty liver disease: a feature of the metabolic syndrome. *Diabetes.* 2001, 50: 1844-1850.
124. Martin G., Schoonjans K., Lefebvre A. M. et al. Coordinate regulation of the expression of the fatty acid transport protein and acyl-CoA synthetase genes by PPAR $\alpha$  and PPAR $\gamma$  activators. *J. Biol. Chem.* 1997, 272: 28210-28217.
125. Mc Garry J. D. Banting lecture 2001: dysregulation of fatty acid metabolism in the etiology of type 2 diabetes. *Diabetes.* 2002, 51: 7-18.

126. Medina J., Fernandez-Salazar L. I., Garcia-Buey L., and Moreno-Otero R. Approach to the pathogenesis and treatment of non-alcoholic steatohepatitis. *Diabetes*. 2004, 27: 2057-2066.
127. Mihara K. Structure and regulation of rat liver microsomal stearoyl-CoA desaturase gene. *J. Biochem.* (Tokyo). 1990, 108: 1022-1029.
128. Miyazaki M., and Ntambi J. M. Role of stearoyl-CoA desaturase in lipid metabolism. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2003, 68: 113-121.
129. Miyazaki M., Bruggink S. M., and Ntambi J. M. Identification of mouse Palmitoyl-CoA  $\Delta$ 9-desaturase. *J. Lipid Res*. 2006, 47: 700-704.
130. Miyazaki M., Dobrzyn A., Elias P. M., Ntambi J. M. Stearoyl-CoA desaturase-2 gene expression is required for lipid synthesis during early skin and liver development. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 2005, 102: 12501-12506.
131. Miyazaki M., Dobrzyn A., Man W. C., Chu K., Sampath H., Kim H.-J. Ntambi J. M. Stearoyl-CoA desaturase 1 gene expression is necessary for fructose-mediated induction of lipogenic gene expression by sterol regulatory element-binding protein-1c-dependent and -independent mechanisms. *J. Biol. Chem.* 2004, 279: 25164-25171.
132. Miyazaki M., Dobrzyn A., Sampath H., Lee S. H., Man W. C., Chu K., Peters J. M. Gonzales F. J. and Ntambi J. M. Reduced adiposity and liver steatosis by stearoyl-CoA desaturase deficiency are independent of peroxisome proliferator-activated receptor-alpha. *J. Biol. Chem.* 2004, 279: 35017-35024.
133. Miyazaki M., Gomez F. E., Ntambi J. M. Lack of stearoyl-CoA desaturase-1 function induces a palmitoyl-CoA Delta6 desaturase and represses the stearoyl-CoA desaturase-3 gene in the preputial glands of the mouse. *J. lipid Res*. 2002, 43: 2146-2154.
134. Miyazaki M., Kim H. J., Man W. C., Ntambi J. M. Oleoyl-CoA is the major de novo product of stearoyl-CoA desaturase 1 gene isoform and substrate for the biosynthesis of the Harderian gland 1-alkyl-2,3-diacylcerol. *J. Biol. Chem.* 2001, 276: 39455-39461.
135. Miyazaki M., Kim Y. C., Gray-Keller M. P., Attie A. D., Ntambi J. M. The biosynthesis of hepatic cholesterol esters and triglycerides is impaired in mice with a disruption of the gene for stearoyl-CoA desaturase 1. *J. Biol. Chem.* 2000, 275: 30132-30138.

136. Miyazaki M., Kim Y. C., Ntambi J. M. A lipogenic diet in mice with a disruption of the stearoyl-CoA desaturase 1 gene reveals a stringent requirement of endogenous monounsaturated fatty acids for triglycerides synthesis. *J. Lipid Res.* 2001, 42: 1018-1024.
137. Miyazaki M., Man W. C., and Ntambi J. M. Targeted disruption of stearoyl-CoA desaturase 1 gene in mice causes atrophy of sebaceous and meibomian gland and depletion of wax esters in the eyelid. *J. Nutr.* 2001, 131: 2260-2268.
138. Mokdad A. H., Marks J. S., Stroup D. F., and Gerberding J. L. Actual causes of death in the United states, 2000. *JAMA.* 2004, 291: 1238-1245.
139. Nakamura M. T., and Nara T. Y. Structure, function and dietary regulation of delta6, delta5, and delta9 desaturases. *Ann. Rev. Nutr.* 2004. 24, 345-376.
140. Narayan K. A., McMullen J. J. Butler D. P., Wakefield T., and Calhoun W. K. Effect of exercise on tissue lipids and serum lipoproteins of rats fed two levels of fat. *J. Nutr.* 1975, 105: 581-587.
141. Neuschwander-Tetri B. A. Fatty liver and the metabolic syndrome. *Curr. Opin. Gastroenterol.* 2007, 23: 193-198.
142. Neuschwander-Tetri B. A., and Caldwell S. H. Nonalcoholic steatohepatitis: summary of an AASLD single topic conference. *Hepatology.* 2003, 37: 1202-1219.
143. Niswender K. D., and Schwartz M. W. Insulin and leptin revisited: adiposity with overlapping physiological and intracellular signalling capabilities. *Front. Neuroendocrinol.* 2003, 24: 1-10. Review.
144. Ntambi J. M., and Miyazaki M. Regulation of stearoyl-CoA desaturases and role in metabolism. *Prog. Lipid Res.* 2004, 43: 91-104.
145. Ntambi J. M. Dietary regulation of Stearoyl-CoA desaturase 1 gene expression in mouse liver. *J. Biol. Chem.* 1992, 267: 10925-10930.
146. Ntambi J. M. Regulation of stearoyl-CoA desaturase by polyunsaturated fatty acids and cholesterol. *J. Lipid Res.* 1999, 40: 1549-58.
147. Ntambi J. M., and Miyazaki M. Recent insights into stearoyl-CoA desaturase-1. *Curr. Opin. Lipidol.* 2003, 14: 255-261.
148. Ntambi J. M., Buhrow S. A., Kaetner K. H., Christy R. J., Sibley E., Kelly T. J., and Lane M. D. Differentiation-induced gene expression in 3T3-L1 preadipocytes. Characterization of a differentially expressed gene encoding stearoyl-CoA desaturase. *J. Biol. Chem.* 1988, 263: 17291-17300.



149. Ntambi J. M., Miyazaki M., Stoehr J. P., Lan H., Kendziorski C. M., Yandell B. S., Song Y., Cohen P., Friedman J. M., and Attie A. D. Loss of stearyl-CoA desaturase-1 function protects mice against adiposity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2002, 99: 11482-11486.
150. Ohkusu K., Isobe K., Hidaka H., and Nakashima I. Elucidation of the protein kinase C-dependent apoptosis pathway is distinct subsets of T lymphocytes in MRL-lpr/lpr mice. *Eur. J. Immunol.* 1995, 25: 3180-3186.
151. Oshida Y., Yamanouchi K., Hayamizu S., Nagasawa J., Ohsawa I., and Sato Y. Effects of training and training cessation on insulin action. *Int. J. Sports Med.* 1991, 12: 484-486.
152. Ozcan U., Cao Q., Yilmaz E., Lee A. H., Iwakoshi N. N., Ozdelen E., Tuncman G., Gorgun C., Glimcher L. H., Hotamisligil G. S. Endoplasmic reticulum stress links obesity, insulin action, and type 2 diabetes. *Science*. 2004, 306: 457-461.
153. Patterson C. M., Levin B. E. Role of exercise in the central regulation of energy homeostasis and in the prevention of obesity. *Neuroendocrinology*. 2007. Ahead of print.
154. Paulauskis J. D., and Sul H. S. Hormonal regulation of mouse fatty acid gene transcription in liver. *J. Biol. Chem.* 1989, 264: 574-577.
155. Pederson B. K., Steensberg A., Fischer C., Keller C., Keller P., Plomgaard P., Wolsk-Peterson E., and Febbraio M. The metabolic role of IL-6 produced during exercise: is IL-6 an exercise factor? *Proc. Nutr. Soc.* 2004, 63: 263-267.
156. Pederson O., Bak J. F., Anderson P. H., Lund S., Moller D. E., Flier J. S., Kahn B. B. Evidence against altered expression of GLUT1 or GLUT4 in skeletal muscle of patients with obesity of NIDDM. *Diabetes*. 1990, 39: 865-870.
157. Perseghin G., Lattuada G., De Cobelli F., Ragona F., Ntali G., Esposito A., Belloni E., Canu T., Terruzzi I., Scifo P., Del Maschio A., Luzi L. Habitual physical activity is associated with intrahepatic fat content in humans. *Diabetes Care*. 2007, 30: 683-688.
158. Peterson K. F., and Shulman G. I. Etiology of insulin resistance. *Am. J. Med.* 2006, 119: S10-S16.
159. Petibois C., Cassaigne A., Gin H., and D el eris G. Lipid profile disorders induced by long-term cessation of physical activity in previously highly endurance-trained subjects. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2004, 89: 3377-3384.

160. Raguso C. A., Spada A., Jornayvaz F. R., and Philippe J. Physical activity in the prevention and control of diabetes. *Rev. Med. Suisse*. 2007, 3: 1442, 14445-1448.
161. Rahman S. M., Dobrzyn A., Dobrzyn P., Lee S. H., Miyazaki M., and Ntambi J. M. Stearoyl-CoA desaturase-1 deficiency elevates insulin-signaling components and down-regulates protein-tyrosine phosphatase 1B in muscle. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2003, 100: 11110-11115.
162. Rahman S. M., Dobrzyn A., Lee S. H., Dobrzyn P., Miyazaki M., and Ntambi J. M. Stearoyl-CoA desaturase 1 deficiency increases insulin signalling and glycogen accumulation in brown adipose tissue. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2005, 288: E381-387.
163. Ravussin E., Lillioja E. J., Knowler W. C., Christin L., Freymond D., Abbott W. G., Boyce V., Howard B. V., and Bogardus C. Reduced rate of energy expenditure as a risk factor for body-weight gain. *N. Engl. J. Med.* 1988, 318: 467-472.
164. Rehorek S. J., and Smith T. D. The primate harderian gland : does it really exist? *Ann. Anat.* 2006, 188: 319-327.
165. Rehorek S. J., Hillenius W. J., Quan W., and Halpern. Passage of Harderian gland secretions to the vomeronasal organ of *Thamnophis sirtalis* (Serpents : Colubridae). *Can. J. Zool.* 2000, 78: 1284-1288.
166. Richard D., and Rivest S. The role of exercise in thermogenesis and energy balance. *Can. J. Physiol. Pharm.* 1989, 67: 402-409.
167. Rosenbaum M., Murphy E. M., Heymsfield S. B., Matthews D. E., and Leibel R. L. Low dose leptin administration reverses effects of sustained weight-reduction on energy expenditure and circulating concentrations of thyroid hormones. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2002, 87: 2391-2394.
168. Ruderman N. B., Park H., Kaushik V. K., Dean D., Constant S., Prentki M., et al. AMPK as a metabolic switch in rat muscle, liver and adipose tissue after exercise. *Acta. Physiol. Scand.* 2003, 178: 435-442.
169. Saltin B., and Astrand P. O. Free fatty acids and exercise. *Am. J. Clin. Nutr.* 1993, 57: 752S-758S.
170. Sampath H., and Ntambi J. M. Polyunsaturated fatty acid regulation of genes of lipid metabolism. *Annu. Rev. Nutr.* 2005, 25: 317-340.

171. Sampath H., Miyazaki M., Dobrzyn A., and Ntambi J. M. Stearoyl-CoA desaturase-1 mediates the pro-lipogenic effects of dietary saturated fat. *J. Biol. Chem.* 2007, 282: 2483-2493.
172. Samuel V. T., Liu Z. X., Qu X., Elder B. D., Bilz S., Befroy D., Romanelli A. J., and Shulman G. I. Mechanism of hepatic insulin resistance in non-alcoholic fatty liver disease. *J. Biol. Chem.* 2004, 279: 32345-32353.
173. Sandretto A. M., and Tsai A. C. Effects of fat intake on body composition and hepatic lipogenic enzyme activities of hamsters shortly after exercise cessation. *Am. J. Clin. Nutr.* 1988, 47: 175-179.
174. Sanyal A. J. Mechanisms of disease: pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease. *Nat. Clin. Pract. Gastroenterol. Hepatol.* 2005, 2: 46-53.
175. Schoonjans K., Watanabe M., Suzuki H., et al. Induction of the acyl-coenzyme A synthetase gene by fibrates and fatty acids is mediated by a peroxisome proliferator response element in the C promoter. *J. Biol. Chem.* 1995, 270: 19269-19276.
176. Schwartz M. W., Brunzell J. D. Regulation of body adiposity and the problem of obesity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997, 17:233-8. Review.
177. Schwartz M. W., Woods S. C., Seeley R. J. Barsh G. S., Baskin D. G., and Leibel R. L. Is the energy homeostasis system inherently biased toward weight gain? *Diabetes.* 2003, 52: 232-238.
178. Seidell J. C., Flegal K. M. Assessing obesity: classification and epidemiology. *Br. Med. Bull.* 1997, 53: 238-252.
179. Seppala-Lindroos A., Vehkavaara S., Hakkinen A. M., Goto T., Westerbacka J., Sovijarvi A., Halavaara J., and Yki-Javinen H. Fat accumulation in the liver is associated with defects in insulin suppression of glucose production and serum free fatty acids independent of obesity in normal men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2002, 87: 3023-3028.
180. Seufert J., Kieffer T. J., Leech C. A., Holz G. G., Moritz W., Ricordi C., Habener J. F. Leptin suppression of insulin secretion and gene expression in human pancreatic islets: implications for the development of adipogenic diabetes mellitus. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1999, 84: 670-676.
181. Shek E. W., and Scarpace P. J. Resistance to the anorexic and thermogenic effects of centrally administered leptin in obese aged rats. *Regul. Pept.* 2000, 92: 65-71.

182. Shepard T. Y., Weil K. M., Sharp T. A., Grunwald G. K. Bell M. L., Hill J. O., et al. Occasional physical inactivity combined with a high-fat diet may be important in the development and maintenance of obesity in human subjects. *Am. J. Clin. Nutr.* 2001, 73: 703-708.
183. Shimano H., Horton J. D., Shimomura I., et al. Isoform 1c of sterol regulatory element binding protein is less active than isoform 1a in livers of transgenic mice and in cultured cells. *J. Clin. Invest.* 1997, 99: 846-854.
184. Shimomura I., Hammer R. E., Ikemoto S., Brown M. S., and Goldstein J. L. Leptin reverses insulin resistance and diabetes mellitus in mice with congenital lipodystrophy. *Nature.* 1999, 401: 73-76.
185. Shimomura I., Shimano H., Korn B. S., Bashmakov Y., Horton J. D. Nuclear sterol regulatory element-binding proteins activate genes responsible for the entire program of unsaturated fatty acid biosynthesis in transgenic mouse liver. *J. Biol. Chem.* 1998, 273: 35299-35306.
186. Shirai Y., Yaku S., and Suzuki M. Metabolic regulation of leptin production in adipocytes : a role of fatty acid synthesis intermediates. *J. Nutr. Biochem.* 2004, 15: 651-656.
187. Shulman D. I. Cellular mechanisms of insulin resistance. *J. Clin. Invest.* 2000, 106: 171-176.
188. Sivitz W. I., Walsh S. A., Morgan D. A., Thomas M. J., and Haynes W. G. Effects of leptin on insulin sensitivity in normal rats. *Endocrinology.* 1997, 138: 3395-3401.
189. Stewart K. J., Bacher A. C., Turner K., et al. Exercise and risk factors associated with metabolic syndrome in older adults. *Am. J. Prev. Med.* 2005, 28: 9-18.
190. Stiles B. L., Kuralwalla-Martinez C., Guo W., Gregorian C., Wang Y., Tian J., Magnuson M. A., and Wu H. Selective deletion of Pten in pancreatic beta cells leads to increased islet mass and resistance to STZ-induced diabetes. *Mol. Cell. Biol.* 2006, 26: 2772-2781.
191. Stuckey J. E., McDonough V. M., and Martin C. E. The OLE1 gene of *Saccharomyces cerevisiae* encode the delta 9 fatty acid desaturase and can be functionally replaced by the rat stearoyl-CoA desaturase gene. *J. Biol. Chem.* 1990, 265: 44-49.

192. Sun Y., Hao M., Luo Y., Liang C. P., Silver D. L., Cheng C., Maxfield F. R., and Tall A. R. Stearoyl-CoA desaturase inhibits ATP-binding cassette transporter A1 mediated cholesterol efflux and modulates membrane domain structure. *J. Biol. Chem.* 2003, 278: 5813-5820.
193. Takekoshi K., Fukuhara M., Quin Z., Nissato S., Isobe K., Kawakami Y., Ohmori H. Long-term exercise stimulates adenosine monophosphate-activated protein kinase activity and subunit expression in rat visceral adipose tissue in liver. *Metabolism.* 2006, 55: 1122-1128.
194. Takuma T., Lee Y., and Unger R. H. Effects of leptin, troglitazone, and dietary fat on stearoyl-CoA desaturase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2002, 297: 1259-1263.
195. Terao T., Fujise T., Uchiyama S., Yamashita Y., and Nakano S. Effects of swimming exercise at two different water temperature on hepatic lipid and lipoprotein levels in experimental fatty liver rats. *Tokai J. Exp. Clin. Med.* 1989, 14: 139-145.
196. Thiede M. A., Ozols J., and Strittmatter P. Construction and sequence of cDNA for rat liver stearyl coenzyme A desaturase. *J. Biol. Chem.* 1986, 261: 13230-13235.
197. Thomas E. L., Hamilton G., Patel N., O'Dwyer R., et al. Hepatic triglyceride content and its relation to body adiposity: a magnetic resonance imaging and proton magnetic resonance spectroscopy study. *Gut.* 2005, 54: 122-127.
198. Trudell J. R., Lin W. Q., Chrystof D. A., Kirshenbaum G., and Ardies C. M. Induction of HSP72 in rat liver by chronic ethanol consumption combined with exercise: association with the prevention of ethanol-induced fatty liver by exercise. *Alcohol Clin. Exp. Res.* 1995, 19: 753-758.
199. Tsai A. C., and Gong T. W. Modulation of the exercise and retirement effects by dietary fat intake in hamsters. *J. Nutr.* 1987, 117: 1149-1153.
200. Tsai A. C., Rosenberg R., and Borer K. T. Metabolic alterations induced by voluntary exercise and discontinuation of exercise in hamsters. *Am. J. Clin. Nutr.* 1982, 35: 943-949.
201. Tuomilehto J., Lindstrom J., Eriksson J. G., Valle T. T., Hamalainen H., Ilanne-Parikka P., et al. Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. *N. Engl. J. Med.* 2001, 344: 1343-1350.

202. Ueno T., Sugawara H., Sujaku K. et al. Therapeutic effects of restricted diet and exercise in obese patients with fatty liver. *J. Hepatol.* 1997, 27: 103-107.
203. Unger R.H. The physiology of cellular liporegulation. *Annu. Rev. Physiol.* 2003, 65: 333-47.
204. Vukovich M. D., Arciero P. J., Kohrt W. M., Racette S. B., Hansen P. A., and Holloszy J. O. Changes in insulin action and GLUT-4 with 6 days of inactivity in endurance runners. *J. Appl. Physiol.* 1996, 80: 240-244.
205. Wang H., Kouri G., Wolheim C. B. ER stress and SREBP-1c activation are implicated in beta-cell glucolipotoxicity. *J. Cell. Sci.* 2005, 118: 3905-3915.
206. Wang J., Obici S., Morgan K., Barzilai N., Feng Z., and Rossetti L. Overfeeding rapidly induces leptin and insulin resistance. *Diabetes.* 2001, 50: 2786-2791.
207. Ward R. J., Travers M. T., Vernon R. G., Salter A. M., BATTERY P. J., and Barber M. C. The ovine stearyl-CoA desaturase gene: cloning and determination of gene number within the ovine genome. *Biochem. Soc. Trans.* 1997, 25: S673.
208. Watts J. L., and Browse J. A palmitoyl-CoA-specific delta9 fatty acid desaturase from *Caenorhabditis elegans*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2000, 272: 263-269.
209. Weyer C., Walford R. L., Harper I. T., Milner M., MacCallum T., Tataranni P. A., et al. Energy metabolism after 2 y of energy restriction: the biosphere 2 experiment. *Am. J. Clin. Nutr.* 2000, 72: 946-953.
210. Woods S. C., Seeley R. J., Porte D. Jr., and Schwartz M. W. Signals that regulate food intake and energy homeostasis. *Science.* 1998, 280: 1378-1387.
211. Yasari S., Dufresne E., Prud'homme D., and Lavoie J. M. Effect of the detraining status on high-fat diet induced fat accumulation in the adipose tissue and liver in female rats. *Physiol. Behav.* 2007, 91: 281-289.
212. Yasari S., Paquette A., Charbonneau A., Gauthier M. S., Savard R., and Lavoie J. M. Effects of ingesting a high-fat diet upon exercise training cessation on fat accretion in the liver and adipose tissue of rats. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* 2006, 31: 367-375.
213. Zhang L., Ge L., Parimoo S., Stenn K., Prouty S. M. Human stearyl-CoA desaturase: alternative transcripts generated from a single gene by usage of tandem polyadenylation sites. *Biochem. J.* 1999, 340: 255-264.

214. Zhang L., Ge L., Tran T., Stenn K., and Prouty S. M. Isolation and characterization of the human stearoyl-CoA desaturase gene promoter: requirement of a conserved CCAAT cis-element. *Biochem. J.* 2001, 357: 183-193.
215. Zheng D., Wootter M. H., Zhou Q., and Dohm G. L. The effect of exercise on ob gene expression. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1996, 225: 747-750.
216. Zheng Y. S., Prouty S. M., Harmon A., Sundberg J. P., Stenn K. S., and Parimoo S. Scd3-a novel gene of the stearoyl-CoA desaturase family with restricted expression in skin. *Genomics.* 2001, 71: 182-191.
217. Zhou G., Myers R., Li Y., Chen Y., Shen X., Fenyk-Melody J., et al. Role of AMP-activated protein kinase in mechanism of metformin action. *J. Clin. Invest.* 2001, 108: 1167-1174.