Université de Bourgogne

Ecole doctorale Environnements Santé

Centre de recherche INSERM U866 Lipides Nutrition Cancer

AgroSup Dijon

THESE

Discipline : Sciences de la Vie

Spécialité : Physiologie de la Nutrition

CD36 intestinal : un récepteur aux acides gras à longue chaîne qui contrôle l'hypertriglycéridémie post prandiale, l'endotoxémie et l'intégrité de l'épithélium intestinal

Présentée par

Véronique TRAYNARD

En vue d'obtenir le grade de Docteur de l'Université de Bourgogne

Soutenue publiquement le 31 Octobre 2014

Devant le jury composé de :

S. LUQUET, Chargé de recherche, CNRS Université Denis Diderot	*Rapporteur*
X. COLLET, Directeur de recherche INSERM, Toulouse	*Rapporteur*
J. NEELS, Chargé de recherche INSERM, Nice	*Examinateur*
F. CARRIERE, DR CNRS EIPL, Marseille	*Examinateur*
I. NIOT, Professeur, Université de Bourgogne/AgroSup Dijon, Dijon	*Directrice de thèse*
H. POIRIER, Maître de conférence, AgroSup Dijon, Dijon	*Co-directrice de thèse*

Résumé

L'hypertriglycéridémie post prandiale constitue un facteur de risque des maladies cardiovasculaires et est présente en cas de syndrome métabolique, d'obésité et d'insulino-résistance. L'intestin conditionne la biodisponibilité des lipides et l'hypertriglycéridémie post prandiale. En effet, il contrôle la quantité et la qualité des chylomicrons sécrétés, en adaptant son métabolisme en fonction de la teneur en lipides du régime. Or à l'heure actuelle, le mécanisme de détection des lipides alimentaires par les entérocytes nécessaire à cette adaptation, n'est pas élucidé. Ce travail de thèse a permis de démontrer que la glycoprotéine transmembranaire CD36, est un récepteur aux AGLC qui déclenche l'activation des ERK1/2. Cette activation est responsable de l'induction du taux d'ARNm de 3 protéines clés de l'absorption des lipides (l'Apobec1, la Microsomal Triglyceride Transfer Protein (MTP), la Liver-Fatty Acid Binding Protein (L-FABP)) et de la dégradation post prandiale de CD36. La pertinence physiologique de ce récepteur a été évaluée chez des souris CD36 (-/-) soumises à un régime hyperlipidique riche en AGLC saturés ou insaturés. Nos données démontrent que CD36 intestinal est indispensable à l'absorption de forte quantité de lipides, au contrôle de l'hypertriglycéridémie post prandiale, de l'inflammation intestinale et de l'endotoxémie. Ces effets sont fortement aggravés en cas de régime hyperlipidique riche en AGLC insaturés qui peuvent même être léthal. Le CD36 intestinal pourrait donc être une cible thérapeutique dans le traitement de l'hypertriglycéridémie et de l'endotoxémie post prandiales.

Mots-clés : CD36, ERK1/2, Intestin grêle, Chylomicrons, Inflammation, Endotoxémie, Lipides alimentaires.

Abstract

Post prandial hypertriglyceridemia represents a risk factor for cardio-vascular diseases and it is associated with metabolic syndrom, obesity, and insulino-resistance. The intestine influences lipid bioavailibility and post prandial hypertriglyceridemia. It controls the quantity and the quality of secreted chylomicrons by adapting its metabolism according to the lipid content of the diet. Nevertheless, the mechanism of dietary lipid detection by the enterocyte is not understood. Our work demonstrates that the transmembrane glycoprotein CD36 is a Long Chain Fatty Acid (LCFA) receptor which triggers ERK1/2 activation. This activation is responsible for the induction of mRNA rate of 3 key proteins of lipid absorption (Apobec1, Microsomal Triglyceride Transfer Protein (MTP), Liver-Fatty Acid Binding Protein (L-FABP)) and for CD36 degradation. The physiological relevance of this receptor has been assessed in CD36 (-/-) mice fed with a High Fat Diet (HFD) rich in saturated or unsaturated LCFA. Our data demontstrates that CD36 is crucial for the absorption of an important quantity of lipids, to the control of hypertriglyceridemia, of intestinal inflammation and of endotoxemia. These effects are getting worse in the case of HFD rich in unsaturated LCFA, which can be lethal. Intestinal CD36 could represent a therapeutic target in the treatment of post prandial hypertriglyceridemia and endotoxemia.

Key words : CD36, ERK1/2, Intestine, Chylomicrons, Inflammation, Endotoxemia, Dietary lipids.

Table des matières

Résumé……1
Abstract……2
Table des matières……..……..3
Liste des abbréviations……7
Liste des figures……...……9
Liste des tableaux…….....……13
Introduction……14
Synthèse bibliographique……..…17
Les lipides alimentaires……18
1. Fonctions des AGLC……18
1.1. Fonctions structurales et énergétiques……....……..18
1.2. Rôle des AGLC dans la signalisation cellulaire……..……...…..…20
2. Acides Gras et Santé……22
2.1. AG et risque Cardio-vasculaire (CV) ……..…22
2.2. AG et obésité ……..…….25
Absorption intestinale des lipides alimentaires……...…28
1. Spécificités morphologiques de l'épithélium intestinal……...….28
1.1. Une surface d'échange importante ……...28
1.2. Une organisation selon 2 axes ……..……28
1.3. Composition cellulaire de l'épithélium intestinal……..29
1.4. Une renouvellement intense de l'épithélium intestinal ……..……31
1.5. Une barrière « impénétrable » ……..……32
2. Digestion des triglycérides alimentaires……..……33
3. Absorption intestinale des AGLC au niveau entérocytaire……..36
3.1. Le captage entérocytaire : rôle des LBP ? ……...……..…36
3.2. Traffic cytosolique des AGLC…….....……39
3.3. Réestérification des AGLC en TG ……..…..….41
3.4. Synthèse et sécrétion des chylomicrons……..……..…….42
4. Transport d'autres molécules par les CM : cas du LPS…….……..53
5. Métabolisme post-intestinal des chylomicrons : triglycéridémie post prandiale et devenir des lipides alimentaires……..……...53
5.1. La LPL……..….55
5.2. Facteurs modulant l'activité de la LPL……...…56
6. Régulation de l'absorption intestinale par les lipides alimentaires ……...…60
CD36, un récepteur aux multiples fonctions……..……63

1. Structure de CD36……63
2. CD36 est impliqué dans le captage et l'oxydation des AGLC au niveau musculaire……..…66
3. CD36 est impliqué dans le captage et la lipolyse des AGLC au niveau adipocytaire…….……67
4. CD36 est impliqué dans la stéatose et la sécrétion des VLDL……..……68
5. CD36 est impliqué dans la détection des AGLC ……69
5.1. CD36 et la préférence spontanée aux lipides ……69
5.2. CD36, senseur des lipides au niveau intestinal et régulateur de la synthèse des chylomicrons……70
5.3. CD36, senseur de lipides au niveau hypothalamique : impact sur la régulation de la prise alimentaire……74
6. CD36 est un acteur de l'inflammation……...……75
6.1. Liaison de CD36 avec des molécules déclenchant l'inflammation……...……75
6.2. CD36 et régulation des cytokines ……...……...……76
6.3. CD36 et la reconnaissance de molécules pathogènes (bactéries, *Plasmodium falciparum*)….77
Problématique……..……80
Résultats……..…82
Le lipido-récepteur CD36 et sa signalisation ERK1/2 dépendante contrôlent la synthèse des chylomicrons ……...….83
CD36 est-il un récepteur aux AGLC au niveau intestinal ?.....84
1. Protocole d'optimisation d'une méthode de culture de segments intestinaux *ex vivo*……..…84
2. L'induction des ERK1/2 et de l'ApoB48 dépendent de la liaison de CD36 avec son ligand……..87
3. Les AGLC induisent les ERK1/2…….……90
Rôle des ERK1/2 dans la cascade de signalisation médiée par CD36 : impact sur la régulation des protéines impliquées dans la synthèse des chylomicrons……92
1. L'inhibition des ERK1/2 *ex vivo* abolit l'induction des gènes cibles de CD36…….....92
2. La délétion de ERK1 impacte la production des chylomicrons et la sécrétion intestinale de TG en période post prandiale……...……...…95
2.1. Protocole d'étude……95
2.2. Phénotype des souris ERK1 (-/-) et ERK2 (-/-)……..…..…..95
2.3. Les souris ERK1 (-/-) présentent une hypertriglycéridémie post prandiale……...…97
2.4. La régulation post prandiale des protéines impliquées dans la synthèse des chylomicrons est altérée chez les souris ERK1 (-/-)…….…..98
La dérégulation de CD36 au niveau intestinal en période post prandiale est associée à une altération de la synthèse des chylomicrons chez des souris en syndrome métabolique……...106
1. Protocole**……...…….106**
2. La régulation post prandiale de CD36 en cas de syndrome métabolique est altérée. ……..107

Un régime Hyperlipidique (HL) riche en AG insaturés a un effet anti-obésité chez des souris CD36 (-/-)….....110

Comparaison de l'effet de régimes HL riches en AG insaturés (Isio4) et riches en AG saturés (*Western Diet*) …….112

1. Protocole d'étude et composition des régimes…….112
2. Un régime HL riche en AG insaturés induit une perte de masse rapide chez les souris CD36 (-/-) contrairement à un régime type *Western Diet*……..114
3. Un régime enrichi en AG saturés (huile de palme) ne modifie pas la masse ni la composition corporelle des souris CD36 (-/-)……..117
4. Mesure de la prise alimentaire et étude des préférences alimentaires chez des souris CD36 (+/+) et CD36 (-/-) en régimes HL isio4 et Palme……..…..119
   - 4.1. Suivi de la prise alimentaire ……119
   - 4.2. Cinétique de prise alimentaire sur 24h à l'issue du régime HL…….…121
   - 4.3. Préférences alimentaires suite à un régime HL isio4 ou palme……....121
5. Effet d'un régime HL Isio4 ou palme sur la dépense énergétique chez des souris CD36 (+/+) et CD36 (-/-)……...….123
   - 5.1. Protocole ……...123
   - 5.2. Les souris CD36 (-/-) ne présentent pas d'augmentation de la DE ni de l'activité mais une oxydation des lipides plus importantes en régime HL isio4……...…..124

Le régime HL Isio4 déclenche une malabsorption intestinale des lipides chez les souris…….. CD36 (-/-)……..130

1. Protocole……..…..130
2. Impact du régime HL isio4 chez les souris CD36 (-/-) sur la morphologie intestinale……....131
3. Les souris CD36 (-/-) présentent, seulement en régime HL riche en huile Isio4, une perte fécale en lipides..……..132
4. Les souris CD36 (-/-) présentent un recrutement de la partie iléale seulement en régime HL Isio4……..133
5. La consommation d'une grande quantité d'Huile Isio4 riche en AG Insaturés est associée à une hypertriglycéridémie post prandiale plus importante qu'avec un régime riche en huile de palme chez les souris CD36 (-/-)…….135
   - 5.1. Estimation de la sécrétion des TG intestinaux……..……..135
   - 5.2. Estimation de l'hypertriglycéridémie post prandiale……...…..136
6. Les CD36 (-/-) présentent une synthèse des chylomicrons moins efficace en régime HL riche en huile Isio4 au niveau jéjunal…….138

La consommation d'un régime HL riche en AG insaturés est associée à une endotoxémie chez les souris CD36 (-/-) et une augmentation de la perméabilité intestinale……..…..141

1. Protocole……..….141

2. Les souris CD36 (-/-) présentent une endotoxémie plus importante après un régime HL riche en huile Isio4……142
3. Un régime HL riche en huile Isio4 induit une augmentation de la perméabilité intestinale chez les souris CD36 (-/-)……145
La réponse inflammatoire intestinale est altérée chez les souris CD36 (-/-)……147
1. Protocole……147
2. Les souris CD36 (-/-) présentent moins de marqueurs de macrophages et d'inflammation au niveau intestinal ……148
2.1. Détermination de la quantité d'Emr1, CD68, CCL2, marqueurs de macrophages, chez des souris CD36 (+/+) et CD36 (-/-) en régime HL Isio4……148
2.2. Production et sécrétion de cytokines pro inflammatoires chez des souris CD36 (+/+) et CD36 (-/-) en régime HL Isio4……150
2.3. Un régime HL isio4 conduirait à une infiltration de bactéries au niveau de la muqueuse intestinale chez les souris CD36 (-/-)……152
Discussion……154
Conclusion……167
Bibliographie……170

Liste des abbréviations

ACS :	AcylCoA synthetase
AG :	Acides Gras
AGL :	Acides Gras Libres
AGLC :	Acides Gras Longues Chaînes
AGCC :	Acides Gras Courtes Chaînes
AGCM :	Acides Gras Chaînes Moyennes
AGS :	Acides Gras Saturés
AGMI :	Acides Gras Mono-Insaturés
AGPI :	Acides Gras Poly-Insaturés
AJ :	A jeun
ALA :	Acide α-linolénique
ApoAI :	Apolipoprotéine AI
ApoAIV :	Apolipoprotéine AIV
ApoAV :	Apolipoprotéine AV
ApoB :	Apoliporotéine B
ApoB48 :	Apolipoprotéine B48
ApoCII :	Apolipoprotéine CII
ApoCIII :	Apolipoprotéine CIII
ApoE :	Apolipoprotéine E
ASC :	Apoptosis associated Speck Like protein
BSA :	Bovine Serum Albumine
CCK :	Cholecystokinine
CD36 :	Cluster of Differenciation 36
CM :	Chylomicrons
COPII :	Coat protein complex II
CPT1 :	Carnitine Palmitoyl Transferase 1
DE :	Dépense énergétique
DG :	Diacylglycérol
DGAT :	Diacylglycerol Acyltransferase
DHA :	Acide docosahexaénoïque
DT2 :	Diabète de type II
EPA :	Acide eicosapentaénoïque
ERK1/2 :	Extracellular regulated signal kinases 1 & 2
FAAH :	Fatty Acid Amide Hydrolase
FABPpm :	Fatty Acid Binding Protein plasma membrane
FAPT4 :	Fatty Acid Transport Binding Protein 4
FIAF :	Fasting Induced adipose factor
GIP :	Gastric Inhibitory Peptide
GLP1 :	Glucagon like peptide 1
GLP2 :	Glucagon like peptide 2
GPIHBP1 :	Glycosylphosphatidylinositol-anchored high density lipoprotein 1
HDL-C :	High Density Lipoproteins –Cholesterol
HDL :	High density Lipoproteins
HFHS :	High Fat High Sucrose
HL :	Hyperlipidique
Hsc70 :	Heat Shock Protein 70
IAP :	Intestinal Alcaline Phosphatase
IL :	Interleukine
IMC :	Indice de Masse Corporelle
I-FABP :	Intestinal Fatty Acid Binding Protein
IR :	Insulino –résistance
IRS1 :	Insulin receptor substrate 1

JNK :	c Jun N terminal Kinase
LA :	Acide linoléique
LBP :	Lipid Binding Proteins
LD :	Lipid Droplets
LDL-C :	Low Density Lipoproteins –Cholesterol
L-FABP :	Liver Fatty Acid Binding Protein
LHS :	Lipase Hormono Sensible
LIMP2 :	Lysosomal Integral Membrane Protein 2
LPL :	Lipoprotéine lipase
LPS :	Lipopolysaccharide
MCP1 :	Monocyte chimoattractant protein 1
MCV :	Maladies cardio vasculaires
MetS :	Syndrome Métabolique
MG :	Monoacylglycérol
MGAT :	Monoacylglycerol Acyltransferase
MTP :	Microsomal Triglyceride Transfer Protein
NAPE :	N Acetyl PhosphatidylEthanolamine
NAT :	N Acetyl Transferase
NL :	Normolipidique
NLR :	NOD Like receptor
OA :	Acide oléique
OEA :	Oleoyl-ethanolamide
PA :	Acide palmitique
PCTV :	Pre Chylomicron Transfer Vesicle
PEPCK :	Phospho enol pyruvate carboxykinase
PL :	Phospholipides
PPAR :	Peroxisome Proliferator Activated Receptor
PYY :	Peptide YY
Qr :	Quotient Respiratoire
RE :	Reticulum Endoplasmique
SR-B1 :	Scavenger Receptor B-1
SSO :	Sulfo-N-Succimidyl-Oleate
Sar1b :	Secretion Associated Ras related GTPase 1b
SNP :	Single Nucleotide Polymorphism
TG :	Triglycérides
TLR :	Toll Like Receptor
Total-C :	Total-Cholesterol
TNFα :	Tumor Necrosis Factor α
TRL :	Triglyceride Rich Lipoprotein
UCP2 :	Uncoupling protein 2
Vamp7 :	Vesicule Associated Membrane Protein 7
VLDL :	Very Low Density Lipoproteins

Liste des figures

Figure 1 : Principales classes d'acides gras : structure et nomenclature……19
Figure 2 : Unité fonctionnelle de l'intestin : l'axe crypto villositaire……29
Figure 3 : Les différents types cellulaires constitutifs de l'épithélium intestinal……...30
Figure 4 : Fonctions principales de certaines hormones sécrétées par les cellules entéroendocrines et régulées par les AGLC……31
Figure 5 : L'intestin, barrière « impénétrable » contre les pathogènes……..……33
Figure 6 : Structure et caractéristiques physico chimiques d'un chylomicron..…….43
Figure 7 : Schéma de la formation des pré-chylomicrons au niveau du réticulum endoplasmique..…45
Figure 8 : Schéma du transport des PCTV et de la maturation des chylomicrons…….47
Figure 9 : Exocytose des chylomicrons de l'entérocyte vers la lamina propria……...…...50
Figure 10 : Principales étapes de la formation des chylomicrons : le captage et la détection des AGLC, le traffic intracellulaire des AGLC et la synthèse des chylomicrons au niveau entérocytaire……...51
Figure 11 : Synthèse de la LPL et phénomène de lipolyse intravasculaire……...….55
Figure 12 : Principaux facteurs modulant la LipoProtéine Lipase (LPL) et devenir des AG en période post prandiale..…….58
Figure 13 : Devenir des AGLC en période post prandiale : phénomène de *spillover* et régulation des AGLC sur l'activité de la LPL……59
Figure 14 : Structure 3D de la protéine CD36……64
Figure 15 : Structure de CD36 : une glycoprotéine transmembranaire aux multiples ligands et fonctions. ……...65
Figure 16 : Rôle de CD36 dans l'adaptation à la contraction musculaire et aux besoins énergétiques du muscle squelettique..……...67
Figure 17 : Rôle de CD36 dans la détection orale des lipides alimentaires ……..70
Figure 18 : Rôle de CD36 dans la régulation du métabolisme intestinal en phase post prandiale : implication dans la synthèse des chylomicrons et la sécrétion d'hormones intestinales régulant la prise alimentaire..……...….72
Figure 19 : Rôle de CD36 dans la détection des lipides et la régulation de la prise alimentaire au niveau central..…….75
Figure 20 : Protocole de culture de segments *ex vivo* : schéma du protocole d'expérimentation……..86
Figure 21 : Structure du SSO…….....…..88
Figure 22 : Le SSO induit la dégradation de CD36, l'expression de l'ApoB48 et active les ERK1/2. Les effets du SSO sont abolis chez les CD36 (-/-)……....89
Figure 23 : Le LA et le SSO sont en compétition pour la liaison de CD36. ……..…...90

Figure 24 : Les AGLC activent les ERK1/2……..……..91
Figure 25 : L'induction de l'ApoB48 est ERK1/2 dépendante.……....…....93
Figure 26 : L'induction de la transcription de l'Apobec1, de la MTP et de la L-FABP en présence de lipides est ERK1/2 dépendante..……...…..……94
Figure 27 : Evolution de la triglycéridémie plasmatique chez les souris ERK1 (-/-) et sauvages suite à une charge en lipides.……..……..…....97
Figure 28 : Estimation de la surface d'absorption de la muqueuse intestinale des souris ERK1 (+/+) et ERK1 (-/-) à jeun..……...……...…..…98
Figure 29 : Mesure de l'expression des ERK1 et ERK2 chez des souris ERK1 (-/-) et souris contrôles sacrifiées AJ *overnight* et 6h après une charge en lipides…….….99
Figure 30 : Expression protéique *in vivo* de CD36 (A) et de la MTP (B), de la L-FABP (C) chez des souris sauvages et invalidées pour ERK1 à jeun et après une charge en lipides……..…….100
Figure 31 : Expression protéique *in vivo* de l'ApoB48 au niveau de la muqueuse jéjunale (A) et au niveau plasmatique (B) chez des souris sauvages et invalidées pour ERK1 à jeun et suite une charge en lipides…….……...……...….101
Figure 32 : Expression génique de l'ApoC2, ApoC3 et ApoA4 au niveau du jéjunum de souris contrôles et ERK1 (-/-) à jeun et après une charge en lipides……...……...102
Figure 33 : Rôle du récepteur aux AGLC, CD36, et de la voie de signalisation ERK1/2 dans l'optimisation de la synthèse des chylomicrons en période post prandiale..……104
Figure 34 : La régulation lipide dépendante de CD36 est altérée en cas de syndrome métabolique. Immuno-détection de CD36 au niveau de l'épithélium jéjunal par immunohistochimie et par *Western Blotting* chez des souris contrôles et des souris en MetS (n=5).…..……..…….107
Figure 35 : la triglycéridémie post prandiale (A), la taille des lipoprotéines sécrétées (B) ainsi que l'induction des gènes impliqués dans la synthèse des CM (C) sont altérées en cas de syndrôme métabolique. ……..……..……..108
Figure 36 : Protocole de l'effet des régimes HL chez les souris sauvages et CD36 (-/-).……114
Figure 37 : Résultats de suivi de masse et composition corporelle chez des souris CD36 (+/+) et CD36 (-/-) après 7 jours de régime riche en AG insaturés..……...…….....115
Figure 38 : Résultats de suivi de masse et composition corporelle chez des souris CD36 (+/+) et CD36 (-/-) après 7 jours de régime type *Western Diet* (HFHS)..……...…….116
Figure 39 : Suivi de la masse et de la composition corporelle chez des souris CD36 (+/+) et CD36 (-/-) en régime riche en AG Saturés (huile de palme)..……118
Figure 40 : Résultats de suivi de prise alimentaire exprimée en kcal/jour chez des souris CD36 (+/+) et CD36 (-/-) en régime riche en AG insaturés (huile Isio4) (A) et en régime riche en AG saturés (huile de palme) (B).…….……..120
Figure 41 : Cinétique de prise alimentaire sur 24h de souris CD36 (+/+) et CD36 (-/-) au 7ème jour de régime HL Isio4 (A) et Aire sous courbe (B) calculée pour la période nocturne et diurne……..……121

Figure 42 : Tests de double choix de souris CD36 (+/+) et CD36 (-/-) après 10 jours de régime HL riche en AG insaturés ou saturés……..122
Figure 43 : Cages de calorimétrie indirecte pour souris……...……...……..124
Figure 44 : Equation estimant la part de l'oxydation du glucose (Gox) et de celles des lipides (Lox) à partir de la VO_2 et la VCO_2 mesurée en cage de calorimétrie indirecte……...…124
Figure 45 : Impact d'un régime HL riche en huile Isio4 (AG insaturés) ou riche en huile de palme (AG saturés) chez des souris CD36 (+/+) (colonne de gauche) et CD36 (-/-) (colonne de droite) sur la dépense énergétique (figures 45 A&D), le Qr (figures 45 B&E) et l'activité totale (figures 45 C&F)……..……...125
Figure 46 : Impact d'un régime HL riche en huile Isio4 (AG insaturés) ou riche en huile de palme (AG saturés) chez des souris CD36 (-/-) sur la dépense énergétique (figure 46A), la prise alimentaire (figure 46B), le Qr (figure 46C) et l'activité totale (figure 46D). ……..126
Figure 47 : Impact d'un régime HL riche en huile Isio4 (AG insaturés) ou riche en huile de palme (AG saturés) chez des souris CD36 (-/-) sur l'oxydation des lipides et du glucose en périodes diurne et nocturne pendant 8 jours de régime HL……...……128
Figure 48 : Perte fécale en lipides totaux chez des souris CD36 (+/+) et CD36 (-/-) nourries avec un régime HL (40% (m/m)) riche en AG Insaturés (huile Isio4) ou riche en AG saturés (Huile de palme)……...132
Figure 49 : Mesure de l'expression des principaux gènes impliqués dans l'absorption des lipides et la synthèse des chylomicrons au niveau du l'iléum de souris CD36 (-/-) et CD36 (+/+) correspondantes après 4 jours de régime HL Isio4 ou palme……..…….134
Figure 50 : Sécrétion de TG suite à un gavage d'huile Isio4 ou d'huile de palme soumises à 4 jours de régimes hyperlipidiques riches en Huile Isio4 ou en huile de palme chez des souris CD36 (+/+) et CD36 (-/-)……...……...……135
Figure 51 : Suivi de triglycéridémie post prandiale suite à un gavage d'huile Isio4 ou d'huile de palme au 10ème jour de gavage chez des souris CD36 (-/-), et chez des souris CD36 (+/+)……136
Figure 52 : Taux plasmatique des acides gras libres chez les souris CD36 (+/+) et CD36 (-/-) soumises après 7 jours de régime HL riche en AG insaturés (huile Isio4) et riche en AG saturés (huile de palme)……..……...……..138
Figure 53 : Mesure de l'expression des principaux gènes impliqués dans l'absorption des lipides et la synthèse des chylomicrons au niveau du jéjunum de souris CD36 (-/-) et CD36 (+/+) après 7 jours de régime HL riche en huile Isio4……..……...139
Figure 54 : Mesure de l'endotoxémie chez des souris sauvages et CD36 (-/-) femelles nourries avec un régime NL et HL isio4 ou palme……..142
Figure 55 : Mesure de l'expression génique de TLR4 (A), CD14 (B), IAP (C) et l'Angptl4 (FIAF) (D) au niveau du jéjunum de souris CD36 (+/+) et CD36 (-/-) soumises à 4 régimes de régime HL riche en huile Isio4 ou Palme ……..……...144

Figure 56 : Mesure de la perméabilité intestinale (A) et de l'expression génique de ZO-1 (B) et Occludine (C), 2 marqueurs de jonctions serrées au niveau intestinal chez des souris CD36 (+/+) et CD36 (-/-) suite à un régime HL riche en huile Isio4 et en huile de palme……..……...146
Figure 57 : Expression génique *in vivo* de marqueurs de macrophages et d'inflammation au niveau du jéjunum de souris CD36 (+/+) et CD36 (-/-) soumises à un régime HL riche en huile Isio4.…...…...148
Figure 58 : Estimation de la présence de macrophages dans le tissu adipeux périutérin de souris CD36 (+/+) et CD36 (-/-) soumises à un régime HL riche en huile Isio4……..…149
Figure 59 : Expression génique de 3 cytokines pro inflammatoires TNFα, IL1β, IL6 au niveau du jéjunum de souris CD36 (+/+) et CD36 (-/-) soumises à 7 jours de régime HL Isio4.……...….……150
Figure 60 : Expression génique de cytokines pro inflammatoires au niveau plasmatique chez des souris CD36 (+/+) et CD36 (-/-) soumises à 7 jours de régime HL Isio4.....150
Figure 61 : Niveau d'expression du pro-IL1beta au niveau de la muqueuse intestinale de souris sauavges et CD36 (-/-) soumises à 4 jours de régime HL riche en huile Isio4 puis sacrifiées 4h après un gavage de 0,5 ml d'huile Isio4.……....151
Figure 62 : Coupe histologique de jéjunum d'une souris CD36 (+/+) et d'une souris CD36 (-/-) soumises à 10 jours de régime HL riche en huile Isio4 (40% (m/m)). Coloration Gram. ……...…152
Figure 63 : Rôle du récepteur aux AGLC, CD36, et sa voie de signalisation ERK1/2 dépendante dans l'optimisation de la synthèse des chylomicrons en période post prandiale…….…..….157
Figure 64 : rôles de CD36 au niveau intestinal……..……168

Liste des tableaux

Tableau 1 : Apport Nutritionnel Conseillé des différentes classes de lipides par l'ANSES et la consommation moyenne en lipides en France chez les hommes et les femmes adultes (rapport INCA2 de 2009) exprimée en pourcentage des Apports Energétiques journaliers (AE)……..…..27

Tableau 2 : Localisation des principaux AG présents dans l'huile de palme, le saindoux et dans l'huile de tournesol en fonction de leur position sur le TG……35

Tableau 3 : Propriétés fonctionnelles des Lipid Binding Proteins entérocytaires……..49

Tableau 4 : Facteurs nutritionnels, physiologiques, physiopathologiques et facteurs liés au mode de vie influençant la lipémie post prandiale……..54

Tableau 5 : Impact de régimes hyperlipidiques riches en AG saturés et insaturés chez la souris sur les capacités d'absorption intestinales, sur le gain de masse et la prise alimentaire……62

Tableau 6 : Conditions d'utilisation et référence des anticorps utilisés en *Western Blotting*……..…87

Tableau 7 : Phénotype des souris ERK1 (-/-) et ERK2 (-/-).……...…96

Tableau 8 : Composition corporelle et paramètres plasmatiques des souris ERK1 (-/-) et sauvages à jeun une nuit en régime standard.……....……..96

Tableau 9 : Composition des régimes utilisés et composition en AG des régimes……..……113

Tableau 10 : Composition en AG de l'huile de palme (Fonds Français Alimentaire)……117

Tableau 11 : Paramètres plasmatiques de souris CD36 (+/+) et CD36 (-/-) soumises à 4 jours de régime Normolipidique puis à 7 jours de régime Hyperlipidique riche en huile Isio4, Palme (40% lipides (m/m)) ou HFHS (research Diet n°D03062301) riches en AG saturés et en sucrose. ……..128

Tableau 12 : Estimation de la surface d'absorption de la muqueuse intestinale chez des femelles sauvages et CD36 (-/-) soumises à un régime HL isio4……...……132

Tableau 13 : Impact de différents types de régimes HL chez les souris CD36 (-/-) comparés aux souris CD36 (+/+).……..……...……..165

Introduction

L'obésité est considérée comme une épidémie par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) étant donné l'augmentation rapide du nombre d'obèses : le nombre de cas a doublé depuis 1980 (OMS, 2008). La cause principale de l'obésité est le déséquilibre énergétique entre les calories ingérées et les calories dépensées. Elle trouve son origine dans une plus forte consommation d'aliments à forte densité énergétique et un manque d'activité physique en raison de la nature sédentaire de nombreuses formes de travail, de l'évolution des modes de transport et de l'urbanisation. Une étude parue dans *The Lancet* le 29 mai 2014 décrit un chiffre alarmant de 2,1 milliards de personnes en surpoids et obèses dans le monde en 2013, et le fait que cette maladie serait responsable de 3,4 millions de décès dans le monde chaque année (chiffres de 2010). En France, les taux d'obésité sont de 19,3% pour les hommes et 19,7% pour les femmes (Ng et al., 2014). Ce constat soulève l'importance des complications métaboliques liées à l'obésité diminuant l'espérance de vie, et du coût économique de ces soins, associé au vieillissement de la population Française, ou plus largement européenne.

Un apport excessif de lipides associé à un déséquilibre qualitatif (excès de graisses saturées et de cholestérol, rapport n-6/n-3 trop élevé) contribue à la prévalence de l'obésité. Une corrélation a d'ailleurs été établie entre la quantité de lipides consommés et la masse corporelle chez l'Homme (Bray, Paeratakul, et Popkin 2004) et chez la souris (de Wit et al., 2011). Elle est associée à des perturbations métaboliques telles que l'insulino-résistance, l'intolérance au glucose, des dyslipidémies, l'hypertension, qui constituent des facteurs de risque des maladies cardiovasculaires (MCV). Parmi les différents facteurs de risque des MCV on distingue les facteurs de risque « non modifiables » (âge, sexe et prédispositions génétiques) et les facteurs de risque dits « modifiables » caractérisés par la sédentarité, le tabagisme, l'obésité, les facteurs nutritionnels, tels que la surconsommation de lipides et en particulier d'Acides Gras Saturés (AGS) et trans.

Récemment, l'hypertriglycéridémie post prandiale a été considérée comme un facteur de risque indépendant de tous les autres facteurs, et un marqueur privilégié du risque coronaire (Borén et al., 2014) et du risque cardiovasculaire (CV) en général ((Bansal et al., 2007) ; (Nordestgaard et al., 2007)). L'hypertriglycéridémie à jeun s'est révélée moins corrélée au risque CV que celle mesurée en période post prandiale. Par exemple, l'hypertriglycéridémie post prandiale – et non l'hypertriglycéridémie à jeun - s'est révélée un marqueur plus fiable du risque CV chez des patients diabétiques de type II, des patients atteints de stéatose hépatique non alcoolique ou chez des patients ayant déjà eu un événement cardiaque (Pirillo, Norata, et Catapano 2014). En plus du lien avec les MCV, des études indiquent que cette hypertriglycéridémie post prandiale est souvent associée à l'obésité (Wong et al., 2014 ; Mekki et al., 1999 ; Couillard et al., 1998).

L'hypertriglycéridémie post prandiale est un phénomène dynamique qui correspond à une augmentation de la quantité de triglycérides (TG) dans le sang suite à un repas. Le transport de ces lipides se fait majoritairement par les chylomicrons (CM) d'origine intestinale et les *Very Low Density Lipoproteins* (VLDL) d'origine hépatique. Ces lipoprotéines d'origine intestinale sont riches en triglycérides (TG) et contiennent de faibles quantités de cholestérol et de phospholipides (PL). Elles sont constituées également d'une apolipoprotéine spécifique des chylomicrons chez l'Homme, l'Apolipoprotéine B48 (ApoB48). La lipoprotéine lipase (LPL) hydrolyse ces TG au niveau sanguin, permettant l'utilisation métabolique ou le stockage des Acides Gras (AG) par les différents tissus. Les *remnants* issus des CM sont captés par le foie. L'insuffisance de clairance des CM et l'augmentation de leur temps de résidence au niveau sanguin contribuent à l'hypertriglycéridémie post prandiale, générant un environnement athérogène ((Pang et al., 2012) ; (Klop et al., 2012) ; (Al-Aubaidy et al., 2011)).
L'hypertriglycéridémie post prandiale est donc la résultante de l'activité de la LPL et d'un paramètre qui fait l'objet de plus en plus d'études : l'efficacité de sécrétion des CM au niveau des entérocytes. Ce rappel souligne le rôle de l'intestin dans la régulation de l'hypertriglycéridémie post prandiale, en plus de sa capacité à contrôler la biodisponibilité des lipides à l'organisme (Tomkin et Owens 2012). Par ailleurs, il joue un rôle dans la régulation de la prise alimentaire en particulier par l'intermédiaire de la sécrétion d'hormones intestinales (Steinert et Beglinger 2011), mais également de l'apolipoprotéine AIV qui est constitutive des lipoprotéines intestinales (Tso et Liu 2004).

La contribution active de l'intestin dans l'utilisation post prandiale des lipides a été renforcée par les dernières données de la littérature qui démontrent que le métabolisme de synthèse des lipoprotéines intestinales est très régulable et en particulier par les lipides alimentaires eux-mêmes. Ces données démontrent que contrairement à ce qui était admis jusque là, l'instestin n'est pas une simple barrrière passive, capable d'absorber de grandes quantités de lipides, mais qu'il est capable d'adapter ses capacités d'absorption et la qualité des lipoprotéines sécrétées à la teneur en lipides du régime. Ces modifications sont susceptibles de retentir sur la triglycéridémie posprandiale, *via* l'activité de la LPL qui est conditionnée en particulier par la taille et le nombre des particules sécrétées ((Xiang et al., 1999) ; (Martins et al., 1996)), mais également sur le devenir des lipides alimentaires dans l'organisme.

En plus de cet impact métabolique, il est de plus en plus admis que la teneur en lipides du régime affecte également le microbiote intestinal et l'endotoxémie (Moreira et al., 2012) qui correspond à la teneur sanguine de lipopolysaccharide (LPS) et est à l'origine de réponse inflammatoire dans l'organisme. Des données récentes montrent que les CM seraient capables de véhiculer, avec les lipides alimentaires, le LPS (Ghoshal et al., 2009). Ainsi, au niveau sanguin le complexe LPS-CM,

pourrait participer à la mise en place de l'inflammation bas bruit qui est considéré comme un élément majeur dans l'étiologie de l'obésité et du diabète de type II.

L'ensemble de ces découvertes montrent que l'intestin peut avoir un role clé dans la mise en place de l'obésité induite par une forte consommation de lipides par sa capacité à réguler la prise alimentaire, la biodisponibilité des lipides, la lipémie post prandiale, l'utilisation métabolique des lipides et l'inflammation bas bruit. De ce fait, la compréhension du mécanisme moléculaire à l'origine de la régulation des mécanismes d'absorption des lipides constitue une approche pertinente pour développer de nouvelles pistes thérapeutiques permettant de lutter contre l'obésité.

Il a été montré, au sein du laboratoire, que l'intestin adapte ses capacités d'absorption à la teneur en lipides du régime à deux niveaux : une induction de la prolifération cellulaire, augmentant la surface d'échange, et une induction coordonnée de l'expression de protéines impliquées dans l'absorption intestinale et la synthèse des CM (Petit et al., 2007). Cette adaptation permet une synthèse de gros CM susceptibles d'être bien dégradés au niveau de la circulation sanguine, limitant l'hypertriglycéridémie post prandiale puisque l'activité de la LPL est conditionnée par la taille des CM sécrétés. Le concept de l'adaptation du métabolisme intestinal à la teneur en lipides du régime nécessite l'existence d'une détection intestinale des lipides alimentaires. 2 protéines sont candidates pour la détection des lipides au niveau intestinal : le *Cluster of Differenciation* (CD36) et le *Scavenger Receptor* B1 (SR-B1) (Béaslas et al., 2009 ; Tran et al., 2011). C'est pourquoi mon travail de thèse s'est focalisé sur le rôle de CD36. C'est une glycoprotéine membranaire située au pôle apical des entérocytes et qui lie avec une très haute affinité les AG à longues Chaînes (AGLC) et est limitante dans la formation des CM. Ce travail a consisté à étudier son rôle dans l'adaptation des capacités d'absorption intestinale, dans la régulation de la lipémie post prandiale et dans l'endotoxémie.

Synthèse bibliographique

Les lipides alimentaires

Les lipides alimentaires sont des nutriments essentiels pour notre organisme. Dès 1929, Burr & Burr ont démontré que des souris nourries sans lipides présentaient des retards de croissance, développaient des pathologies et mourraient (Burr et Burr 1929). Ils exercent différents rôles : un rôle de structure en tant que constituant des membranes cellulaires, un rôle énergétique puisqu'ils représentent le macronutriment le plus énergétique (9kcal/g) et un rôle dans la signalisation cellulaire. De plus, les lipides sont hautement palatables et sont peu satiétogènes comparés aux glucides et aux protéines (Rolls et Hammer 1995). Ces caractéristiques contribuent à expliquer leur rôle dans le développement rapide de l'obésité et de ses maladies associées en cas de surconsommation (Bray, Paeratakul, et Popkin 2004; de Wit et al., 2011).

Les lipides apportés par l'alimentation sont à 95% sous forme de TG composés de 3 molécules d'AG et d'une molécule de glycérol, à 4,5% sous forme de PL, et à 0,5% sous forme de stérols végétaux et animaux. C'est pour cette raison que l'on s'intéressera essentiellement aux TG (et à leurs produits de digestion), lipides marjoritaires de l'alimentation. Les AG sont des acides carboxyliques à chaîne aliphatique, classés selon 2 critères (figure 1) :

- *La longueur de leur chaîne carbonée* : les Acides Gras à Chaîne Courte (AGCC) sont composés de moins de 8 atomes de carbone ; les Acides Gras à Chaîne Moyenne (AGCM) de 8 à 14 atomes de carbone ; les AGLC de plus de 16 atomes de carbone.
- *Leur degré d'insaturation* : une insaturation représente une double liaison sur la chaîne carbonée. On distingue 3 classes d'AG : les AGS ne possèdent aucune insaturation, les Acides Gras MonoInsaturés (AGMI) possèdent une insaturation, les Acides Gras PolyInsaturés (AGPI) possèdent au moins 2 insaturations (figure 1).

Les AGLC sont les plus présents dans l'alimentation. L'AGS majoritaire dans l'alimentation est l'acide palmitique qui peut être aussi synthétisé *de novo*. Il est l'AG saturé le plus abondamment stocké au niveau du tissu adipeux (Yli-Jama et al., 2001). Il est le substrat de l'enzyme Stearoyl CoA desaturase 1 (SCD1) qui au niveau du tissu adipeux permet la synthèse d'AGPI.

L'AGMI le plus présent dans l'alimentation est l'acide oléique. Parmi ces AG insaturés, certains sont dits indispensables car ils doivent être apportés par l'alimentation, l'organisme étant incapable de les synthétiser. C'est le cas de l'Acide Linoléique (LA : C18:2 n-6) et de l'acide linolénique (ALA : C18:3 n-3). Ils sont les précurseurs des AG de la famille des ω3 et des ω6. Des AG essentiels sont synthétisés à partir des AG indispensables grâce à l'action de désaturases et d'élongases. Parmi ces AG essentiels, l'acide eicosapentaénoïque (EPA : C20:5 n-3) et l'acide docosahexaénoïque (DHA : C22:6 n-3) possèdent des fonctions physiologiques importantes : ils sont des précurseurs d'agents anti inflammatoires et augmentent la vasodilatation de l'endothélium vasculaire. En cas d'obésité ou de

syndrome métabolique, ils ont des effets bénéfiques en participant au maintien de la sensibilité à l'insuline, induisent la sécrétion d'adiponectine et l'oxydation des lipides ((Kaur et al., 2011) ; (Lorente-Cebrián et al., 2013)).

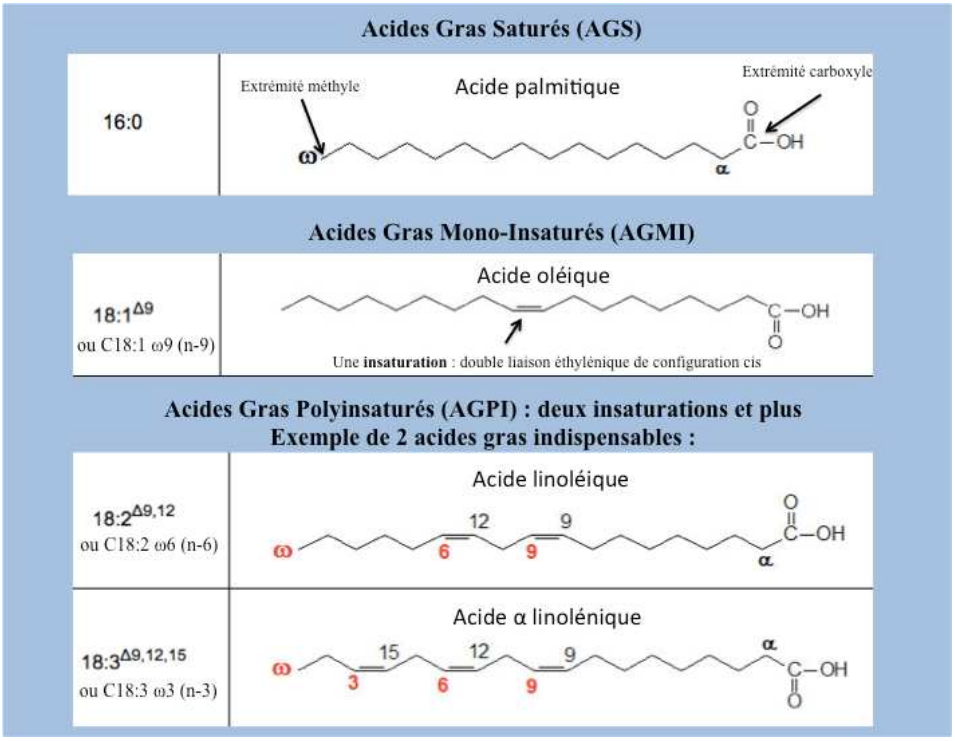


Figure 1 : Principales classes d'acides gras : structure et nomenclature D'après (Guesnet Philippe et al., 2005).

1. Fonctions des AGLC

1.1. Fonctions structurales et énergétiques

**Rôle structural des lipides*

Les lipides sont des constituants des membranes cellulaires principalement sous la forme de PL et de cholestérol. Leur degré d'insaturation conditionne la fluidité des membranes et donc le fonctionnement de certains canaux ioniques et récepteurs localisés au niveau membranaire. Or il est intéressant de rappeler que la composition membranaire en AG est modulée par le profil des AG consommés. En effet, la proportion d'AGS au niveau membranaire (environ 50%) et la quantité d'AGMI sont relativement stables quelle que soit la composition du régime. En revanche, la composition en AGPI n-3 et n-6 au niveau membranaire est fonction de la quantité présente dans la régime. Par exemple, une grande proportion d'AGPI n-3 au niveau des membranes influence l'activité de l'enzyme Na^+/K^+ ATPase ou de l'ATPase Ca^{2+}. En cas de syndrome métabolique, il a été montré,

une corrélation inverse entre le degré d'insaturation des PL membranaires et l'action de l'insuline (Hulbert et al., 2005).

La composition en AG du régime influence donc la composition des membranes mais aussi la composition de micro-structures membranaires tels que les *lipid rafts.* Ces microdomaines membranaires de 10-200nm sont en particulier constitués de PL, de sphingolipides et d'une forte proportion de cholestérol qui représente environ 50% de la composition totale de ces structures. Elles sont enrichies en certaines protéines telles que les protéines G et certaines kinases ce qui expliquent qu'elles sont en particulier impliquées dans la signalisation cellulaire (Pike et al., 2005).

**Rôle énergétique des lipides*

Les lipides représentent une source d'énergie importante puisque ce sont les nutriments qui ont la plus forte densité énergétique (9kcal/g). Ils constituent une réserve d'énergie stockée sous forme de TG au niveau du tissu adipeux, sous forme de gouttelettes lipidiques ou *Lipid Droplets* (LD). C'est la réserve la plus importante de l'organisme disponible en cas de demande d'énergie. En effet, l'ensemble du glycogène au niveau des muscles peut alimenter environ une journée de dépense énergétique alors que les lipides stockés au niveau du tissu adipeux peuvent alimenter des mois de demande en énergie de l'organisme (Nakamura, Yudell, et Loor 2014). Les lipides sont accumulés soit à partir des glucides par la voie de la lipogenèse soit à partir des AGLC issus des CM ou des VLDL. La plupart des AGLC stockés au niveau du tissu adipeux blanc sont d'origine alimentaire. Le stockage des AGLC sous forme de TG au niveau du tissu adipeux est un événement majoritairement post prandial (Bickerton et al., 2007). A l'inverse, en période interprandiale, les TG stockés au niveau du tissu adipeux sont hydrolysés *via* l'action de lipases dont l'ATGL, contrôlant la première étape de la lipolyse intracellulaire au niveau de ce tissu (Stephen G Young et Zechner 2013). Les AGLC ainsi libérés sont véhiculés par l'albumine au niveau sanguin sont acheminés vers le foie pour la synthèse des VLDL *via* l'activation de la lipase hormonosensible (LHS) (Holm et al., 2000) ou redistribués vers le muscle ou le cœur pour y être oxydés. Le tissu adipeux a la capacité de proliférer et de se différencier tout au long de la vie, ce qui permet le développement de la masse grasse. Les AG et leurs métabolites jouent un rôle de molécules signal qui induisent la différenciation des préadipocytes en adipocytes (Amri et al., 1994).

1.2. Rôle des AGLC dans la signalisation cellulaire

**AGLC : précurseurs de médiateurs lipidiques*

Les AGLC sont des précurseurs de médiateurs lipidiques importants tels que les eicosanoides (leucotriènes, prostaglandines, thromboxanes) qui ont un rôle dans la cicatrisation, la prolifération cellulaire et l'angiogenèse notamment (Kalish et al., 2013). L'EPA et le DHA sont les précurseurs de

plusieurs molécules telles que les résolvines D et E et les protectines D1 qui participent à la résolution des processus inflammatoires (Weylandt et al., 2012).

**AGLC et activation des protéines membranaires*

Les AGLC peuvent moduler l'action de canaux ioniques potassiques, calciques et chlorures. Par exemple, l'acide oléique (OA) inhibe les canaux potassiques ATP sensibles au niveau neuronal, ce qui module la prise alimentaire (Moullé et al., 2013). De plus, les AGLC déclenchent, au niveau des papilles gustatives, une augmentation de calcium intracellulaire, à l'origine du relargage de neurotransmetteurs, jouant leur rôle dans la préférence spontanée aux lipides (El-Yassimi et al., 2008). Les AGLC modulent également l'activité de phospholipases, de protéines kinases impliquées dans la transduction de la signalisation cellulaire (Eyster et al., 2007).

Plus récemment, il a été montré que les AGLC sont capables d'activer directement des récepteurs membranaires comme la famille des protéines G. Par exemple, au niveau des cellules entéroendocrines intestinales, les AGLC peuvent se lier à GPR120 et déclencher la sécrétion de Glucagon Like peptide 1 (GLP1) et de cholecystokinine (CCK) (Talukdar, Olefsky, et Osborn 2011). GPR120 a été considéré récemment comme un senseur d'AGLC n-3 au niveau des macrophages, expliquant en partie leurs effets anti-inflammatoires (Oh et al., 2010). Les AGLC peuvent également lier d'autres types de récepteurs impliqués dans la modulation de l'inflammation. Les AGS sont plutôt pro-inflammatoires tandis que les AGPI exercent des propriétés anti-inflammatoires. Leur effet modulateur sur l'inflammation provient essentiellement de leurs dérivés métaboliques tels que les prostaglandines, résolvines, endocannabinoides, céramides et diacylglycerols (DAG). En effet, ils ont démontré leur capacité à se lier à des *Toll Like Receptors* (TLR), en particulier les AGS peuvent se lier à TLR4 notamment, activant la voie NFkB et l'activation de gènes pro-inflammatoires (Georgiadi et Kersten 2012).

**AGLC et activation des récepteurs nucléaires*

Les AG peuvent également moduler l'expression des gènes en se liant à différents facteurs de transcription tels que les *Peroxisome Proliferator Activated Receptor* (PPAR) (figure 2).

3 isoformes ont été identifiés : PPARα, PPARβ/δ et PPARγ. Ils forment un hétérodimère avec le *Retinoid X receptor* (RXR) et se lient sur une zone spécifique du promoteur des gènes nommée *PPARs Responsive Element* (PPRE). L'activité des PPAR est modulée à la fois par la présence de co-activateurs ou de co-suppresseurs (Yessoufou et al., 2010) et par leur liaison avec les AGLC ou leurs dérivés ((Grygiel-Górniak et al., 2014) ; (Deckelbaum, Worgall, et Seo. 2006)).

Cette fonction des AGLC a des conséquences physiologiques importantes puisque les PPARs régulent le métabolisme des lipides (β oxydation des AG, cétogenèse, captage des lipides, induction de la lipolyse au niveau du tissu adipeux, régulation de la LPL) et contrôlent l'inflammation ((Poulsen,

Siersbæk, et Mandrup 2012) ; (Mandard et al., 2004)). En effet, PPARα régule principalement au niveau hépatique l'oxydation de lipides, l'inflammation et le métabolisme du glucose. PPARβ/δ joue un rôle central au niveau musculaire en contrôlant l'oxydation ou le stockage des AG sous forme de TG. Enfin, PPARγ influence la différenciation des adipocytes et l'adipogenèse au niveau du tissu adipeux. Les AGPI sont des agonistes de PPARγ et sont aussi capables d'inhiber certains récepteurs nucléaires comme LXR inhibant ainsi l'expression de gènes cibles comme SREBP1c qui régule la lipogénèse (Georgiadi et Kersten 2012).

Les AG représentent donc des acteurs dans la signalisation cellulaire de diverses voies métaboliques et constituent par ailleurs, des précurseurs de médiateurs lipidiques impliqués dans différentes fonctions cellulaires, démontrant l'importance de leur rôle physiologique.

2. Acides Gras et Santé

Les différents AG n'exercent pas les mêmes fonctions au niveau de l'organisme. Par conséquent, leur niveau de consommation n'a pas les mêmes conséquences sur la santé. La paragraphe suivant résume les conclusions des experts concernant les apports en différents AG sur la santé (Rapport de l'ANSES sur l'actualisation des ANC pour les AG, 2011). Ces conclusions sont basées principalement sur des études épidémiologiques d'observation qui ne tiennent pas toujours compte des autres éléments du régime qui sont interdépendants.

2.1. AG et risque CV

Les MCV représentent la première cause de mortalité en Occident et la seconde en France. Elles sont liées aux conséquences de l'athérosclérose, de la thrombose et de l'hémorragie au niveau vasculaire cérébral et de la mort subite. Le rôle de l'alimentation est complexe puisqu'elle intervient sur les facteurs de risque tels que le cholestérol, ou sur les marqueurs liés aux processus métaboliques (inflammation, aggrégation plaquettaire, oxydation des lipoprotéines, insulino-résistance….).
Globalement, il n'y a pas de bénéfice prouvé à des apports lipidiques inférieurs à environ 35 % sur le plan cardiovasculaire indépendamment d'une variation durable du poids et indépendamment d'une réduction d'un apport excessif en AGS. Les études existantes ne montrent pas d'augmentation du risque pour des apports jusqu'à 40 % de l'Apport Energétique (AE).

**AGS :*
Les anciennes études épidémiologiques réalisées dans des populations à forts apports en AGS (jusqu'à 21% de l'apport énergétique dans l'étude des 7 pays) ont montré qu'un apport excessif en AGS est associé à un risque coronarien accru alors qu'une alimentation pauvre en AGS et riche en AGMI et

plus encore en AGPI est associée à une faible mortalité coronarienne. Cette association observée avec des niveaux d'apports élevés pourrait s'expliquer par une élévation du LDL-Cholestérol (LDL-C), mais les AGS augmentent aussi le HDL-Cholestérol (HDL-C), considéré comme un facteur protecteur.

Les AGS consommés en quantité excessive sont considérés comme hypercholestérolémiants, athérogènes, et pro-inflammatoires (Santos, Oliveira, et Lopes 2013). Si on se limite à la méta-analyse des études d'observation de Siri-Tarino et al., il n'existerait « *aucune preuve significative permettant de conclure que les graisses saturées de l'alimentation soient associées à un risque accru de MCV »* (Siri-Tarino et al., 2010). Cependant, il faut préciser qu'il n'y a pas d'étude d'intervention réalisée spécifiquement avec les AGS. De plus, la plupart des études ne font pas de lien direct entre la consommation d'AGS et le risque CV (Schwab et al., 2014).

Tous les AGS ne possèdent pas les mêmes effets sur le risque CV. L'acide palmitique est fréquemment associé à une élévation du LDL-C mais aussi du HDL-C (Baum et al., 2012). Les consommateurs d'huile de palme ont un risque accru d'infarctus du myocarde comparativement aux consommateurs d'autres huiles (Lecerf et al., 2013).

Par ailleurs, l'acide stéarique aurait des effets neutres voire hypocholestérolémiants (Michas, Micha, et Zampelas 2014) alors que les acides myristique et palmitique ont des effets hypercholestérolémiants (augmentation du LDL-C). Même si l'acide myristique a des effets supérieurs que l'acide palmitique sur la cholestérolémie, sa plus grande consommation (56,3% des AGS totaux aux Etats Unis par exemple) lui confère des effets plus délétères (Lottenberg et al., 2012).

Les recommandations antérieures (ANC 2001) avaient ainsi déterminé que les AGS ne devaient pas représenter plus de 8-10% de l'apport énergétique total, ces limites se focalisant essentiellement sur les AG athérogènes (acides palmitique, myristique, laurique). Notons également que la consommation d'acide stéarique à hauteur de 2-3% de l'apport énergétique n'a pas d'effet délétère.

**AGMI :*

L'AGMI majoritairement consommé est l'OA (90%). Il est très présent notamment dans le régime méditerranéen et associé à un risque CV et un risque de mortalité plus faibles (Baum et al., 2012). En effet, la consommation d'AGMI est associée à une augmentation du HDL-C, et une diminution du cholestérol total (TC) et du LDL-C dans la majorité des méta-analyses. Des régimes riches en AGMI diminuent la pression sanguine, un des facteurs de risque CV (Schwingshackl et Hoffmann 2012). Cependant, l'augmentation des esters de cholestérol riches en oleate due à la consommation d'OA est plus athérogène que les esters de cholestérol dérivés du LA (AGPI) (Baum et al., 2012).

Il n'y a aucune étude d'intervention en prévention cardiovasculaire et peu d'études d'observation spécifiques sur les AGMI (c'est à dire l'OA, essentiellement). Les études d'observation portant sur les

AGMI ont pour la plupart été réalisées avec l'huile d'olive (très riche en OA) et suggèrent que l'OA exerce un effet favorable sur le profil lipidique en remplacement d'un excès d'AGS. Il semble que cet effet bénéfique soit observé jusqu'à environ 20 % de l'AE. Les autres effets bénéfiques sur les différents facteurs de risque CV sont encore incertains et semblent liés pour une part importante aux composants de la fraction non AG de l'huile d'olive.
Ainsi, il apparaît que dans le cadre d'une alimentation apportant des lipides à hauteur de 35-40 % de l'AE, un apport minimal en OA de l'ordre de 15 % de l'apport énergétique est conseillé afin de limiter la consommation d'AGS athérogènes en cas d'excès.

**AGPI :*

Les AGPI sont associés généralement à un risque CV plus faible ((Raphael et Sordillo 2013) ; (Baum et al., 2012) ; (Schwab et al., 2014)). De façon générale, une augmentation de 5% de la consommation d'AGPI est associée à une diminution de 13% du risque CV (Baum et al., 2012).
Les AGPI, en particulier ceux de la série n-3, ont démontré leurs effets bénéfiques sur la santé et plus particulièrement sur le risque CV : ils possèdent des propriétés anti-inflammatoires en inhibant la synthèse de certaines cytokines, et anti thrombotiques (Raphael et Sordillo 2013) *via* la synthèse de médiateurs lipidiques. Ils protègent également la fonction endothéliale en diminuant les vasoconstricteurs, les chemokines, et l'adhésion des monocytes et sont moins vasoconstricteurs que les AGPI n-6 ((Dessì et al., 2013) ; (Massaro et al., 2008)).

Les AGPI n-6 exercent néanmoins des effets bénéfiques : ils sont associés à une diminution modérée des TG plasmatiques, du cholestérol et du LDL-C (Ooi et al., 2013) et augmentent le HDL-C (Schwingshackl et Hoffmann 2012). L'AGPI n-6 majoritairement consommé est le LA. Il est le précurseur de l'acide arachidonique (AA), qui a un rôle pro-inflammatoire *via* la synthèse de prostaglandine PGE2. La consommation de régimes riches en AGPI n-6 est associée à une diminution des LDL oxydées et de l'inflammation et donc à un risque CV plus faible (Kaikkonen et al., 2014). Un très faible apport en LA est défavorable sur le plan du risque CV tandis qu'un apport excessif l'est également. De plus, des apports élevés (>5 % de l'AE) conduisent à induire un rapport n-6/n-3 trop élevé (>5). Sur la base des études d'observation, il existe donc des arguments pour considérer que le LA est bénéfique pour des apports modérés et suffisants. Ceux-ci se situent entre 3 et 5 % de l'AE.

La plupart des études de cohorte montre une association inverse entre la consommation d'ALA et l'incidence des complications cardiovasculaires ischémiques. L'absence d'essai d'intervention nutritionnelle spécifique pour l'ALA sur une durée et des effectifs suffisants ne permet pas d'établir avec certitude qu'un accroissement de sa consommation puisse conférer un bénéfice cardiovasculaire. Globalement, on peut considérer, sur la base des études d'observation, qu'un apport de 1 % semble adéquat pour la prévention cardiovasculaire.

L’EPA et le DHA, deux AG essentiels, diminuent le risque d’accidents coronaires et améliorent le profil lipidique de certains patients en diminuant le LDL-C et l’hypertriglycéridémie post prandiale. Ils sont également anti-inflammatoires par la synthèse de médiateurs anti inflammatoires, l’inhibition de l’IL1β et diminuent l’athérogenèse (Simopoulos et al., 2008). Les études épidémiologiques et les essais d‘intervention montrent que la consommation de poisson ou d‘EPA et DHA diminue la mortalité cardiovasculaire. Ces effets sont observés pour des apports compris entre 0,4 g.j-1 et 1,8 g.j-1 d‘AGPI-LC n-3 (EPA-DHA) chez des patients avec des antécédents vasculaires. Par conséquent, un apport journalier de 500 mg d‘EPA et DHA (soit 0,25 % de l‘AE) semble justifié pour la population générale dans une perspective de prévention cardiovasculaire.

Les AGPI ont démontré des effets bénéfiques en curatif après un premier accident vasculaire mais aussi en prévention avec une consommation d’environ 300g/semaine (Massaro et al., 2008). Cependant, la consommation d’1g de AGPI n-3 n’est pas concluante quant à la diminution du risque CV pour des patients diabétiques. De plus, une méta analyse n’a révélé aucune association entre AGPI de la série n-3 et risque CV (Rizos et al., 2012). Des études ou méta analyses supplémentaires sont donc nécessaires afin mieux comprendre les associations entre la consommation d’AGPI et le risque CV.

2.2. AG et obésité

En situation d’excès d’apport énergétique, un régime extrêmement riche en lipides (50% de l’AE) accroît davantage la masse grasse qu’un régime riche en glucides (Baba et al., 1999). L‘équilibre énergétique est le déterminant essentiel de la prise de poids : l‘apport lipidique total peut jouer un rôle en contribuant aux apports énergétiques mais il ne semble pas impliqué dans l‘épidémie d‘obésité au niveau des populations. Au niveau individuel, des niveaux d‘apport supérieurs à 40 % de l‘AE peuvent, probablement en interaction avec des facteurs génétiques, favoriser la prise de poids.

En ce qui concerne l‘insulino-résistance (et le syndrome métabolique), il apparaît que des apports lipidiques totaux compris entre 20 et 40 % de l‘apport énergétique l‘influencent peu. Des études suggèrent néanmoins une diminution de la sensibilité à l‘insuline pour des apports très élevés, supérieurs à 50 %. De même, plusieurs études épidémiologiques transversales et longitudinales ont mis en évidence une augmentation du risque de syndrome métabolique pour des apports lipidiques dépassant 40 % de l‘AE.

Au total, considérant à la fois l‘insulino-résistance, le syndrome métabolique et le diabète, les données disponibles ne démontrent pas l‘implication de l‘apport lipidique total dès lors qu‘il est inférieur à 40 % de l‘AE dans le respect de l‘équilibre énergétique. De plus, le risque lié à une substitution des

lipides par les glucides amène les autorités de santé à proposer un optimum d'apport en lipides de 30 à 40 % de l'apport énergétique.

Les données disponibles suggèrent un effet délétère d'apports trop élevés en AGS. Au niveau qualitatif, il apparait d'abord que tous les AGS n'ont pas le même effet sur la prise de poids : les AGS à chaîne courte et moyenne n'augmentent pas le poids corporel, voire le réduisent dans certaines conditions.

Etant donné la diminution de la consommation d'AGS et la consommation croissante d'AGPI n-6 aux USA comme en Europe, les taux actuels d'obésité ne peuvent se réduire à l'effet potentiellement délétère des AGS. En effet, les AGPI n-6 présentent à fortes doses des effets pro-inflammatoires, mais plus récemment pro-adipogéniques. En particulier, l'exposition à un excès d'AGPI n-6 avant la naissance ou durant l'enfance promeut la formation de cellules adipocytaires (hyperplasie et hypertrophie). Cette programmation a été récemment démontrée dans plusieurs études chez l'animal (Muhlhausler et Ailhaud 2013).

La consommation d'AGPI n-3 diminue la masse grasse et le tour de taille chez des patients en surpoids et obèses mais toutes les études d'interventions ne démontrent pas d'effet anti-obésité des AGPI n-3, même à de fortes doses d'AGPI n-3 (Buckley et Howe 2009). La diminution de la masse grasse associée à la consommation d'AGPI n-3 peut s'expliquer par le fait que les AGPI n-3 favorisent l'oxydation des lipides et diminuerait la lipogenèse *via* la régulation de SREBP, de la FAS et de l'ACC (Ooi et al., 2013). Ils inhibent la sécrétion des lipoprotéines contenant de l'ApoB48 (Massaro et al., 2008) et l'hypertriglycéridémie à jeun et post prandiale chez des rats obèses (Hassanali et al. 2010). En particulier, l'EPA et le DHA augmentent la clairance des chylomicrons en augmentant l'activité de la LPL ((Cascio, Schiera, et Di Liegro 2012) ; (Park et Harris 2003)).

L'équilibre entre les différentes classes d'AG semble bénéfique dans la gestion du poids chez des patients obèses : la consommation d'un régime hyperlipidique composé aux 1/3 d'AGS, 1/3 d'AGMI, et 1/3 d'AGPI pendant 16 semaines chez des femmes obèses est corrélée à une diminution de la masse grasse, des marqueurs d'inflammation, une augmentation de l'oxydation des lipides et une amélioration des fonctions vasculaires (Silver et al., 2014).
Le résumé des ANC pour les différentes classes d'AG est résumé dans le tableau 1.

<u>Tableau 1</u> : ANC des différentes classes de lipides par l'ANSES et la consommation moyenne en lipides en France chez les hommes et les femmes adultes (rapport INCA2 de 2009) exprimée en pourcentage des AE. *AGMI : Acide Gras MonoInsaturé ; AGPI : Acide Gras PolyInsaturé ; AGS : Acide Gras Saturé ; ANC : Apport Nutritionnel Conseillé.*

Acides Gras	ANC	Consommation Hommes	Consommation Femmes
Lipides (% AE)	35-40%	38,8%	39,8%
AGMI		13,9%	14,3%
Acide oléique	15-20%		
AGPI	5-6%	5,8%	6,2%
Acide Linoléique	4%		
Acide α linolénique	1%		
DHA (Acide docosahexaenoïque)	250mg		
EPA (Acide eicosapentaénoïque)	250mg		
AGS	**<u>≤</u>12%**	**15,8%**	**15,9%**
Acides laurique + myristique + palmitique	<u>≤</u>8%		

Les lipides alimentaires semblent donc jouer un rôle fondamental dans diverses fonctions cellulaires, que ce soit au niveau structural en tant que composant essentiel des membranes plasmiques qu'en tant que précurseurs de médiateurs lipidiques (hormones, prostaglandines…) ou comme régulateurs de l'expression de certains gènes par liaison avec des récepteurs nucléaires. Leur diversité d'actions physiologiques suppose que leur absorption au niveau intestinal doit être efficace et non limitante. La suite de cette synthèse bibliographique portera ainsi sur les mécanismes de digestion et d'absorption des lipides alimentaires au niveau intestinal et la formation des CM, lipoprotéines sécrétées en période post prandiale permettant la distribution des lipides au niveau de l'organisme.

Absorption intestinale des lipides alimentaires

L'intestin a longtemps été considéré comme une simple barrière passive aux nutriments et donc très peu étudié. Mais il a été démontré que l'intestin est capable d'adapter sa capacité d'absorption en fonction de la teneur en lipides du régime à deux niveaux : en augmentant la prolifération des cellules intestinales (augmentant ainsi la surface d'échange) et l'induction coordonnée de gènes impliqués dans l'absorption des lipides (Petit et al., 2007). Ses spécificités morphologiques et l'adaptation de ses capacités d'absorption en fonction de la teneur en lipides présente dans la lumière intestinale lui permettent de prendre en charge une quantité de lipides variable et intermittente au cours de la journée.

1. Spécificités morphologiques de l'épithélium intestinal

L'intestin possède des caractéristiques morphologiques uniques :

- Une grande surface d'échange
- Une organisation selon 2 axes : l'axe crypto villositaire et l'axe gastro colique
- Il est constitué de plusieurs types cellulaires ayant chacun une fonction spécifique
- Un renouvellement cellulaire rapide
- Une barrière « impénétrable » aux microorganismes

1.1 Une surface d'échange importante

L'intestin possède une surface d'échange importante chez l'Homme grâce à la présence de valvules conniventes, de villosités intestinales et de microvillosités entérocytaires. La paroi intestinale, de la lumière vers la séreuse, est constituée de plusieurs couches : la muqueuse, la sous muqueuse et la musculeuse. La muqueuse intestinale, lieu où se déroule l'absorption des lipides, comporte la lamina propria et l'épithélium. L'épithélium est formé d'une couche unistratifiée de cellules jointives, qui couvre la surface des villosités et des cryptes et est au contact de la lumière intestinale.

1.2. Une organisation selon 2 axes

La muqueuse de l'intestin est constituée d'un épithélium organisé en deux compartiments morphologiquement distincts comprenant de grandes évaginations formant des villosités, et des invaginations qui forment des cryptes (figure 2).

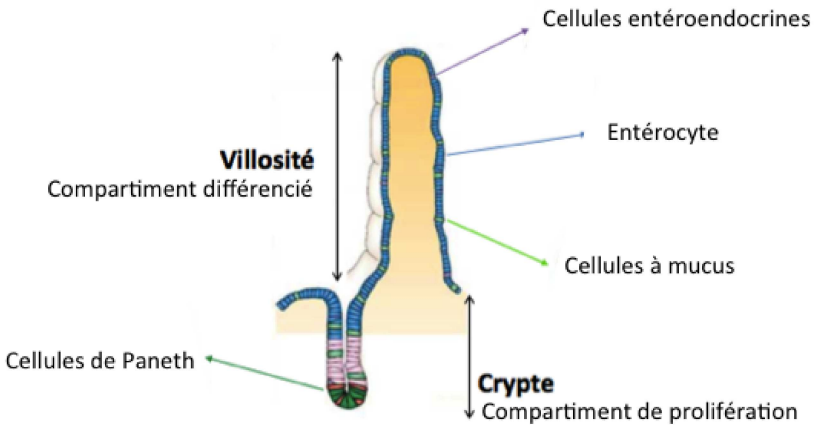


Figure 2 : Unité fonctionnelle de l'intestin : l'axe crypto villositaire d'après (Crosnier, Stamataki, et Lewis 2006).

Le long de l'axe gastro colique, l'intestin est constitué de trois parties. Le duodénum, partie proximale, la plus proche de l'estomac, lieu majeur de l'absorption des glucides et lieu d'hydrolyse des lipides. Il reçoit également les sécrétions pancréatiques et billiaires. Il possède des glandes spécifiques, appelées glandes Brunner qui protègent l'épithélium du chyme venant de l'estomac en sécrétant un mucus épais. Le jéjunum est le lieu majeur de l'absorption des lipides où l'expression de protéines impliquées dans leur absorption y est le plus élevée (Mariadason et al., 2005). L'iléon distal est le lieu de réabsorption des sels biliaires et de l'absorption de la vitamine B12. Il est intéressant de signaler qu'en cas de malabsorption jéjunale, l'iléon peut être recruté (de Wit et al., 2008 ; de Wit et al., 2012).

1.3. Composition cellulaire de l'épithélium intestinal

L'épithélium intestinal est constitué de plusieurs types de cellules : les entérocytes qui sont les cellules absorbantes, les cellules à mucus, les cellules entéro-endocrines, et les cellules de Paneth, qui correspondent à 3 types différents de cellules sécrétrices.

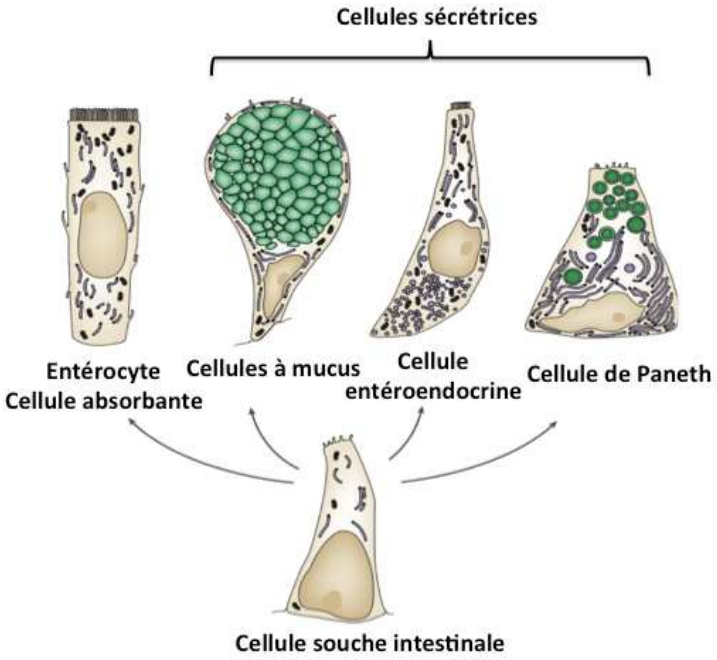


Figure 3 : Les différents types cellulaires constitutifs de l'épithélium intestinal (d'après Crosnier, Stamataki, et Lewis. 2006).

- Les entérocytes : ils représentent environ 90% de la population cellulaire totale. Ce sont des cellules absorbantes hautement polarisées. Elles présentent au pôle apical des microvillosités en contact avec la lumière intestinale qui augmentent la surface d'échange. Ces microvillosités en plus du glycolalyx et du mucus forment une couche d'eau non agitée dont la variation de pH local conditionne, comme nous le verrons plus tard, le captage des AGLC (figure 3).

- Les cellules à mucus : sont aussi appelées cellules caliciformes. Elles représentent environ 9 % des cellules. Elles sécrètent du mucus par exocytose à la surface de l'épithélium. Elles sont composées de larges granules à mucus au sein de leur cytoplasme. Le mucus protège la muqueuse et facilite le passage du chyme le long de l'intestin (figure 3).

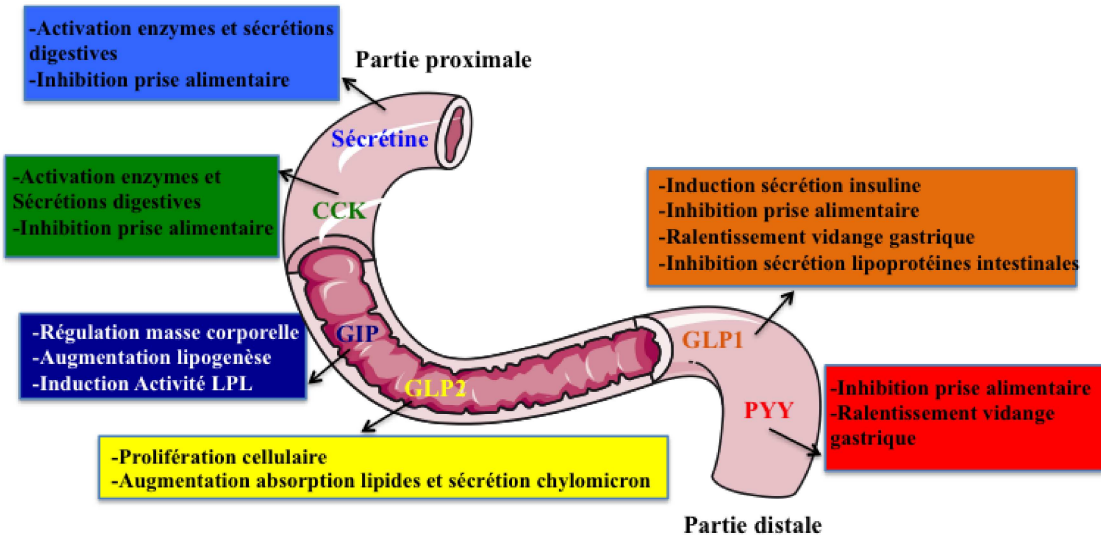
- Les cellules de Paneth : sont situées dans les cryptes et jouent un rôle dans la défense contre les pathogènes et dans la sécrétion de peptides antimicrobiens tels que le lysozyme et les cryptidines ((Crosnier, Stamataki, et Lewis 2006) ; (Potten, Booth, et Pritchard 1997)) (figure 3).

- Les cellules entéro-endocrines : ne représentent que 1 % des cellules intestinales mais exercent des fonctions importantes au sein de l'organisme. En effet, elles sécrètent des hormones qui régulent les phénomènes de digestion et d'absorption des nutriments mais également jouent un

rôle dans la régulation de la prise alimentaire et la masse adipeuse (figure 4). La sécrétion de la CCK, de la sécrétine, du *Gastric Inhibitory Peptide* (GIP), du GLP1, du GLP2, et du Peptide YY (PYY) est stimulée en particulier par les AGLC via des récepteurs de type GPCR ou de la glycoprotéine membranaire CD36 comme résumé dans la figure 4 ((Sundaresan et al., 2012) ; (Miyauchi et al., 2010)).

Au niveau duodénal et jéjunal, la CCK constitue un signal de satiété au niveau central, stimule la sécrétion des enzymes pancréatiques et retarde le phénomène de vidange gastrique. PYY est, par ailleurs, sécrété au niveau distal et influence la satiété, inhibe les sécrétions gastriques et pancréatiques. De plus, GLP1 est une incrétine qui inhibe la prise alimentaire, stimule la sécrétion d'insuline et inhibe la vidange gastrique ((Wren et Bloom 2007) ; (Mansour et al., 2013)). Plus récemment, il a été montré que GLP1 et GLP2 influencent la production et la sécrétion de chylomicrons ((Mellitzer et Gradwohl 2011) ; (Hein et al., 2013)). L'action de GLP2 sur l'efficacité de synthèse des chylomicrons s'effectue *via* CD36 (Hsieh et al., 2009). Enfin, la sécrétion de CCK et de sécrétine est activée par les lipides, dont la régulation est CD36 dépendante (Sundaresan et al., 2012).

Les AGLC semblent donc réguler la prise alimentaire par l'activation de la sécrétion d'hormones intestinales telles que GLP1, la CCK ou la sécrétine (figure 4).



<u>Figure 4</u> : Fonctions principales de certaines hormones sécrétées par les cellules entéroendocrines et régulées par les AGLC ((Hansotia et Drucker 2005) ; (Baynes, Dhillo, et Bloom 2006) ; (Joost Hans 2012) ; (Xiao et al., 2014) ; (Hsieh et al., 2009) ; (Hsieh et al., 2010)). *CCK : CholéCystoKinine ; GIP : Gastric Inhibitory Peptide ; GLP1 : Glucagon Like Peptide 1 ; GLP2 : Glucagon Like peptide 2 ; LPL : LipoProtéine Lipase ; PYY : Peptide YY.*

1.4. Un renouvellement intense de l'épithélium intestinal

L'intestin est l'un des organes de l'organisme qui se renouvellent le plus rapidement. En effet, le renouvellement total de la muqueuse s'effectue en trois jours chez la souris et cinq jours chez l'Homme, correspondant au remplacement d'environ 17 milliards de cellules chaque jour (Potten, Booth, et Pritchard 1997). Cette caractéristique lui confère une grande capacité d'adaptation.
Les cellules souches multipotentes se trouvent au niveau des cryptes et sont au nombre de 4 à 6. Elles se divisent de façon asymétrique, et vont donner naissance à des cellules progénitrices qui vont soit redonner des cellules souches soit proliférer rapidement pour donner des cellules de transit. Ces dernières se différencieront pour donner les quatre types cellulaires qui composent l'épithélium intestinal décrits précédemment (Crosnier, Stamataki, et Lewis 2006). Au cours de la différenciation cellulaire, les cellules souches intestinales qui donneront naissance aux cellules entéro-endocrines, aux entérocytes et cellules à mucus migrent vers le haut des villosités alors que les cellules de Paneth migrent vers le fond de la crypte. Les entérocytes différenciés responsables de l'absorption des lipides se situent dans les 2/3 supérieurs des villosités.
Parmi les facteurs régulant l'homéostasie de la muqueuse intestinale, les nutriments en particulier les lipides, sont de puissants régulateurs de la prolifération cellulaire ((Buts et al., 1990) ; (Petit et al., 2007)).

1.5. Une barrière « impénétrable »

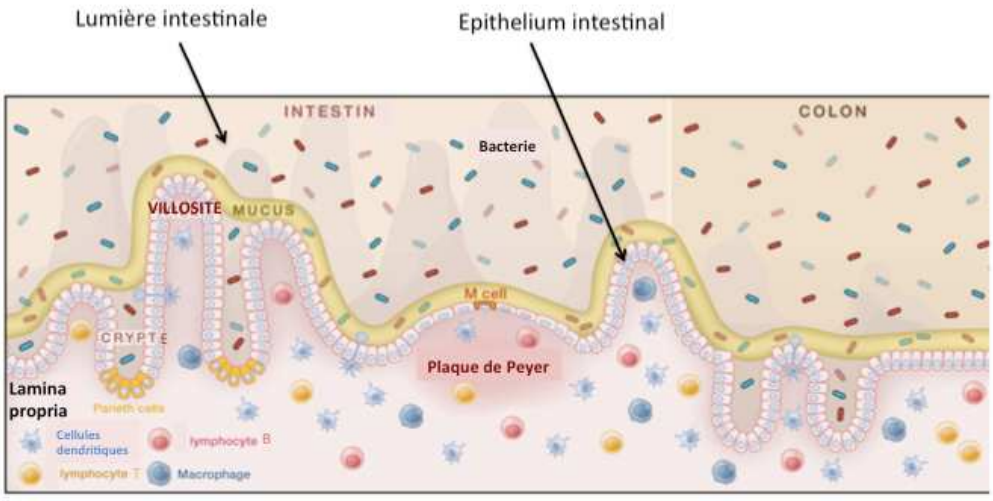
La grande surface de l'épithélium intestinale l'expose constamment à plus de 400 espèces bactériennes et de 10^{14} cellules microbiennes (Müller, Autenrieth, et Peschel 2005). Il est à noter que les bactéries ne se trouvent pas exclusivement dans le côlon mais aussi au niveau du jéjunum et de l'iléon (Gu et al., 2013). La reconnaissance des bactéries endogènes (bénéfiques) ou pathogènes implique un système de détection et de reconnaissance des pathogènes ainsi qu'un moyen efficace de défense. Le système immunitaire intestinal est, pour cela, le plus développé de l'organisme : en effet il a été montré la présence de lymphocytes, macrophages dans la muqueuse au niveau de l'épithélium et de la lamina propria, ainsi que la présence de tissus lymphoides au niveau iléal (Plaque de Payer contenant lymphocytes T, B et cellules dendritiques) (Castro-Sánchez et Martín-Villa 2013) (figure 5). Chaque type de cellule constituant l'épithélium intestinal joue un rôle dans cette préservation de l'intégrité de la barrière intestinale.

Les entérocytes sont capables de détecter et de répondre face aux pathogènes, bactéries et organismes présents dans la lumière intestinale, allant de la tolérance à l'immunité anti-pathogène (Peterson et Artis 2014). Elles sont également capables de produire des cytokines et de détecter les pathogènes *via*

les TLR et les NOD Like-Receptor (NLR). L'activation de cytokines après la détection de bactéries pathogènes permet le recr utement de leucocytes, macrophages et et lymphocytes qui initient la réponse inflammatoire (Müller, Autenrieth, et Peschel 2005).

Les cellules de Paneth sont situées dans les cryptes et jouent un rôle dans la défense contre les pathogènes et dans la sécrétion de peptides antimicrobiens tels que le lysozyme, le Tumor Necrosis Factor α (TNFα) et les cryptidines, les defensines, la phospholipase A2 (PLA2) qui dégrade les lipides bactériens ((Crosnier, Stamataki, et Lewis 2006) ; (Potten, Booth, et Pritchard 1997)). Le mucus et des mucines (mucine 2 en particulier) sécrétées par les cellules à mucus protégent l'épithélium intestinal et empêchent l'adhésion de bactéries pathogènes (figure 5). La perméabilité intestinale est contrôlée par les jonctions serrées (claudines, ZO1, occludines) et d'adhérence qui limitent les passages paracellulaires de molécules potentiellement pathogènes (Castro-Sánchez et Martín-Villa 2013).

Un autre « organisme » joue son rôle dans la protection de la barrière intestinale : le microbiote. Il influence le recrutement de cellules immunitaires, la prolifération cellulaire intestinale et l'absorption des lipides, contribuant à maintenir la paroi intestinale comme barrière aux pathogènes (Caricilli, Castoldi, et Câmara 2014).



<u>Figure 5</u> : L'intestin, barrière « impénétrable » contre les pathogènes. D'après (Garrett, Gordon, et Glimcher 2010)

2. Digestion des triglycérides alimentaires

L'appareil digestif de l'Homme est capable de digérer et d'absorber 95 % des lipides ingérés. La première étape de la digestion est l'hydrolyse des TG en DAG et en AG. La lipase gastrique est

activée en milieu acide et en absence de sels biliaires. L'activité de cette enzyme représente 10-30 % de l'activité lipasique et hydrolyse préférentiellement les TG contenant des AG à chaîne moyenne en position sn3 (Mu et Høy. 2004). L'arrivée du chyme stomacal acide contenant les lipides et les produits de digestion partielle au niveau du duodénum déclenche par un mécanisme neuro-hormonal l'activation des sécrétions pancréatiques et biliaires. Les sécrétions biliaires vont émulsifier les produits de l'hydrolyse duodénale sous forme de micelles, tandis que les sécrétions pancréatiques, contenant notamment la lipase pancréatique et des PL, vont poursuivre l'hydrolyse des lipides. L'action de la lipase pancréatique est responsable de la majorité de l'activité lipasique. Elle est relarguée du tissu pancréatique vers le duodénum par l'action de la CCK et hydrolyse essentiellement les TG en position sn1 et sn3 libérant des 2-MG et des AG libres. L'activité de cette lipase nécessite l'action d'une colipase en présence de sels biliaires. La formation de complexe sels biliaires et colipase permet l'accrochage de la lipase pancréatique à l'interface des goutelettes lipidiques. Les micelles mixtes sont donc formées de ces produits d'hydrolyse, associées aux sels biliaires, phospholipides et aux stérols. Les AGLC et les 2-monoglycérides (MG) sont très peu solubles mais, sous forme de micelles mixtes, peuvent traverser la couche d'eau non agitée pour entrer en contact avec la muqueuse intestinale.

Compte tenu de la spécificité d'activité des lipases, la position des AG sur le glycérol est susceptible de moduler leur vitesse d'absorption. La lipase pancréatique présentent une plus faible activité pour des TG comportant des acides gras avec un nombre de double liaison supérieurs à 4 du fait de l'encombrement stérique. De plus, il a été montré que les AG sont plus rapidement absorbés sous forme de MG que sous forme libre. C'est probablement pourquoi, l'acide palmitique est mieux absorbé lorsque il est en position sn2 et est de ce fait plus athérogène (Lecerf et al., 2013 ; Raynal Ljutovac et al., 2011) . De plus, il a été montré chez le rat que la libération des AG par la lipase pancréatique et le taux de TG plasmatiques postprandiaux étaient plus importants pour les TG comportant un AG insaturé en position centrale (sn2) et des AG saturés (C8:0, C10:0, C16:0) en positions externes sn1 et sn3, plutôt que l'inverse. Ces données devraient être prises en compte dans l'évaluation des effets néfastes des AG en particulier les AG saturés. Par exemple, l'impact de l'acide palmitique de l'huile de palme, majoritairement en position sn1 et 3, sera différent de celui du saindoux où celui-ci est majoritairement en position 2 (tableau 2) (Raynal Ljutovac et al., 2011).

Tableau 2 : Localisation des principaux AG présents dans l'huile de palme, le saindoux et dans l'huile de tournesol en fonction de leur position sur le TG d'après (Raynal Ljutovac et al., 2011). *L : acide linoléique ; O : acide oléique ; P : acide palmitique ; S : acide stéarique*

		Localisation des principaux acides gras (% de l'acide gras sur chaque position sn = mole de l'acide gras sur la position sn considérée pour 100 mol de cet acide gras dans l'ensemble des TAG de cette matière grasse)					
Matières grasses (espèces de TAG majoritaires)	**Position sn sur le TAG**	**Acides gras courts et moyens (C4:0 à C12:0)**	**Acide palmitique (C16:0)**	**Acide stéarique (C18:0)**	**Acide oléique (C18:1 n-9)**	**Acide linoléique (C18:2 n-6)**	**Acide alpha-linolénique (C18:3 n-3)**
Huile de palme (POP, POO, POL)	% des AG totaux	0,1	43	6	39	10	0,3
	sn-1		41	27	25	30	ns
	sn-2	*C12:0 : 17*	9	Traces	62	60	ns
	sn-3		50	73	13	10	ns
Saindoux (SPO, OPL, OPO)	% des AG totaux	0,1	25	15	44	9	0,6
	sn-1	*C12:0 :ns*	23	54	43	35	ns
	sn-2	*C12:0 :ns*	61	8	13	26	ns
	sn-3	*C12:0 :ns*	16	38	44	39	ns
Huile de tournesol[2] (LLL, OLL, PLL)	% des AG totaux	-	7	4	23	65	ns
	sn-1,3		66	65	50	47	ns
	sn-2		34	35	50	53	

La cinétique d'absorption des lipides est aussi influencée par le pourcentage de lipides solides à température ambiante. En effet, la présence de TG sous forme solide limite leur hydrolyse par les enzymes digestives et donc leur absorption. La température de fusion élevée des TG riches en acides palmitique et stéarique serait responsable de la plus faible cinétique d'absorption de ces AG chez l'Homme (Raynal Ljutovac et al., 2011).

De plus, l'état de dispersion et d'émulsification de la matière grasse au sein d'une matrice alimentaire peut influencer la vitesse d'absorption des AG contenus dans cette matrice. Si la matière grasse est émulsionnée, l'absorption des AG est en général supérieure à celle d'une huile seule. Plusieurs hypothèses sont émises dans la littérature : l'existence de gouttelettes lipidiques au sein de l'émulsion qui augmente la vidange gastrique chez l'Homme ; l'interface lipide/eau favorisant l'ancrage de la lipase pancréatique stabilisée par sa colipase ; la présence de PL qui influencerait l'absorption des AG (Nishimukai et Hara 2007).

Suite à leur hydrolyse les AGLC sont captés au niveau de l'entérocyte et sécrétés sous forme de chylomicrons dans la lymphe puis dans le sang. Ce mécanisme correspond à l'absorption intestinale.

3. Absorption intestinale des AGLC au niveau entérocytaire

Les AGLC, à cause de leur grande hydrophobicité, contrairement aux AGCC et aux AGCM, présentent une absorption plus complexe que l'on peut découper en 3 grandes étapes :

- Le captage entérocytaire
- Le métabolisme intracellulaire : le traffic intracellulaire et la réestérification des AG en TG
- La synthèse et la sécrétion des chylomicrons

3.1. Le captage entérocytaire : rôle des Lipid Binding Protein (LBP) ?

La première étape de l'absorption intestinale des lipides alimentaires est le captage des AGLC, produits de digestion des TG au niveau entérocytaire. Comme mentionné précédemment, l'entérocyte est une cellule hautement polarisée qui possède une membrane apicale. Les microvillosités participent à l'augmentation de la surface d'échanges et forment la bordure en brosse. Associées au mucus et au glycocalyx, les microvillosités contribuent à la formation de la couche d'eau non agitée dont l'épaisseur est comprise entre 50 et 500 µm (Wilson, Sallee, et Dietschy 1971). Cette caractéristique, spécifique à l'intestin, constitue un environnement avec un pH plus faible dû à l'activité de pompes à protons (Shiau et al., 1985). Ainsi, le pH au niveau de la bordure en brosse étant inférieur au pKa des AGLC, ces derniers vont être massivement protonés, ce qui favorise leur captage par diffusion passive (Kamp et al., 1993). Cet environnement acide joue un rôle prépondérant dans le captage des AGLC puisque le blocage des pompes à protons (par de l'amiloride) entraîne une diminution dose-dépendante du captage des AGLC (Schoeller et al., 1995). L'existence d'un tel système, caractérisé par une faible affinité pour les AG et une forte capacité contribue à l'efficacité du captage des AGLC par l'intestin en période post prandiale, caractérisée par une arrivée massive de lipides dans la lumière intestinale. Néanmoins, un autre système de captage au niveau entérocytaire a été suggéré par l'existence de LBP membranaires : CD36, la cavéoline 1, la FATP4 (Fatty Acid Transport Protein 4), Quant à la FABPpm, cette protéine initialement décrite comme une LBP, s'est révélée être une aspartate aminotransférase dont le rôle physiologique dans le mécanisme d'absorption des lipides n'est pas élucidé à l'heure actuelle (Buttet et al., 2014). C'est pourquoi, elle ne sera pas détaillée par la suite.

**CD36 n'est pas un transporteur efficace des AGLC en période post prandiale*

CD36 est exprimé au niveau de la membrane de la bordure en brosse des entérocytes situés dans les deux tiers supérieurs des villosités de l'intestin proximal des rongeurs (Poirier et al., 1996) et de l'Homme (Lobo et al., 2001). Son expression est corrélée à la teneur en lipides dans le régime, un régime pauvre en lipides étant associé à une diminution de son expression (Sukhotnik et al., 2001) et un régime hyperlipidique (HL) l'induisant fortement (Poirier et al., 1996).

Si CD36 est rapporté comme étant un transporteur aux AGLC au niveau du muscle et du tissu adipeux (Ibrahimi et Abumrad 2002), sa contribution dans le captage des AGLC au niveau intestinal est discutée. En effet, les résultats obtenus à partir d'entérocytes isolés de souris CD36 (-/-) sont contradictoires et reportent, soit une diminution du captage uniquement pour les AG à très longue chaîne (Nassir et al., 2007) soit aucun effet (Drover et al., 2005). Des résultats récents du laboratoire utilisant la technique de l'anse jéjunale isolée *in situ*, un modèle proche de la situation physiologique (conservation de la couche d'eau non agitée) ont démontré que, chez la souris, la délétion de CD36 n'a pas d'impact sur la capacité de captage intestinal des AGLC (Tran et al., 2011). Ces données contribuent sans doute à expliquer pourquoi les souris CD36 (-/-) ne présentent pas d'augmentation de la perte fécale en lipides (Nauli et al., 2006), excepté pour les AG à très longue chaîne (Drover et al., 2008).

Ceci est finalement cohérent avec le fait que la couche d'eau non agitée assure le maintien d'un captage efficace des AGLC sous forme protonée par diffusion passive, et que les concentrations en AGLC au niveau de la lumière intestinale en période post prandiale dépassent largement la capacité de liaison de CD36 puisqu'elles sont de l'ordre du nM (Buttet et al., 2014). Même si CD36 ne semble donc pas être indispensable au captage des AGLC, sa délétion altère la production de CM chez l'Homme et l'animal ((Masuda et al., 2009) ; (Drover et al., 2005)) suggérant qu'il exerce une autre fonction indispensable au mécanisme d'absorption des lipides alimentaires. Les diverses fonctions de CD36 seront détaillées en 3ème partie de cette synthèse bibliographique.

**Cavéoline 1*

Les cavéolines sont de petites protéines de 21 à 24 kDa, situées au niveau de la membrane plasmique au niveau des radeaux lipidiques. Les 3 membres de cette famille de protéines (cavéolines 1, 2 et 3) sont exprimés dans l'intestin. Les cavéolines 1 & 2 sont ubiquitaires, et la cavéoline 3 exclusivement musculaire (Li et al., 2001). L'implication de la cavéoline 1 dans le captage des AG est étayée par deux caractéristiques de cette protéine : elle a été démontrée comme étant une LBP (Trigatti, Anderson, et Gerber 1999) et elle est indispensable à la formation des cavéoles et des vésicules d'endocytose qui en sont issues (Siddiqi et al., 2013). Les cavéoles sont des invaginations de la membrane plasmique d'un diamètre de 60 à 80 nm ayant de nombreux rôles et servant en particulier de plateforme pour plusieurs voies de signalisation. De plus, elles représentant une voie d'endocytose clathrine indépendante (Lajoie et Nabi 2010). L'endocytose *via* les cavéoles pourrait constituer une voie d'entrée des AG dans les entérocytes, comme c'est le cas dans les adipocytes (Pilch et al., 2007). Plusieurs arguments étayent cette hypothèse. Tout d'abord, il a été mis en évidence que des cavéoles sont présentes au niveau de la bordure en brosse des entérocytes (Field et al., 1998). Ensuite, les cavéoles sont des domaines particuliers des radeaux lipidiques et sont de ce fait résistants aux détergents, ce qui leur permet de concentrer de grandes quantités d'AG au niveau de la membrane de

la bordure en brosse sans que ce phénomène ne devienne délétère (Pilch et al., 2007). De plus, il vient d'être récemment montré que le captage des AGLC est cavéole-dépendant puisqu'une charge en lipides conduit à l'apparition de vésicules d'endocytose contenant de la cavéoline 1 dans le cytoplasme (Siddiqi et al., 2013). Par ailleurs, la cavéoline 1 semble aussi jouer un rôle dans l'adressage et la stabilisation de CD36 à la surface de la membrane plasmique (Ring et al., 2006). La contribution de la caveoline 1 semble significative puisque les souris cavéoline 1 (-/-) présentent une stéatorrhée plus importante que les souris sauvages en régime HL. Ces éléments, en plus d'un défaut de captage des AG au niveau du tissu adipeux, pourraient d'ailleurs contribuer à expliquer pourquoi les souris cavéoline 1 (-/-) sont résistantes à l'obésité induite par un régime HL (Razani et al., 2002).

**FATP4 : en charge du captage des AGLC ou une AcylCoA Synthétase (ACS) ?*

La famille des FATP compte cinq isoformes chez les rongeurs et six chez l'Homme (Hirsch, Stahl, et Lodish 1998). Seule la FATP4 est exprimée de manière significative au niveau intestinal. Son expression est maximale dans le jéjunum mais également au niveau du duodénum et de l'iléon (Stahl et al., 1999). Elle est exprimée au niveau apical des entérocytes et au niveau du RE. Le rôle de FATP4 dans le captage des AGLC a été proposé par la mise en évidence d'une corrélation entre le niveau d'expression de la FATP4 et l'efficacité de captage des AGLC. En effet, des entérocytes isolés de souris délétées pour un seul allèle de FATP4, et présentant une diminution de 48% de l'expression de la protéine, ont une capacité de captage des AGLC diminuée de 40% (Gimeno et al., 2003). De plus, l'invalidation de FATP4 au niveau d'entérocytes isolés de souris diminue de 50% le captage de l'acide oléique (Stahl et al., 1999). Mais ces résultats ont été obtenus *in vitro* sur des cellules qui n'avaient pas de couche d'eau non agitée au niveau des entérocytes, ne représentant par conséquent pas vraiment les conditions physiologiques de captage des AGLC en période post prandiale.

Plus récemment, la structure de FATP4 a été mieux identifiée et semble peu adaptée à son rôle pré-supposé de transporteur. En effet, la protéine FATP4 est essentiellement cytosolique et possède un unique segment transmembranaire et un court domaine extracellulaire N terminal ne possédant pas de site de liaison aux AGLC ((Gertow et al., 2004) ; (Stahl et al., 2001)). En revanche, la FATP4 présente une activité AcylCoA synthetase (ACS) pour les AGLC et les AG à très longue chaîne (Hall et al., 2005). L'activité ACS de la FATP4 pourrait conduire à une acylation vectorielle des AGLC entrant dans la cellule, qui seraient alors activés sous la forme d'acyl-CoA (Ellis et al., 2010), ce qui contribuerait à maintenir un gradient favorable d'AGLC rentrant de façon passive dans la cellule. L'expression de FATP4 au niveau du RE, c'est-à-dire au niveau du site de ré-estérification des AGLC en TG, est en accord avec une telle hypothèse. L'ensemble de ces données indique que FATP4 ne serait pas un transporteur efficace aux AGLC au niveau entérocytaire, mais que son rôle serait de favoriser de façon indirecte leur captage. Cette hypothèse a d'ailleurs été étayée par des données obtenues *in vivo*. L'invalidation totale de FATP4 n'étant pas viable, l'obtention de souris FATP4 (-/-), mais exprimant FATP4 spécifiquement au niveau des kératynocytes, a permis l'étude de cette

déficience au niveau intestinal. Chez ces souris, la délétion intestinale de FATP4 n'affecte pas le captage net des AGLC ni la cinétique de captage (pas d'augmentation de la perte fécale en lipides), sans augmentation compensatoire de l'expression d'autres LBP (Shim et al., 2009). Toutefois, une tendance à l'accumulation de TG est observée au niveau entérocytaire chez ces souris si elles sont soumises à un régime HL. La question qui reste posée est de savoir quelle est la contribution de FATP4 dans l'activité ACS intestinale. Des travaux récents ont mis en évidence que l'activité ACS intestinale est due à la FATP4 mais surtout à l'*acylCoA synthetase long chain 5* (ACSL5) qui représenterait 60 % de l'activité ACS totale (Meller et al., 2013).

Ces données montrent ainsi que la FATP4 n'est pas nécessaire au captage intestinal des AGLC, mais que cette LBP serait impliquée dans leur incorporation dans les lipoprotéines intestinales riches en TG *via* son activité ACS. Cette hypothèse est étayée par le fait, qu'une diminution de l'expression de FATP4 chez la souris (Frochot et al., 2012) et que le polymorphisme Gly-209-Ser sur le gène codant pour FATP4 chez l'Homme (Gertow et al., 2004) sont accompagnés d'une diminution de l'hypertriglycéridémie post prandiale. Enfin, l'équipe de Schneider a montré, sur des cellules épithéliales rénales (MDCK), que l'activité de la FAPT4 est sans doute associée à celle de CD36. En effet, une surexpression de ces 2 protéines est corrélée avec l'augmentation du captage de l'oléate au niveau de ces cellules. La FATP4 coopérerait aussi avec l'ACSL1, résultat en accord avec l'hypothèse selon laquelle la FATP4 participerait au maintien d'un gradient d'AG favorable à leur captage (Schneider et al., 2014).

3.2. Traffic cytosolique des AGLC

Dans le cytoplasme, de part leur nature hydrophobe et leurs propriétés détergentes, les AGLC, qui ne seraient pas transportés par les vésicules d'endocytose contenant de la cavéoline 1, sont pris en charge par des protéines de la famille des Fatty Acid-Binding Proteins (FABP) qui sont de petites protéines de 14-15 kDa, avant de rejoindre leur site de ré-estérification en TG.

Les FABP ont une grande affinité pour les molécules hydrophobes et lient en particulier les AGLC de façon covalente et réversible. L'intestin est le seul organe qui exprime en grandes quantités deux FABP différentes : l'*intestinal* FABP (I-FABP) et la *liver* FABP (L-FABP), qui possèdent des propriétés fonctionnelles différentes. Lors de l'entrée des AGLC dans l'entérocyte, leur prise en charge par ces deux FABP participe au maintien d'un gradient de concentration favorable à leur entrée dans la cellule (Niot et al., 2009).

La I-FABP est exprimée uniquement dans l'intestin et ne lie que les AGLC, avec une stœchiométrie d'une mole d'AGLC pour une mole de protéine. La liaison et le transfert d'un AGLC par la I-FABP s'effectuent selon un mécanisme collisionnel impliquant des interactions ioniques entre la protéine et

les PL anioniques de la membrane. Ce mécanisme de liaison suggère que la I-FABP assurerait un transport vectoriel des AGLC depuis la membrane de la bordure en brosse vers le RE, lieu de leur réestérification. Ce mécanisme est en adéquation avec le fait que la majorité des AGLC arrivant au pôle apical des entérocytes soit prise en charge par la I-FABP.

Chez l'Homme, le polymorphisme Ala54Thr, initialement mis en évidence chez les Indiens Pima (Baier et al., 1995) est associé à une hypertriglycéridémie et une insulino-résistance. La protéine mutée présente une affinité deux fois plus grande pour les AGLC, ce qui explique l'augmentation du captage des AGLC, la synthèse des TG et la sécrétion de lipoprotéines riches en TG. De plus, la surexpression de la I-FABP dans des cellules Caco-2 est associée à une diminution de la synthèse et de la sécrétion de lipoprotéines (Levy et al., 2009).

L'ensemble de ces données suggère que des modifications des propriétés de liaison ou de l'expression de la I-FABP pourraient avoir des conséquences sur l'absorption intestinale des lipides. Or, les souris I-FABP (-/-) ne présentent pas de malabsorption des lipides (Vassileva et al., 2000). En fait, les souris mâles I-FABP (-/-) ont un phénotype proche de celui observé dans le cas du polymorphisme humain Ala54Thr, avec un gain de masse supérieur à celui des souris sauvages, une hypertriglycéridémie et une insulino-résistance. Même si les mécanismes impliqués ne sont pas encore clairement définis, ces données suggèrent que la I-FABP, uniquement exprimée au niveau intestinal, pourrait jouer un rôle important dans le métabolisme des lipoprotéines.

La L-FABP est, quant à elle, exprimée au niveau de l'intestin, du foie et des reins. Sa poche hydrophobe est pratiquement deux fois plus large que celle de la I-FABP, lui permettant d'une part de lier deux AGLC, et d'autre part, de lier une plus grande variété de ligands (acides biliaires, hème, acyl-CoA, eicosanoides (Niot et al., 2009). De plus, l'un des deux sites de liaison aux AGLC de la L-FABP présente une plus grande affinité pour les AGLC insaturés que celui de la I-FABP. Contrairement à la I-FABP, la liaison et le transfert d'AGLC par la L-FABP se font par diffusion aqueuse. Son expression est maximale dans l'intestin proximal, lieu majeur de l'absorption des lipides (Neeli et al., 2007).

Plus récemment de nouvelles fonctions pour ces protéines ont été découvertes comme par exemple dans les entérocytes, où la L-FABP a été retrouvée au niveau de la zone de bourgeonnement des vésicules de transport des pré-CM, les PCTV, au niveau de la membrane du RE (Siddiqi et al., 2010) et semble indispensable au bourgeonnement de ces PCTV (Neeli et al., 2007; Siddiqi et al., 2010). En effet, les souris L-FABP (-/-) présentent une diminution de 40 % de leur activité de bourgeonnement des PCTV. Cette fonction expliquerait pourquoi les souris L-FABP (-/-) soumises à une charge en lipides présentent une rétention de TG entérocytaire associée à une diminution de la sécrétion intestinale (Newberry et al., 2006).

Dans l'entérocyte, la I et la L-FABP ne jouent donc pas seulement un rôle dans le captage et le trafic intracellulaire des AGLC. Leurs propriétés respectives pourraient être approfondies à l'aide de modèles déficients pour les deux FABP.

3.3. Réestérification des AGLC en TG

Les AGLC une fois transférés vers le RE sont « activés » en Acyl-CoA (AGLC-SCoA) par une ACS, avant d'être ré-estérifiés en TG. Dans l'entérocyte, la synthèse des TG peut se faire selon 2 voies métaboliques différentes :

- La voie du 2-monoacylglycérol spécifique de l'intestin et voie majoritaire à 80 % en période post prandiale
- La voie de l'α-glycérophosphate minoritaire dans ce tissu, représentant environ 20 % de la ré-estérification totale des TG au niveau intestinal (Breckenridge et Kuksis 1975).

La voie du 2-monoacylglycérol est sous le contrôle de différentes enzymes dont l'action est successive : les MonoacylGlycérol AcylTransferase (MGAT) et les DiacylGlycérol AcylTransferase (DGAT). La MGAT catalyse la première réaction de re-synthèse des TG en agissant préférentiellement sur le sn-2 monoacylglycérol et en produisant un 1,2 DG. Il existe 3 isoformes de MGAT mais seule la MGAT2 est exprimée au niveau du jéjunum (Cao, Burn, et Shi 2003). L'expression de la MGAT2 ainsi que son activité sont augmentées en régime HL (Cao et al., 2004). De façon intéressante, les souris MGAT2 (-/-) présentent une diminution de l'absorption des AGLC et sont résistantes à l'obésité (Tsuchida et al., 2012). La MGAT3 est en revanche localisée au niveau de la partie distale de l'intestin et n'est pas régulée par les lipides alimentaires.

Les DGAT catalysent la dernière étape de formation des TG à partir du 1,2-DG et d'un acylCoA. Cette enzyme membranaire existe sous 2 isoformes : la DGAT1 et DGAT2, qui possèdent des structures différentes. Les deux isoformes sont présentes au niveau intestinal, mais la DGAT1 est la plus exprimée. L'activité de la DGAT1 est prépondérante sur celle de la DGAT2 puisque les souris déficientes en DGAT1 présentent une diminution de 85 à 90 % de l'activité diacyltransférase. Les souris DGAT1 (-/-) présentent une résistance à l'obésité induite par un régime HL qui semble due en partie à une altération du mécanisme d'absorption (Smith et al., 2000). En effet, ces souris en régime HL ont une rétention entérocytaire de TG et une diminution de la sécrétion des CM. L'inhibition pharmacologique de la DGAT1 est associée à une perte de poids et à une diminution de la prise alimentaire, suggérant une piste thérapeutique dans le contrôle de la satiété et la régulation de l'hypertriglycéridémie post prandiale en cas de surpoids ou d'obésité ((Zammit et al., 2008) ; (Pirillo, Norata, et Catapano 2014)). Cette hypothèse est supportée par le fait que la DGAT1 a été impliquée dans la sécrétion de GLP1 et PYY, 2 hormones régulant la prise alimentaire. Les souris DGAT1 (-/-)

présentent en effet une diminution de la sécrétion de GLP1 et PYY 1h après un bolus d'huile de maïs (Okawa et al., 2009).

Plus récemment, la DGAT2 a été impliquée dans le développement des gouttelettes lipidiques en étant présente non seulement au niveau du RE mais aussi directement au niveau des gouttelettes lipidiques. L'invalidation totale de DGAT2 étant léthale chez la souris, il a été montré que la surexpression de la DGAT2 chez des souris DGAT1 (-/-) ne suffit pas à éviter l'accumulation entérocytaire de TG (Uchida et al., 2013). A l'inverse, la présence de DGAT1 ne suffit pas à compenser la perte de DGAT2, mettant en exergue le fait que la DGAT1 et DGAT2 possèdent des fonctions spécifiques. Cet argument est corroboré par le fait que la DGAT1 est plus orientée du côté de la lumière du RE et serait plus impliquée dans l'estérification des TG directement utilisés pour la synthèse des chylomicrons alors que la DGAT2 orientée du côté cytosolique, orientant les TG synthétisés vers le stockage sous forme de TG dans des gouttelettes lipidiques au niveau entérocytaire (Niot et al., 2009).

Les fonctions des 2 DGAT exprimées au niveau intestinal seraient ainsi complémentaires, et assureraient l'équilibre entre le stockage entérocytaire d'un pool de TG et la synthèse de lipoprotéines. Cet équilibre participe sans doute à la régulation de la triglycéridémie post prandiale et interprandiale *via* l'utilisation des TG stockés. Le rôle important de ces gouttelettes lipidiques, au niveau intestinal, a été conforté par le fait que les TG des gouttelettes lipidiques sont sécrétés sous forme de CM dans les 10 à 30 premières minutes du repas suivant (Mattes et al., 2002).

3.4. Synthèse et sécrétion des chylomicrons (figure 11)

L'intestin sécrète 3 types de lipoprotéines : les HDL, les VLDL et les CM. En période post prandiale, les HDL riches en cholestérol et les CM riches en TG sont majoritairement synthétisés puis sécrétés. Notons que 70 % du cholestérol est véhiculé par les CM (Hussain 2014). Ce travail ne s'attachant qu'aux TG alimentaires, nous ne développerons que les mécanismes de synthèse et de sécrétion des chylomicrons.

Les chylomicrons sont composés de 85 % de TG, 8 % de PL, 3 % d'esters de cholestérol, 2 % cholestérol libre et 1 % de protéines. Ces lipoprotéines vont délivrer après leur passage dans la lymphe puis dans le sang, les lipides alimentaires au niveau des tissus utilisateurs (cœur, muscle…) ou au niveau de tissu adipeux où ils seront stockés. Les CM sont donc composés d'un cœur hydrophobe composé de TG et d'esters de cholestérol et d'une surface plus hydrophile composée de PL et de cholestérol, d'une apo lipoprotéine B48 (ApoB48) spécifique des CM et d'autres apolipoprotéines telles que l'ApoAI, AIV, l'ApoCII et l'ApoCIII (figure 6).

Les CM sont des particules légères (d<1,0006 g/ml) et de taille hétérogène, suivant l'efficacité de synthèse de celles-ci, et suivant les conditions physiologiques et nutritionnelles (chez l'Homme leur taille varie de 80 à 1200nm) (figure 6).

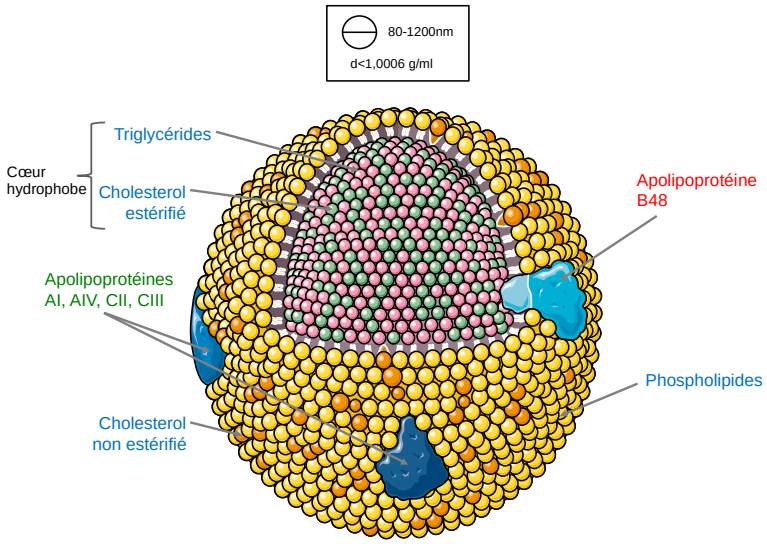


Figure 6 : Structure et caractéristiques physico-chimiques d'un chylomicron. *d : densité* . D'après (Hussain 2014).

**Formation des pré-CM*

Il est maintenant admis que l'assemblage des pré-chylomicrons (pré-CM) se déroule en 2 étapes indépendantes (Cartwright et Higgins 2001) :

- La première étape est la production d'une lipoprotéine primaire au niveau du RE rugueux, constituant des particules de haute densité, contenant de l'ApoB48, des PL, du cholestérol et une petite quantité de TG, transloqués par la Microsomal Triglyceride Transfer Protein (MTP).
- La deuxième étape est la fusion de ces particules primaires avec des gouttelettes riches en TG et en esters de cholestérol. Cette fusion conduit à la formation des pré-CM (figure 8).

Les deux protéines limitantes de la formation des pré-CM sont : l'ApoB48 et la MTP.

L'ApoB48 est une forme tronquée de l'ApoB100 (48 % de la partie N terminale), codée par le gène *APOB*, de 250kDa environ. Chez l'Homme et chez le rat, c'est la seule forme d'ApoB synthétisée au niveau intestinal tandis que chez la souris, l'ApoB48 est aussi sécrétée par le foie.

La synthèse de l'ApoB48 est sous le contrôle de l'Apobec1, enzyme qui catalyse la réaction de la désamination d'une cytidine en uracile (C en U) au niveau de l'ARNm *APOB*, ce qui conduit à la formation d'un codon stop.

L'ApoB48 est rapidement dégradée après sa synthèse par le système ubiquitine-protéasome si une quantité de lipides est insuffisante pour la lipider (Mansbach et Siddiqi 2010). La régulation de l'ApoB48 est importante puisqu'elle conditionne le nombre de CM (une ApoB48 / CM). L'importance de l'Apobec1 a été récemment mise en évidence par le fait que les souris Apobec1 (-/-) invalidées spécifiquement au niveau intestinal présentent une altération de la production des CM (Blanc et al., 2012), avec une accumulation entérocytaire de TG et une réduction du transport lymphatique de TG. L'activité de transfert de TG de la MTP et la synthèse de l'ApoAIV étant similaire chez ces animaux, cette altération de la synthèse des chylomicrons est donc due à l'absence de l'ApoB48. Ces observations démontrent le rôle fonctionnel non interchangeable de l'ApoB48 et de l'ApoB100. L'ApoB48 est induite en cas de régime HL (Xie et al., 2003).

La MTP, responsable de la lipidation de l'ApoB48 (formation de la lipoprotéine primaire), est localisée au niveau du RE (figure 7). Elle est constituée de 2 sous-unités : une large sous-unité de 97kDa responsable de la liaison et du transfert des lipides, et une sous-unité plus petite de 55kDa, qui possède une fonction isomérase di-sulfide, et qui permet l'accrochage de la MTP au niveau de la membrane du RE. Elle a la faculté de se lier à l'ApoB48 pour éviter sa dégradation. *Ex vivo*, il a été montré au laboratoire que les AGLC induisent l'expression de la MTP au niveau de segments jéjunaux en culture chez la souris (Tran et al., 2011). De plus, *in vivo*, un gavage d'huile Isio4 induit dès 1h l'expression protéique de la MTP chez la souris (Tran et al., 2011). La délétion spécifique de la MTP au niveau intestinal conduit à une accumulation de gouttelettes lipidiques dans le cytoplasme associée une diminution importante de la sécrétion des CM (Xie et al., 2006). Ce défaut de synthèse des CM est associé à un défaut d'absorption puisque ces souris présentent une stéatorrhée et un arrêt de croissance (Xie et al., 2006). Il est intéressant de noter que les Hommes mutés pour le gène de la MTP présentent le même phénotype et une diminution de l'absorption du cholestérol, correspondant aux critères de diagnostic de l'abetalipoprotéinémie chez l'Homme. De nouvelles mutations dans le gène *Mttp* chez des enfants tunisiens souffrant de cette maladie ou de la maladie de rétention des CM ont été découvertes et soulignent l'importance de cette protéine dans la formation et la sécrétion des chylomicrons ((Magnolo et al., 2013) ; (Wetterau et al., 1992)).

La MTP est également impliquée dans la 2ème étape de la formation des pré-CM, c'est-à-dire la fusion de gouttelettes riches en lipides neutres (TG et esters de cholestérol) et dépourvues d'ApoB48 avec la lipoprotéine primaire (figure 7). Les TG sont synthétisées dans la lumière du RE (Mansbach et Siddiqi 2010). Les deux étapes limitantes dépendraient de la quantité de lipides alimentaires : en cas de régime peu riche en lipides, l'étape limitante serait la translocation de lipoprotéine primaire vers le RE, mais

en cas de régime riche en lipides, l'étape de fusion avec la gouttelette lipidique deviendrait l'étape limitante (Kendrick, Chan, et Higgins 2001).

L'ApoAIV est une autre apolipoprotéine, de 46kDa présente à la surface des pré-CM. Chez l'Homme, l'ApoAIV circulante provient exclusivement de l'intestin, contrairement aux rongeurs, où elle est synthétisée dans l'intestin et le foie. Sa participation à l'absorption est soutenue par plusieurs arguments de la littérature : 1) L'inhibition de la synthèse des CM par le PL-81, inhibe la sécrétion de l'ApoAIV (Tso et Liu. 2004), 2) Le taux d'ARNm d'ApoAIV est multiplié par 5 durant l'absorption des AGLC 3) Sa délétion affecte le traffic de l'apoB au niveau entérocytaire (Kohan et al., 2012) 4) L'ApoAIV favorise la formation de CM de grande taille (Mansbach et Gorelick 2007). Durant l'hydrolyse des CM au niveau sanguin, l'ApoAIV est libérée sous forme libre, ce qui constituerait un signal de satiété, participant à la régulation de la prise alimentaire (Tso et Liu. 2004).

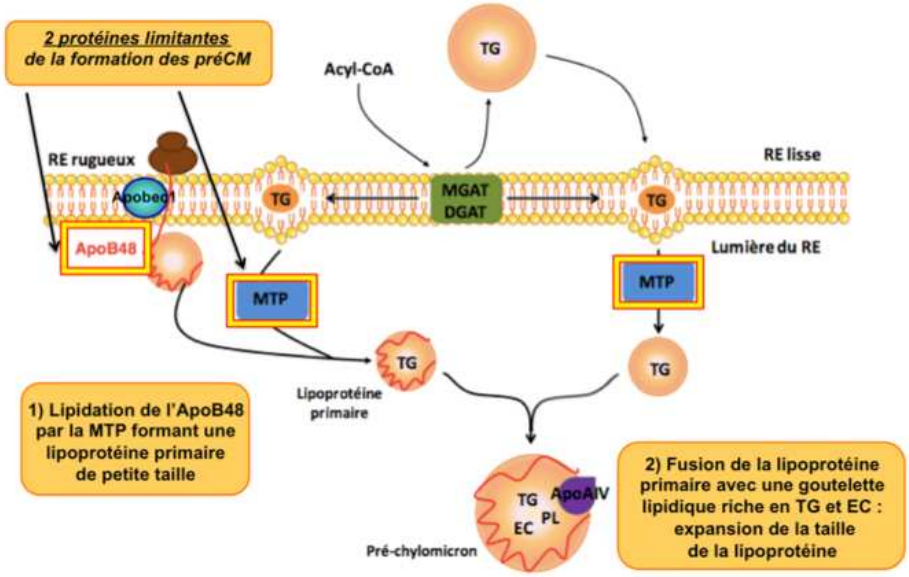


Figure 7 : Schéma de la formation des pré-CM au niveau du réticulum endoplasmique d'après (Abumrad et Davidson 2012). *ApoAIV : apolipoprotéine AIV ; ApoB48 : apolipoprotéine B48 ; CM : chylomicron, DGAT : DiacylGlycérol AcylTransferase ; EC : Ester de Cholestérol, MGAT : MonoacylGlycérol AcylTransferase ; MTP : Microsomal Triglyceride Transfer Protein ; PL : phospholipide ; RE : Reticulum Endoplasmique ; TG : triglycérides.*

**Transport des pré-CM vers l'appareil de Golgi et processus de maturation*

Etant donné la grande taille des pré-CM après fusion avec les gouttelettes, leur transport vers l'appareil de Golgi nécessite la formation de grandes vésicules d'environ 250nm de diamètre : les PCTV. Ces vésicules sont générées à partir de la membrane du RE et contiennent un pool de protéines nécessaires au transport, au ciblage et à leur fusion avec le Golgi (figure 8).

L'initiation du bourgeonnement des PCTV est sous le contrôle en partie de la L-FABP (Wong et al., 2010). Un complexe protéique nommé coating proteins complex II (COPII) contenant en particulier Vesicle-Associated Membrane Protein 7 (VAMP7*)*, est nécessaire au bourgeonnement et à la fusion des PCTV avec le Golgi (Siddiqi et al., 2006). De plus, la Secretion Associated, Ras related GTPase 1B (Sar1b*)*, également constitutive de COPII, est nécessaire à l'étape de fusion avec le Golgi puisque les souris Sar1b (-/-) présentent une séquestration des PCTV au niveau cytosolique et une forte diminution de sécrétion des CM. La mutation Sar1, est à l'origine de la maladie de rétention de chylomicrons, nommée maladie d'Anderson (Shoulders, Stephens, et Jones 2004), démontrant le caractère essentiel de cette protéine dans la synthèse des CM. La surexpression de Sar1b entraîne une induction de la sécrétion de TG, confirmant que cette protéine influence directement la sécrétion de CM (Levy et al., 2014). Le mécanisme moléculaire à l'origine de la formation de ces PCTV qui constitue une étape limitante de l'absorption des lipides, n'est pas encore totalement élucidé. Il est connu que ce mécanisme nécessite de l'ATP et l'activation d'une kinase la PKCζ (Siddiqi et Mansbach 2008) et la présence de CD36. En effet, les souris CD36 (-/-) auraient une moindre capacité à former des PCTV (Siddiqi et al., 2010).

Au niveau du golgi, les CM subissent un processus de maturation caractérisé par des phénomènes de glycosylation (Berriot-Varoqueaux et al., 2001) et un ajout d'apolipoprotéines telles que l'ApoCII, ApoCIII et l'ApoAI ((Mansbach et Siddiqi 2010) ; (Mansbach et Gorelick 2007)) (figures 8 & 10).

La fonction de ces ApoC au niveau de l'entérocyte n'est pas encore clairement déterminée. En effet, récemment, il a été montré que la surexpression de l'ApoC3 chez la souris, conduit à une diminution de sécrétion de TG au niveau lymphatique, liée à une diminution de la ré-estérification des AG en TG qui a lieu au niveau du RE. Ces derniers travaux pourraient suggérer l'existence d'un rétrocontrôle (Wang et al., 2014).

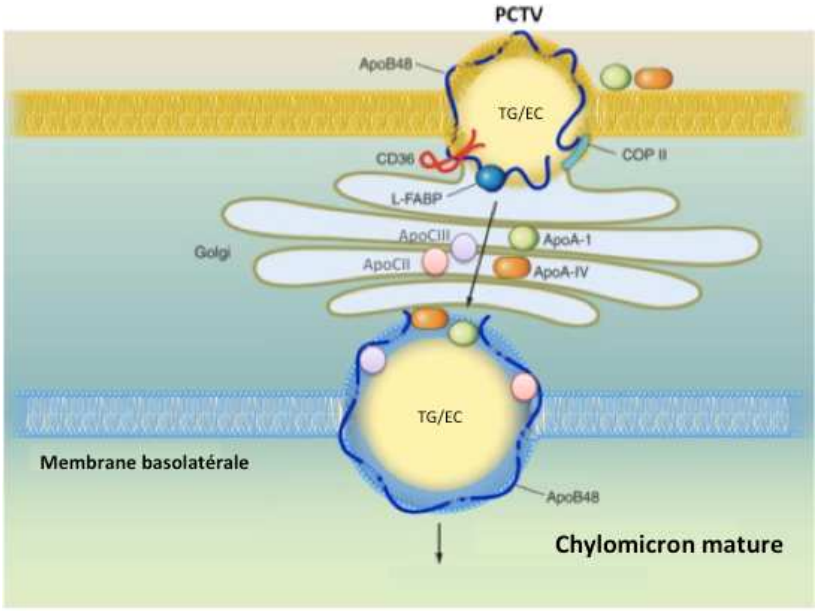


Figure 8 : Schéma du transport des PCTV et de la maturation des CM d'après (Abumrad et Davidson 2012). *ApoAI : apolipoprotéine AI ; ApoAIV : apolipoprotéine AIV ; ApoB48 : apolipoprotéine B48 ; ApoCII : apolipoprotéine CII ; ApoCIII : apolipoprotéine CIII ; CM : chylomicron ; COPII : coat protein complex II ; EC : Ester de Cholestérol ; L-FABP : Liver-Fatty Acid Binding Protein ; PCTV : Pre-Chylomicron Transfer Vesicles ; TG : triglycéride.*

Les propriétés fonctionnelles de chaque LBP, et plus particulièrement l'impact de leur délétion sur l'absorption des lipides, la rétention de TG et l'hypertriglycéridémie post prandiale, sont détaillées en tableau 3.

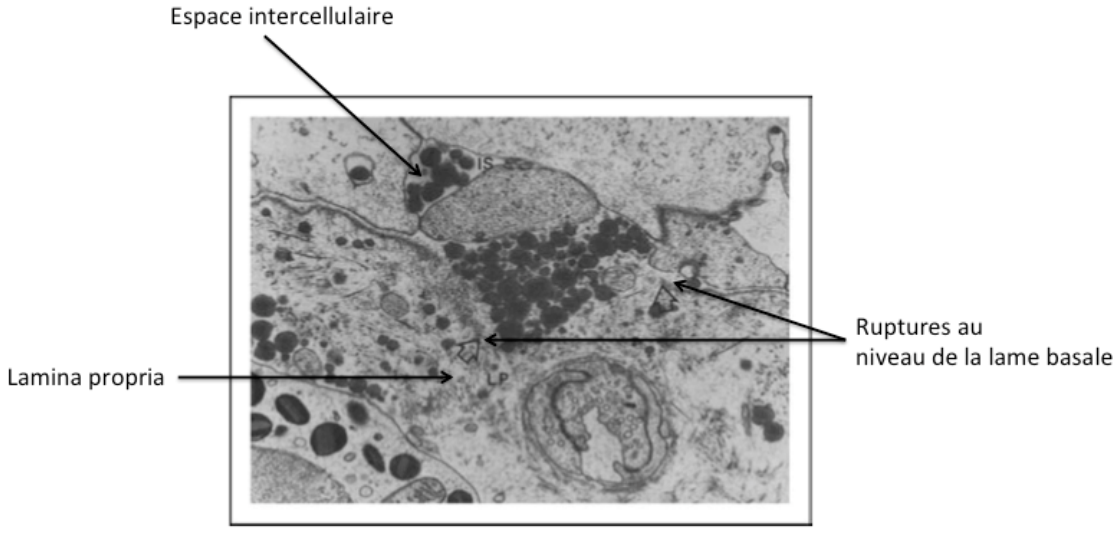
Tableau 3 : Propriétés fonctionnelles des LBP entérocytaires. *AGLC : Acide Gras à Longue Chaîne ; ApoAIV : apolipoprotéine AIV ; DGAT1 : DiacylGlycérol AcylTransferase 1 ; FABPpm : Fatty Acid Binding Protein plasma membrane ; FATP4 : Fatty Acid Transfer Protein ; HL : Hyperlipidique ; I-FABP : Intestinal Fatty Acid Binding Protein ; L-FABP : Liver Fatty Acid Binding Protein ; MGAT2 : MonoacylGlycérol AcylTransferase 2 ; MTP : Microsomal Triglyceride Transfer Protein ; RE : Réticulum Endoplasmique ; Sar1b : Secretion Associated Ras related GTPase 1B ; STD : standard ; TG : triglycéride ; Vamp7 : Vesicle-Associated Membrane Protein 7.*

LBP Localisation entérocytaire	Impact sur le captage intestinal des AGLC	Régulation par les lipides alimentaires	Impact de la délétion du gène		
			sur l'absorption des lipides	sur l'accumulation entérocytaire des TG	sur la triglycéridémie post prandiale
FABPpm Bordure en brosse et membranes latérales (Stremmel et al., 1985) Affinité : 80 nM	↑ (explants intestinaux) (Stremmel 1988)				
FATP-4 Bordure en brosse et/ou RE (Milger et al., 2006)	↑ (entérocytes isolés) (Stahl et al., 1999) ; (Gimeno et al., 2003)	↑ en régime HL (Petit et al., 2007)	Pas d'effet en régime STD et HL (Gimeno et al., 2003) ; (Shim et al., 2009)	Tend à ↑ (Shim et al., 2009)	↓ (Gertow et al., 2004) ; (Frochot et al., 2012)
Cavéoline 1	↑ (Siddiqi et al., 2013)		Stéatorrhée en Régime HL (Siddiqi et al., 2013)		↑ (Razani et al., 2002)
FAT/CD36 Bordure en brosse (Lobo et al., 2001) ; (Poirier et al., 1996) Affinité : ordre nM	Non (entérocytes isolés (Drover et al., 2005)) (anses intestinales *in situ* (Tran et al., 2011)	↑ en régime HL (de Wit et al., 2011) ; (Uchida et al., 2012) ; (Poirier et al., 1996) ↓ rapide après charge en lipides (Tran et al., 2011)	Pas d'effet en régime STD et HL (Nassir et al., 2007) ; (Drover et al., 2008) ; (Nauli et al., 2006)	Rétention en régime HL (Nassir et al., 2007) ; (Drover et al., 2005)	↑ (Nassir et al., 2007) ; (Drover et al., 2005) ; (Masuda et al., 2009) et ↓ sécrétion TG (petits CM) (Masuda et al., 2009) (Drover et al., 2005)
I-FABP Cytoplasme 1 site de liaison (Niot et al., 2009)	↑ (Atshaves et al., 1998) ; (Holehouse, Liu, et Aponte 1998)	↑ en régime HL (Petit et al., 2007) (Uchida et al., 2012)	Pas d'effet en régime STD et HL (Vassileva et al., 2000)		↑ chez le mâle uniquement (Vassileva et al., 2000) en régime STD et HL
L-FABP Cytoplasme 2 sites de liaison (Niot et al., 2009)	↑ (Atshaves et al., 1998) ; (Holehouse, Liu, et Aponte 1998) ; (Prows et Schroeder 1997)	↑ en régime HL (Petit et al., 2007) ; (Uchida et al., 2012) et ↑ 2h après une charge en lipides (Tran et al., 2011)	Pas d'effet en régime STD et HL (Newberry et al., 2003) ; (Newberry et al., 2006)	Pas d'effet en condition STD Rétention après une charge aigue en lipides (Newberry et al., 2006)	↑ (Newberry et al., 2006) avec ↓ sécrétion de TG intestinales après une charge en lipides

LBP Localisation entérocytaire	Impact sur le captage intestinal des AGLC	Régulation par les lipides alimentaires	Impact de la délétion sur l'absorption des lipides	Impact de la délétion sur l'accumulation entérocytaire de TG	Impact de la délétion sur la triglycéridémie post prandiale
MTP RE (Swift et al., 2005)		↑ en régime HL (Petit et al., 2007) ; (Lin et al., 1994)	Stéatorrhée (Xie et al., 2006)	Rétention importante (Xie et al., 2007)	↓ (Xie et al., 2007)
MGAT2		↑ en régime HL (Cao et al., 2004)	Pas d'effet mais absorption en partie distale en régime HL (Yen et al., 2009)	Rétention jéjunale (Yen et al., 2009)	↓ sécrétion TG (Yen et al., 2009) (Tsuchida et al., 2012)
DGAT1			Pas d'effet en régimes STD et HL (Buhman et al., 2002)	Rétention jéjunale (Buhman et al., 2002)	↓ sécrétion TG (Buhman et al., 2002)
ApoAIV		↑ en régime HL (Petit et al., 2007) ; (Apfelbaum, Davidson, et Glickman 1987)	Pas d'effet en régimes STD et HL (Simon et al., 2011)		↑ taille CM sécrétés (Mansbach et Gorelick 2007)
Apobec1				Rétention en cas de challenge lipidique (Lo et al., 2008)	↓ sécrétion TG après quantité de lipides (Lo et al., 2008)
Sar1b				Rétention (Shoulders, Stephens, et Jones 2004)	↓ sécrétion TG (Shoulders, Stephens, et Jones 2004) ; surexpression Sar1b : ↑ sécrétion TG (Levy et al., 2014)
Vamp7					↓ sécrétion (inhibition) (Siddiqi et al., 2006)

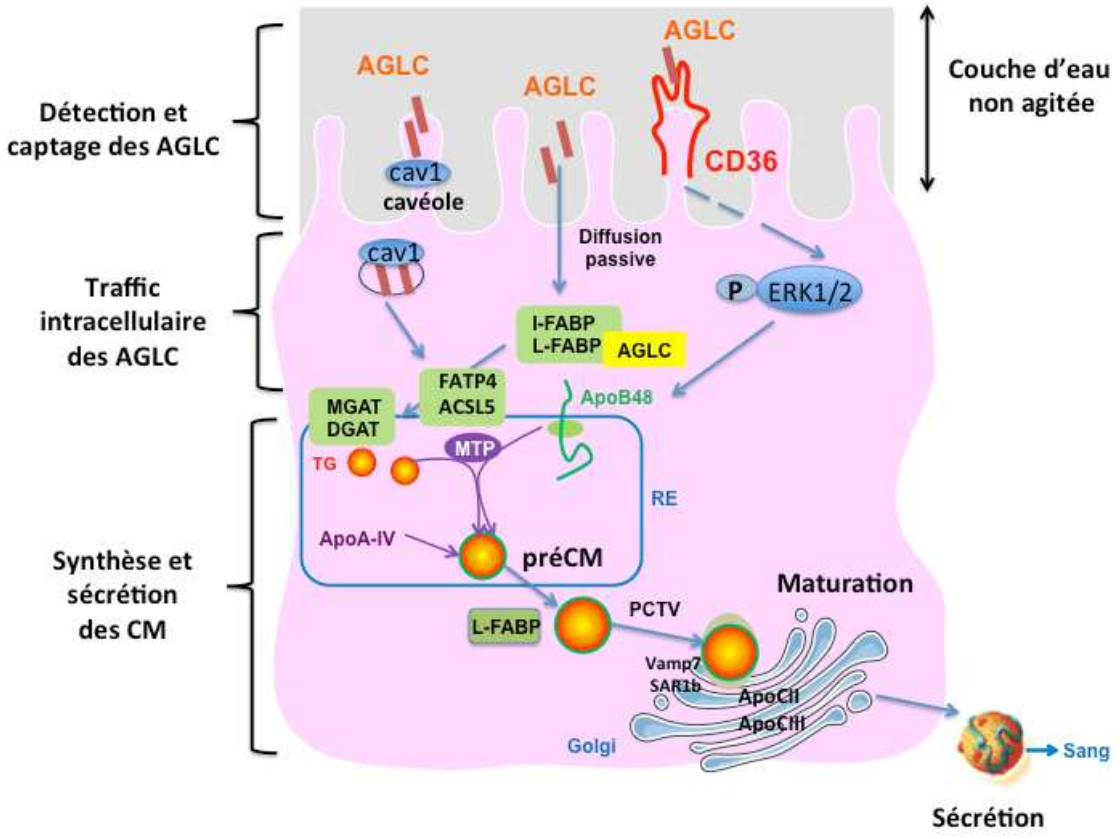
**Exocytose des CM*

Pour finir, des vésicules golgiennes permettent l'exocytose des CM par fusion avec les membranes basolatérales des entérocytes et leur sécrétion dans la lymphe *via* des chylifères au niveau de la lamina propria (figure 9). L'existence de la lame basale sur laquelle repose l'épithélium intestinal, entrave transitoirement le passage des CM de l'espace interstitiel vers la lamina propria (figure 9). L'accumulation des CM dans cet espace conduit par distension à une altération des jonctions serrées (Ji, Sakata, et Tso 2011) et, de ce fait, une altération transitoire de la perméabilité intestinale. Cette altération de l'intégrité de l'épithélium intestinal serait transitoire car réparée 50 minutes après l'absorption (Kvietys et al., 1991). Cette agression tissulaire pourrait expliquer pourquoi l'absorption intestinale des lipides s'accompagne de libération par l'entérocyte de cytokines pro-inflammatoires comme IL1β ou IL18 (de Wit et al., 2008) pour favoriser la réparation tissulaire (pour revue (Lissner et Siegmund 2011)) et stimule également le recrutement de lymphocytes et de macrophages (Ji, Sakata, et Tso 2011).



<u>Figure 9</u> : Exocytose des CM de l'entérocyte vers la lamina propria. D'après (Ji, Sakata, et Tso 2011). *Image au microscope électronique montrant une rupture au niveau de la membrane basale. Les CM migrent de l'espace intercellulaire (IS) vers la lamina propria (LP).*

Les principales étapes de la synthèse des chylomicrons sont résumées en figure 11.



<u>Figure 10</u> : Principales étapes de la formation des CM : le captage et la détection des AGLC, le traffic intracellulaire des AGLC et la synthèse des CM au niveau entérocytaire (Buttet et al., 2014). *ACSL5 : AcylCoA Synthase Long Chain 5 ; AGLC : Acide Gras Longue Chaîne ; ApoA-IV : apolipoprotéine A-IV ; ApoB48 : apolipoprotéine B48 ; ApoCII : apolipoprotein CII ; ApoCIII : apolipoprotein CIII ; Cav1 : caveoline 1 ; CM : chylomicron ; DGAT : DiacylGlycérol AcylTransferase ; ERK1/2 : Extracellular Regulated signal Kinases 1 & 2 ; I-FABP : Intestinal-Fatty Acid Binding Protein ; L-FABP : Liver-Fatty Acid Binding Protein ; MGAT : MonoacylGlycérol AcylTransferase ; MTP : Microsomal Triglyceride Transfer Protein ; PCTV : PréCM- Transfer Vesicles ; RE : Reticulum endoplasmique ; Sar1b : Secretion Associated Ras related GTPase 1B ; TG : triglyceride ; Vamp7 : Vesicle Associated Membrane Protein 7.*

**Facteurs influençant la synthèse des chylomicrons*

Les facteurs nutritionnels et hormonaux qui régulent l'expression des différentes protéines impliquées dans l'absorption des lipides sont susceptibles de modifier la synthèse des CM.

- *La qualité et la quantité des lipides présents dans le régime alimentaire*

Il est clairement démontré que la quantité de lipides consommés conduit à une augmentation de la taille des CM mais pas de leur nombre. En effet, la quantité de lipides consommés influencent directement l'efficacité de la lipidation de l'ApoB48 *via* l'activité de la MTP (Cartwright et Higgins 1999 ; Karpe et al., 1997). De plus, la taille des CM semble être plus augmentée plutôt par les AG insaturés que par les AGS ((Lairon et al., 2008) ; (Pirillo, Norata, et Catapano 2014) ; (Duez, Pavlic, et Lewis 2008)).

- *Influence de l'hyperinsulinémie et de l'insulino-résistance sur la production de chylomicrons*

L'hyperinsulinémie diminue la sécrétion des CM comme la sécrétion des VLDL (Pavlic et al., 2010). Cette hypothèse est corroborée par le fait qu'en cas d'insulino-résistance, une augmentation du nombre de lipoprotéines contenant de l'ApoB48 de plus petite taille a été décrite chez les Syrian Golden hamsters ((Lewis et al., 2005) ; (Haidari et al., 2002) ; (Federico et al., 2006)) et chez l'Homme (Duez, Pavlic, et Lewis 2008).

- *Effet de GLP1 et GLP2 sur la production de chylomicrons*

GLP1 et GLP2 sont produits à partir du polypeptide proglucagon et sécrétés en quantité équimolaire. Cependant, ils ont des effets opposés sur la sécrétion de CM. GLP1 réduit la sécrétion de CM en période post prandiale (Hein et al., 2013). Chez l'Homme, l'injection de GLP1 abolit l'hypertriglycéridémie post prandiale (Meier et al., 2006). Elle diminue l'absorption des lipides et la production de CM, se traduisant par une diminution de la quantité d'ApoB48 et de TG dans la fraction de lipoprotéines riches en TG. GLP2 exerce au contraire son action en accélérant l'absorption des AGLC et la production des CM. Les auteurs ont rapporté que cet effet semble dépendant du CD36 (Hsieh et al., 2009). A court terme, GLP2 a un effet plus prononcé sur la production de CM si les 2 sont injectés en même temps. Au contraire, la co-injection prolongée des 2 incrétines démontre un effet prédominant de GLP1 (diminution de la production de CM) (Hein et al., 2013).

4. Transport d'autres molécules par les CM : cas du LPS

Les CM transportent du cholestérol mais également aussi des vitamines liposolubles, comme la vitamine A, E (Iqbal et Hussain 2009). De plus, il a été montré que la formation de CM favoriserait également l'absorption de lipopolysaccharide (LPS) (Ghoshal et al., 2009). Les LPS appelés endotoxines, sont des molécules faisant partie de la paroi cellulaire des bacteries Gram (-). Ces LPS sont composés d'un lipide complexe toxique appelé lipide A et une partie polysaccharide. De manière intéressante, du LPS a été retrouvé sur les CM chez l'Homme (Laugerette et al., 2011).
Ces données émergentes suggèrent fortement que les CM jouent un rôle dans l'endotoxémie et par conséquent dans l'inflammation bas bruit. De plus, il a été démontré que les régimes HL déclenchent également une inflammation intestinale locale (Ding et al., 2010). Cette inflammation conduit à une élévation de la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires à l'origine d'une augmentation de la perméabilité intestinale (Bruewer et al., 2003). Ce changement peut conduire à une accélération de la translocation du LPS (Cani et al., 2008) favorisant le cercle vicieux de l'endotoxémie. Finalement, ces effets peuvent encore être accentués par le fait que des régimes HL sont connus pour favoriser la prolifération de bactéries Gram (-) au niveau du microbiote intestinal (Cani et al., 2008). Ainsi, les CM conditionnent l'entrée des AG alimentaires et du LPS dans l'organisme.

5. Métabolisme post-intestinal des chylomicrons : triglycéridémie post prandiale et devenir des lipides alimentaires

Dans la circulation sanguine, les TG des CM sont hydrolysés par la LPL en libérant les AG captés par les tissus en vue d'être oxydés (muscle, cœur…), ou bien stockés (au niveau du tissu adipeux).

La lipolyse des TG des CM par la LPL est appelée *lipolyse intravasculaire*. En effet, la LPL se situe à la surface des cellules endothéliales capillaires, et est liée aux membranes par des protéoglycanes et/ou des phosphatidylinositols. Elle est présente au niveau de différents tissus : cœur, cerveau, tissu adipeux, foie, rein, macrophages (Wang et Eckel 2009). Cette hydrolyse est limitante dans le métabolisme des CM puisque la déficience en LPL conduit à une pathologie nommée hyperchylomicronémie (Merkel, Eckel, et Goldberg. 2002). Les CM appauvris en TG sont appelés *remnants* et sont captés par le foie. Au niveau sanguin, ils cèdent des apolipoprotéines aux HDL, et acquièrent l'ApoE, reconnue au niveau hépatique par le LDL-receptor Related Protein (LRP). Le LRP et le LDL-receptor sont responsables de l'essentiel du recaptage des *remnants* au niveau hépatique (Hussain, Strickland, et Bakillah 1999). Le temps de résidence des *remnants* dans la circulation sanguine exerce des effets potentiellement néfastes pour la santé : ils favorisent le recrutement de

monocytes formant progressivement, avec l'addition de macrophages, des cellules spumeuses, indice précoce d'athérosclérose.

L'insuffisance de clairance des TRL et l'augmentation de leur temps de résidence au niveau sanguin contribuent à l'hypertriglycéridémie post prandiale, qui est maintenant reconnu comme étant un facteur de risque des MCV (Borén et al., 2014). En effet, elles génèrent un environnement athérogène, augmentent le stress oxydatif et l'inflammation vasculaire ((Pang et al., 2012) ; (Klop et al., 2012) ; (Al-Aubaidy et Jelinek 2011)). L'hypertriglycéridémie post prandiale est influencée par différents facteurs : l'âge, le sexe, les conditions physiopathologiques et certains facteurs nutritionnels présentés de façon non exhaustive en tableau 4.

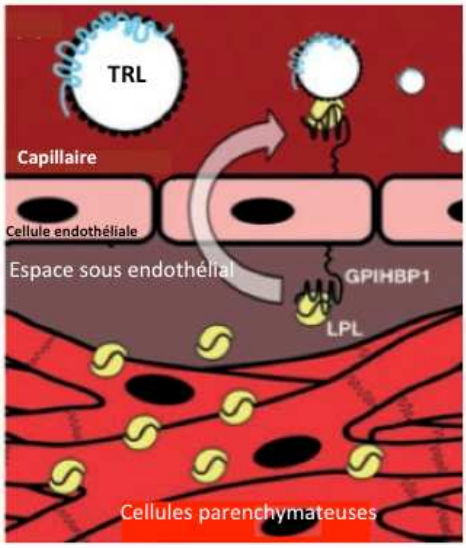
Tableau 4 : Facteurs nutritionnels, physiologiques, physiopathologiques et facteurs liés au mode de vie influençant la lipémie post prandiale. *AGMI : Acides Gras MonoInsaturés ; AGPI : Acides Gras PolyInsaturés ; AGS : Acides Gras Saturés ((Lopez-Miranda, Williams, et Lairon 2007) ; (Lairon 2008) ; (Westphal et al., 2004) ; (Holmer-Jensen et al., 2013) ; (Lopez et al., 2011) ; (Mudráková, Poledne, et kovář 2013) ; (Klop et al., 2012)).*

Facteurs influençant la lipémie post prandiale		Effet rapporté	Références
Facteurs nutritionnels	Quantité de lipides	↑	Lopez Miranda et al, 2007 ; Lairon et al, 2008b
	AGS	↑	Lopez et al, 2011, Lairon et al, 2008b
	AGMI et AGPI n-6	↓ ou →	Lopez et al, 2011, Lairon et al, 2008b
	AGPI n-3	↓↓	Lopez et al, 2011, Lairon et al, 2008b
	Fibres	↓	Lopez Miranda et al, 2007 ; Lairon et al, 2008b
	Protéines : caséine protéines du lactosérum	↓ ou →	Westphal et al, 2004 Holmer Jensen et al, 2013
	Fructose	↑	Lairon et al, 2008b
Facteurs physiologiques	Age	↑	Lopez Miranda et al, 2007
	Sexe	Hommes > Femmes	Lopez Miranda et al, 2007 ; Lairon et al, 2008b
	Ménopause	↑	Lopez Miranda et al, 2007 ; Lairon et al, 2008b
	Polymorphismes génétiques (apolipoprotéines, ApoC3….)	↑	Lopez Miranda et al, 2007
Mode de vie	Alcool	↑	Mudrakova et al, 2013
	Tabac	↑	Lopez Miranda et al, 2007
	Exercice physique	↓↓	Lopez Miranda et al, 2007
	Perte de poids	↓	Klop et al, 2012
Statut physio pathologique	Obésité	↑↑	Lopez Miranda et al, 2007 ; Lairon et al, 2008b
	Insulino-résistance	↑↑	Lopez Miranda et al, 2007 ; Lairon et al, 2008b
	Diabète de type 2	↑↑	Lopez Miranda et al, 2007 ; Lairon et al, 2008b

L'hypertriglycéridémie post prandiale dont le pic est atteint entre 2 à 4h après un repas, est la résultante de la sécrétion majoritairement intestinale de lipoprotéines en période post prandiale au niveau sanguin et de l'activité de la LPL. Cependant à l'heure actuelle, l'activité de la LPL est considérée comme le régulateur majeur de l'hypertriglycéridémie (Wang et Eckel 2009). En effet, sa mutation est à l'origine chez l'Homme d'une sévère hypertriglycéridémie (Santamarina-Fojo et Brewer 1991). De plus, chez l'animal l'invalidation de la LPL provoque une hypertriglycéridémie et est léthale 24h après la naissance par défaut de l'utilisation des lipides du lait maternel (Weinstock et al., 1995). Il est intéressant de signaler que l'augmentation de l'expression de la LPL chez l'Homme a été une des premières thérapies géniques à être autorisée (Moran 2012).

5.1. La LPL

La LPL est synthétisée par les cellules parenchymateuses principalement au niveau du tissu adipeux et du muscle (figure 12). Lorsqu'elle est relarguée par ces cellules, elle migre du côté luminal des capillaires endothéliaux à l'aide de la protéine glycosylphosphatidylinositol-anchored high density lipoprotein binding protein 1 (GPIHBP1) (figure 11). Cette protéine joue un rôle fondamental puisque son absence est à l'origine d'une hypertriglycéridémie sévère chez l'Homme et la souris (Beigneux et al., 2007; Beigneux et al., 2009).



<u>Figure 11</u> : Synthèse de la LPL et phénomène de lipolyse intravasculaire d'après (S. G. Young et al. 2011). *GPIHBP1 : GlycosylPhosphatidylInositol-anchored High density lipoprotein Binding Protein 1 ; LPL : LipoProteine Lipase ; TRL : Triglyceride Rich Protein.*

Il est intéressant de signaler que la LPL est également exprimée au niveau central, ce qui suggère la libération d'AG provenant des lipoprotéines à ce niveau (Wang et al., 2011).

5.2. Facteurs modulant l'activité de la LPL

- *La qualité des Chylomicrons sécrétés*

Le nombre de CM sécrétés ainsi que leur taille influencent l'activité de la LPL (figure 12). Elle est plus efficace sur un petit nombre de gros CM, que sur un grand nombre de petits ((Xiang et al., 1999) ; (Martins et al., 1996)). En effet, les petits CMs ont moins d'affinité pour la LPL que les gros (Ki 2.3 $\pm$ 0.85mM vs 0.27 $\pm$ 0.2mM) (Xiang et al., 1999). Le temps de ½ vie d'un CM serait de 4,5 minutes contre 264 minutes pour un VLDL (Xiang et al., 1999). Ce constat indique qu'en situation post prandiale, les TG des CM sont préférentiellement dégradés comparés aux VLDL (Bickerton et al., 2007).

Comme mentionné dans le chapitre précédent, les AGPI augmentent la taille des CM ce qui expliquerait pourquoi leur consommation conduit chez l'Homme à une hypertriglycéridémie post prandiale plus faible que celle observée avec un repas riche en AG saturés ((Thomsen et al., 1999) ; (Michalski et al., 2013) ; (Barson et al., 2012)).

- *Les apolipoprotéines physiquement liées à la LPL*

L'ApoC2 stimule l'activité de la LPL. L'utilisation de souris transgéniques délétées pour l'ApoC1 ou l'ApoC3 ont révélé l'effet au contraire inhibiteur de ces 2 apolipoprotéines sur l'activité de la LPL. L'ApoA5 stimule, quant à elle, la clairance des CM par la LPL par interaction avec la LPL, GPIHBP1 et les protéoglycanes (Kersten 2014).

L'ApoE est essentielle au captage hépatique des *remnants* de CM. L'ApoE est produit par le foie mais également par des tissus extra hépatiques tels que les macrophages. Elle augmente les taux circulants de lipoprotéines riches en TG en diminuant leur clairance par la LPL (Kersten 2014).

- *Les angiopoietin-like proteins*

Parmi les *angiopoietin-like proteins (*Angptl) actuellement identifiées, seules 3 inhibent l'activité de la LPL (Angptl4, 3 et 8).

L'Angptl4 est produite par les adipocytes, cardiomyocytes, les hépatocytes, les macrophages et les cellules épithéliales intestinales. Elle inhibe l'activité de la LPL et constitue un régulateur important de l'activité de la LPL lors du jeun ou de l'exercice physique (Zhu et al., 2012 ; Dijk et Kersten 2014). Cependant, récemment, d'autres actions ont été démontrées : elle diminue la digestion des lipides en diminuant l'activité de la lipase pancréatique. Elle influence l'adiposité et l'absorption des lipides puisque les souris Angptl4 (-/-) présentent une masse corporelle et une masse grasse plus élevée et une tendance à l'accumulation de lipides au niveau de l'intestin proximal (Mattijssen et al., 2014).

L'Angptl3, produite uniquement au niveau hépatique, inhibe l'activité de la LPL. Des mutations de l'Angptl3 chez l'Humain conduit à un hypolipidémie, caractérisée par des taux faibles de cholestérol, HDL-C, LDL-C et TG.

L'angptl8 est, quant à elle, la plus récemment découverte de cette famille. Chez les humains, elle est produite exclusivement au niveau hépatique, alors que chez les rongeurs, elle est aussi produite au niveau du tissu adipeux et dans une moindre mesure au niveau intestinal et rénal. Elle inhibe l'activité de la LPL également (Kersten 2014).

- *Régulation hormonale de la LPL*

L'hormone la plus citée dans la littérature régulant l'activité de la LPL est l'insuline (figure 12). Dans le tissu adipeux, l'insuline augmente l'activité de la LPL, alors qu'elle diminue la lipolyse du tissu adipeux dès les premières heures suite à un repas, et donc elle inhibe la libération d'AG libres issus de cet organe (Lambert et Parks 2012). En revanche, l'insuline n'a pas d'effet sur l'activité de la LPL musculaire ou diminue son activité (Farese, Yost, et Eckel 1991). Le mécanisme de régulation de la LPL est donc tissu spécifique et semble principalement post-translationnel.

D'autres hormones régulent l'activité de la LPL. En effet, les catécholamines qui sont d'importants médiateurs de la réponse au stress inhibent l'activité de la LPL au niveau du tissu adipeux par un mécanisme direct. En effet, elles diminuent la transcription et la translation du gène de la LPL et induisent sa dégradation (Kersten 2014). Inversement, les catécholamines qui sont sécrétées en abondance lors d'un exercice physique pourrait conduire à l'augmentation de l'activité de LPL observée au niveau musculaire démontré *in vivo* chez l'Humain (Pedersen et al., 1999). L'action de cette hormone semble donc tissu spécifique ce qui suggère des modes d'action distincts.

Le cortisol semble activer, *in vitro*, l'activité de la LPL au niveau du tissu adipeux (Ottosson et al., 1994).

- *Autres régulateurs*

Des expériences menées *in vivo* et *in vitro* ont démontré que le LPS et les cytokines inflammatoires comme TNFα inhibent l'activité de la LPL au niveau du tissu adipeux et du muscle (Kersten 2014).

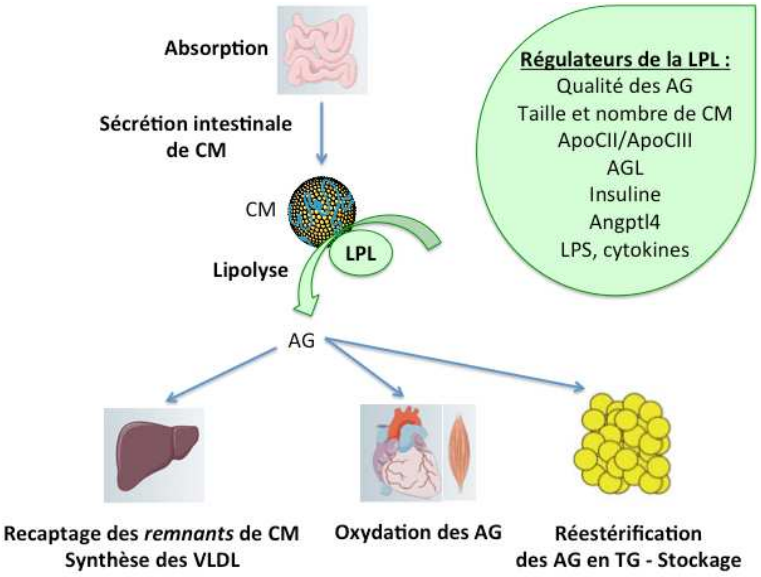


Figure 12 : Principaux facteurs modulant la LPL et le devenir des AG en période post prandiale. *AG : Acides Gras ; AGL : Acides Gras Libres, ApoCII : apo lipoprotéine CII ; ApoCIII : apo lipoprotéine CIII ; Angptl4 : angiopoietin-like protéine 4 ; CM : chylomicron, LPL : LipoProtéine Lipase ; LPS : LipoPolySaccharide ; TG : triglyceride ; VLDL : Very Low Density Lipoproteins.*

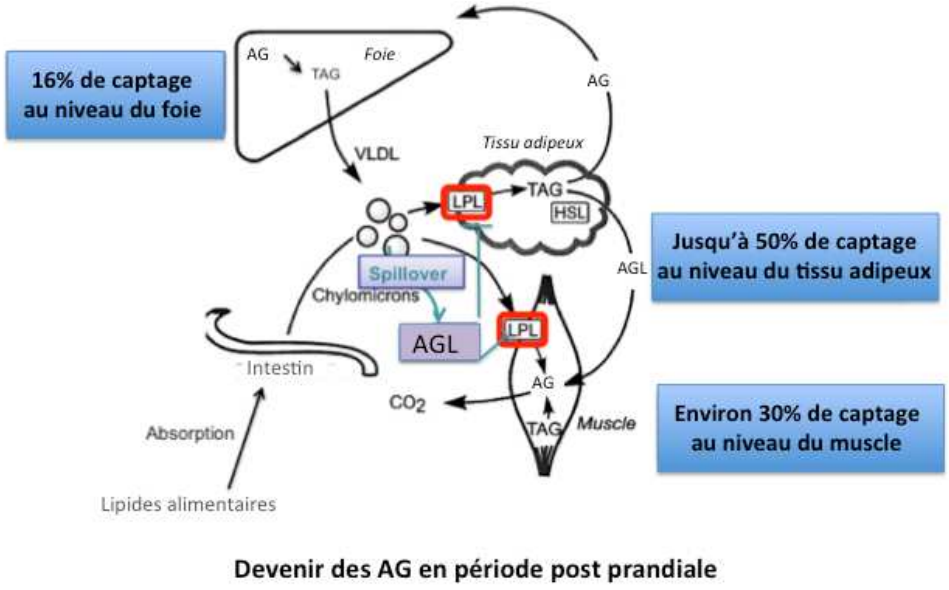
- *Les AGL, inhibiteurs de la LPL et phénomène de spillover*

Les AGL plasmatiques inhibent de façon très importante l'activité de la LPL (Goudriaan et al., 2005). Les AGL libres circulant dans le plasma peuvent avoir deux origines. Ils sont tout d'abord issus de l'hydrolyse des TG du tissu adipeux par la lipase hormonosensible (LHS) (Coppack, Jensen, et Miles 1994) qui est normalement inhibée par l'insuline en période post prandiale. Cependant en cas d'insulino-resistance, observée par exemple en cas d'obésité, on peut observer une production d'AGL après un repas (Muthusamy et al., 2012).

Par ailleurs, la lipolyse par la LPL des lipoprotéines peut également participer au pool d'AGL sanguin (Lambert et Parks 2012). En effet, il est admis qu'une fraction des AG libérée par la LPL, n'est pas directement captés par les tissus et s'accumule au niveau plasmatique (figure 13). Ce phénomène de « débordement » des AGL ou *spillover* n'est pas uniquement, comme on a longtemps pensé, présent en periode de jeun, quand le tissu adipeux est orienté vers la lipolyse. Des données émergentes indiquent qu'il serait plus important en période post prandiale, lors de la dégradation massive des CM par la LPL, puisqu'il représenterait selon les conditions physiologiques entre 5-35% des AGL présents au niveau plasmatique et pourrait atteindre 60% selon les conditions nutritionnelles ((Lambert et Parks 2012) ; (Almandoz et al., 2013)). D'après certains auteurs, l'importance de ce phénomène serait accru, en cas de défaut de capacité de captage des AG par le TA en période posprandiale (Muthusamy et al., 2012; Nelson et al., 2013). Ce *spillover* fait actuellement l'objet de nombreuses recherches car

l'accumulation d'AGLC au niveau sanguins favorise l'accumulation ectopique de lipides dans les autres organes que le tissu adipeux, ce qui conduit à l'insulino-résistance (Lambert et Parks 2012).
Même si les facteurs régulateurs de ce phénomènes ne sont pas élucidés, l'intestin en fabriquant des CM plus ou moins bien dégradés par la LPL est un acteur du *spillover*.
Il est intéressant de noter que l'importance du *spillover* post prandial semble dépendre du type d'acides gras du régime, puisque le LA semble être l'AG le plus rapidement capté et stocké comparé au palmitate par exemple (Nelson et al., 2013).

Environ 30-40 % des AG des CM sont captés dans le muscle – cette proportion semble stable d'un repas à l'autre. L'activité de la LPL au niveau du tissu adipeux subit au contraire plus de variations. En effet, entre 15-50 % des AG des CM sont captés au niveau du tissu adipeux en période post prandiale et varie d'un repas à l'autre (Ruge et al., 2009). 10-16 % des AG issus de l'hydrolyse des CM sont captés par le foie. Cette proportion augmente en cas de diabète ((Frayn 1998) ; (Lambert et Parks 2012)). Le devenir des AGLC en phase post prandiale est résumée en figure 13.



<u>Figure 13</u> : Devenir des AGLC en période post prandiale : phénomène de *spillover* et régulation des AGLC sur l'activité de la LPL d'après (Frayn. 1998). *AG : Acides Gras ; AGL : Acides Gras Libres ; HSL : Lipase Hormono Sensible ; LPL : LipoProtein Lipase ; TAG : TriAcylGlycerol ; VLDL : Very Low Density Lipoproteins.*

Une augmentation d'AGL au niveau plasmatique induit par conséquent : une inhibition de l'activité de la LPL, une augmentation du *spillover* et une diminution de l'efficacité de captage des AG, entretenant ainsi une hypertriglycéridémie post prandiale. De plus, une augmentation des AGL au niveau plasmatique, en plus d'être lipotoxiques, diminue le captage du glucose au niveau musculaire, conduisant à une diminution de la sensibilité à l'insuline. Enfin, une augmentation des AGL perturbe

la clairance de l'insuline et la sécrétion des VLDL au niveau hépatique. La régulation des AGL semble donc être primordiale en période post prandiale et constituer un marqueur précoce de risque de l'insulino-résistance et de développement de diabète de type 2 (Frayn. 1998). Des stratégies pharmacologiques diminuant la biodisponibilité des AG libres pour la synthèse des lipoprotéines par la niacine ou en activant la LPL par les fibrates ont démontré leurs effets bénéfiques pour diminuer l'hypertriglycéridémie post prandiale (Pirillo, Norata, et Catapano 2014).

6. Régulation de l'absorption intestinale par les lipides alimentaires

Comme décrit précédemment, l'intestin possède une importante capacité d'absorption des lipides alimentaires étant donné qu'environ 95% des lipides ingérés sont absorbés chez un Homme sain. La perte énergétique pour digérer, absorber et stocker les nutriments est la plus faible pour les lipides comparés aux autres nutriments énergétiques (2-3 % comparé à 25-30 % pour les protéines et 6-8 % pour les glucides) (Hariri et Thibault. 2010). La question était de savoir si cette capacité d'absorption des lipides était innée ou résultait d'une adaptation intestinale à la teneur en lipides du régime.

A l'heure actuelle, plusieurs études démontrent que l'intestin adapte ses capacités d'absorption à la teneur en lipides du régime alimentaire (tableau 5). En effet :

- Les souris soumises à un régime HL sont capables d'absorber de plus grandes quantités d'AGLC que les souris témoins (Petit et al., 2007)
- Le régime HL induit la prolifération des cellules intestinales ((de Wit et al., 2008) ; (Petit et al., 2007))
- Le régime HL induit l'expression des gènes impliqués dans la formation des CM (Petit et al., 2007 ; de Wit et al., 2008 ; Uchida et al., 2012 ; Douglass et al., 2012). De manière intéressante, le nombre de gènes induit ainsi que l'intensité de leur régulation est proportionnelle à la quantité de lipides contenus dans le régime (de Wit et al., 2011).

Ces 3 arguments confortent l'idée que l'intestin adapte sa capacité d'absorption en fonction de la quantité de lipides présente dans le régime. L'existence d'une adaptation de la capacité d'absorption intestinale des AGLC à la teneur en lipides du régime est encore confortée par le fait que cette régulation est réversible (Petit et al., 2007).

Comme l'illustre le tableau 5, il est important de signaler qu'en plus de la quantité, la qualité des AG présents dans le régime influence, également les capacités d'adaptation de l'intestin. En effet, l'induction coordonnée de protéines impliquées dans la synthèse des CM chez la souris ((Hernández Vallejo et al., 2009) ; (Uchida et al., 2012) ; (de Wit et al., 2012) ; (Douglass et al., 2012)), comme

chez l'Homme (Tremblay et al., 2013), est aussi retrouvée dans un régime HL riche en AG saturés. Cependant, la perte fécale en lipides est significativement plus élevée avec un régime riche en AG saturés comparés à celle mesurée avec un régime riche en AG insaturés (de Wit et al., 2012).
Ces données indiquent que l'absorption des lipides est moins efficace. L'explication de ce phénomène a été apportée en partie par un travail de l'équipe dans lequel nous démontrons que cette adaptation même si elle existe est moins efficace que celle retrouvée avec un régime HL riche en AGLC insaturés et que la consommation d'un régime riche en AG saturés chez la souris retarde l'induction des gènes intestinaux. Ce défaut d'adaptation se répercute sur la qualité des CM sécrétés et sur l'hypertriglycéridémie post prandiale (Buttet et al., Intestinal CD36 post prandial dysregulation affects chylomicron synthesis in metabolic syndrome-like mice, JLR soumis).

Ces différences d'adaptation pourraient être en partie dues à une vitesse d'absorption différentes en fonction de la qualité des lipides (cf partie Digestion des Triglycérides). En effet, les capacités d'absorption augmentent avec la longueur de la chaîne carbonée et donc l'hydrophobicité des AGS tandis que les capacités d'absorption d'un AG insaturé augmentent avec le nombre d'insaturation (McKimmie, Easter, et Weinberg 2013). De plus, l'absorption des AG est modulée par la présence de glucides dans le régime (McKimmie, Easter, et Weinberg 2013 ; Lambert et Parks 2012; Hariri et Thibault 2010). Le glucose et le fructose induisent la sécrétion de CM *in vitro* et chez l'Homme après infusion intraduodénale de glucose et d'intralipide (Morgantini et al., 2014).

Le fait que l'intestin soit capable d'*adapter* ses capacités d'absorption en fonction de la quantité de lipides dans le régime suppose un système de *détection* des lipides. CD36, une glycoprotéine transmembranaire, possède les caractéristiques d'un senseur de lipides au niveau intestinal (Tran et al., 2011), contrairement à son rôle initialement admis de transporteur dans le muscle et le tissu adipeux (Febbraio et al., 1999). Cette protéine fait partie de la famille des *scavenger receptor*. Une protéine appartenant à cette famille a déjà été considérée comme un détecteur des micelles mixtes au niveau du pôle apical des entérocytes. En effet, des études réalisées uniquement *in vitro*, sur cellules Caco-2, démontrent que la liaison de ces micelles mixtes avec SRB1 déclenche une signalisation cellulaire qui favorise la sécrétion de CM (Béaslas et al., 2009). Cependant la pertinence physiologique de ces données reste à déterminer car CD36 n'est pas exprimé dans ces cellules Caco-2.

Puisque la déficience en CD36 chez l'Homme et l'animal conduit un défaut de synthèse de chylomicrons de plus petite taille (Masuda et al., 2009 ; Drover et al., 2005), nous nous sommes focalisés au cours de cette thèse sur le rôle potentiel de CD36 dans ce mécanisme d'adaptation. C'est pourquoi une synthèse de la littérature concernant la fonction de CD36 en tant que récepteur dans différents tissus sera présentée dans la 3ème partie de l'introduction.

Tableau 5 : Impact de régimes hyperlipidiques riches en AG saturés et insaturés chez la souris sur les capacités d'absorption intestinales, sur le gain de masse et la prise alimentaire. (Petit et al., 2007 ; Hernández Vallejo et al., 2009; Uchida et al., 2012 ; Douglass et al., 2012) (Tremblay et al., 2013; de Wit et al., 2012; de Wit et al., 2008; Lambert et Parks 2012) (McKimmie, Easter, et Weinberg 2013 ; Casas-Agustench et al., 2009; Duca, Sakar, et Covasa 2013 ; Hariri et Thibault 2010 ; Little, Horowitz, et Feinle-Bisset 2007) ; (Desmarchelier et al., 2012).

AG : Acide Gras ; AGMI : Acide Gras MonoInsaturé ; AGPI : Acide Gras PolyInsaturé ; ApoAIV : apolipoprotéine AIV ; ApoB4 : apolipoprotéine B ; ApoB48 : apolipoprotéine B48 ; ApoCII : apolipoprotein CII ; ApoCIII : apolipoprotein CIII ; CCK : CholeCystoKinine ; CM : chylomicron ; DGAT : DiacylGlycérol AcylTransferase ; FATP4 : Fatty Acid Transport Protein 4 ; GLP1 : Glucagon Like Peptide 1 ; HL : hyperlipidique ; I-FABP : Intestinal Fatty Acid Binding Protein ; L-FABP : Liver Fatty Acid Binding Protein ; MGAT2 : MonoacylGlycérol AcylTransferase 2 ; MTP : Microsomal Triglyceride Transfer Protein ; PA : Prise Alimentaire ; PYY : Peptide YY ; Sar1b : Secretion Associated, Ras related GTPase 1B ; TA : Tissu Adipeux.

	Régimes hyperlipidiques riches en AG saturés	Régimes hyperlipidiques riches en AG insaturés
Synthèse des CM	↑ **CD36, MTP, DGAT2, ApoB, APOAIV, MGAT2, Sar 1B, ApoAI, ↓ ApoC3** (Vallejo et al. 2009) (Uchida et al. 2012) (Douglass et al. 2012) (Tremblay et al. 2013) **-> augmentation dose dépendante en fonction % de lipides dans le régime** (De Wit et al. 2011)	↑ **CD36, MTP, L-FABP, ApoCII/ApoCIII, FATP4, I-FABP, L FABP, ApoAIV** (Petit et al. 2007)
Sécrétion CM	↓ (Douglass et al. 2012) ; (Uchida et al. 2012) (Hernandez Vallejo et al. 2009)	**Pas de différence** (Petit et al. 2007)
Clairance CM	↓ (Uchida et al. 2012)	↑ (Petit et al. 2007)
Accumulation intestinale de TG	↑ **couplée à augmentation *de novo* synthèse AG** (Douglass et al. 2012) ; (Desmarchelier et al. 2012)	
Hypertriglycéridémie post prandiale	↑ (Uchida 2012) ; (Hernandez Vallejo et al. 2009)	**↓ (Petit et al. 2007)**
Perte fécale	**↑ en régime HL riche en AGS par rapport à régimes HL riches en AG Insaturés** (De Wit et al. 2012)	
Absorption des AG	↑ **Absorption des AGPI comparés aux AG Saturés** (McKimmie et al. 2013) ; (De Wit et al. 2012)	
Oxydation des AG (globale)	**AGPI > AGMI > AGS** (McKimmie et al 2013) ; (Lambert & Parks. 2012)	
Thermogenèse post prandiale	**AGPI > AGS** (Casas Agustench et al. 2009)	
Signaux hormonaux post prandiaux	↓ **CCK, GLP1, PYY et moindre inhibition de la ghréline** (Duca et al. 2013) ; (Little et al. 2007) ; (Hariri et al. 2010)	
Régulation Prise alimentaire	↑ **PA (kcal/jr)** (Hariri et al. 2010) ; (de Wit et al. 2012)	**↑ PA (kcal/jr) mais AGPI plus « satiétogènes » (↑ inhibition PA)** (Hariri et al. 2010) ; (de Wit et al. 2012)
Gain masse	↑ **(obésité)** (Hariri et al. 2010) (de Wit et al. 2012) ; (Desmarchelier et al. 2012)	**Pas toujours gain de masse significatif** (de Wit et al. 2012)
Masse grasse	**↑ (hyperplasie et hypertrophie du TA)** (Hariri et al. 2010) (de Wit et al. 2012)	
Tolérance glucose	↓ **Avec hyperinsulinémie dès 2 semaines de régime** (De Wit et al. 2012 ; De Wit et al. 2008)	↓ **Plus tardive après 7 semaines de régime** (de Wit et al. 2012)

CD36, un récepteur aux multiples fonctions

Afin de mieux comprendre l'implication de CD36 au niveau intestinal, une synthèse des fonctions de CD36 dans les différents tissus sera développée dans cette partie. En effet, la multitude de ses ligands et la découverte plus récente de ses capacités à induire différentes voies de signalisation cellulaire laissent supposer qu'il joue un rôle central dans l'adaptation de l'organisme aux challenges lipidiques et dans la reconnaissance de molécules pathogènes. Ce constat peut permettre de faire émerger l'existence de nouvelles fonctions de CD36 au niveau intestinal.

1. Structure de CD36

CD36 a tout d'abord été décrit comme la « *glycoprotein IV* » il y a 30 ans car elle représentait la 4ème bande majoritaire d'environ 80 à 88kDa observée sur des gels d'électrophorèse de membranes plaquettaires. Plus tard, il a été démontré comme identique à l'antigène reconnu pour l'anticorps monoclonal OKM5, un marqueur de monocytes et macrophages. Il a aussi été nommé *Fatty Acid Translocase* (FAT) puisqu'il lie des AGLC et facilite leur transport à l'intérieur des cellules. CD36 fait partie d'une famille qui comprend également *Lysosomal Integral Membrane Protein* 2 (LIMP-2) qui lie la myeline, et SR-B1 qui lie avec une haute affinité les HDL. Ces protéines ont en commun la même structure membranaire, en épingle à cheveux, avec un large domaine extracellulaire, 2 domaines transmembranaires et 2 domaines cytoplamisques (figures 14 & 15). Sa structure primaire est hautement conservée chez les mammifères et des analogues de CD36 ont été retrouvés chez la Drosophile (Smith 2012), ce qui suppose que cette protéine joue un rôle fondamental dans la conservation de l'espèce.

CD36 est un *scavenger receptor* de classe B qui est exprimé dans de nombreuses cellules de mammifères : les plaquettes sanguines, les cellules de l'endothélium vasculaire, les cellules immunitaires (macrophages, monocytes), certains types de neurones, les cellules musculaires (muscles cardiaque et squelettique), les cellules de l'épithélium mammaire, les cellules rénales, les adipocytes, les cellules parenchymateuses, les hépatocytes, les cellules de la rétine et des bourgeons du goût et au niveau intestinal (majoritairement dans les entérocytes mais également dans certaines cellules entéro-endocrines). Ce premier constat indique que CD36 n'est pas uniquement trouvé dans les cellules ayant un fort métabolisme lipidique.

CD36 est une protéine constituée de 471 acides aminés, correpondant à une masse moléculaire théorique de 53 kDa. Cependant, la taille observée de CD36 est de 88 kDa. Cette différence de masse moléculaire s'explique par le nombre important de modifications post traductionnelles, en particulier

des glycosylations, modifiant la masse moléculaire de la protéine fonctionnelle. L'analyse de la séquence des acides aminés prédit une structure de récepteur. les acides aminés de 127 à 279 forment une poche hydrophobe, permettant la liaison des AGLC saturés et insaturés avec une grande affinité, de l'ordre du nanomolaire (Baillie, Coburn, et Abumrad 1996). CD36 possède 2 domaines trans membranaires, 2 extrémités courtes en N et C terminal intracellulaires et une large poche extracellulaire, qui contient au moins 2 sites de liaisons (figures 14 & 15).

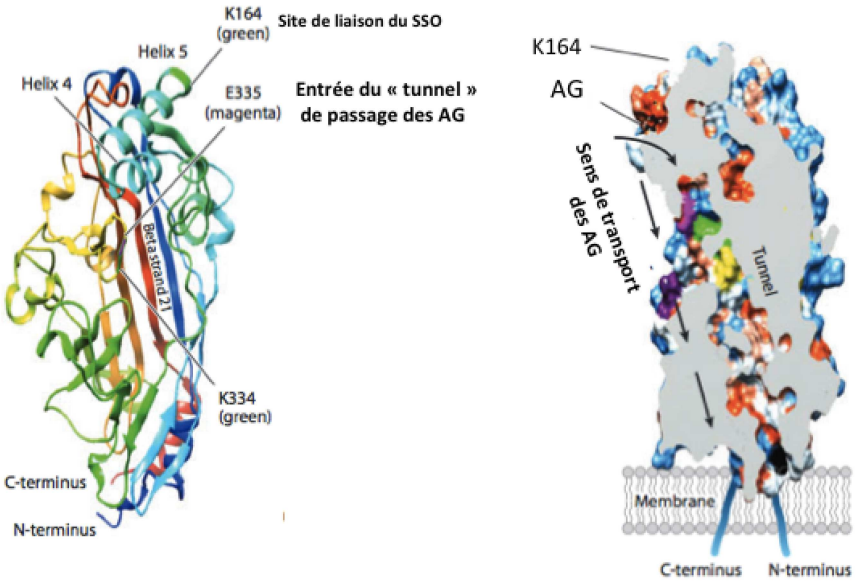


Figure 14 : Structure 3D de la protéine CD36 D'après (Pepino et al., 2014) ; AG : Acides Gras ; SSO : Sulfo-N-SuccimidylOleate

Comme le montre la figure 15, le premier site de liaison, localisé entre les acides aminés 93 et 120 est le site de liaison pour la thrombospondine 1 alors que le 2ème site constitue une large poche hydrophobe pour la liaison avec des erythrocytes infectés par *Plasmodium falciparum* (Baruch et al., 1999) sur les résidus 146-164, des LDL oxydées (Navazo et al., 1996), des produits finaux de glycosylation (AGE) (Ohgami et al., 2001) et des cellules apoptotiques (Navazo et al., 1996) sur les résidus 155-183 (figure 15).

Par ailleurs, il a été identifié récemment que la lysine 164 permet la liaison des AGLC avec CD36 (Kuda et al., 2013). CD36 ne lie pas les AG à chaîne courte et moyenne (Su et Abumrad 2009). La poche hydrophobe et la lysine 164 est également impliquée dans la liaison de CD36 avec le SSO qui est considéré comme un inhibiteur de la liaison des AGLC avec CD36 (Kuda et al., 2013).

Le domaine extracellulaire contient de nombreux sites de glycosylations qui jouent un rôle dans l'adressage de CD36 du milieu intracellulaire vers la membrane et 3 ponts disulfures qui jouent un rôle dans le recrutement membranaire du CD36. Les extrémités N et C terminales contiennent plusieurs résidus cystéine qui peuvent être « acylés » ou « palmitoylés » et contribuent au recrutement de CD36 au niveau membranaire, en particulier au niveau des *lipid rafts* (Martin et al., 2011). De plus,

les lysines 469 et 472 peuvent être ubiquitinées et de ce fait participent l'internalisation et la dégradation de CD36 par le système ubiquitine protéasome (Smith et al., 2008). Cette modification post-transcriptionnelle est fondamentale pour réguler l'activité de récepteur membranaire de CD36. Enfin, les lysines 463 et 464 permettent à CD36 de lier les Src kinases, indiquant que CD36 est capables de déclencher l'activation de voies de signalisation cellulaire (Pepino et al., 2014).

Par conséquent, la variété de ligands que CD36 peut lier symbolise sa diversité de fonctions au sein des tissus. CD36 possède donc toutes les caractéristiques d'un récepteur membranaire aux lipides natifs ou modifiés, à l'origine d'une cascade de signalisation qui permet une réponse physiologique propre à chaque tissu et variant selon les conditions nutritionnelles et pathologiques.

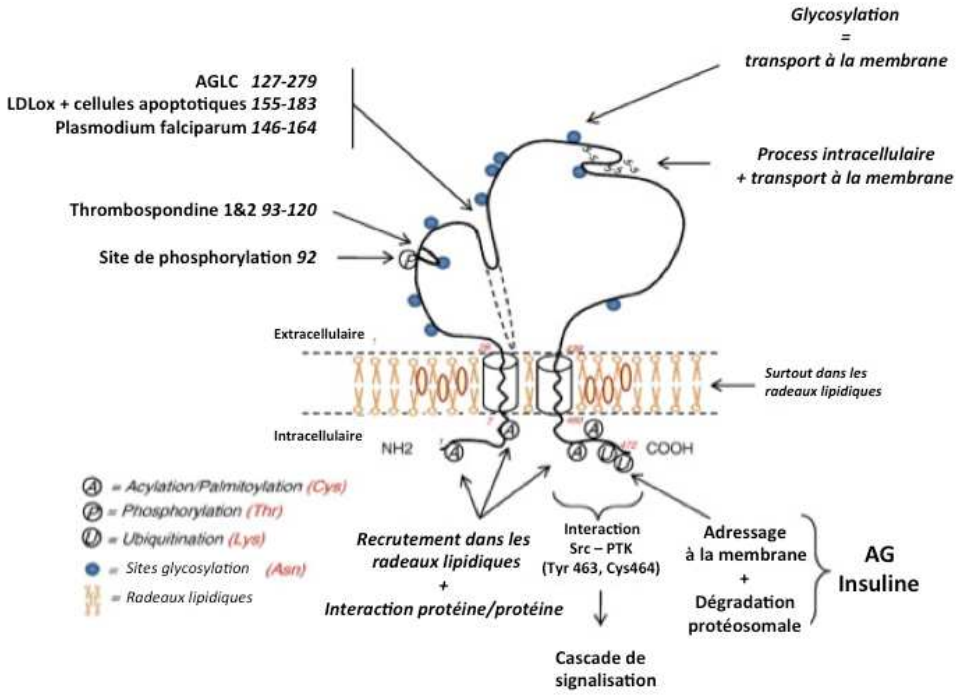


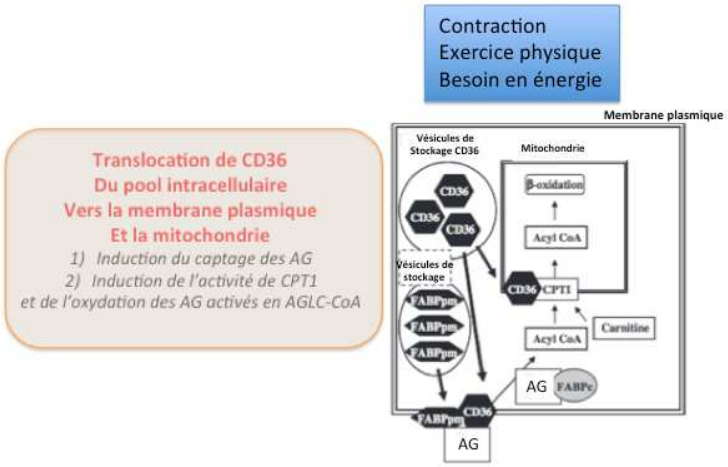
Figure 15 : Structure de CD36 : une glycoprotéine transmembranaire aux multiples ligands et fonctions. D'après (Martin et al., 2011) ; (Febbraio et Silverstein 2007). *AGLC : Acides Gras Longues Chaînes ; LDLox : Low Density Lipoprotein oxydées ; Src PTK : Src Proteines Tyrosine Kinase*

2. CD36 est impliqué dans le captage et l'oxydation des AGLC au niveau musculaire

Le rôle majeur de CD36 au niveau musculaire à la fois sur l'activité de captage des AG mais également leur oxydation.

En effet, CD36 a été tout d'abord identifié comme étant un transporteur aux AGLC au niveau des cellules des muscles squelettique et cardiaque ((Tanaka et al., 2001) ; (Glatz, Luiken, et Bonen 2010)). En effet, l'utilisation de l'inhibiteur de fixation de CD36, le SSO, se fixant sur le même site de liaison que les AGLC (Kuda et al., 2013), diminue le captage des AGLC au niveau musculaire et diminue l'oxydation du palmitate (50 à 80%) ((Campbell et al., 2004) ; (Holloway et al., 2006)), montrant que CD36 est impliqué dans la β-oxydation des AGLC ((Holloway et al., 2009), (Drahota et al., 2010)). De plus, des expériences menées chez les souris déficientes en CD36 et l'utilisation de l'inhibiteur de fixation des AGLC sur CD36, le SSO, ont confirmé que CD36 était impliqué dans le captage des AGLC au niveau musculaire ((Pietka et al., 2012) ; (Coburn et al., 2000) ; (Coort et al., 2002)).
Par ailleurs, l'expression membranaire de CD36 est corrélée à l'activité musculaire puisqu'elle est augmentée en cas de contraction musculaire et réduite en cas de dénervation (Koonen et al., 2004). Cette adaptation au besoin énergétique du muscle squelettique est dépendante du recrutement de pool intracellulaire de CD36 vers la membrane plasmique en vue d'une induction des capacités de captage des AGLC, et en parallèle d'une stimulation de leur oxydation (Holloway et al., 2008).

En ce qui concerne le muscle cardiaque, les souris CD36 (-/-) ont une hypertrophie cardiaque liée à un défaut d'oxydation des AGLC qui se caractérise par une accumulation de lipides (Sung Miranda et al., 2011). Ce phénomène a entre autre comme conséquence, une moindre adaptation cardiaque à l'effort accentuée avec l'âge (Koonen et al., 2007). Comme le muscle squelettique, des pools de CD36 ont été identifiés au niveau musculaire à différents niveaux : au niveau membranaire, au niveau intracellulaire et plus récemment au niveau mitochondrial. La stimulation du muscle cardiaque induit le recrutement des pools intracellulaires de CD36 vers la membrane pour une induction du captage des AGLC, et en parallèle, une induction de CD36 vers la mitochondrie pour une stimulation conjointe des capacités d'oxydation des AGLC en particulier du palmitate (figure 16).
De façon intéressante, l'inhibition concomittente de CD36 et de la FABPm, un autre transporteur d' AGLC au niveau musculaire, n'induit pas d'effets additifs, suggérant que la FABPm et CD36 agissent de concert pour réguler le captage des AGLC au niveau musculaire (figure 16). De plus, le SSO diminue l'oxydation du palmitate de 50 à 80% ((Campbell et al., 2004) ; (Holloway et al., 2006)), et l'activité de CPT1 *in vitro* (Bezaire et al., 2006).



<u>Figure 16</u> : Rôle de CD36 dans l'adaptation à la contraction musculaire et aux besoins énergétiques du muscle squelettique. D'après (Holloway et al., 2008). *AG : Acides Gras ; AGLC : Acides Gras Longues Chaînes ; CPT1 : Carnitine PalmitoylTransferase I ; FABP : Fatty Acid Binding Protein ; FAT/CD36 : Fatty acid Translocase / Cluster of Differenciation 36.*

Ces quelques exemples montrent que CD36 et la régulation de sa localisation membranaire permettent aux muscles squelettique et cardiaque de s'adapter au substrat énergétique disponible.

3. CD36 est impliqué dans le captage et la lipolyse des AGLC au niveau adipocytaire

La culture d'adipocytes isolés de souris CD36 (-/-) et de souris sauvages correspondantes démontre qu'en présence de lipides, le captage des AG est en partie CD36 dépendante. En effet, il est observé une réduction des capacités de captage des AG chez les souris CD36 (-/-) comparés aux CD36 (+/+) (Febbraio et al., 1999). Par ailleurs, des expériences sur cellules 3T3-L1 ont révélé que l'inhibition de liaison des AG avec CD36 par le SSO ou la déstructuration des *lipid ratfs* au niveau adipocytaire réduit le captage des AGLC, suggérant que ce captage est en partie CD36 *lipid* raft dépendant (Pohl et al., 2005). Cette hypothèse est confirmée par des expériences de co-immunoprécipitation où CD36 est colocalisé avec la cavéoline 1, protéine principale des cavéoles jouant un rôle dans le captage de molécules au niveau membranaire (Frank et al., 2002 ; Razani et al., 2002 ; Ring et al., 2006). En accord avec les capacités de liaison de CD36, les cellules 3T3-L1 dépourvues de CD36 ont une plus forte proportion d'AG à courte chaîne saturé et une diminution de la proportion d'acide linoléique (Kontrová et al., 2007). Cette fonction de CD36 dans le captage est soutenue par le fait que les souris CD36 (-/-) ont un gain de masse grasse légèrement plus faible en régime HL que les souris sauvages ((Hajri et al., 2007) ; (Koonen et al., 2010)).

Cette résistance face à l'obésité et ce gain de masse grasse plus faible en régime HL observés chez les souris CD36 (-/-), malgré une hypertriglycéridémie, posent la question du rôle de CD36 dans l'équilibre lipolyse et l'estérification des AG en TG au niveau du tissu adipeux, en plus de son rôle dans le captage des AG au niveau de cet organe.

En 2012, les travaux de l'équipe de Zhou et Wan ont démontré que CD36 était impliqué dans la régulation de la lipolyse au niveau adipocytaire. En effet, la capacité de stimulation de la lipolyse par l'isoproterenol est plus faible chez les souris CD36 (-/-) comparé aux souris sauvages (Zhou et al., 2012). Cette altération fait appel à sa fonction de récepteur de CD36 puisqu'elle est associée en particulier à une moindre activation des ERK1/2 qui sont connues pour activer par phosphorylation la Lipase Hormono Sensible (LHS), une des deux enzymes principales régulant la lipolyse des TG au niveau du tissu adipeux. Ces résultats ont été confirmés *in vitro* sur une culture primaire d'adipocytes isolés de souris CD36 (-/-) ou l'utilisation de siRNA, présentant un taux de libération de glycérol diminué de 50 % sous lipolyse stimulée, confirmant le rôle de CD36 dans le niveau d'activité de la lipolyse (Zhou et al., 2012).

Enfin, CD36 semble être impliqué aussi dans la réestérification des AG en TG au niveau adipocytaire *via* la régulation de la PEPCK (Wan et al., 2013). En effet, les souris CD36 (-/-) présentent une diminution de son expression de la PEPCK et l'activation de CD36 par un ligand (hexareline) induit son expression. L'induction de la PEPCK médiée par CD36 permettrait ainsi d'augmenter la production de glycéro-3-phosphate impliqué dans la ré-estérification des AG en TG.

Les dernières données montrent qu'en plus du captage des AG, CD36 semble donc être impliqué dans l'équilibre entre la lipolyse et la ré-estérification des AG en TG, et dans la différenciation des adipocytes par des régulations des voies de signalisation.

4. CD36 est impliqué dans la stéatose et la sécrétion des VLDL

L'expression de CD36 au niveau hépatique en condition non pathologique est faible. Le captage des AG n'est donc pas CD36 dépendant (Su et Abumrad 2009). En situation pathologique, l'expression de CD36 augmente fortement au niveau hépatique. En effet, l'expression de CD36 est 5 fois plus élevée chez souris ob/ob présentant une obésité génétique associée à une stéatose hépatique comparé aux souris sauvages (Nassir et al., 2013). De même, un régime type *Western Diet* déclenche une stéatose qui induit l'expression de CD36 chez des souris sauvages (Koonen et al., 2007).

L'augmentation de l'expression de CD36 pourrait être à l'origine d'une augmentation du captage des AG par le foie, contribuant au développement de la stéatose hépatique chez ces animaux (Hajri et al., 2002; Koonen, et al., 2007). Le mécanisme à l'origine de l'induction de l'expression de CD36 semble être dépendante de la voie de signalisation mTOR (Wang et al., 2014).

Le lien entre CD36 et la stéatose est conforté par le fait que les souris CD36 (-/-) sont protégées contre la stéatose hépatique induite par l'alcool ou des régimes riches en glucides (Clugston et al., 2014). De plus, au niveau du foie, des données récentes montrent que CD36 induit la sécrétion des VLDL. Le mécanisme fait appel à la fonction de récepteur de CD36 qui augmente la synthèse de prostaglandines (PGE2) impliquée dans la sécrétion des VLDL, *via* l'activation de la cyclo-oxygénase 1 (COX1) (Nassir et al., 2013).

CD36 plutôt par une fonction de récepteur que de transporteur comme initialement pensé, joue un rôle fondamental dans la régulation de l'homéostasie des lipides. Ces données émergentes confortent le rôle de récepteur maintenant bien démontré au niveau de la sphère oro-intestinale.

5. CD36 est impliqué dans la détection des AGLC

5.1. Rôle de CD36 dans la préférence spontanée aux lipides

CD36 est impliqué dans la préférence spontanée aux lipides puisque les souris CD36 (-/-) perdent la préférence spontanée pour des solutions contenant des lipides (Laugerette et al., 2005). Il a été montré que cette détection des lipides médiée par CD36 passe par la voie gustative. En effet, CD36 est exprimé en particulier au niveau des papilles caliciformes de souris, de rat et d'Homme (Simons et al., 2011 ; Laugerette et al., 2005 ; Fukuwatari et al., 1997).

La liaison des AGLC avec CD36 induit une cascade de signalisation cellulaire qui passent par l'activation des Src kinases, Fyn et Yes qui activent la phospholipase C. L'inositol triphosphate ainsi libéré provoque la libération de calcium à partir du RE, générant l'ouverture de canaux *store-operated calcium channels* (SOC) conduisant à un influx de calcium. L'ensemble de ce mécanisme conduit à l'exocytose de neurotransmetteurs activant les nerfs gustatifs ((El-Yassimi et al., 2008) ; (Gaillard et al., 2008)) (figure 17). Ils transmettent ce signal aux fibres gustatives afférentes qui à leur tour relaient l'information au niveau du tractus solitaire (NTS) (Gaillard et al., 2008) (figure 17). Cette activation cérébrale participe en retour à la régulation de la phase céphalique de la digestion caractérisée par une augmentation de flux pancréato-biliaire et du contenu en protéines du suc pancréatique (Laugerette et al., 2005) (figure 17). Cette nouvelle découverte suggère qu'il existe une 6ème saveur : le goût du gras ((Chevrot et al., 2013) ; (Passilly-Degrace et al., 2013) ; (Tucker, Mattes, et Running 2014) ; (Laugerette et al., 2007)).

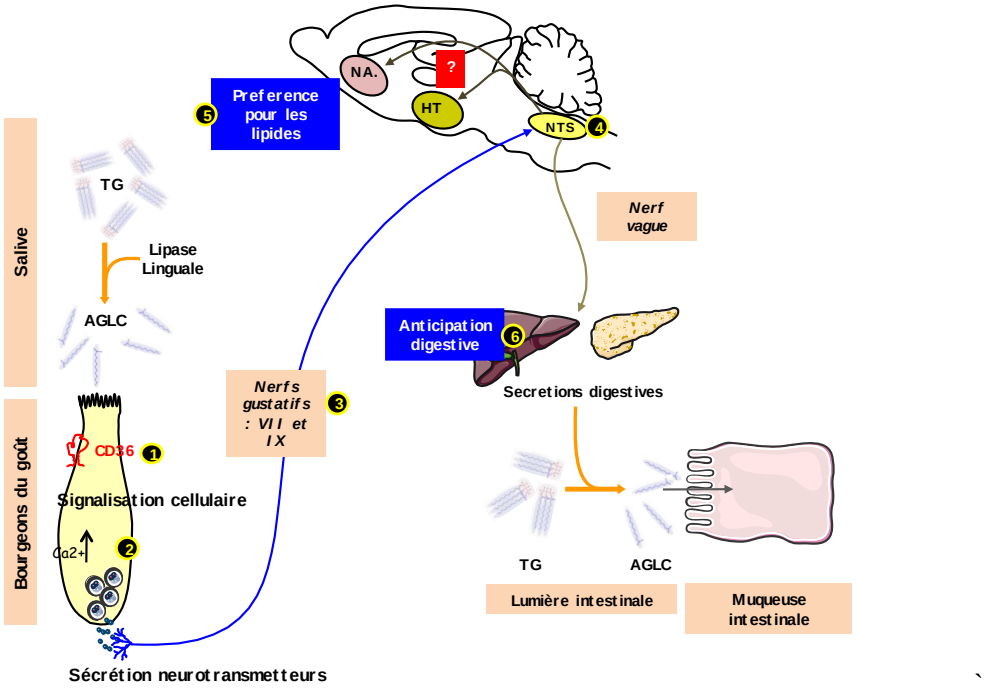


Figure 17 : Rôle de CD36 dans la détection orale des lipides alimentaires (Laugerette et al., 2005; Gaillard et al., 2008; El-Yassimi et al., 2008).

Cette fonction a une pertinence physiologique chez l'Homme puisque chez les individus et les souris obèses, il existe une relation entre l'IMC et le seuil de détection de lipides ((Chevrot et al., 2014) ; (Chevrot et al., 2013)). Par ailleurs, le génotype de CD36 affecte la détection orale des lipides. En effet, les sujets mutés pour CD36 (homozygotes pour l'allèle rs1761667-G) ont une diminution du seuil de détection des lipides associée à une diminution de l'expression de CD36 (Pepino et al., 2012).

CD36 joue donc un rôle dans la détection des lipides au niveau lingual qui conduit à la préparation du système digestif à l'arrivée de lipides.

5.2. CD36, un possible récepteur des lipides au niveau intestinal et régulateur de la synthèse des CM

- *CD36 pourrait être un récepteur de lipides au niveau entérocytaire*

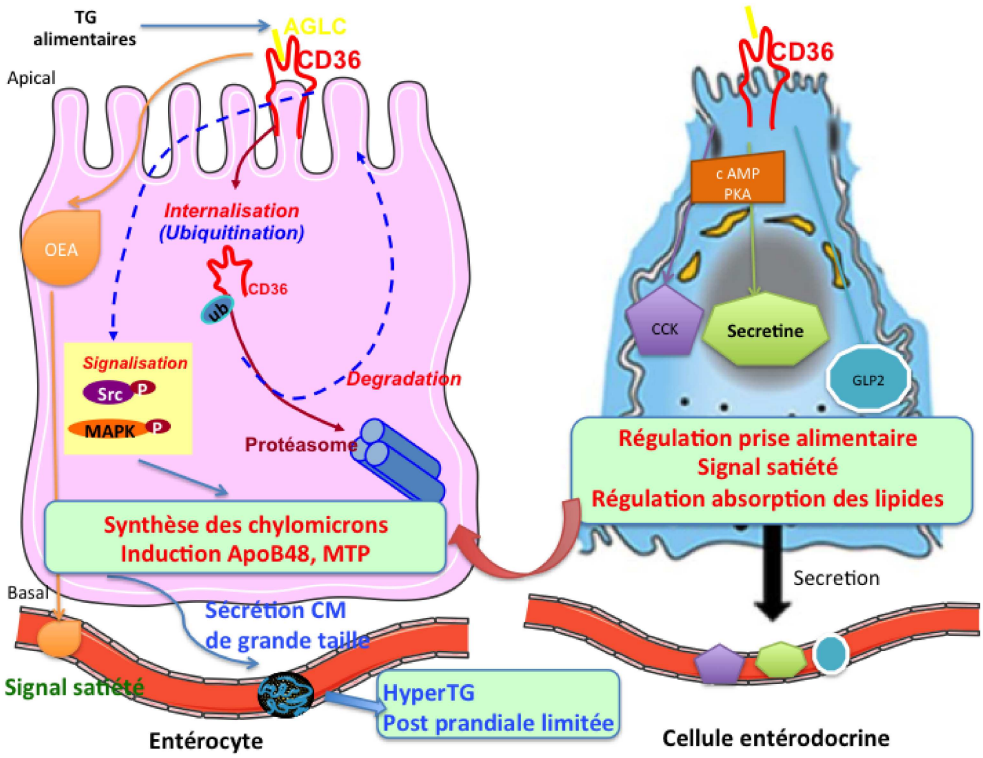
La localisation de CD36 au pôle apical des entérocytes, son absence d'effet sur le captage des AGLC (Tran et al., 2011), et le fait qu'il a été démontré comme indispensable à la synthèse efficace des CM (Drover et al., 2005 ; Masuda et al., 2009) a soulevé des questions concernant sa fonction dans l'absorption des lipides alimentaires.

Des résultats du laboratoire ont montré que CD36 est nécessaire à l'induction des ERK1/2 et de 2 protéines essentielles à la formation des CM : l'ApoB48 et la MTP. En effet, sur une culture de segments intestinaux de souris CD36 (-/-), l'équipe a montré que l'induction des ERK1/2, de l'ApoB48 et de la MTP suite à une stimulation avec un AGLC, est abolie (Tran et al., 2011). Ces résultats sont confirmés *in vivo* puisque l'induction de 2 protéines limitantes dans la synthèse des chylomicrons ne sont pas retrouvées chez des souris CD36 (-/-) ayant consommé une forte quantité de lipides (Tran et al., 2011). Ces données suggère que comme dans les autres tissus, CD36 pourrait jouer un rôle de recepteur au niveau intestinal.

Cette hypothèse est renforcée par sa régulation en présence des AGLC. En effet, les AGLC déclenche la dégradation de CD36 par le système ubiquitine-protéasome, régulation classiquement retrouvée dans le cas d'un récepteur, puisqu'elle correspond à une désensibilisation de la cellule vis-à-vis des ligands. Des expériences utilisant un inhibiteur de la voie du protéasome a permis de démontrer que la dégradation de CD36 est le témoin de son activité caractérisée par l'activation de la voie de signalisation ERK1/2 (Tran et al., 2011 ; Buttet et al., 2014) (figure 18).

La pertinence physiologique de cette nouvelle fonction de CD36 est attestée par le fait que les Hommes et souris déficients en CD36, sécrètent de petits CM moins bien dégradés par la LPL, favorisant de ce fait une hypertriglycéridémie post prandiale (Drover et al., 2005 ; Masuda et al., 2009).

CD36 pourrait permettre la détection des produits de digestion des lipides alimentaires par les entérocytes, et provoquer l'induction de protéines limitantes à la formation des CM. Cependant, des données complémentaires sont nécessaires pour approfondir le mécanisme mis en jeu et connaître sa contribution dans l'adaptation intestinale à la teneur en lipides du régime.



<u>Figure 18</u> : Rôle de CD36 dans la régulation du métabolisme intestinal en phase post prandiale : implication dans la synthèse des CM et la sécrétion d'hormones intestinales régulant la prise alimentaire. *AGLC : Acides Gras Longues Chaînes ; cAMP : cyclic Adenosine MonoPhosphate ; ApoB48 : apolipoprotein B48 ; CCK : CholeCystoKinine ; CD36 : Cluster of Differenciation 36 ; CM : chylomicron ; GLP2 : Glucagon Like Peptide 2 ; HyperTG : hypertriglycéridémie ; L FABP : Liver Fatty Acid Binding Protein ; MAPK : Mitogen Activated Protein Kinases ; MTP : Microsomal Triglyceride Transfer Protein ; OEA : Oleoyl-EthanolAmide ; PKA : Protein Kinase A ; TG : triglyceride.*

- *CD36 est impliqué dans la régulation de plusieurs facteurs intestinaux, régulant l'absorption intestinale des lipides et la prise alimentaire*

Outre son implication dans la synthèse des CM, CD36 est impliqué dans la sécrétion de plusieurs facteurs intestinaux sécrétés suite à l'ingestion de lipides, qui jouent un rôle dans la régulation de la prise alimentaire et/ou dans l'absorption intestinale des lipides. En particulier, plusieurs études récentes démontrent que la sécrétion de la CCK, de la sécrétine (Sundaresan et al., 2012) et de l'Oleoyl-ethanolamide (OEA) ((Guijarro et al., 2010) ; (Naville et al., 2012)) serait en partie CD36 dépendante.

**CD36 et régulation de la sécrétine*

La sécrétine est une hormone sécrétée par les cellules entéroendocrines S, localisées principalement au niveau du duodénum et du jéjunum. Sa sécrétion est activée par l'ingestion de lipides, et elle participe à la régulation de l'absorption des lipides, à la régulation de la prise alimentaire et à l'homéostasie énergétique (Lam et al., 2006 ; Sundaresan et al., 2012). Des études menées *ex vivo* et *in vivo* chez les souris CD36 (-/-) démontrent que la sécrétion de sécrétine suite à une stimulation avec les lipides est en partie CD36 dépendante. La sécrétion de cette hormone *via* CD36 est dépendante de l'activation de l'AMPc et de la PKA (figure 18). De manière intéressante, l'effet stimulateur de la sécrétion de sécrétine est plus importante avec des AG Polyinsaturés (DHA et LA) comparés aux AG Monoinsaturés (OA) et Saturés (PA) (Sundaresan et al., 2012). De plus, il semble exister un rétrocontrôle de la sécrétine sur l'expression de CD36. En effet, les souris déficientes pour le récepteur à la sécrétine présentent une absorption des lipides moins efficace associée à une diminution de CD36 au niveau intestinal, mais également de l'expression de la MTP (Sekar et Chow 2014).

**CD36 et régulation de la CCK*

La CCK est une hormone sécrétée par les cellules entéroendocrines I, localisées principalement au niveau du duodénum et du jéjunum (Sundaresan et al., 2012). La CCK est impliquée dans la régulation de la prise alimentaire puisqu'elle l'inhibe de façon dose dépendante. Sa sécrétion est initiée environ 15 minutes après le début d'un repas. Elle inhibe la vidange gastrique et agit comme un signal de rassasiement, en réduisant la taille des repas et leur durée plutôt que l'intervalle entre les repas (Perry et Wang 2012). La sécrétion de CCK suite à une stimulation avec les lipides est en partie CD36 dépendante. En effet, des segments intestinaux de souris CD36 (-/-) présentent une moindre sécrétion de CCK suite à une stimulation en lipides comparés aux souris contrôles. Ce résultat est confirmé *in vivo* suite à un gavage d'huile chez les souris CD36 (-/-), la sécrétion de sécrétine après 30 minutes n'est pas induite, contrairement aux souris contrôles. La sécrétion de CCK médiée par CD36 est plus importante avec des AG Polyinsaturés (DHA et LA), par rapport à des AG Monoinsaturés (OA) et saturés (PA) (Sundaresan et al., 2012).

**CD36 et production d'OEA au niveau intestinal*

L'OEA est un dérivé d'AG qui est synthétisé *via* l'activité successive de 2 enzymes : la N acetyl transferase (NAT) et la N-acetylphosphatidylethanolamine (NAPE) au niveau neuronal et au niveau intestinal. L'OEA est lui-même le substrat de 2 enzymes permettant sa dégradation, principalement la Fatty Acid Amide Hydrolase (FAAH). La production d'OEA est lipide dépendante. Sa synthèse augmente en phase post prandiale principalement au niveau duodéno-jéjunal moins de 30 minutes après un repas atteignant des concentrations pouvant varier entre 100 et 400nM (Schwartz et al., 2008). Des expériences avec le 10-Heptadecenoic acid (C17:1(n-7)) (HDA) qui est un traceur analogue de l'OEA a permis de confirmer ce résultat démontrant que l'OA issu de l'alimentation et

arrivant au pôle apical des entérocytes est un précurseur métabolique de l'OEA (figure 18) (Schwartz et al., 2008).

La synthèse entérocytaire de l'OEA en phase post prandiale est CD36 dépendante (Guijarro et al., 2010). L'effet satiétogène d'un régime hyperprotéique qui, d'une part induit l'expression de CD36 au niveau intestinal et d'autre part la production d'OEA, n'est pas retrouvé chez les souris CD36 (-/-). Ces données suggèrent que l'effet satiétogène des protéines est CD36-OEA dépendants (Naville et al., 2012).

5.3. CD36, senseur de lipides au niveau hypothalamique : impact sur la régulation de la prise alimentaire

Au niveau hypothalamique, certains neurones sont spécialisés dans la détection des nutriments énergétiques tels que le glucose et les AG, qui permettent de détecter le statut énergétique au niveau central. Il a été montré que l'injection d'intralipide hépariné au niveau cérébral diminue la prise alimentaire (Moullé et al., 2013).

En utilisant *in vivo* un shRNA chez le rat, il a été démontré que sur l'ensemble des neurones répondant à l'OA, 50 % répondent *via* CD36, qui déclenche un flux calcique (Le Foll et al., 2013). Cet effet est confirmé par Moullé et al, qui ont démontré que l'effet inhibiteur des lipides sur la prise alimentaire dépend de CD36 et de l'activité d'une enzyme ACS, qui active les AG en acylCoA avant leur acheminement vers la mitochondrie où ils sont oxydés (figure 19) (Moullé et al., 2014) (Moullé et al., 2013). Enfin, la réduction de 35 % à 70 % de CD36 conduit à une diminution de l'expression de l'ACS, de CPT1 et diminue l'expression des peptides *agouti related peptide (*AgrP) et *ProOpioMelanoCortin* (POMC) au niveau du Noyau Arqué, régulant la prise alimentaire (Le Foll et al., 2013) (figure 19).

Ces résultats suggèrent fortement que même au niveau central, CD36 joue un rôle de récepteur et participe à la régulation de la prise alimentaire.

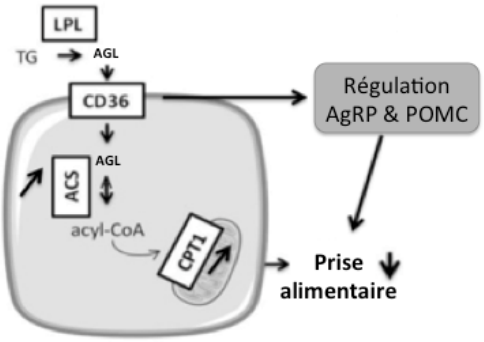


Figure 19 : Rôle de CD36 dans la détection des lipides et la régulation de la prise alimentaire au niveau central. D'après (Le Foll et al., 2013) ; (Moullé et al., 2013). *ACS : AcylCoA Synthetase ; AGL : Acides Gras Libres ; AgrP : agouti related peptide ; CD36 : cluster of differenciation 36 ; CPT1 : Carnitine Palmitoyl Transferase 1 ; LPL : LipoProtein Lipase* ; *POMC : ProOpioMelanoCortin ; TG : triglyceride*.

Ainsi l'ensemble de ces données démontre le rôle du sensing des AGLC dépendant de CD36 au niveau oro-intestinal et central sur la digestion, l'absorption des lipides et la régulation de la prise alimentaire. Un dysfonctionnement de ce sensing pourrait être à l'origine d'un défaut de la biodisponibilité des AGLC et de l'homéostasie énergétique.
CD36 joue également un rôle fondamental dans la défense de l'organisme en liant certains pathogènes (Plasmodium falciparum), le peptide beta amyloïde, les cellules apoptotiques ou encore des lipides modifiés (LDL oxydées…) (Su et Abumrad 2009).

6. CD36 est un acteur de l'inflammation

6.1. Liaison de CD36 avec des molécules déclenchant l'inflammation

Comme tous les *scavenger receptor*, il peut reconnaître une séquence moléculaire spécifique présente sur des pathogènes ou des macrophages infectés par des pathogènes. Les premières données qui ont permis d'envisager le lien entre CD36 et l'inflammation sont celles étudiant le rôle de *scavenger recepteur* de CD36 au niveau des macrophages (Silverstein et Febbraio 2009). Nous détaillerons ci-dessous son rôle dans la formation de la plaque d'athérome.

La pénétration des leucocytes et des LDL à travers la barrière endothéliale est la première étape du mécanisme à l'origine de l'athéroclérose. L'inflammation consécutive à ce phénomène induit le recrutement de monocytes, de macrophages et de lymphocytes T en parallèle de la production d'espèces réactives à l'oxygène (ROS), de la production de cytokines pro inflammatoires (IL6, TNFα,

IL1β, Monocyte Chemotactic protein 1 (MCP1)…) et de l'accumulation de molécules d'adhésion (*Intercellular Adhesion Molécule* (ICAM), *Vascular cell Adhesion molecule* (VCAM-1)).
L'induction des espèces ROS modifient les LDL en LDL oxydées, qui sont internalisées peu à peu par les macrophages. L'induction du captage des LDL oxydées par les macrophages est CD36 dépendante. En effet, les souris CD36 (-/-) présentent une diminution du captage des LDL oxydées, et de l'accumulation de lipides au niveau macrophagique. Enfin, les souris ApoE (-/-), modèle d'athérosclérose, croisées avec des souris CD36 (-/-) présentent une diminution des lésions athérosclérotiques ((Febbraio et Silverstein 2007) ; (Febbraio, Hajjar, et Silverstein 2001)). Le développement de la plaque d'athérome est dépendant également de CD36. En effet, CD36 participe à l'internalisation des LDL oxydées par les macrophages, phénomène précurseur de la plaque d'athérome, puisqu'il conduit à la formation de cellules spumeuses (Silverstein et Febbraio 2009). De plus, CD36, par la régulation du captage de ces LDL oxydées, joue un rôle dans l'état thrombotique (Chen et al., 2008) puisque celles-ci se lient aux plaquettes provoquant leur hypersensibilité au collagène. En régime HL, les souris ApoE (-/-) présentent une augmentation de la thrombose. Cette thrombose est diminuée si CD36 est absent (Ghosh et al., 2008).
De plus, au niveau adipocytaire, CD36 lie les LDL oxydées, ce qui déclenche la phosphorylation de c-Jun N-terminal Kinase (JNK) et l'inhibition de l'*Insulin receptor Substrate 1* (IRS1) par phosphorylation de la Serine 307 inhibitrice, favorisant le développement de l'insulino-résistance ((Silverstein et Febbraio 2009) ; (Kennedy et al., 2011)).

6.2. CD36 et régulation des cytokines

Il est intéressant de signaler que la quantité de cellules immunitaires au niveau du tissu adipeux semble dépendante de l'expression de CD36. En effet, selon l'équipe de Cai, les souris CD36 (-/-) suite à un régime HL type *Western diet* présentent moins d'accumulation de macrophages et de lymphocytes au niveau du tissu adipeux, une diminution de l'apoptose, une diminution des cytokines pro-inflammatoires (IL6, TNFα, MCP1) que les souris sauvages. De plus, des études *in vitro* ont montré que la stimulation par le LPS de co-cultures de macrophages et d'adipocytes de souris CD36 (-/-), sécrètent moins de cytokines pro-inflammatoires (IL6 et TNFα). Cet article suggère que la synergie entre les adipocytes et les macrophages à l'origine de l'inflammation du tissu adipeux déclenché par le LPS, est dépendante de CD36 (Cai et al. 2012). CD36 semble donc indispensable à la sécrétion de certaines cytokines pro-inflammatoires par les macrophages et les adipocytes.

Un des mécanismes envisagé à l'heure actuelle dans la littérature pour expliquer son rôle dans l'inflammation pourrait être *via* l'activation de l'inflammasome. L'activation de l'inflammasome est un phénomène complexe qui pour résumer, nécessite deux étapes (pour revue (Dinarello 2009)). La première étape de cette activation consiste à produire les pro-cytokines et les constituants de

l'inflammasome qui contient un Nucleotide-binding Domain leucine-rich repeats (NOD-like receptors) (NLR) et la pro-enzyme caspase 1. Elle est dépendante de l'activation de récepteurs localisés à la surface des cellules comme par exemple les TLR. La deuxième étape consiste en l'oligomérisation de NLR et de la caspase 1 à l'aide d'une protéine adaptatrice appelée l'Apoptosis-associated Speck-like protein (ASC). Cette dernière étape est déclenchée par la détection de signaux d'agression intracellulaire par les NLR (Tschopp et Schroder 2010). Puisque NLRP3 est régulé par les AG, ces données ont conduit les auteurs à s'interroger sur le rôle de CD36 dans cette activation (L'homme et al., 2013). Tout récemment, il a été montrer que CD36 est indispensable à la sécrétion d'IL1β au niveau des macrophages *via* NLRP3 (Sheedy et al., 2013).

6.3. CD36 et la reconnaissance de molécules pathogènes (bactéries, *Plasmodium falciparum*)

La reconnaissance de cellules pathogènes, potentiellement toxiques pour l'hôte participe à l'activation du système immunitaire inné et à la réponse inflammatoire indispensables à la défense de l'organisme face à des organismes, bactéries ou virus exogènes. CD36 présent à la surface de macrophages peut se lier à différentes molécules pathogènes. En effet, le captage de bactéries Gram (–) et Gram (+) est augmenté en présence de CD36, en facilitant l'adhésion bactérienne et leur phagocytose (Baranova et al., 2008). CD36 peut également participer à la reconnaissance de certains β-glucanes microbiens. L'adhésion de CD36 à ces pathogènes participe à la sécrétion de cytokines en réponse à cette inflammation. Par exemple, le captage et la phagocytose de *Staphylococcus aureus* (Gram +) par les macrophages délétés pour CD36 est moins efficace comparés aux macrophages possédant CD36. De plus, la transfection de HEK293, lignée humaine de cellules rénales, avec CD36 leur confère la capacité à répondre face à un traitement au LPS provenant des bactérie Gram (-), par la production et la sécrétion d'IL8. Enfin, la diminution de l'expression de CD36 diminue de 50 % la production d'IL8 stimulée par le LPS ou des bactéries Gram (-), suggérant que CD36 joue un rôle dans la reconnaissance de l'inflammation induite par le LPS et sa résolution (Zamora et al., 2012 ; Baranova et al., 2008).

Cette reconnaissance des pathogènes a été démontrée comme passant en partie par la liaison de CD36 avec certains TLR. L'hétérodimère TLR-CD36 active les voies de signalisation à l'origine de la sécrétion de cytokines pro-inflammtoires (TNFα , IL6, IL1β) ou anti inflammatoire (IL10), participant à la réponse immunitaire de l'hôte (Silverstein et Febbraio 2009). En particulier, l'extrémité C terminale de CD36 (Tyr 463 et Cystéine 464) a la capacité de former des complexes avec TLR2 et TLR6, entraînant la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires, reconnues par le système immunitaire de l'hôte ((Baranova et al., 2008) ; (Triantafilou et al., 2006)). De plus, CD36 peut également former

des hétérodimères avec CD14 et TLR6 dans les *lipid rafts* suite à une stimulation avec le LPS (Triantafilou et al., 2006).

Un autre exemple de coopération entre CD36 et TLR est représenté par l'internalisation des erythrocytes infectés par *Plasmodium falciparum.* CD36 lie les cellules infectées et l'héterodimérisation de CD36 avec TLR2 potentialise cette internalisation améliorant la résolution de l'infection par la Malaria (Erdman et al., 2009).

CD36 participe également à l'inflammation chronique observée par exemple en cas de diabète de type 2, d'obésité ou de la maladie d'Alzheimer. Par exemple, la liaison du beta amyloide avec la microglie exprimant CD36 induit l'expression de cytokines pro-inflammatoires (TNFα, MCP1, IL1β notamment) et la production de ROS, contribuant au stress oxydant. Cet effet semble être dépendant de l'inflammasome NLRP3 montrant encore une fois le lien entre CD36 et l'activation de cet inflammasome. Ainsi CD36 contribue dans ce contexte physiopathologique au développement de dépôt de beta amyloïde chez ces patients (Stewart et al., 2010).

CD36 joue par conséquent un rôle dans la défense de l'hôte chez les individus sains et la résolution des processus inflammatoires. On peut lui donner le nom de « disease sensor », évoqué par l'équipe de Maria Febbraio puisqu'il est capable de lier une grande variété de pathogènes et de lipides modifiés, activant la mobilisation du système immunitaire. Cependant, un dysfonctionnement de CD36 peut être à l'origine d'une aggravation de la réponse pro-inflammatoire à l'origine d'une inflammation bas bruit qui est caractéristique de nombreuses pathologies comme l'obésité, le diabète de type II, l'athérosclérose et la maladie d'Alzheimer.

Les analyses génétiques ont contribué à révéler la pertinence physiologique du rôle de CD36 chez l'Homme. Un certain nombre d'études depuis une trentaine d'années ont démontré que certains polymorphismes de CD36 chez l'Homme étaient associés à certaines maladies.
En particulier, l'équipe de Bokor et al. ont identifié 4 Single Nucleotide Polymorphism (SNP) (rs3211867, rs3211883, rs3211908, et rs1527483) associées à l'obésité (Bokor et al., 2010). Cependant, cette corrélation entre ces 4 SNP et l'obésité n'a pas pu être confirmée lors de plus méta analyses sur 9973 européens (Choquet et al., 2011). Cependant, certains SNP de CD36 ont été associés au tour de taille (rs3211883 and rs3211908) ou à l'IMC (rs9784998, rs3211883, rs3211908, et rs3211956 (Heni et al., 2011) dans une étude sur 1790 européens à risque de diabète de type II.

De façon intéressante, certains polymorphismes de CD36 sont impliqués dans la détection orale des lipides et la préférence pour des aliments riches en lipides au sein de populations obèses (Pepino et al., 2012 ; Keller et al., 2012).
Enfin, une étude récente a montré une association entre un polymorphisme de CD36 et la quantité de CM riches en TG sécrétés au niveau plasmatique en période post prandiale, parmi un pool de polymorphismes génétiques expliquant la réponse post prandiale suite à une charge en lipides (Desmarchelier et al., 2014).

Par ailleurs, la plupart des polymorphismes de CD36 sont corrélés positivement au risque de syndrome métabolique (Bayoumy, El-Shabrawi, et Hassan 2012 ; Zadeh-Vakili et al., 2012 ; Noel et al., 2010). Les corrélations entre des polymorphismes de CD36 et certains facteurs de risque lié à l'obésité, la sensibilité à l'insuline semblent être plus ou moins marquées selon le sexe des sujets de l'étude. Certains facteurs de risque semblent être plus élevées chez les femmes porteuses de polymorphismes (Corpeleijn et al., 2006 ; Corpeleijn et al., 2010).

Problématique

L'obésité qui a atteint des proportions épidémiques dans les pays industrialisés, s'explique en partie par une consommation excessive de lipides. En effet, chez l'Homme, un régime hypercalorique riche en lipides augmente davantage la masse grasse qu'un régime riche en glucides (Baba et al., 1999) et une corrélation positive a été rapportée entre la quantité de lipides consommés et la masse corporelle (Bray, Paeratakul, et Popkin 2004).

La contribution de la sphère digestive dans la mise en place de l'obésité a été longtemps ignorée. Pourtant, l'intestin participe à la mise en place de maladies de pléthore en régulant la biodisponibilité des lipides, la triglycéridémie et l'endotoxémie post prandiale. En effet, elle conditionne la biodisponibilité des lipides alimentaires à l'organisme, *via* la sécrétion de lipoprotéines (CM riches en TG) qui sont sécrétées dans la lymphe avant de rejoindre la circulation sanguine. De plus, nous avons vu dans cette synthèse bibliographique que l'efficacité du métabolisme des lipoprotéines intestinales retentit sur l'hypertriglycéridémie post prandiale et le devenir des AG dans l'organisme.

Par aileurs, l'intestin est aussi une source de molécules pro-inflammatoires. En effet, les CM sont aussi capables de transporter le LPS, issus de la paroi cellulaire des bactéries Gram (-) provenant du microbiote intestinal (Ghoshal et al., 2009). Ceci explique pourquoi plusieurs études ont démontré l'existence d'une corrélation entre l'endotoxémie et la triglycéridémie suite à un régime hyperlipidique (Cani et al., 2007) et plus particulièrement après la prise d'un repas HL (Erridge et al., 2007 ; Laugerette et al., 2011).

L'ensemble de ces données suggère que l'intestin *via* l'excès de lipides dans le régime, pourrait jouer un rôle central dans la mise en place de l'obésité et des processus inflammatoires associés. Ainsi la compréhension des facteurs suivants devraient permettre d'ouvrir de nouvelles pistes thérapeutiques pour le traitement de ces pathologies :

- La détection intestinale des lipides
- La synthèse et la sécrétion des CM
- L'endotoxémie post prandiale

De plus en plus d'études suggèrent que CD36 porte la fonction de récepteur des AG dans différents tissus. Comme précisé dans la partie synthèse bibliographqiue, au niveau intestinal, CD36 pourrait être un récepteur aux AGLC qui contrôlerait l'entrée des lipides et du LPS dans l'organisme *via* l'optimisation de la synthèse des CM.

C’est pourquoi au cours de cette thèse, nous avons tenté de répondre aux questions suivantes :

- CD36 joue –t- il réellement un rôle de récepteur intestinal aux AGLC ?
- La voie ERK1/2 associée à CD36 est-elle une étape clef de l’adaptation intestinale des lipides ?
- CD36 est il indispensable à l’adaptation intestinale au cours d’un régime HL chronique ?
- CD36 affecte –t-il l’endotoxémie ?
- CD36 est-il un acteur de l’effet obésogène des régimes HL ?

Résultats

Le lipido-récepteur CD36 et sa signalisation ERK1/2 dépendante contrôlent la synthèse des CM

CD36 est-il un récepteur aux AGLC au niveau intestinal ?

L'objectif de cette première partie était de vérifier que CD36 était nécessaire à l'optimisation de la synthèse des CM *via* sa fonction en tant que récepteur. Pour cela, il était nécessaire de démontrer que cette fonction dépendait effectivement de la liaison de CD36 avec ses ligands à l'origine d'une signalisation cellulaire.

1. Protocole de culture de segments intestinaux *ex vivo*

Les modèles *in vitro* intestinaux les plus utilisés dans la littérature sont les cellules Caco-2 issues d'un cancer colorectal humain ainsi que les cultures d'entérocytes isolés. Ces deux modèles ne sont pas pertinents dans notre étude. En effet, les Caco-2 n'expriment ni CD36 ni la I-FABP (Beaslas et al., 2009) et quant aux cultures d'entérocytes isolés, elles perdent leur couche d'eau non agitée, leur polarisation, se dédifférencient rapidement et ont une viabilité faible (Weiser 1973 ; Fouquet et al., 2004 ; Oba, Baldwin, et Bequette 2004).

De plus, cette technique nécessite de nombreuses manipulations mécaniques pouvant activer les voies de signalisation étudiées. La méthode des segments intestinaux a été choisie car elle se rapproche le plus des conditions physiologiques. En effet, cette technique permet :

- La conservation de la couche d'eau non agitée et du gradient de pH qui permettent la protonation des AGLC, facilitant leur entrée dans l'entérocyte
- La préservation des caractéristiques morphologiques (maintien de l'éphithélium, de la polarité cellulaire)
- Un nombre de manipulations mécaniques faibles
- La possibilité d'étudier la sécrétion des lipoprotéines intestinales
- La possibilité d'avoir des échantillons d'animaux transgéniques

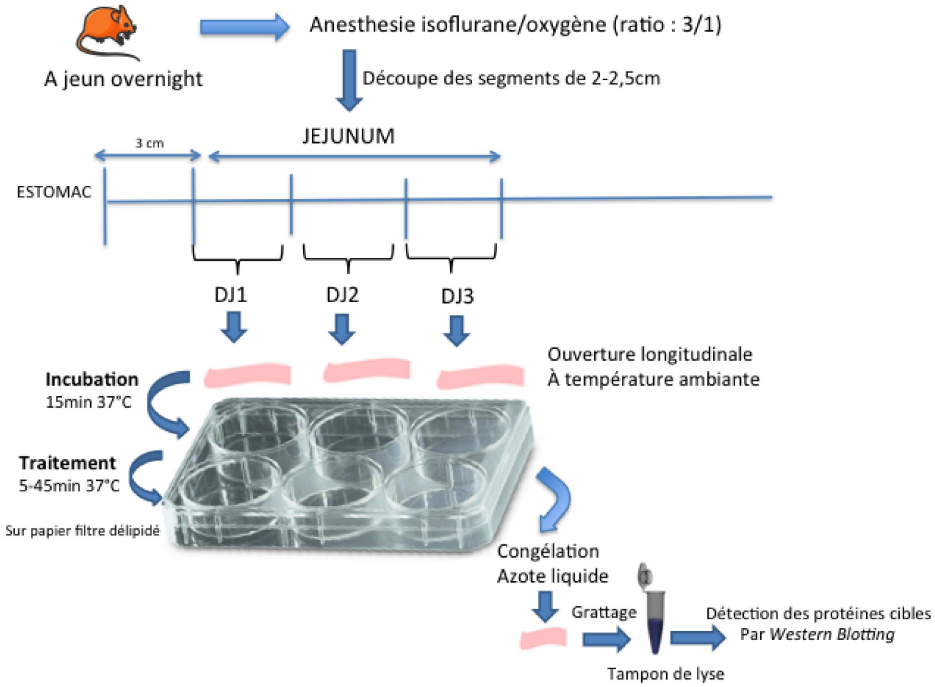
Le protocole se déroule selon les étapes suivantes :

- Les souris sont mises à jeun sur grille la veille (cycle jour /nuit : 7h / 19h) pour éviter la présence de nutriments dans l'intestin.

- Après anesthésie avec un mélange isoflurane/oxygène, l'intestin est prélevé et 3 segments jéjunaux sont découpés comme présenté en figure 20, ouverts longitudinalement et pré-incubés sur papier filtre dans 3 ml de tampon d'incubation (NaCl 154mM ; KCl 5mM ; Na_2HPO_4 1mM ; $MgCl_2$ 1mM ; Na/MOPS 10mM pH 7,3 ; glucose 5,6mM ; $CaCl_2$ 1mM), contenant de l'albumine bovine délipidée (BSA) (fraction V) pendant 15 minutes à 37°C. Cette étape de « repos » permet de minimiser les éventuels effets mécaniques en particulier sur les voies de signalisation.

- Les segments sont ensuite transférés sur le papier filtre dans 3 ml de milieu de traitement contenant les molécules à tester (AGLC, ligands de CD36, inhibiteurs). 5 à 45 minutes après le traitement à 37°C, les segments sont congelés dans l'azote liquide afin de stopper l'activation des voies de signalisation.

- La muqueuse intestinale est alors grattée en début de phase de décongélation des segments. La muqueuse est plongée immédiatement dans un tampon de lyse (RIPA) (Tris HCl pH 8 : 50mM ; NaCl 50mM ; NP4O : 0,1% ; SDS : 0,1% ; désoxycholate de Na : 0,5% ; EDTA pH 8 : 1mM) contenant des anti-phosphatases (100µl/ml) et des anti-protéases (5µl/ml).



<u>Figure 20</u> : Protocole de culture de segments *ex vivo* : schéma du protocole d'expérimentation.

Le choix d'apporter les lipides avec la BSA et non des micelles mixtes inter ou post prandiales, ne représentant pas ce qui se passe au niveau de la lumière intestinale, est justifié par le fait que les sels biliaires comme le taurocholate de sodium sont connus pour activer *via* SR-B1, les ERK1/2 et l'ApoB48. En effet, SRB1, qui est également exprimé comme CD36 au niveau apical des entérocytes, est capable de lier les micelles mixtes (Beaslas et al., 2009). Pour étudier la contribution spécifique du CD36, nous avons choisi d'apporter les AGLC dans le milieu de culture sous forme de complexe avec la BSA.

*<u>*Mesure de l'expression des ARN par qPCR</u>*

Les ARN sont extraits sur colonne Qiagen (kit référence : 74104) selon le protocole du fournisseur à partir de 30mg de muqueuse intestinale au maximum. Une *reverse transcription* est effectuée après dilution des ARN à la concentration de 0,05µg/µl (kit Applied Biosystems : 4368814). Une PCR en temps réel est effectuée sur 10ng d'ADNc. Toutes les amorces utilisées sont inventoriées en Taqman chez Applied Biosystems (condition d'hybridation : 60°C - 1 minute).

*<u>*Mesure de l'expression des protéines par Western Blotting</u>*

L'expression des protéines d'intérêt est mesurée par *Western Blotting*. 15µg de protéines totales d'homogénat de muqueuses jéjunale ou iléale est déposée. Pour la détection de l'ApoB48, 100µg de protéines totales est déposé. Les protéines sont séparées par électrophorèse sur gel à gradient 4-12%

(Invitrogen) à 200V (ApoB48 : 100V pendant 20 minutes puis 200V). Les protéines sont transférées sur membrane PVDF (Transfert 100V - 30 minutes). La membrane est saturée dans de la BSA 5 % diluée dans du TBST (Tween 20 – 1 %) (Sigma). Les anticorps sont préparés dans de la BSA 1 % diluée avec du TBST. Les conditions d'hybridation des anticorps utilisés sont résumées dans le tableau 6.

Les AG sont préparés 1000X concentrés dans de l'éthanol pur. Le rapport BSA/AG est de 1/8. Le SSO (synthèse de Maria Febbraio) est préparé 1000X concentré dans du DMSO.

Nom de l'Ac primaire	Références Ac primaire	Dilution Ac primaire	Nom et référence Ac secondaire	Dilution Ac secondaire	Taille des protéines
Anti L-FABP	Laboratoire	1:5000	Rabbit (santacruz sc-2004)	1:10000	14kDa
Anti mouse CD36	R&D System AF2519	1:1000	Goat (Santacruz sc-2020)	1:10000	88 kDa
Anti p44/42 (erk1/2) MAPK	Cell Signaling #9102	1:1000	Rabbit (santacruz sc-2004)	1:5000	42 et 44 kDa
Anti **phospho** p 44/42 (erk1/2) MAPK	Cell Signaling #9106	1:1000	Mouse (Sigma A5906)	1:5000	42 et 44 kDa
Anti-MTP	BD Science 612022	1:2500	Mouse (Sigma A5906)	1:5000	97 kDa
Anti-ApoB (sc18)	Santacruz sc-11795	1:100	Goat (Santacruz sc-2020)	1:12000	260kDa (ApoB48)
Anti-Hsc70 (B-6)	Santacruz sc-7298	1:10000	Mouse (Sigma A5906)	1:5000	70kDa

Tableau 6 : Conditions d'utilisation et référence des anticorps utilisés en *Western Blotting*

Grâce à ce modèle, nous avons tenté de répondre aux question suivantes :

- L'activation des ERK1/2 est-elle dépendante du degré d'insaturation des AGLC ?
- L'activation des ERK1/2 est-elle dépendante de la liaison de CD36 avec ses ligands ?

2. L'induction des ERK1/2 et de l'ApoB48 dépendent de la liaison de CD36 avec son ligand

L'objectif de cette première expérience était de savoir si la régulation de CD36 et des protéines impliquées dans la synthèse des CM en présence de lipides dépend effectivement de la liaison directe de CD36 avec ses ligands.

Pour cela, un ligand de CD36, le SSO a été utilisé (Figure 21). Il est considéré comme un inhibiteur de la liaison de CD36 avec les AGLC au niveau musculaire ou au niveau du tissu adipeux (Coort et al., 2002). En effet, le SSO diminue le captage des AG CD36 dépendant au niveau des adipocytes et des cellules musculaires cardiaques en inhibant la liaison des AGLC avec CD36 (Coort et al., 2002). De

plus, au niveau musculaire, il réduit le captage et l'oxydation des AG, deux étapes dépendantes de CD36 (Campbell et al., 2004 ; Bezaire et al., 2006 ; Drahota et al., 2010 ; Holloway et al., 2006). Cependant, la spécificité du SSO pour le CD36 est encore discutée puisque l'inhibition de l'oxydation de certains AGLC en présence de SSO est encore retrouvée chez les souris CD36 (-/-) dans certaines conditions (Holloway et al., 2009). Des données récentes ont démontré que le SSO était capable de lier CD36 au niveau de la poche hydrophobe tout comme les AGLC et qu'il se liait sur le même site de fixation que les AGLC (Kuda et al., 2011). Par conséquent, nous avons postulé que le SSO comme les AGLC était capable de déclencher une signalisation cellulaire.

C'est pourquoi, des segments jéjunaux de souris C57Bl6J ont été traités avec du SSO (synthèse équipe de Maria Febbraio - 100 μM).

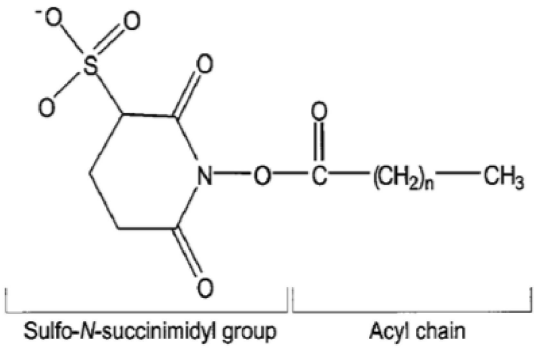
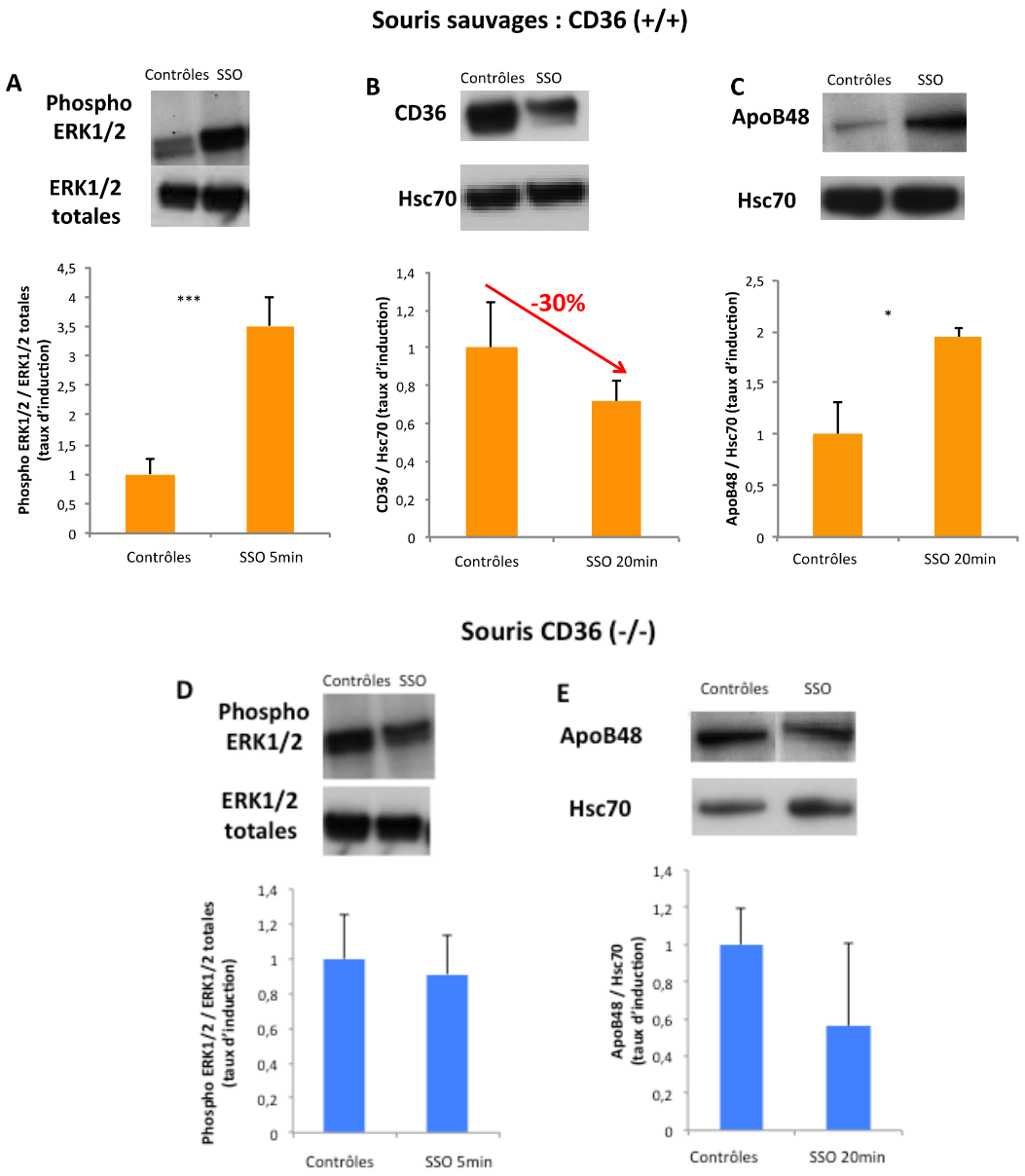


Figure 21 : Structure du SSO (Coort et al., 2002)

En accord avec notre hypothèse, le SSO induit une activation des ERK1/2 *ex vivo* chez les souris sauvages (P=1,67E-05) (Figure 22 A). De plus, le SSO est à l'origine de la dégradation du CD36 et d'une induction de l'ApoB48 (P=0,033) (Figures 22 B & C). Afin de vérifier la spécificité du SSO pour CD36, des segments de souris sauvages et délétées pour CD36 (entretenues au laboratoire sur fonds génétique de souris C57BL6J), ont été traités dans les mêmes conditions avec du SSO à 100μM (figures 22 D & E). Il est important de noter que les effets du SSO ne sont pas retrouvés en absence de CD36. En effet, nous n'avons pas observé de suractivation des ERK1/2 à 5 minutes de traitement ni d'induction de l'ApoB48 à 20 minutes chez les souris CD36 (-/-) avec le SSO à cette même concentration (figures 22 D & E). Par conséquent, la suractivation des ERK1/2 et l'induction de l'ApoB48 sont bien dépendantes du CD36 *via* sa liaison avec son ligand.

Les effets du SSO étant abolis chez les souris CD36 (-/-), le SSO est donc spécifique du CD36 au niveau intestinal.



<u>Figure 22</u> : Le SSO induit la dégradation de CD36, l'expression de l'ApoB48 et active les ERK1/2. Les effets du SSO sont abolis chez les souris CD36 (-/-). *L'expression des protéines au niveau du jéjunum a été analysée par Western Blotting à partir d'homogénats protéiques totaux. Les données ont été normalisées par les ERK1/2 totales ou l'Hsc70 et comparées aux données de souris contrôles par le test de Student. Moyenne <u>+</u> sem. n=4-6/groupe ; Test de Student : *p<0,05 ; ** p<0,01 ; ***p<0,001.*

Si le SSO et les AGLC ont le même site de liaison au niveau du CD36 (Kuda et al., 2011), il devrait y avoir une compétition entre le SSO et les AGLC. Pour appréhender cet effet, nous avons évalué la dégradation du CD36 qui est le reflet de l'activité du CD36, sur des segments incubés en présence soit d'AGLC ou de SSO soit les deux cumulés. Comme le montre la figure 23, le LA et le SSO induisent

seuls une diminution de 50 % environ de l'expression protéique de CD36 en 45 minutes (SSO P=0,02). Il est remarquable que la diminution de CD36 en présence des 2 composés n'est pas plus importante puisqu'elle représente 40 % (figure 23). Ce résultat confirme que les AGLC et le SSO sont en compétition pour la liaison de CD36 et qu'il n'y a donc pas d'effet cumulé des 2 composés.

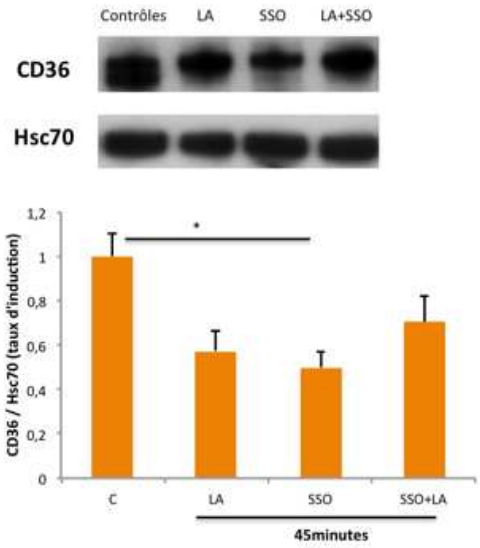


Figure 23 : Le LA et le SSO sont en compétition pour la liaison de CD36. *L'expression des protéines au niveau du jéjunum a été analysée par Western Blotting à partir d'homogénats protéiques totaux. Les données ont été normalisées par l'Hsc70 et comparées aux données de souris contrôles par le test de Student. Moyenne ± sem. n=4-5/groupe ; Test de Student : *p<0,05 ; ** p<0,01 ; ***p<0,001.*

De manière intéressante, ces données démontrent également que le SSO considéré souvent comme un inhibiteur est en fait un agoniste de CD36, puisqu'il induit une cascade de signalisation cellulaire et la dégradation de CD36. Comme expliquer cette divergence ? En général, dans les expériences publiées, le SSO est préincubé avant le traitement avec les AGLC. Cette préincubation induit potentiellement une diminution de la protéine CD36 ce qui expliquerait la diminution de sa fonction vis-à-vis des AGLC et donc l'effet inhibiteur du SSO.

3. Les AGLC induisent l'activation des ERK1/2

Pour savoir si l'activation des ERK1/2 est dépendante du nombre d'insaturation des AGLC, nous avons traité les segments avec de l'acide palmitique (PA C16:0), de l'acide oléique (OA C18:1), du LA (C18:2), à la concentration de 200 µM pendant 5 minutes (figure 24), puisque ce temps correspond à l'activation maximale des ERK1/2 ((Tran et al. 2011) ; figure 22). L'AG est apportée par la BSA (rapport BSA/AG : 1/8). Quelque soit l'insaturation des AG testés, il est observé une suractivation des

ERK1/2 significative à 5 minutes qui n'est cependant pas significative avec l'OA dans cette première expérience. Ces données nécessitent d'être reproduites. Par conséquent, l'induction transitoire des ERK1/2 ne semble pas être dépendante du type d'AGLC consommés.

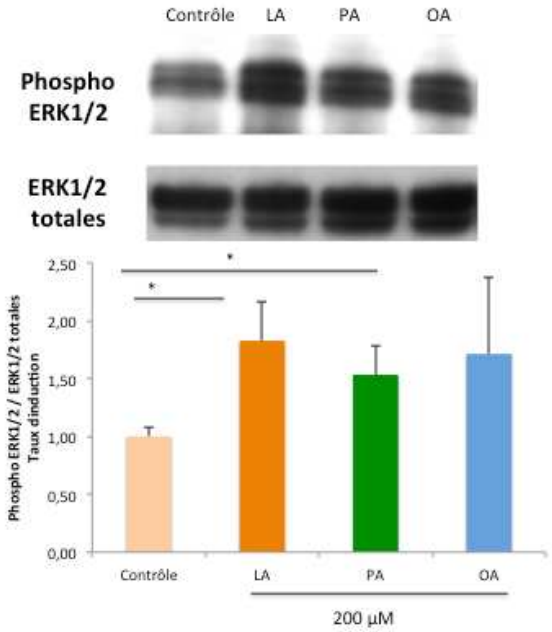


Figure 24 : Les AGLC activent les ERK1/2. *Les segments ont été traités avec différents AGLC : avec de l'acide linoléique (LA), de l'acide oléique (OA), et de l'acide palmitique (PA) à 200 µM pendant 5 minutes. L'expression des protéines au niveau du jéjunum a été analysée par Western Blotting à partir d'homogénats protéiques totaux. Les données ont été normalisées par les ERK1/2 totales et comparées aux données de souris contrôles par le test de Student. Moyenne ± sem. n=5-8/groupe ; Test de Student : *p<0,05 ; ** p<0,01 ; ***p<0,001.*

En conclusion de ces expériences, CD36 est un récepteur aux AGLC au niveau intestinal qui déclenche une suractivation transitoire des ERK1/2 puis une induction de l'ApoB48 apolipoprotéine spécifique des CM (Niot et al., 2009). L'induction des ERK1/2 et de l'ApoB48 dépend de la liaison de CD36 avec son ligand. Les AG saturés comme les AG insaturés déclenchent l'activation des ERK1/2.

Afin de mieux appréhender le rôle des ERK1/2 sur l'induction des protéines impliquées dans la synthèse des CM, nous avons inhibé les ERK1/2 avec un inhibiteur pharmacologique *ex vivo* puis étudié le métabolisme intestinal *in vivo* chez des souris ERK1 (-/-).

Rôle des ERK1/2 dans la cascade de signalisation médiée par CD36 : impact sur la régulation des protéines impliquées dans la synthèse des chylomicrons

2 approches ont été choisies pour répondre à l'objectif :

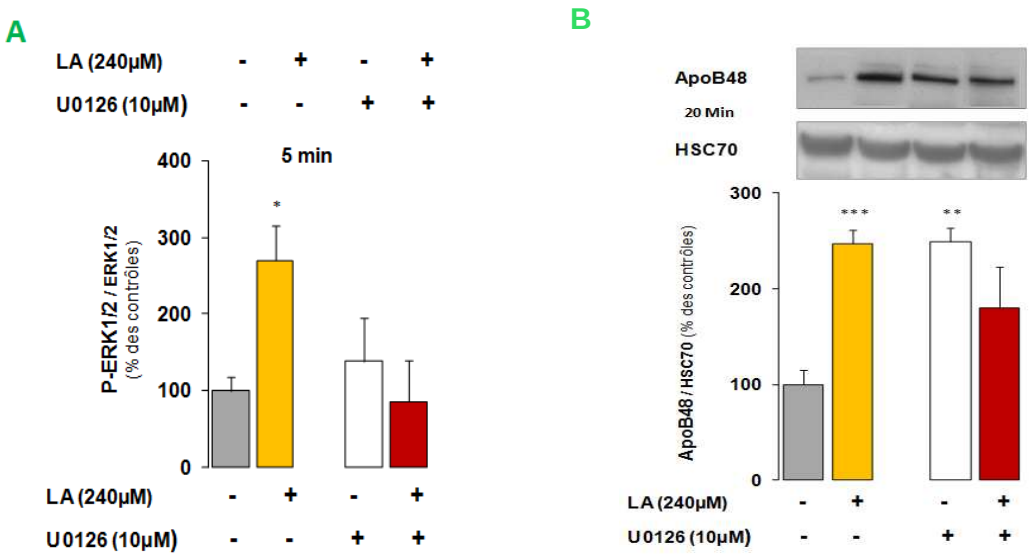
- une approche *ex vivo* en utilisant un inhibiteur des MEK1/2 qui inhibent la voie ERK1/2 : le U0126
- une approche *in vivo* en étudiant la synthèse des CM chez des souris ERK1 (-/-).

1. L'inhibition des ERK1/2 *ex vivo* abolit l'induction des gènes cibles de CD36

Afin d'estimer la contribution des ERK1/2 dans l'induction des gènes clés de la synthèse des chylomicrons par les AGLC, un inhibiteur de la phosphorylation des MEK1/2, étape indispensable à l'activation des ERK1/2 : le U0126 (1, 4-diamino-2, 3-dicyano-1, 4-bis [2- aminophenylthio] butadiène) a été utilisé. Cet inhibiteur a été utilisé dans le cadre de notre étude à 10µM puisque cette concentration a été démontrée comme étant suffisante pour inhiber les ERK1/2 et non cytotoxique pour des cellules HepG2 (Tsai et al., 2007). Le U0126 est préparé 1000X concentré dans du DMSO.

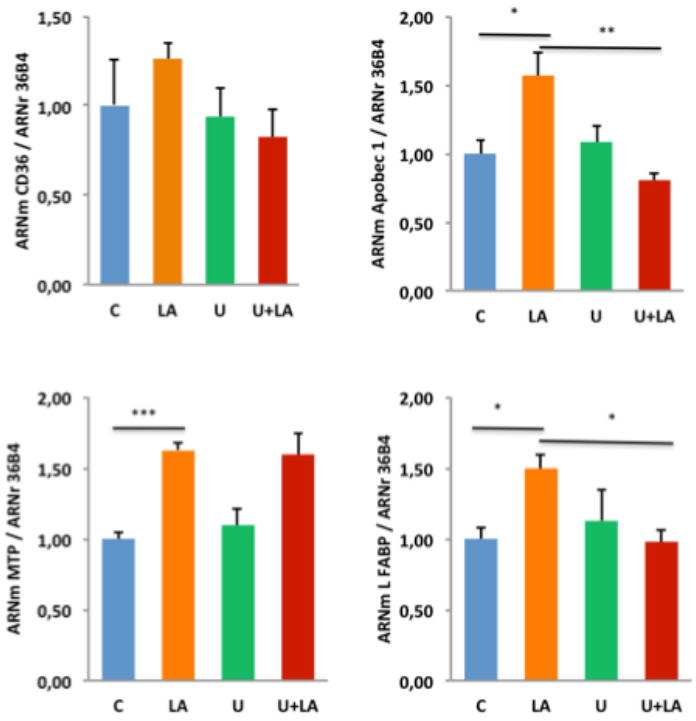
Les segments jéjunaux de souris C57Bl6J ont été traités pendant 5 ou 20 minutes avec le LA à la concentration de 200µM, avec ou sans U0126. Pour plus d'efficacité, le U0126 est présent durant l'incubation.

Les données présentées (figure 25A) permettent de confirmer que le U0126 fonctionne dans ces conditions puisque la suractivation transitoire des ERK1/2 est abolie en présence de cet inhibiteur seul et en présence de U0126 et d'acide gras à 5 minutes.
Après 20 minutes de traitement avec le LA seul, il est observé une induction de l'expression protéique de l'ApoB48, ce qui confirme les résultats obtenus précédemment. De façon intéressante, l'induction de l'ApoB48 en présence de LA est abolie après un traitement avec le U0126 (figure 25B). L'induction de l'ApoB48 en présence d'acides gras semble donc être ERK1/2 dépendante.



<u>Figure 25</u> : L'induction de l'ApoB48 est ERK1/2 dépendante. *L'expression des protéines au niveau du jéjunum a été analysée par Western Blotting à partir d'homogénats protéiques totaux. Les données ont été normalisées par les ERK1/2 totales ou l'Hsc70 et comparées aux données de souris contrôles par le test de Student. Moyenne <u>+</u> sem. n=6/groupe ; Test de Student : *p<0,05 ; ** p<0,01 ; ***p<0,001.*

Afin d'appréhender le mécanisme à l'origine de la régulation des gènes impliqués dans la synthèse des chylomicrons par les ERK1/2, le taux d'ARNm de CD36, de l'Apobec1, en charge de la production d'ApoB48 au niveau intestinal, de la MTP et de L-FABP (connue comme étant induite par les AGLC (Poirier et al. 1996)) ont été mesurés suite à une stimulation avec du LA (200 µM) pendant 20 minutes en présence ou non de U0126 (figure 26).



<u>Figure 26</u> : L'induction de la transcription de l'Apobec1, de la MTP et de la L-FABP en présence de lipides est ERK1/2 dépendante. *Les ARN totaux de la muqueuse jéjunale ont été analysés par PCR quantitative en temps réel. Les données obtenues ont été normalisées par la 36B4 et rapportées aux valeurs des souris contrôles. Les résultats sont exprimés en taux d'induction. Moyenne ± sem N=4-5/groupe ; test de Student *p<0,05 ; ** p<0,01 ; ***p<0,001.*

En présence de LA seul, cette expérience nous permet de démontrer une augmentation significative du taux d'ARNm de la MTP et de l'apobec1 (figure 26). De plus, une induction de la L-FABP est également observée en présence de lipides (figure 26). De façon intéressante, l'induction de l'Apobec1, de la MTP et de la L-FABP en présence de LA est abolie en présence de U0126.

Pour conclure, les ERK1/2 sont induites de façon précoce et transitoire en présence de lipides au niveau intestinal. Leur induction dépend de la liaison de CD36 avec son ligand. Elles sont indispensables à l'induction par les AGLC de la protéine ApoB48 et du taux d'ARNm de l'Apobec1, du taux d'ARNm de la MTP et de la L-FABP. Elles constituent donc un relai de la signalisation lipide dépendante médiée par CD36 au niveau intestinal. Ces données suggèrent que les ERK1/2 pourraient être à l'origine de la régulation transcriptionnelle des gènes cibles du CD36. Nous pouvons émettre l'hypothèse que leur délétion altère in vivo la synthèse et la sécrétion de chylomicrons.

2. La délétion de ERK1 impacte la production des chylomicrons et la sécrétion intestinale de TG en période post prandiale

2.1. Protocole d'étude

Le travail présenté ci-dessous sur les souris ERK1 (-/-) est effectué en collaboration avec le Pr Naim KHAN, qui nous a fourni les souris transgéniques. Nous avons, dans un premier temps, caractérisé le phénotype de souris ERK1 (-/-) mâles de 12-16 semaines à jeun une nuit et nourries en régime standard (Mucedola, 3% de lipides (m/m)). La masse des souris a été mesurée ainsi que la composition corporelle par EchoMRI® (Houston, USA).

Hypertriglycéridémie post prandiale

Afin d'étudier l'impact de la délétion de ERK1 sur la synthèse des CM, nous avons mesuré l'hypertriglycéridémie post prandiale après un gavage de 0,5ml d'huile Isio4 après un jeun d'une nuit. Les souris ont été sacrifiées 6h après gavage. La lipémie post prandiale est mesurée par prélèvement de sang par la veine de queue (30 µl) avec 2µl d'héparine avant le gavage puis toutes les heures pendant 4h à 6h. Le sang est centrifugé à 5000rpm 4°C pendant 10 minutes. Le surnageant (plasma) est récupéré.

Dosages plasmatiques

La concentration en TG plasmatiques sont mesurés par dosage colorimétrique avec le kit PAP 150 (kit Biomérieux) à partir de 2µl de plasma, selon les instructions du fournisseur. La glycémie est mesurée à partir de 2µl de plasma (kit Diasys). L'insuline est mesurée à partir de 25µl de plasma (kit insuline ultrasensitive Mercodia).

2.2. Phénotype des souris ERK1 (-/-) et ERK2 (-/-)

Pour étudier plus précisement la pertinence physiologique des données obtenues précédemment, nous avons étudié l'effet d'un challenge lipidique sur la synthèse des CM chez des souris déficientes en ERK1. Les ERK1/2 sont deux protéines dont les fonctions et les régulations ne sont pas toujours identiques. Le tableau 7 synthétise le phénotype des souris ERK1 (-/-) et ERK2 (-/-). On note que les souris ERK1 (-/-) sont résistantes à l'effet obésogène des régimes HL (Bost et al., 2005). Ce résultat pourrait s'expliquer par une moins bonne absorption des lipides alimentaires. Par ailleurs, la déficience en ERK2 est léthale puisqu'elles interviennent dans le développement embryonnaire (tableau 7). Il n'a donc pas été possible *in vivo* de regarder l'impact de la délétion de ERK2.

	Effets rapportés dans la littérature
Délétion ou inhibition de ERK1	-taille normale (Pagès G et al, 1999) -fertile (Pagès G et al, 1999) -Résistance à DIO (Bost F et al, 2005) -nécessaire à différenciation et adipogenèse du TA (Bost F et al, 2005) -Rôle dans la plasticité synaptique (apprentissage, mémoire et comportement) (Mazzucchelli C et al, 2002) -nécessaire à maturation et activation des lympohyctes T (Pagès G et al, 1999)
Délétion ou inhibition de ERK2	-délétion léthale car essentiel au développement embryonnaire ((Saba El Leil MK et al, 2003) ; (Yao Y et al, 2003)) -hypertrophie cardiaque (Ulm S 2014) -formation des axones – polarisation des neurones (Funahashi Y 2013) -apoptose lors du développement du cancer colorecatal (Weng YR 2014)

Tableau 7 : Phénotype des souris ERK1 (-/-) et ERK2 (-/-). *DIO : Diet Induced Obesity ; TA : tissu adipeux.* (Bost et al., 2005) *;* (Pagès et al., 1999; Mazzucchelli et al., 2002; Saba-El-Leil et al., 2003; Yao et al., 2003; Ulm et al., 2014; Weng et al., 2014).

Les souris ERK1 (-/-) ne présentent pas de différence de masse et de composition corporelle, comparés aux souris contrôles. La triglycéridémie, la glycémie et l'insulinémie à jeun ne sont pas différentes des souris sauvages (Tableau 8).

	ERK 1 (+/+)	ERK1 (-/-)
masse (g)	31,51 ± 2,14	30,4 ± 1,95
% masse grasse	12,62 ± 2,4	13,42 ± 3,87
% masse maigre	75,28 ± 2,89	76,86 ± 2,66

	ERK 1 (+/+)	ERK1 -/-
Triglyceridemie (g/l)	0,89 ± 0,04	0,92 ± 0,04
Glycemie (g/l)	1,17 ± 0,05	1,33 ± 0,09
Insulinemie (µg/l)	0,13 ± 0,03	0,13 ± 0,02
	N=8-10	N=9-10

Tableau 8 : Composition corporelle et paramètres plasmatiques des souris ERK1 (-/-) et sauvages à jeun une nuit en régime standard. *La masse grasse et la masse maigre sont exprimées en pourcentage de la masse corporelle ; Moyenne ± sem. n=8-10. test de Student : *p<0,05 ; ** p<0,01 ; ***p<0,001.*

Les données concernant la masse corporelle et la masse adipeuse sont en accord avec la littérature. En effet, bien que les souris ERK1 (-/-) soient résistantes à l'obésité quand elles sont soumises à un régime HL, aucune différence de masse et de masse grasse n'est observée entre les souris sauvages et ERK1 (-/-) en régime normolipidique (NL) (Bost et al., 2005). Ce résultat est à rapprocher de celui de Jager et al, dont l'étude a montré que la délétion de ERK1 chez des souris ob/ob ne suffit pas à diminuer leur masse et leur masse grasse (Jager et al., 2011). En régime standard, aucune différence de phénotype n'est observée.

3.3. Les souris ERK1 (-/-) présentent une hypertriglycéridémie post prandiale

Pour estimer l'impact de la déficience en ERK1 sur la réponse post prandiale, nous avons gavé des souris sauvages ou ERK1 (-/-) avec 0,5ml d'huile isio4. La triglycéridémie a été observée toutes les heures pendant 4 heures. Les souris ont été sacrifiées 4 heures après gavage.

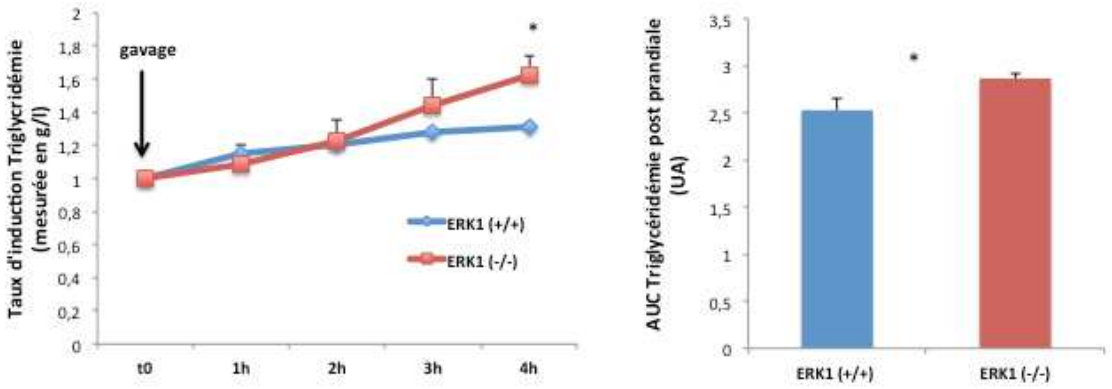


Figure 27 : Evolution de la triglycéridémie plasmatique chez les souris ERK1 (-/-) et sauvages suite à une charge en lipides. *A) Les données obtenues ont été ramenées à la valeur obtenue à t0 (avant la charge en lipides). B) L'aire sous la courbe a été calculée à partir de la méthode des trapèzes. Moyenne ± sem. N=5 / groupe ; Test de Student *p<0,05 ; ** p<0,01 ; ***p<0,001.*

Les souris ERK1 (-/-) présentent une hypertriglycéridémie 4h après le gavage (Figure 27). Comme la triglycéridémie à jeun n'est pas modifiée chez les souris ERK1 (-/-) comparé aux souris contrôles, ces données suggèrent fortement que l'intestin participe à cette altération de l'hypertriglycéridémie post prandiale.

Pour vérifier la contribution de l'intestin dans cette altération de l'hypertriglycéridémie, nous avons :

- Estimé la surface d'absorption intestinale (ratio masse intestin / longueur) (Figure 28)
- Mesuré la régulation de l'expression des protéines régulant la synthèse des CM et leur dégradation au niveau sanguin (Figures 29, 30, 31)

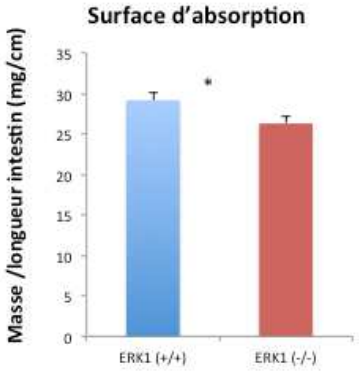
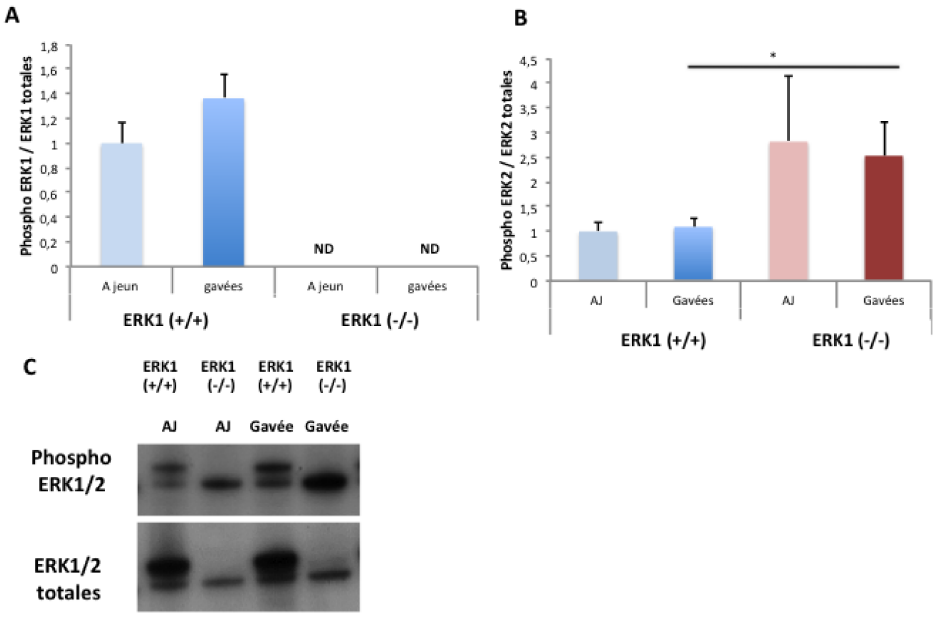


Figure 28 : Estimation de la surface d'absorption intestinale des souris ERK1 (+/+) et ERK1 (-/-) à jeun. *Moyenne ± sem. N=5/groupe ; Test de Student *p<0,05 ; **p<0,01 ; ***p<0,001.*

Le rapport masse/longueur de l'intestin permet d'estimer la surface d'absorption intestinale, qui est significativement plus faible à jeun chez les souris ERK1 (-/-) comparé aux souris témoins (figure 28). Ces données suggèrent que les souris ERK1 (-/-) pourraient présenter une altération de leur capacité d'absorption intestinale des nutriments et en particulier des lipides. Il serait intéressant à l'avenir de déterminer la proportion de cellules différenciées capables d'absorber les nutriments.

3.4. La régulation post prandiale des protéines impliquées dans la synthèse des chylomicrons est altérée chez les souris ERK1 (-/-)

Puisque nous avons démontré que l'activation des ERK1/2 conduit à une régulation des gènes impliqués dans la synthèse des CM, nous avons par la suite mesuré le niveau d'expression de ces protéines avant un gavage et 6h après un gavage d'huile isio4 chez les souris ERK1 (-/-) nourries avec un régime standard.



<u>Figure 29</u> : Mesure de l'expression des ERK1 et ERK2 chez des souris ERK1 (-/-) et souris contrôles après une charge en lipides. *L'expression des protéines au niveau du jéjunum a été analysée par Western Blotting à partir d'homogénats protéiques totaux. Les données ont été normalisées par les ERK1/2 totales et comparées aux données de souris contrôles par le test de Student. Moyenne <u>+</u> sem. n=5/groupe ; Test de Student : *p<0,05 ; ** p<0,01 ; ***p<0,001.*

L'expression des ERK1 et ERK2 a été mesurée à jeun et 6h après gavage (figure 29). Chez les souris sauvages, il n'y a pas d'effet du gavage sur l'expression de ERK1 et ERK2 a jeun et 6h après gavage. Cette absence de régulation peut s'expliquer par la mesure probablement trop tardive du niveau d'expression des ERK1/2. En effet, des expériences précédentes nous ont permis de déterminer que la régulation des ERK1/2 suite à un gavage est souvent observable après 1h. Il est important de signaler que chez les souris ERK1 (-/-), il est observé un niveau d'activation des ERK2 presque 3 fois supérieur à celle des témoins à jeun et 6 heures après le gavage. Ce résultat suggère que l'absence de ERK1 est compensée par ERK2. Cet effet n'est pas en accord avec ce qui a été rapporté dans le tissu adipeux puisque l'équipe de Jager J et al, a rapporté qu'il n'existait pas de différence d'expression de ERK2 chez les souris ERK1 (-/-) au niveau du tissu adipeux (Jager et al., 2011). Ces différences peuvent s'expliquent par le fait qu'on ne se situe pas au niveau du même organe. Par conséquent ce modèle ne permettra de différencier l'effet de l'absence de ERK1 et / ou la surexpression des ERK2 au niveau intestinal.

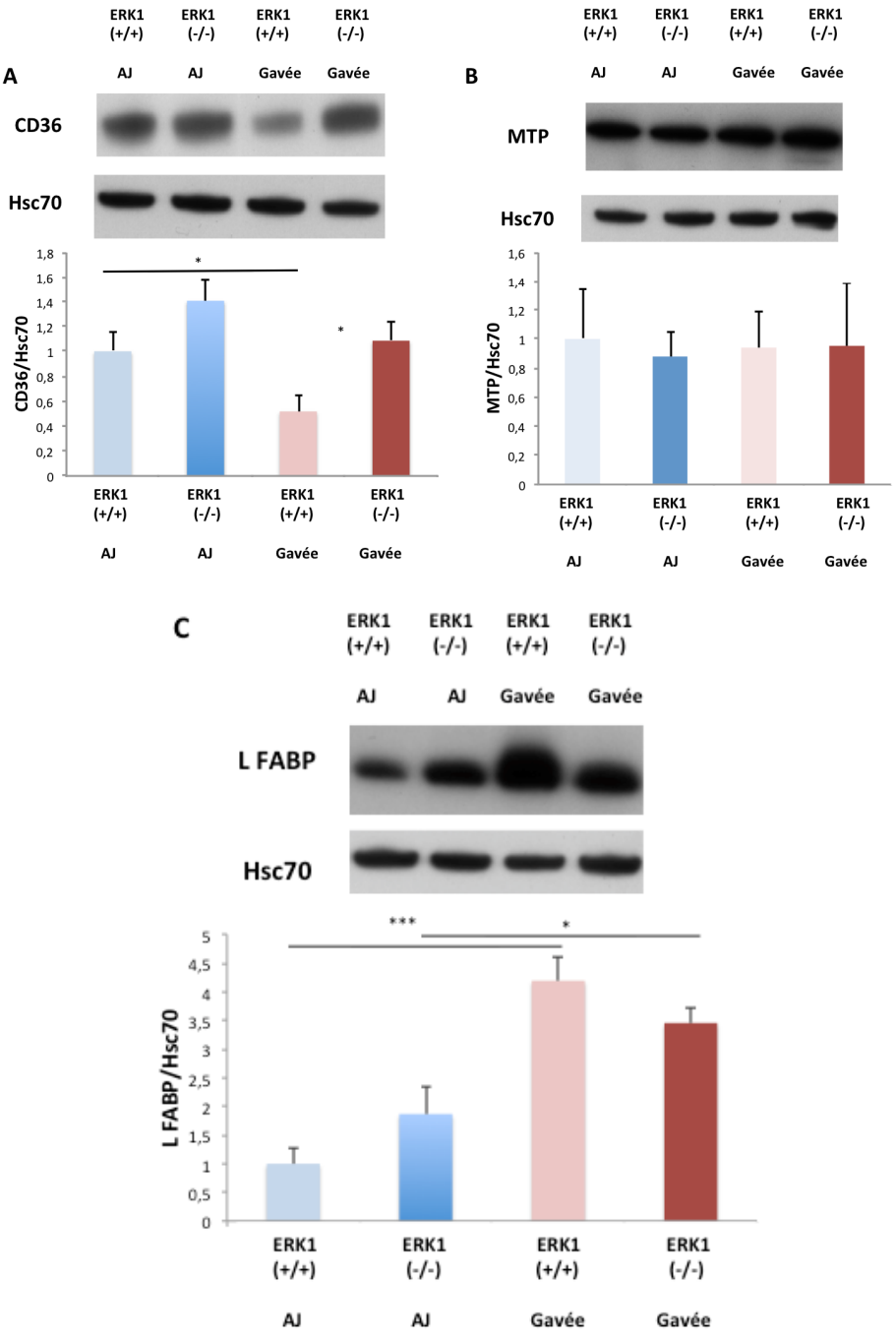


Figure 30 : Expression protéique *in vivo* de CD36 (A) et de la MTP (B), de la L-FABP (C) chez des souris sauvages et invalidées pour ERK1 à jeun et 6h après une charge en lipides. *L'expression des protéines au niveau du jéjunum a été analysée par Western Blotting à partir d'homogénats protéiques totaux. Les données ont été normalisées par l'Hsc70 et comparées aux données de souris contrôles par le test de Student. Moyenne ± sem. n=4-5/groupe ; Test de Student : *p<0,05 ; ** p<0,01 ; ***p<0,001.*

Chez les souris sauvages, comme attendu, on observe une dégradation de CD36 (-40 %) significative 6h après le gavage d'huile (P=0,05) (figure 30A), qui de façon intéressante n'est pas retrouvée chez les souris ERK1 (-/-). La dégradation de CD36 suite à une charge en lipides serait par conséquent ERK1/2 dépendante. De façon inédite, cette étude démontre que les ERK1/2 seraient nécessaires à la dégradation de CD36 en présence de lipides. Il a déjà été montré que la dégradation de CD36 lipide dépendante était nécessaire à la suractivation des ERK1/2 en période post prandiale (Tran et al., 2011). On peut donc supposer que les ERK1/2 exerceraient un rétro contrôle sur CD36 suite à leur activation.

Nous avons mesuré également l'expression protéique de la MTP et de la L FABP, régulant les 2 étapes limitantes de la synthèse des CM. Aucune différence d'expression protéique de la MTP n'a été observée après 6h de gavage ni chez les souris sauvages ni les souris ERK1 (-/-) (figure 30B). En revanche, il est observé une induction significative de la L-FABP chez les souris sauvages suite au gavage (X4) (P=0,0007) et chez les souris ERK1 (-/-) (P=0,03) (figures 30C). Cependant, le taux d'induction est significativement faible chez les souris ERK1 (-/-) (1,85) (P=0,006). Ces résultats corroborent ceux obtenus résultats *ex vivo* avec le U0126 où l'induction de l'ARNm L-FABP semblait être ERK1/2 dépendante (Figure 26).

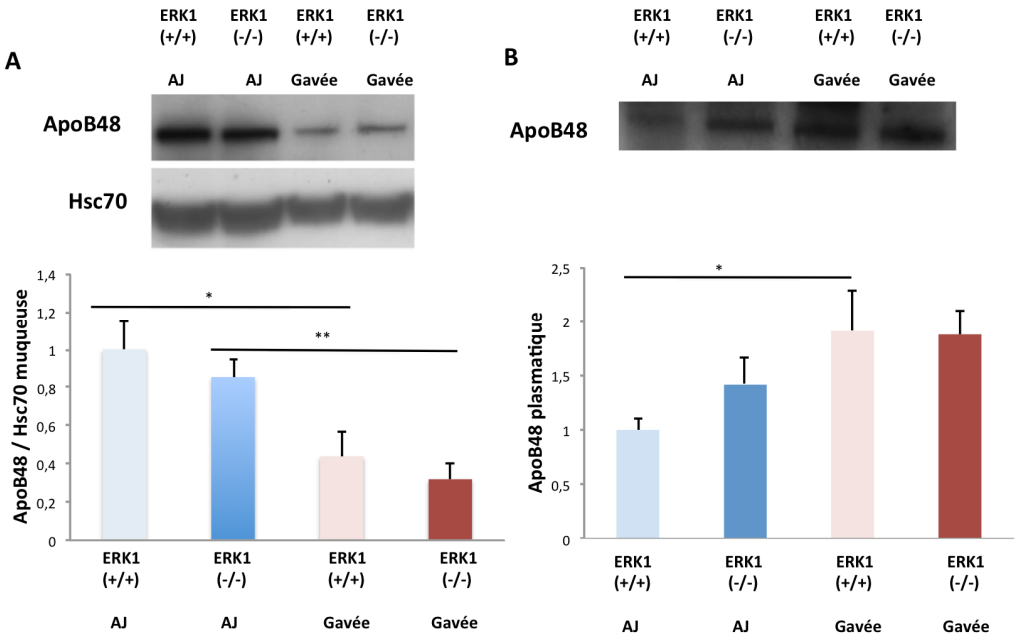


Figure 31 : Expression protéique *in vivo* de l'ApoB48 au niveau de la muqueuse jéjunale (A) et au niveau plasmatique (B) chez des souris sauvages et invalidées pour ERK1 suite à une charge en lipides. *L'expression des protéines au niveau du jéjunum a été analysée par Western Blotting à partir d'homogénats protéiques totaux. Les données ont été normalisées par l'Hsc70 et comparées aux données de*

*souris contrôles par le test de Student. Moyenne ± sem. n=4-5/groupe ; Test de Student : *p<0,05 ; ** p<0,01 ; ***p<0,001.*

Le taux d'ApoB48 dans la muqueuse jéjunale est diminué 6h après gavage (-60 %) chez les souris sauvages comme les souris ERK1 (-/-) (figure 31A). Ceci s'explique probablement par la sécrétion de l'ApoB48 produite en post prandiale. On peut supposer qu'étant donné le fait que l'induction de l'apobec1 et de l'ApoB48 est ERK1/2 dépendante, comme démontré *ex vivo*, les ERK1(-/-) ont une production moins efficace d'ApoB48 en présence de lipides. Cette hypothèse est étayée par le fait que les souris ERK1 (-/-) ont significativement moins d'ApoB48 plasmatiques après un gavage, comparés aux souris sauvages (figure 31B).

A ce stade, nous avons pu démontré que l'absence de ERK1 et/ou la suractivation de ERK2 s'accompagne d'une hypertriglycéridémie post prandiale tardive qui pourrait s'expliquer par un défaut de formation des CM. De manière intéressante, cette étude démontre que les ERK1/2 seraient nécessaires à la dégradation de CD36 en présence d'AGLC, qui traduit l'efficacité de ce récepteur. En accord avec cette hypothèse, nos résultats préliminaires montrent une moindre induction de ses protéines cibles, l'ApoB48 et la L-FABP.

Cependant, comment expliquer l'hypertriglycéridémie post prandiale alors que plusieurs protéines clés de la synthèse des CM sont moins induites ? Une réponse possible serait une clairance moins efficace des CM sécrétés. Pour étayer cette hypothèse, nous avons mesuré le taux d'ApoC2/ApoC3, reflétant l'activité de la LPL en période post prandiale (Olivecrona et Beisiegel 1997) et l'ApoA4, constitutive des chylomicrons puisqu'elle participe à leur stabilité et serait corrélée à la taille des CM (Tso et Liu 2004).

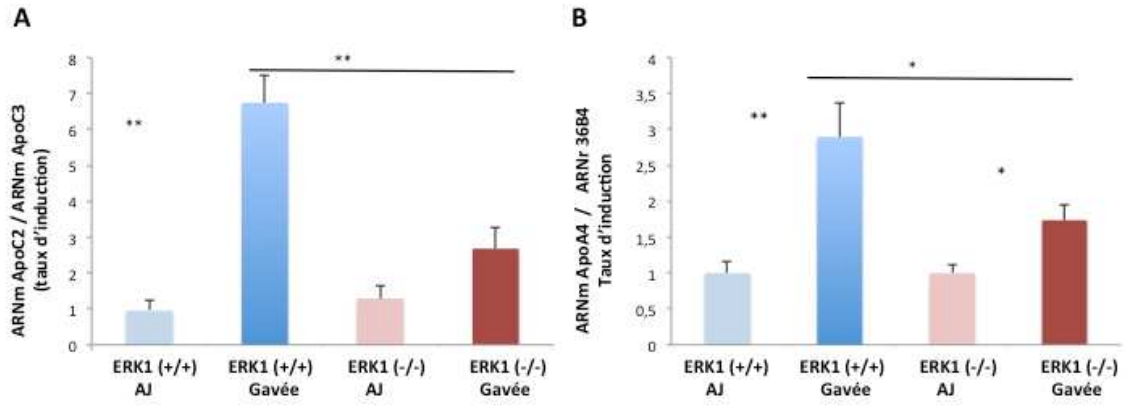


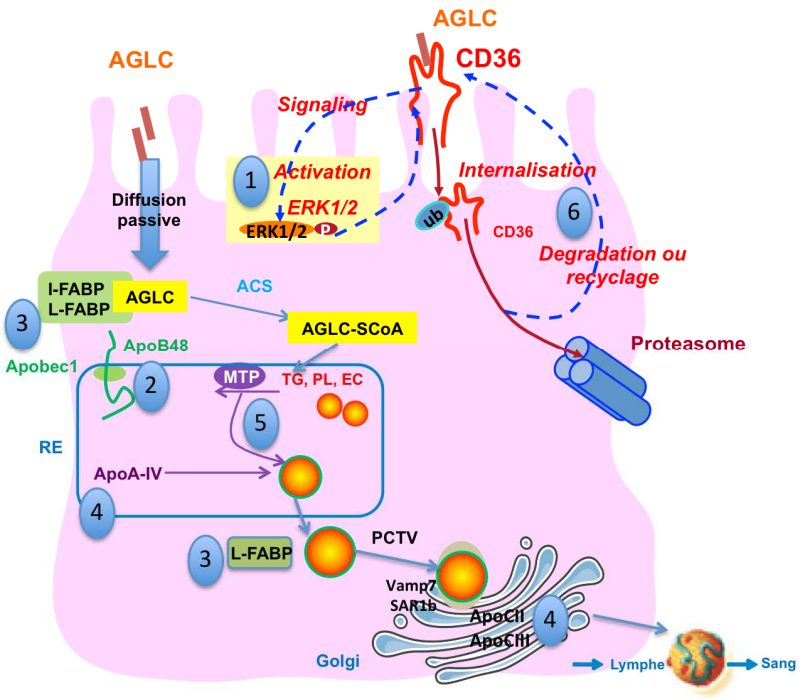
Figure 32 : Expression génique de l'ApoC2, ApoC3 et ApoA4 au niveau du jéjunum de souris contrôles et ERK1 (-/-) après une charge en lipides. *Les ARN totaux de la muqueuse jéjunale ont été analysés par PCR quantitative en temps réel. Les données obtenues ont été normalisées par la 36B4 et*

*rapportées aux valeurs basales (à jeun) pour chaque groupe. Les résultats sont exprimés en taux d'induction. Moyenne ± sem. N=4-5/groupe ; test de Student *p<0,05 ; ** p<0,01 ; ***p<0,001.*

Chez les souris sauvages, une augmentation du ratio ApoC2/ApoC3 et un taux d'ARNm ApoA4 plus élevé sont observés 6h après un gavage d'huile (figure 32A). Les souris ERK1 (-/-) présentent, au contraire, une perte d'induction du rapport ApoC2/ApoC3 qui va dans le sens d'une moins bonne stimulation de la LPL. De plus, le taux d'induction d'ARNm ApoA4 est plus faible chez les souris ERK1 (-/-) comparé aux souris témoins (figure 32B) ce qui peut laisser supposer une sécrétion de CM plus petits et donc moins bien dégradés par la LPL, cohérent avec l'hypertriglycéridémie post prandiale observée.
Des études complémentaires estimant la taille des CM sécrétées devront être envisagées pour conforter ces données.

En conclusion, ces nouvelles données nous ont permis de mieux caractériser le rôle de CD36 dans l'induction de la synthèse des CM au niveau intestinal. Nous démontrons que la liaison de CD36 avec les AGLC saturés ou insaturés en période post prandiale induit une cascade de signalisation médiée par les ERK1/2, contrôlant la synthèse des CM. En particulier, l'activation des ERK1/2 et l'induction de l'ApoB48 dépendent de la liaison de CD36 avec son ligand. Par ailleurs, les ERK1/2 sont à l'origine de l'induction des gènes clefs de la synthèse des CM (Apobec-1, ApoB48, MTP, L-FABP). Cette régulation semble être en partie d'origine transcriptionnelle.

Les différentes étapes de la détection des lipides puis de l'induction des protéines impliquées dans la synthèse des CM sont résumées en figure 33.



<u>Figure 33</u> : Rôle du récepteur aux AGLC, CD36, et de la voie de signalisation ERK1/2 dans l'optimisation de la synthèse des CM en période post prandiale. *ACS : AcylCoA synthase ; AGLC : Acides Gras Longues Chaînes ; ApoAIV : apolipoprotéine AIV ; ApoB48 : apolipoprotéine B48 ; ApoCII : apolipoproteine CII ; ApoCIII : apolipoproteine CIII ; EC : ester de cholesterol ; ERK : Extracellular Regulated signal Kinases ; I ou L- FABP : Intestine or Liver Fatty Acid Binding Proteins ; MTP : Microsomal Triglyceride Transfer Protein ; PCTV : Pre Chylomicron Transfer Vesicles ; PL : PhosphoLipides ; RE : Reticulum Endoplasmique ; Sar1b : Secretion Associated, Ras related GTPase 1B ; TG : triglyceride ; Vamp7 : Vesicle Associabted Membrane Protein 7.*

Au début de la digestion des lipides alimentaires, les AGLC lient CD36.

1) la liaison de CD36 avec son ligand déclenche l'activation de la voie ERK1/2
2) la phosphorylation des ERK1/2 augmente le taux protéique de l'ApoB48 *via* l'induction du taux d'ARNm de l'apobec1, enzyme en charge de sa synthèse
3) la phosphorylation des ERK1/2 induit la L-FABP *via* un mécanisme transcriptionnel
4) la phosphorylation des ERK1/2 induit le taux d'ARNm de l'ApoAIV et de l'ApoC2 en faveur d'une activation de la LPL et donc d'une clairance rapide des CM au niveau sanguin
5) la déphosphorylation induit la transcription de la MTP
6) la phosphorylation des ERK1/2 est nécessaire à la dégradation du récepteur CD36, qui reflète son activité.

Ces résultats suggèrent fortement que CD36 et sa cascade de signalisation ERK1/2 dépendante sont indispensables à l'adaptation du métabolisme intestinal à la quantité de lipides ingérés. L'induction coordonnée de ces protéines aboutit à la formation de CM de grande taille bien dégradés par la LPL, limitant ainsi l'hypertriglycéridémie post prandiale. Nous avons donc émis l'hypothèse que la dérégulation post prandiale de CD36 ou son absence affectent les capacités d'absorption des lipides et la triglycéridémie post prandiale.

En accord avec cette hypothèse, un travail réalisé avec le Dr Marjorie BUTTET pour caractériser le mécanisme d'absorption intestinale des lipides chez des souris présentant les caractéristiques d'un syndrome métabolique.

La dérégulation de CD36 au niveau intestinal en période post prandiale est associée à une altération de la synthèse des CM chez des souris en syndrome métabolique

1. Protocole

Des souris sauvages mâles C57BL6J (Charles River) de 4 semaines (n=5/cage) sont nourries sans restriction avec un régime standard (Mucedola, 4RF21 (3% lipides (m/m))) avec un cycle de lumière (12h jour/nuit) à une température de 23°C. Après 5 jours d'acclimatation, les souris sont nourries avec un régime contrôle ou un régime HL contenant 31,8 % de lipides apportés par de l'huile de palme pendant 10 à 14 jours.

Gavage

Les souris contrôles ou en Syndrome métabolique (MetS) à jeun une nuit sont gavées avec 0,5 ml d'huile Isio4 (Lesieur, France). Le sang est prélevé par la veine de la queue avant le gavage puis 3h après gavage pour la détermination de la concentration des TG plasmatiques (kit colorimétrique PAP 150 (Biomérieux)).

Evaluation de la taille des lipoprotéines

La distribution des lipoprotéines en fonction de leur taille a été estimée par DLS (Dynamic Light Scaterring) à partir de plasma de souris gavées avec 0,5ml d'huile Isio4. La mesure au DLS est effectuée à température ambiante en utilisant l'appareil Nicomp^{TM}380 (PSS Nicomp, California, USA). Les mesures sont effectuées sur une dilution de plasma contenant 0,2g/l de TG pendant 10 minutes.

Immunohistochimie

Des sections de 5 mm sont montées sur des lames de verre, déparaffinées dans du xylène. L'anticorps utilisé pour la détection de CD36 est l'anticorps R&D systems.

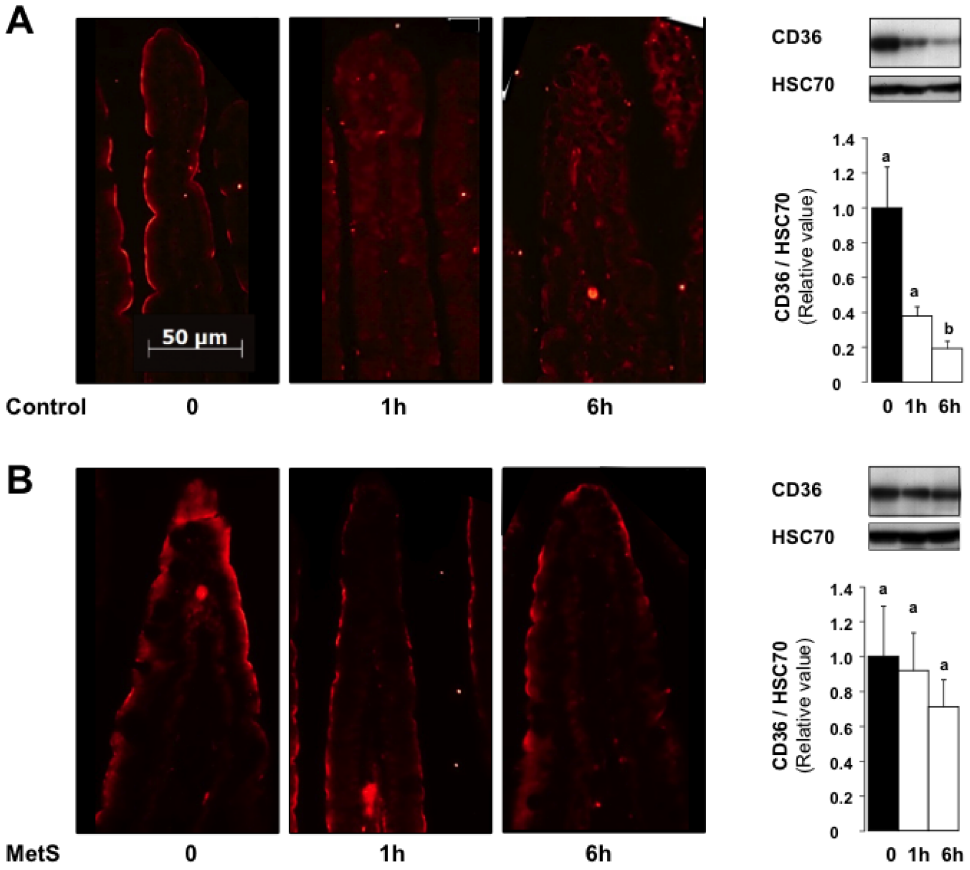
Régulation post prandiale des gènes cibles de CD36 impliqués dans la formation des CM

Des souris sauvages ou en MetS à jeun une nuit sont gavées avec 0,5ml d'huile Isio4 et sacrifiés 1h ou 6h après gavage par une anesthésie à l'isoflurane. L'intestin est divisé en 3 parties égales. Le premier cm est extrait du milieu et utilisé pour l'immunohistochimie. Le reste des segments jéjunaux est gratté pour la préparation d'homogénat protéique et l'analyse des ARNm. Les homogénats de muqueuse sont

pesés puis plongés dans du tampon A (1g/16.7ml of 100mM mannitol and 10mM Tris-HCl, pH 7.1). L'expression des ARNm est mesurée par qPCR en temps réel. Les protéines sont détectées par *Western Blotting* (protocoles décrits dans la première partie des résultats).

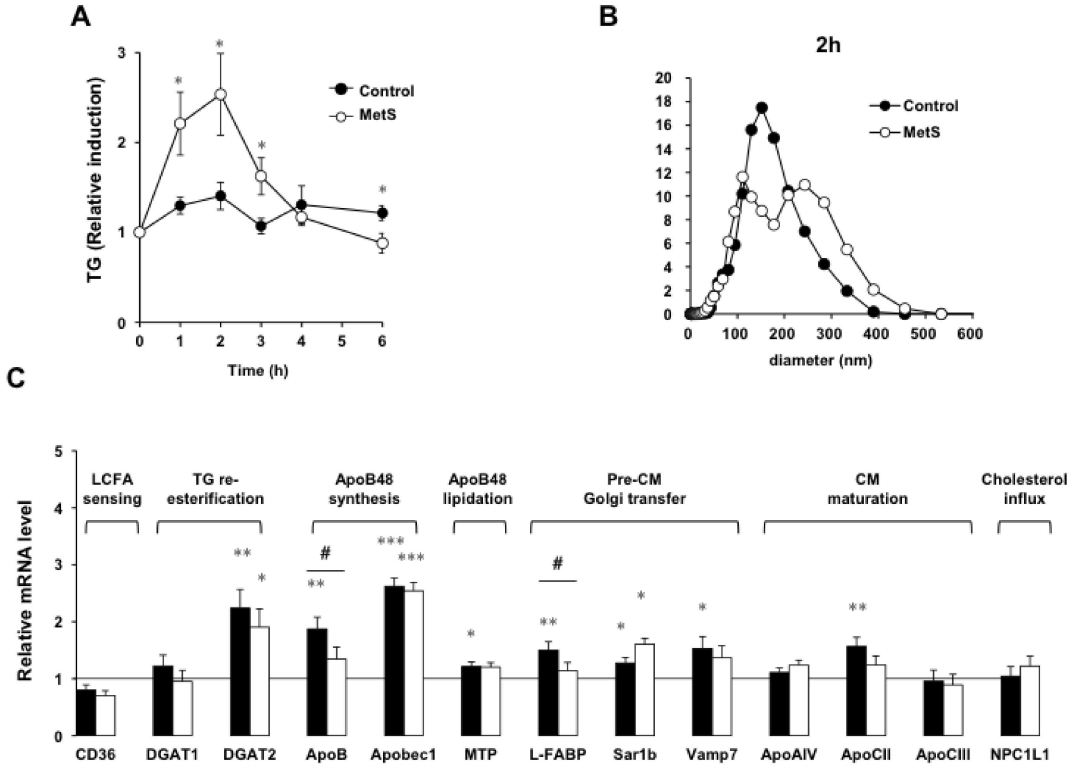
2. La régulation post prandiale de CD36 en cas de syndrome métabolique est altérée.

Chez les souris en MetS, on observe une absence de dégradation du récepteur aux AGLC, CD36. En effet, comme le montre la figure 34A, CD36 disparait de la bordure en brosse des entérocytes chez les souris témoins 1h après le gavage, il est en revanche toujours présent chez les souris en MetS (Figure 34B). Ces résultats obtenus par immunohistochimie ont été confirmés par *Western Blotting* (Figure 34).



<u>Figure 34</u> : La régulation lipide dépendante de CD36 est altérée en cas de syndrome métabolique. Immuno-détection de CD36 au niveau de l'épithélium jéjunal par immunohistochimie et par *Western Blotting* chez des souris contrôles (A) et chez des souris en MetS (B) (n=5). *Les résultats signalés avec la même lettre ne sont pas significativement différents.*

Cette dérégulation du CD36 est associée à une hypertriglycéridémie post prandiale (Figure 35A) qui s'explique en partie par la sécrétion de TRL (*Triglyceride Rich Lipoproteins*) de petite taille qui limiterait par compétition l'efficacité de la LPL sur les particules de grande taille (Figure 35 B).



<u>Figure 35</u> : la triglycéridémie post prandiale (A), la taille des lipoprotéines sécrétées (B) ainsi que l'induction des gènes impliqués dans la synthèse des CM (C) sont altérées en cas de syndrôme métabolique. *Les souris contrôles ou en syndrôme métabolique sont gavées avec 0,5ml d'huile Isio4 A) : Concentration en TG plasmatiques mesurés avant gavage puis 1h, 2h, 3h, 4h et 6h après gavage. B) : Tailles des lipoprotéines mesurées par DLS chez des souris sauvages ou en MetS. C) : Taux d'ARNm jéjunal de souris sacrifiées 1h après gavage, par qPCR en temps réel et normalisé par la 36B4, moyenne <u>+</u> sem. n = 4-6. Test de Student : *P < 0.05.*

De plus, cette dérégulation de CD36 est associée à une absence d'induction des gènes comme la L-FABP, la MTP, l'ApoB et l'ApoC2 après le gavage (Figure 35 C). Des expériences complémentaires utilisant *in vivo* un inhibiteur pharmacologique de la voie des protéasomes (MG132) ont permis de démontrer que c'est bien l'absence de dégradation du CD36 qui est à l'origine de l'absence d'induction de ces gènes *(Buttet, Traynard, et al., 2014, Intestinal CD36 post prandial dysregulation is associated with an alteration of chylomicron synthesis in metabolic syndrome-like mice, JLR, Soumis).*

Ce défaut d'adaptation intestinal semble être dû à l'hyperinsulinémie observée chez les souris en syndrome métabolique qui comme dans le muscle contrecarre l'effet des lipides sur la dégradation du CD36 (Smith et al., 2008). Il est intéressant de souligner que l'insuline active les ERK1/2 *ex vivo* sur segments (données non présentées), ce qui pourrait, comme au niveau musculaire, favoriser le recrutement de CD36 au niveau de la membrane.

Cette absence de dégradation de CD36 a déjà été associée à d'autres désordres métaboliques. Par exemple, la localisation de CD36 persistante à la membrane conduit au captage aberrant d'AG dans le muscle (Koonen et al., 2005 ; Steinbusch et al., 2011). De plus, dans le tissu adipeux, la diminution de l'expression membranaire de CD36 serait nécessaire au contrôle de la lipolyse (Zhou et al., 2012).

Afin de vérifier que CD36 est bien impliqué dans l'adaptation du métabolisme intestinal à la teneur en lipides du régime, nous avons, dans une deuxième partie, étudié ces paramètres chez des souris déficientes en CD36.

Un régime HL riche en AG insaturés a un effet anti-obésité chez les souris CD36 (-/-)

Après avoir caractérisé *ex vivo* le rôle de CD36 en tant que récepteur aux lipides au niveau intestinal permettant l'induction coordonnée de protéines impliquées dans la synthèse des CM, nous avons souhaité vérifier la pertinence physiologique des données *in vivo*. Si l'hypothèse selon laquelle CD36 est indispensable à la synthèse des CM alors des souris déficientes en CD36 devraient présenter une moins bonne adaptation des capacités d'absorption intestinale en régime HL. Jusqu'à présent, dans la littérature concernant l'effet des régimes HL chez les souris CD36 (-/-), peu de données se sont focalisées sur le métabolisme des lipides au niveau intestinal. Les régimes HL utilisés sont du type « *Western Diet* » c'est-à-dire riche en sucre simple et AG saturés.

En 2007, les travaux du laboratoire ont démontré que des souris sauvages sont capables d'adapter leur métabolisme intestinal à la teneur en lipides du régime lorsque ce régime est riche en AGLC mono et polyinsaturés. Cette adaptation s'exerce *via* une augmentation de la prolifération intestinale et des gènes impliqués dans la formation des CM. Comme expliqué dans l'introduction, cette adaptation conduit à la formation de CM de grande taille bien dégradés dans la circulation sanguine puisqu'ils présentent une hypotriglycéridémie post prandiale comparé aux souris en régime standard (Petit et al., 2007). C'est pourquoi, il nous a paru pertinent de comparer l'effet de ces deux types de régimes HL chez les souris CD36 (-/-).

Comparaison de l'effet de régimes HL riches en AG insaturés (Isio4) et riches en AG saturés (*Western Diet*)

1. Protocole d'étude et composition des régimes

Des souris sauvages CD36 (-/-) femelles âgées entre 10 et 13 mois, ont été utilisées pour cette étude. Ces souris initialement générées par l'équipe de Maria Febbraio (Febbraio et al., 1999) ont été entretenues et reproduites au laboratoire sur fonds génétique C57Bl6J.

Le régime HL isio4 a été reconstitué à partir d'une poudre alipidique (Safe diet), d'huile iso4 (Lesieur, France) et de cellulose exclusivement. Seule la quantité de lipides différait entre le régime NL (3% lipides (m/m)) et le régime HL (40% lipides (m/m)).
En ce qui concerne le régime type *Western Diet* riche en saccharose et en AG saturés (High Fat High Sucrose HFHS), il provenait de la société Research Diet (référence n°D03062301). Le contrôle correspondant était également fourni par la même société (référence n°D01060501).

L'huile Isio4 utilisée contient environ 90% d'AG insaturés, dont 60 % d'AGMI (essentiellement de l'OA) et 30 % d'AGPI notamment du LA et du OA. Cette huile contient également 8 % d'AG saturés, apportés surtout par l'acide palmitique (tableau 9). Quant au régime HFHS, il est riche en AG saturés qui sont apportés par du lard essentiellement et contient également du saccharose.
La composition des régimes et leur composition en AG sont détaillés en tableau 9.

Tableau 9 : Composition des régimes utilisés et composition en AG des régimes

Régime Isio4	RNL contrôle g/100g de régime	RHL Isio4 g/100g de régime
Protéine	21,4	13,05
Glucides	60,3	36,9
Vitamines et minéraux	7,6	4,6
Cellulose	7,7	5,5
Eau	37,5ml	0
Lipides : Huile isio4	**3**	**40**
Total % calories apportées par lipides	**7,6**	**64**
Total kcal/g de régime	**3,54**	**5,59**

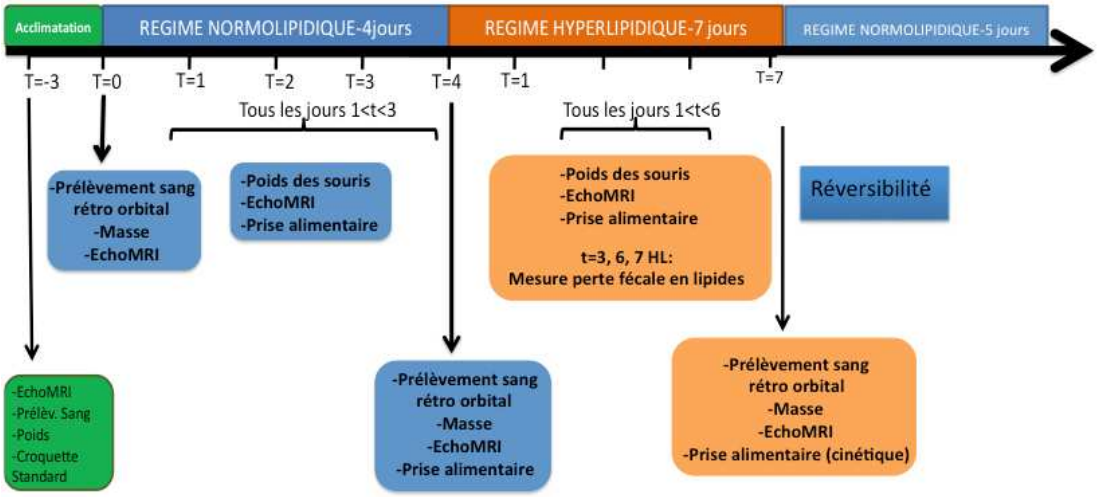
Régime HFHS	RNL contrôle g/100g de régime	RHL HFHS g/100g de régime
Protéine	**21,4**	**26,2**
Glucides	**74**	**25,05**
Amidon	*60,8*	*0*
Maltodextrine	*13,2*	*12,15*
Sucrose	*0*	*12,9*
Lipides	**4,6**	**34,9**
Huile de Soja	***2,5***	***3,2***
Lard	***2,1***	***31,7***
Total % calories apportés par lipides	**10**	**60**
Total kcal/g de régime	**3,85**	**5,24**

Composition en Acides Gras des régimes utilisés (%)		
	Régime Isio4	**Régime HFHS**
AG saturés	**8,3**	**46,8**
AG Monoinsaturés	**60,6**	**38,6**
AG Polyinsaturés	**31,1**	**14,6**
Total AG Insaturés	**91,7**	**53,2**
Acide Palmitique	5	20,9
Acide stéarique	2,2	12
Acide oléique	59,5	28
Acide linoléique	25,8	14
Acide linolénique	5,3	1,12
ω6 / ω3	4,9	7
Cholestérol		107mg/100g

Afin que les souris puissent s'adapter au changement de texture du régime, nous avons laissé une période d'acclimatation de 4 jours en régime NL (3 % de lipides (m/m)). Puis, l'effet du régime HL a été étudié pendant un minimum de 7 jours (40 % de lipides (m/m)) apportée par de l'huile isio4 ou 45 % apporté par le lard. Pour étudier l'existence de la réversibilité des phénomènes observés, les souris ont été re-nourries avec un régime NL pendant 5 jours (Figure 36).

Afin de mesurer de façon précise la prise alimentaire et afin d'évaluer la perte fécale en lipides, l'utilisation de cages physiologiques a été choisie. La mesure de la masse des souris, de la composition corporelle (EchoMRI®, Houston, USA), la prise alimentaire, le prélèvement des fécès ont été réalisées quotidiennement. Un prélèvement de sang par voie rétro-orbitale est réalisé à la fin de chaque type de régime soit : t0, t4 NL, t7 HL, t5 NL réversibilité.

Une période d'acclimatation aux cages physiologiques est réalisée pendant 3 jours avec des croquettes standard de laboratoire (Mucedola, 3 % de lipides (m/m)) avant de commencer les régimes.

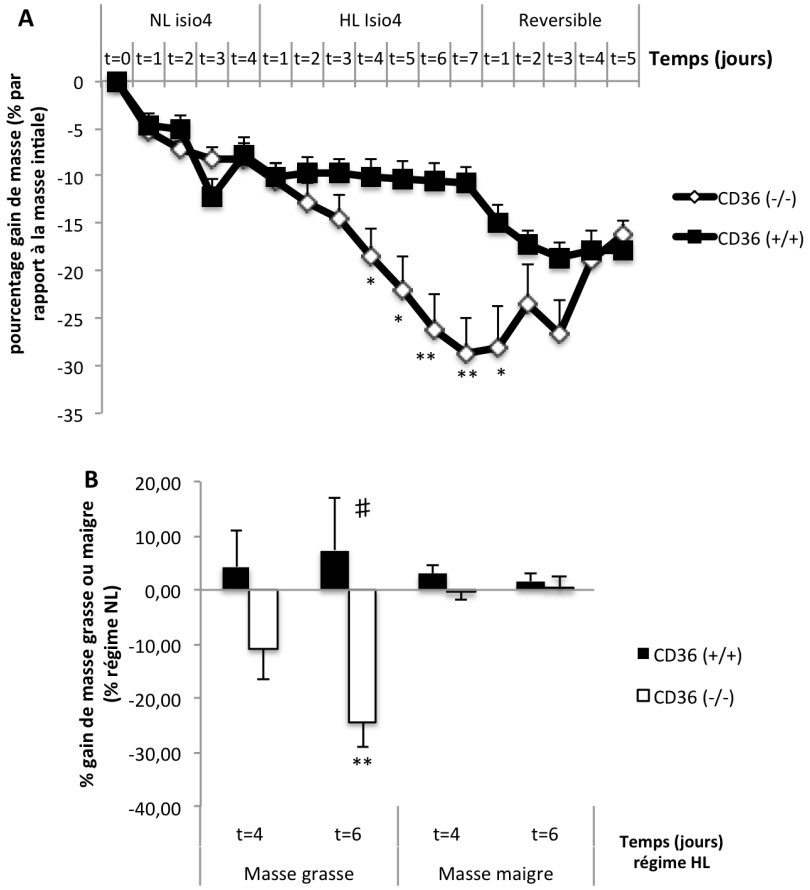


<u>Figure 36</u> : Protocole de l'effet des régimes HL chez les souris sauvages et souris CD36 (-/-).

2. Un régime HL riche en AG insaturés induit une perte de masse rapide chez les souris CD36 (-/-) contrairement à un régime type *Western Diet*

En régime NL, les souris sauvages et CD36 (-/-) ne présentent pas de différence de gain de masse corporelle (figure 37A). L'ensemble des souris en régime NL isio4 au bout de 4 jours de régime reconstitué présentent une masse stabilisée, ce qui démontre qu'elles se sont habituées à la nouvelle forme de régime. De façon tout à fait inattendue, les souris CD36 (-/-) en régime HL isio4 présentent

une perte drastique (environ 30 %) et rapide de la masse corporelle après 7 jours de régime HL alors que les souris sauvages ont une masse corporelle stable tout le long du régime HL (figure 37A).



<u>Figure 37</u> : Résultats de suivi de masse et composition corporelle chez des souris CD36 (+/+) et CD36 (-/-) nourries avec un régime riche en AG insaturés (huile Isio4). *A) Suivi de masse corporelle calculée en pourcentage de variation de masse corporelle en fonction de la masse initiale. B) Résultats de masse maigre et masse grasse exprimée en pourcentage de la masse corporelle après 4 et 6 jours de régime HL mesurée par EchoMRI®. Moyenne <u>+</u> sem. n=6/ groupe ; test de Student *p<0,05 ; ** p<0,01 ; ***p<0,001.*

Cette perte de masse rapide chez les souris CD36 (-/-) est supportée essentiellement par une perte de masse grasse qui atteint 25 % après 6 jours de régimes HL isio4 sans modification de la masse maigre (Figure 41B). Cette chute de masse grasse est rapide et progressive puisqu'elle atteint 10 % et 25 % après respectivement 4 et 6 jours de régime HL isio4 (figure 37 B). Comme le montre la figure 37B, cet effet est spécifique des souris CD36 (-/-) puisque les souris sauvages ne présentent ni modification de la masse corporelle ni de la composition corporelle (Figures 37 A&B). Ce phénomène n'est présent qu'en cas de consommation d'une forte quantité de lipides, car, en régime NL isio 4, aucune différence de masse n'est observée. Il est important de signaler que la chute de masse corporelle et de la masse grasse peut conduire à la mort de l'animal puisque 2 souris sur 6 exposées au régime HL

isio4 n'ont pas survécu. En répétant les expériences, nous avons constaté que la diminution de la masse corporelle de plus de 30 % est léthale.

Comme le montre la figure 37A, 5 jours de NL isio4 sont suffisants pour que les souris CD36 (-/-) survivantes retrouvent la même masse corporelle que les souris sauvages. Ces données indiquent que l'effet du régime HL isio4 peut être réversible en partie.

En revanche, les souris CD36 (+/+) et CD36 (-/-) en régime *Western Diet* ne présentent pas de différence de masse corporelle (figure 38A) ni de composition corporelle (Figures 38 B & C) durant le régime NL comme durant le régime HFHS.

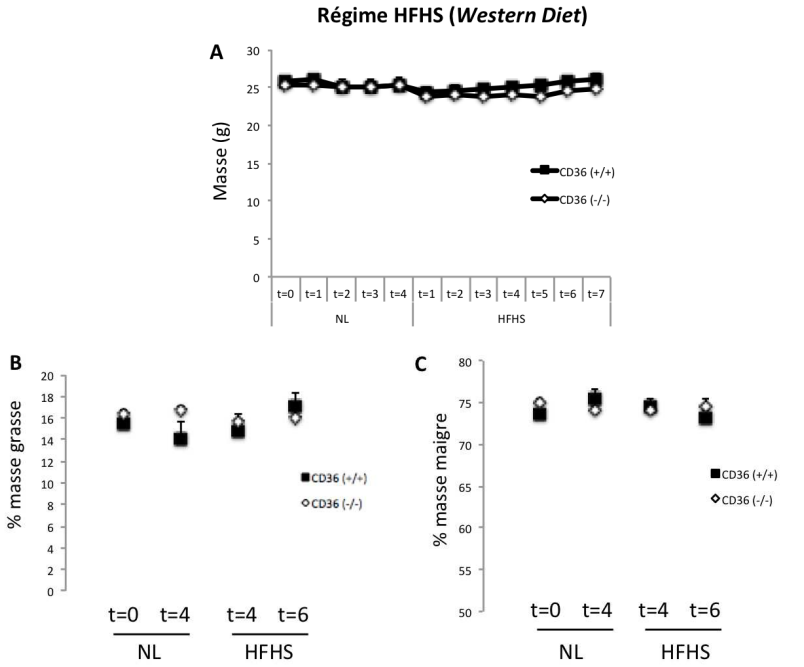


Figure 38 : Résultats de suivi de masse et composition corporelle chez des souris CD36 (+/+) et CD36 (-/-) après 7 jours de régime type Western Diet (HFHS). *A) Suivi de masse corporelle exprimée en grammes. B) Résultats de masse maigre et masse grasse exprimée en pourcentage de la masse corporelle à t=0, après 4 jours de régime NL puis après 4 et 6 jours de régime HFHS mesurée par EchoMRI®. Moyenne ± sem. n=6 / groupe ; test de Student *p<0,05 ; ** p<0,01 ; ***p<0,001.*

Ces résultats nous permettent de formuler l'hypothèse que la chute de masse grasse rapide observée chez les souris CD36 (-/-) est dûe soit à une surconsommation d'AG insaturés, soit à une sous consommation de saccharose et/ou de cholesterol.

Afin de nous assurer que les effets sont dus à la qualité des AG présents dans le régime et de nous affranchir des variations de quantité de protéines et de glucides pouvant influencer les paramètres mesurés, nous n'avons fait varier que la qualité des AG présents dans la régime. Nous avons soumis des souris CD36 (+/+) et CD36 (-/-) à des régimes normolipidiques (NL) et hyperlipidiques (HL) riche en huile de palme riche en AG saturés, comme dans le lard contenus dans le régime HFHS.

3. Un régime enrichi en AG saturés (huile de palme) ne modifie pas la masse ni la composition corporelle des souris CD36 (-/-)

Des souris CD36 (+/+) et CD36 (-/-) ont été soumises au même protocole que précédemment (figure 36) en ne changeant strictement que l'huile Isio4 par de l'huile de palme. Le régime NL contient par conséquent 3 % de lipides (m/m) apportée par l'huile de palme et le régime HL contient 40 % de lipides (m/m) apportée par la même huile. Celle-ci contient 50 % d'AG saturés, essentiellement de l'acide palmitique mais il est important de noter qu'elle est constituée de 40 % d'AG mono-insaturés (surtout de l'OA) et d'environ 10 % de polyinsaturés (Tableau 10). En revanche, rappelons que l'huile isio4 contient, quant à elle, environ 8,3 % d'AG saturés, 60 % de mono-insaturés (essentiellement de l'OA) et 31 % de polyinsaturés (Tableau 9).

Huile de palme	%
Monoinsaturés	41,5
Polyinsaturés	8,5
Saturés	50
Acide laurique C12:0	< 0,5
Acide myristique C14:0	0,5–2
Acide palmitique C16:0	39,5 – 47,5
Acide stéarique C18:0	3,5–6
Acide oléique C18:1	36–44
Acide linoléique C18:2	9–12
Acide alinolénique C18:3	< 0,5

Tableau 10 : Composition en AG de l'huile de palme (Fonds français alimentaire, 2012).

Aucune différence de masse corporelle (figure 39A) ni de composition corporelle n'est observée en régime HL riche en huile de palme entre les 2 groupes de souris (figure 39B). En effet, les souris présentent une masse corporelle d'environ 25g en moyenne tout le long de l'expérience.

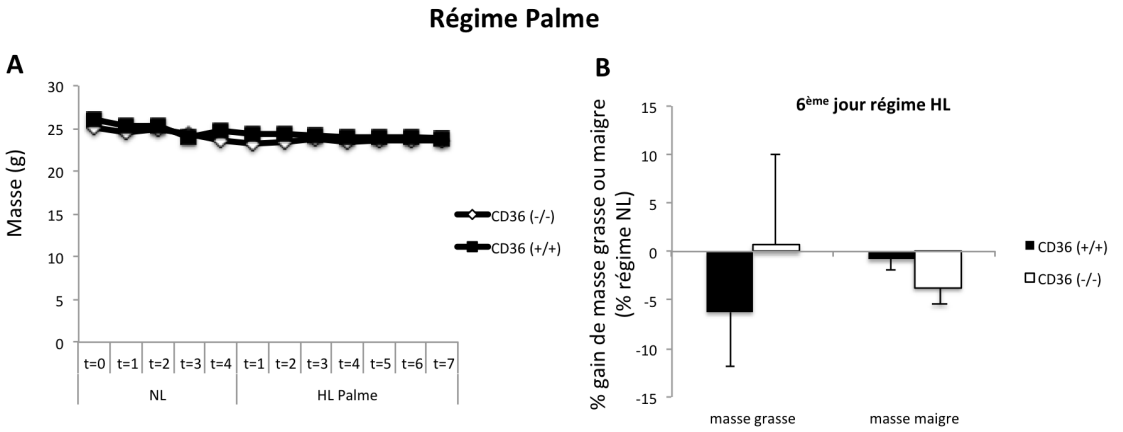


Figure 39 : Suivi de la masse et de la composition corporelle chez des souris CD36 (+/+) et CD36 (-/-) en régime riche en AG Saturés (huile de palme). *A) Evolution de la masse corporelle calculée exprimées en grammes. B) Résultats de gain de masse maigre et de masse grasse exprimée en pourcentage de la masse corporelle initiale après 6 jours de régime HL. Moyenne ± sem. n=6/ groupe. test de Student *p<0,05 ; ** p<0,01 ; ***p<0,001.*

En conclusion, la chute de masse grasse rapide observée chez les souris CD36 (-/-) est due à la consommation d'une grande quantité d'AG insaturés, car ce phénomène n'est pas retrouvée ni en régime type Western Diet (HFHS) ni en régime HL riche en huile de palme.

Pour comprendre l'origine de cet effet rapide et marqué qui semble uniquement présent en régime HL, nous avons par la suite comparé l'effet du régime riche en isio4 avec celui riche en huile de palme. A ce stade, plusieurs hypothèses ont été envisagées. Une consommation chronique d'AGLC insaturés chez les souris CD36 (-/-) :

- Déclenche-t-elle une aversion ?
- Est-elle associé à une augmentation de la DE ?
- Déclenche-t-elle une malabsorption des lipides ?
- Est-elle à l'origine d'une élévation d'une hypertriglycéridémie post post prandiale et d'une endotoxémie associée ?
- Est-elle à l'origine d'une altération de l'intégrité intestinale ?

4. Mesure de la prise alimentaire et étude des préférences alimentaires chez des souris CD36 (+/+) et CD36 (-/-) en régimes HL isio4 et Palme

4.1. Suivi de la prise alimentaire

Afin d'appréhender l'origine de cette chute de masse rapide observée uniquement chez les souris CD36 (-/-) en régime HL Isio4, nous avons mesuré la prise alimentaire. Comme le montre la figure 40, au 4ème jour d'habituation au régime NL, les souris sauvages et CD36 (-/-) consomment la même quantité d'énergie que ce soit en régime NL Isio4 et Palme. En revanche, en régime HL Isio4 (figure 40A), on observe dès le premier jour une diminution de la prise alimentaire qui s'intensifie tout au long du régime pour atteindre environ 70 % après 7 jours de régime HL chez les souris CD36 (-/-) comparé aux souris sauvages. Cet effet est réversible puisque l'apport calorique revient au niveau des souris témoins 5 jours après un régime NL isio4. Dans le cas du régime HL palme, les souris CD36 (-/-) et sauvages consomment la même quantité d'énergie tout le long du régime HL, environ 12 kcal en moyenne. Même si les 1er jours de réversibilité il est observé une surconsommation de régime NL palme chez les souris CD36 (-/-), après 5 jours, les animaux consomment la même quantité.

L'ensemble de ces données démontre que seul l'huile isio4 lorsqu'elle représente 60 % de l'apport énergétique total, inhibe la prise alimentaire chez les souris CD36 (-/-).

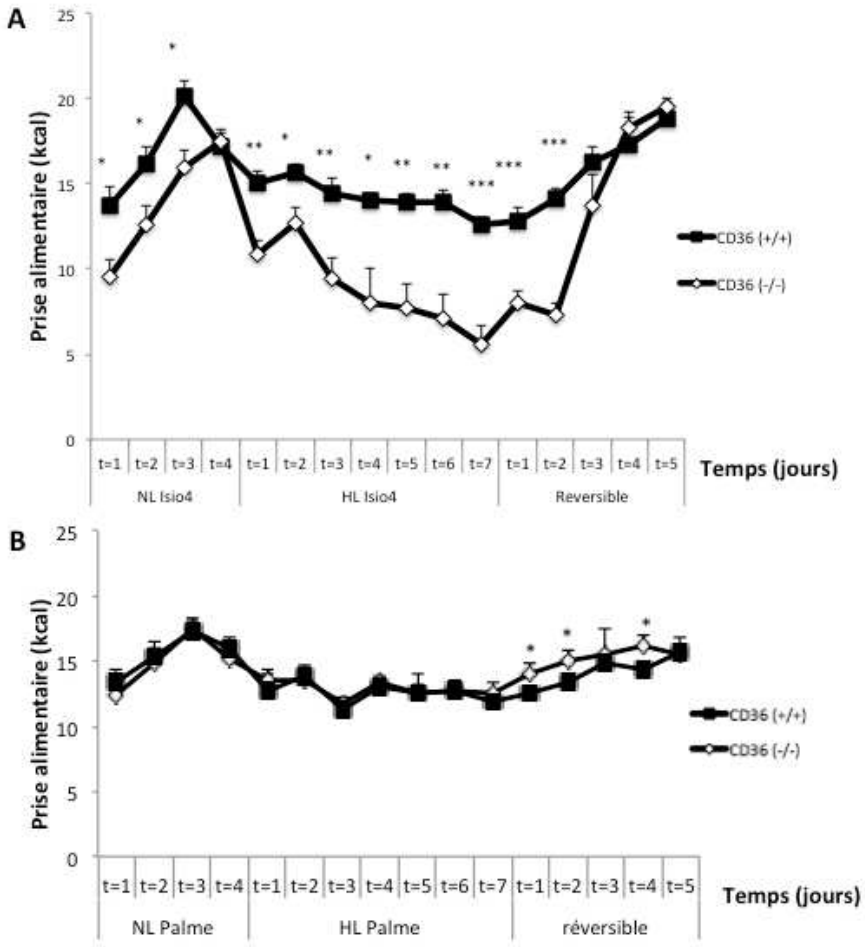


Figure 40 : Résultats de suivi de prise alimentaire exprimée en kcal/jour chez des souris CD36 (+/+) et CD36 (-/-) après 7 jours de régime riche en AG insaturés (huile Isio4) (A) et en régime riche en AG saturés (huile de palme) (B). *La prise alimentaire a été estimée quotidiennement à la même heure. Moyenne ± sem. n=6/ groupe ; test de Student *p<0,05 ; ** p<0,01 ; ***p<0,001.*

Cette diminution de la prise alimentaire explique en partie la perte de masse corporelle et de tissu adipeux observées chez les souris CD36 (-/-). Afin d'affiner les résultats de prise alimentaire, nous avons effectué une cinétique de prise alimentaire toute les 4h sur 24h (figure 41).

4.2. Cinétique de prise alimentaire sur 24h à l'issue du régime HL chez des souris CD36 (+/+) et CD36 (-/-)

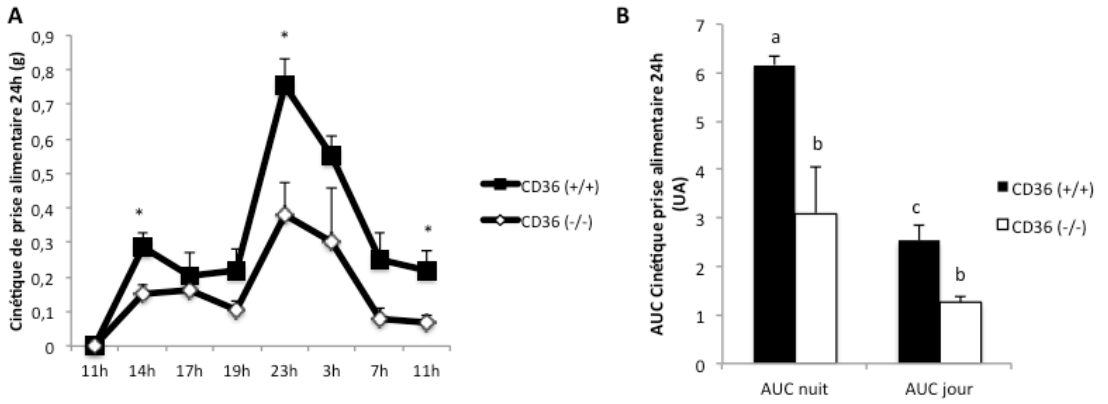


Figure 41 : Cinétique de prise alimentaire sur 24h de souris CD36 (+/+) et CD36 (-/-) au 7ème jour de régime HL Isio4 (A) et aire sous courbe (B) calculée pour la période nocturne et diurne. *A) La prise alimentaire est effectuée toutes les 4h pendant 24h en cage physiologique, sous lumière rouge pendant la période nocturne. B) l'aire sous courbe est calculée par la méthode des trapèzes. Moyenne ± sem. n=6/ groupe ; test de Student *p<0,05 ; ** p<0,01 ; ***p<0,001.*

Comme le montre la figure 41A, les souris CD36 (-/-) présentent un pic de prise alimentaire à 23h tout comme les souris CD36 (+/+). Elles mangent significativement moins que les souris sauvages que ce soit en période nocturne (P=0,011) et en période diurne (P=0,004) (figure 41B). Elles ont tendance, comme les souris sauvages, à manger une plus grande quantité de nourriture la nuit que le jour (P=0,08). On peut donc conclure qu'il n'existe pas de grande différence de cinétique de prise alimentaire entre les souris CD36 (+/+) et CD36 (-/-) et que les différences observées résident plutôt dans la quantité de régime consommée.

4.3. Préférences alimentaires suite à un régime HL isio4 ou palme

Afin de déterminer si cette chute de prise alimentaire est associée à un changement de préférence alimentaire, nous avons soumis des souris CD36 (+/+) et CD36 (-/-) à un test de double choix à la fin du régime HL Isio4 ou palme. Dans cet objectif, les souris ont été laissées en cage individuelle et ont eu libre accès aux 2 régimes HL reconstitués pendant 24h et libre accès à l'eau. Cette hypothèse est

d'autant plus valide qu'il a été démontré par l'équipe que CD36 est impliqué dans la préférence spontanée pour les lipides alimentaires (Laugerette et al., 2005).

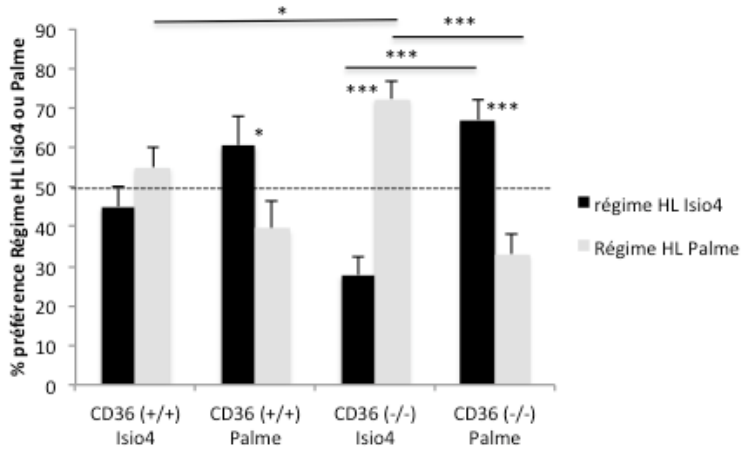


Figure 42 : Tests de double choix de souris CD36 (+/+) et CD36 (-/-) après 10 jours de régime HL riche en AG insaturés (Isio4) ou saturés (huile de palme). *Les souris ont libre accès aux 2 régimes HL (40% lipides (m/m)) et libre accès à l'eau. La prise alimentaire est mesurée sur 24h. Le pourcentage de préférence est calculé par le rapport (consommation d'un régime / consommation globale des 2 régimes) *100. Moyenne ± sem. n=8/ groupe ; test de Student *p<0,05 ; ** p<0,01 ; ***p<0,001.*

Les souris sauvages préalablement nourries avec un régime HL isio4 n'ont pas de préférence spécifique pour un des deux régimes (figure 42). En revanche, lorsque ces souris sauvages ont été préalablement nourries avec un régime HL palme, une préférence pour le régime HL isio4 est démontrée, environ 60 % de préférence (P=0,05). De la même façon, les souris CD36 (-/-) nourries préalablement avec le régime palme préfèrent comme les CD36 (+/+) l'isio4 (préférence de 70 %), cette préférence est abolie quand les souris ont été nourries préalablement avec un régime HL isio4 (P=0,003). Le régime HL isio4 consommé de manière chronique déclenche donc une aversion uniquement chez les souris CD36 (-/-) (figure 42).

Cet effet peut expliquer la diminution progressive de la prise alimentaire observée en cas de régime HL isio4. De plus, la préférence pour l'huile isio4 des souris préalablement nourries avec un régime riche en huile de palme n'est pas CD36 dépendante puisqu'elle est retrouvée chez les souris sauvages et CD36 (-/-).

Rappelons que la préférence alimentaire observée sur 24 h est un phénomène global qui résulte de l'intégration de phénomènes précoces de nature oro-sensorielle (odeur, goût, texture) et de phénomènes plus tardifs d'origines post-ingestive et post-absorptive (signaux neuronaux, endocrines

et métaboliques). Par conséquent, l'aversion observée pour le régime HL isio4 associé à la mort de certaines souris suggère qu'elles subissent une souffrance d'origine post-ingestive ou post-absorptive. Cette aversion est probablement à l'origine de la chute de la prise alimentaire (Figure 40).

En plus de cette inhibition de la prise alimentaire, cette chute de masse corporelle pourrait s'expliquer par une augmentation de la dépense énergétique.

5. Effet d'un régime HL Isio4 ou palme sur la dépense énergétique chez des souris CD36 (+/+) et CD36 (-/-)

Une chute de masse corporelle et de masse adipeuse très rapide comme observée chez les souris CD36 (-/-) en régime HL isio4 pourrait en partie s'expliquer par :

- Une augmentation de la dépense énergétique (DE) ou/et
- Une induction de l'activité globale ou/et
- Une oxydation plus importante des lipides.

5.1. Protocole

La DE a été déterminée dans des chambres à calorimétrie indirecte chez des souris CD36 (+/+) et CD36 (-/-) soumises à un régime HL riche en AG Insaturés ou Saturés (40 % lipides (m/m)) à la température de 20°C et à humidité contrôlée (CLAMS, Comprehensive Lab Animal Monitoring System, Columbus Instruments, Ohio, USA) (Plateau phénotypage du petit animal, Equipe NUTox) (figure 43). La quantification des échanges gazeux (O_2 et CO_2) permet de déterminer le quotient respiratoire ainsi que la dépense énergétique des souris (Even et Nadkarni 2012). Ce dispositif permet de mesurer également l'activité des souris et la prise alimentaire en temps réel. Les paramètres sont mesurés toutes les 20 minutes. La DE calculée dans ces conditions intègre la dépense énergétique liée au métabolisme basal, liée à la prise alimentaire, à la régulation de la température corporelle et à l'activité physique globale. L'activité physique des souris est mesurée par un système de photocellules Infra Rouge (IR). La somme des 3 valeurs données selon les 3 axes permet d'estimer l'activité totale des souris sur une période donnée. L'interruption du faisceau IR par le mouvement de la souris équivaut à un mouvement enregistré en temps réel et selon 3 axes (X, Y et Z).

Chaque souris a été acclimatée aux cages du dispositif pendant 5 jours en régime NL reconstitué (3 % (m/m)) jusqu'à la reprise et la stabilisation de la masse corporelle comparée à celle mesurée au début

de l'expérience (5 jours) puis soumises à 8 jours de régime HL.



Figure 43 : Cages de calorimétrie indirecte pour souris (Comprehensive Lab Animal Monitoring System ((CLAMS), Columbus Instruments, Ohio, USA) : schématisation des axes de quantification de l'activité des souris.

Les mesures en cage CLAMS ont été réalisées pendant 48h sur des souris sauvages et CD36 (-/-) nourries avec un régime NL iso4 ou palme. Puis les mesures ont été poursuivies chez ces mêmes animaux en régime HL isio4 et palme pendant 8 jours. Puisque nous disposons de 8 cages métaboliques, l'expérience a été réalisée en deux séries contenant chacun 4 animaux recevant le régime riche en huile de Palme et 4 animaux recevant le régime riche en huile Isio4. L'estimation de l'oxydation des lipides et du glucose a été calculée selon les formules proposées par Patrick Even et al 2012 (figure 44) :

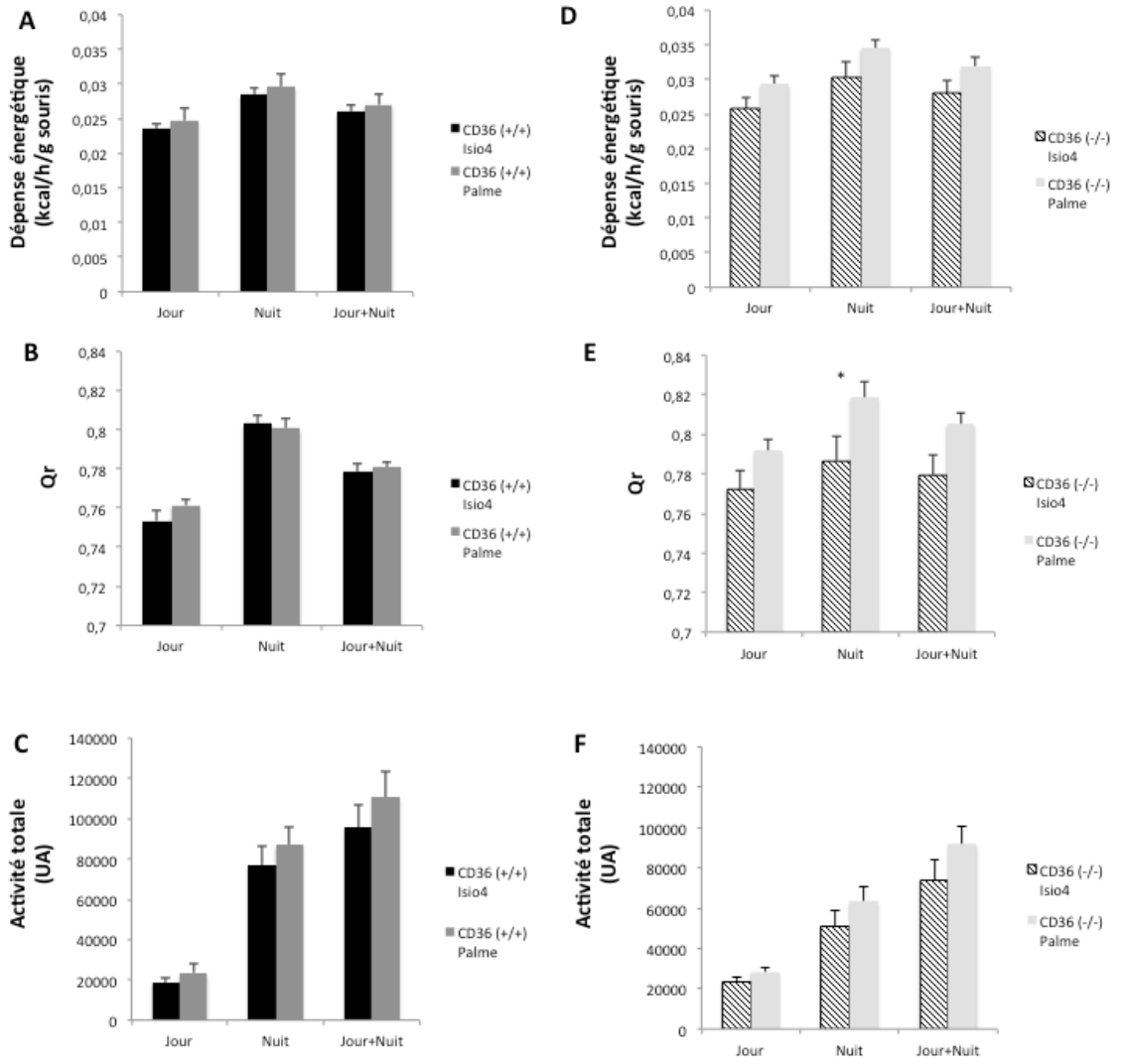
$$Gox = (4{,}55 * VO_2) - (3{,}21 * VCO_2)$$

$$Lox = (1{,}67 * VO_2) - (1{,}67 * VCO_2)$$

Figure 44 : Equation estimant la part de l'oxydation du glucose (Gox) et de celles des lipides (Lox) à partir de la VO_2 et la VCO_2 mesurée en cage de calorimétrie indirecte (Even et Nadkarni 2012).

5.2. Les souris CD36 (-/-) ne présentent pas d'augmentation de la DE ni de l'activité mais une oxydation des lipides plus importantes en régime HL isio4

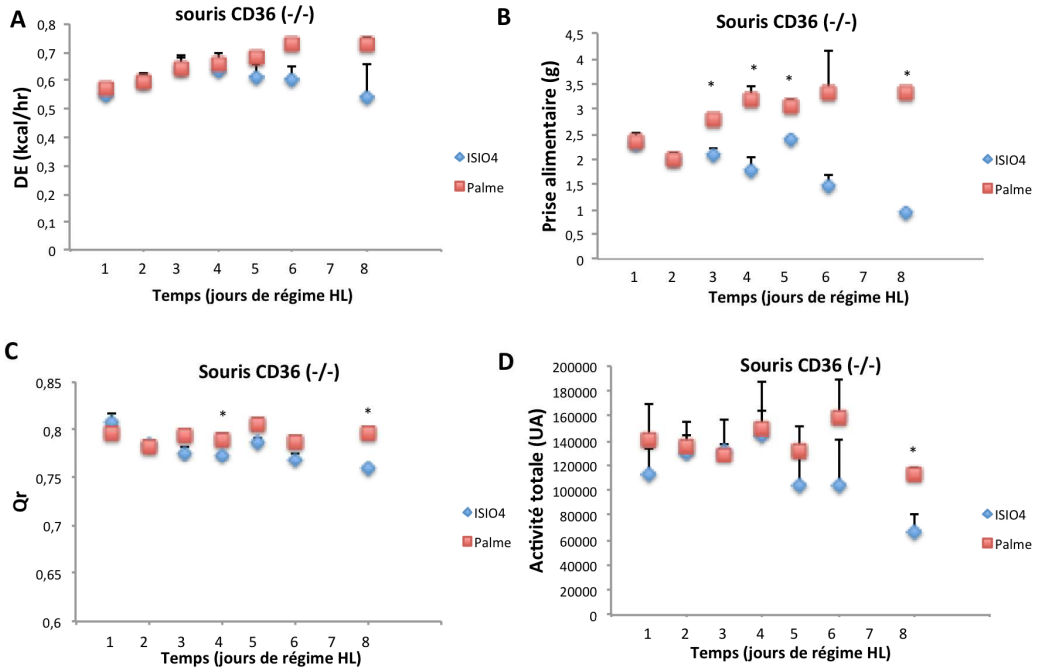
Nous avons présenté tout d'abord les données sur la DE, le Qr, l'activité totale en période nocturne et diurne au 8ème jour de régime HL pour les souris CD36 (+/+) et CD36 (-/-) en régime HL Isio4 et Palme.



<u>Figure 45</u> : Impact d'un régime HL riche en huile Isio4 (AG insaturés) ou riche en huile de palme (AG saturés) chez des souris CD36 (+/+) (colonne de gauche) et CD36 (-/-) (colonne de droite) sur la DE (figures 45 A & D), le Qr (figures 45 B & E) et l'activité totale (figures 45 C & F). *Ces 3 paramètres sont présentés au 8ème jour de régime HL. La DE exprimée en kcal/h est ramenée à la masse en grammes pour chaque souris. Moyenne <u>+</u> sem. n=7-8/ groupe ; test de Student *p<0,05 ; ** p<0,01 ; ***p<0,001.*

En régime NL, les souris ne présentent de modification de la DE (données non présentées). Après 8 jours de régime HL isio4 ou palme, aucune différence significative n'est observée entre les souris sauvages et CD36 (-/-) quel que soit le régime (Figures 45 A & D). Pour affiner cette donnée, nous avons analysé la DE sur la journée et la nuit. Comme attendu, la DE des deux types de souris est plus élevée la nuit que le jour ce qui cohérent avec leur activité. Comme le montre les figures 45 A&D, les souris sauvages et CD36 (-/-) dépensent la même quantité d'énergie quel que soit le régime et le

moment de la journée. L'activité des souris en régime HL Isio4 et Palme est similaire chez les souris sauvages (figure 45C) comme chez les souris CD36 (-/-) (figure 45F). Pour appréhender le substrat énergétique utilisé par les souris, nous avons estimé le Qr. Le jour, période de faible consommation alimentaire, les souris sauvages ont un Qr plus faible et plus proche de 0,7 que les souris CD36 (-/-). Ce résultat traduit probablement une meilleure utilisation des AG endogènes (Koonen et al., 2007 ; Koonen et al., 2005). De manière intéressante, les souris CD36 (-/-) nourries avec le régime HL isio4 présentent un Qr plus faible qu'en régime HL palme en période nocturne (J8 P=0,05). La même tendance est retrouvée en période diurne mais non significative. La prise alimentaire de ces souris étant plus faible, l'utilisation accrue des lipides stockés au niveau du tissu adipeux pourrait être une piste d'explication de la différence de Qr. Afin de mieux comprendre l'évolution de la DE, du Qr et de l'activité en fonction de la chute de prise alimentaire, une cinétique a été effectuée en régime HL. De plus, la part des lipides et du glucose oxydés est calculée sur la base des formules de Patrick Even à partir de VO_2 et de la VCO_2 (Even et Nadkarni 2012). Aucune différence de DE, Qr, et d'activité n'étant observé en fonction du régime chez les souris sauvages, nous avons choisi d'analyser par la suite uniquement les deux régimes HL chez les souris CD36 (-/-). Cette expérience a été menée sur un nouveau lot de souris femelles CD36 (-/-) agées de 10 à 15 semaines.



<u>Figure 46</u> : Impact d'un régime HL riche en AG insaturés (huile Isio4) ou riche en AG saturés (huile de palme) chez des souris CD36 (-/-) sur la DE (figure 46A), la prise alimentaire (figure 46B), le Qr (figure 46C) et l'activité totale (figure 46D). Moyenne <u>+</u> sem. *n=3-4/ groupe ; test de Student *p<0,05 ; ** p<0,01 ; ***p<0,001.*

Cette expérience nous permet de confirmer que seules les souris CD36 (-/-) nourries avec régime HL Isio4 ont une chute de la prise alimentaire. De façon intéressante, ce phénomène est présent dès 3 jours de régime HL (P=0,006) (figure 46B). Cette modification est associée à une tendance de la chute de la DE qui s'observe dès 4 jours de régime HL isio4 et s'accentue entre 4 et 8 jours de régime HL (Figure 46A). En parallèle, on observe une diminution de l'activité globale dès 5 jours et significative au 8ème jour de régime (P=0,047) (figure 46D). En ce qui concerne le Qr, celui-ci est plus faible dès 4 jours de régime chez les souris CD36 (-/-) en régime HL isio4 comparé à celles nourries avec le régime HL palme (P=0,04) (figure 46C). Ces données confirment les précédentes (Figure 45E). Notons cependant que la diminution de la prise alimentaire est un peu moins rapide que celle observée dans l'expérience précédente. La masse et la composition corporelle n'ont pas pu être évaluées dans cette expérience. Cependant, ces données indiquent que le premier effet est une diminution de la prise alimentaire, puis de la DE et enfin de l'activité. La chute de masse rapide ne peut pas être expliquée par l'activité globale ou la DE qui n'est pas induite chez les souris CD36 (-/-) en régime HL isio4. Cependant, un Qr plus faible peut peut-être indiquer une utilisation accrue des lipides ingérés mais surtout stockés puisque la prise alimentaire diminue de façon progressive tout le long du régime HL.
Afin de déterminer, si la chute de masse adipeuse peut être corrélée à une oxydation des lipides plus importante chez les souris CD36 (-/-) en régime HL isio4, la part des lipides et du glucose oxydés est présentée en figure 52, en période diurne et en période nocturne.

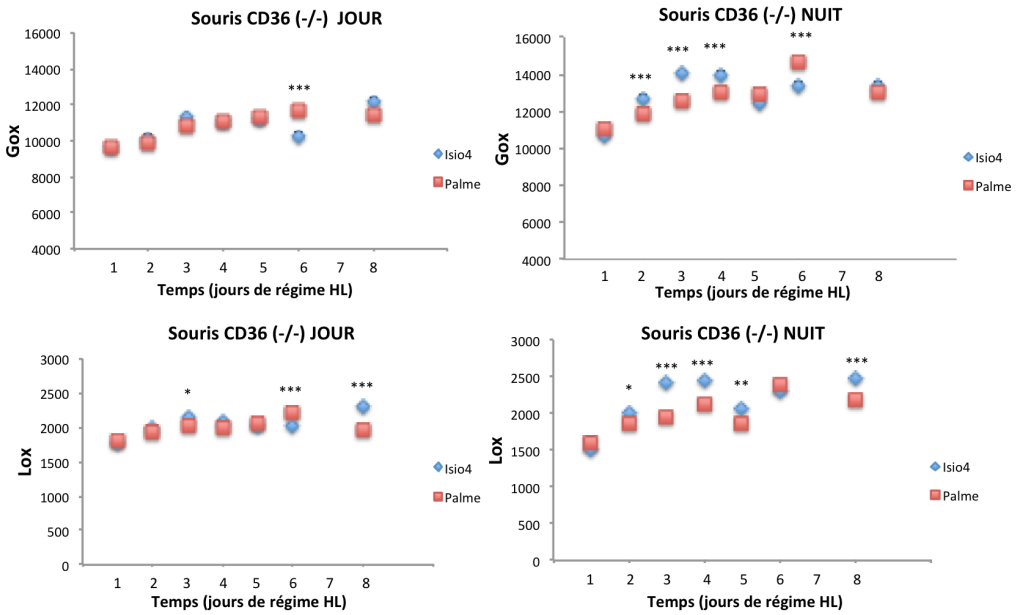


Figure 47 : Impact d'un régime HL riche en AG insaturés (huile Isio4) ou riche en AG saturés (huile de palme) chez des souris CD36 (-/-) sur l'oxydation des lipides et du glucose en périodes diurne et nocturne. *Les formules utilisées sont celles proposées par Patrick Even (Even et Nadkarni 2012). Moyenne ± sem. N=3-4/ groupe ; test de Student *p<0,05 ; ** p<0,01 ; ***p<0,001.*

De façon intéressante, les souris CD36 (-/-) en régime HL isio4 oxydent plus le glucose les premiers jours de régime HL, en particulier en période nocturne entre le 2ème et le 6ème jour de régime (figure 47), c'est-à-dire pendant la période de prise alimentaire. Peu de différence d'oxydation du glucose n'est observable entre les 2 groupes en période diurne tout le long du régime (figure 47). Un captage et une utilisation accrue du glucose chez des souris CD36 (-/-) en régime HL est cohérent avec la littérature (Hajri et al., 2002) et l'hypoglycémie mesurée à 9 h du matin à l'état nourri (Tableau 11).

n=6	CD36 (+/+)				CD36 (-/-)			
g/l	NL	HL isio4 J7	HL Palme J7	HFHS J7	NL	HL isio4 J7	HL Palme J7	HFHS J7
[TG]	0,82±0,04	0,68±0,05	0,72±0,01	0,90±0,07	0,74±0,02	1,13±0,08** ♯	0,74±0,02	1,09±0,08
Glycemie	1,11±0,05	1,51±0,08**	0,97±0,06	1,51±0,1**	1,15±0,08	0,62±0,07*** ♯	0,75±0,06** ♯	1,12±0,11 ♯

Tableau 11 : Paramètres plasmatiques de souris CD36 (+/+) et CD36 (-/-) soumises à 4 jours de régime NL puis à 7 jours de régime HL riche AG insaturés (huile Isio4), ou en AG saturés (huile de Palme (40% lipides (m/m)) ou HFHS (research Diet n°D03062301). *Concentration en TG (kit Biomérieux) et en glucose (kit Diasys) plasmatiques mesurées à partir de 2µl de plasma. Moyenne ± sem. n=4-6/ groupe ; test de Student comparaison NL/HL *p<0,05 ; ** p<0,01 ; ***p<0,001. Comparaison CD36 (+/+) et CD36 (-/-) # : p<0,05.*

De plus, en période nocturne, l'oxydation des lipides est plus importante chez les souris CD36 (-/-) à partir du $2^{ème}$ jours au $8^{ème}$ jour de régime HL isio4 comparé au régime HL palme (J8 P=0,00159) (figure 47). On retrouve une oxydation des lipides également en période diurne chez les souris CD36 (-/-) nourries avec un régime HL isio4 entre le $6^{ème}$ et le $8^{ème}$ jour de régime (figure 47). Ces résultats indiquent que le Qr plus faible s'expliquerait par une oxydation des lipides plus importante chez les souris CD36 (-/-) nourries avec un régime HL isio4 comparé aux souris CD36 (-/-) avec un régime palme. Il est important de signaler que ce résultat peut paraître surprenant puisque CD36 joue un rôle important dans le captage et l'oxydation des lipides au niveau musculaire mais pas au niveau hépatique.

En conclusion, la chute de masse corporelle et du tissu adipeux observée chez les souris déficientes en CD36 nourries avec un régime HL isio4 ne s'explique pas par une augmentation de la DE ni de l'activité. La diminution de l'activité physique pourrait participer à la diminution de la prise alimentaire. Une augmentation de l'oxydation des lipides associée à un Qr plus faible en période nocturne a été observée. Comme la prise alimentaire diminue tout le long du régime HL, on peut supposer que les souris déficientes en CD36 oxydent plus les lipides stockés au niveau du tissu adipeux.

Le régime HL isio4 déclenche une malabsorption intestinale des lipides chez les souris CD36 (-/-)

Un autre phénomène pouvant expliquer la chute de masse corporelle chez les souris CD36 (-/-) nourries avec un régime HL isio4, pourrait être une moins bonne absorption des lipides alimentaires qui constituent le macronutriment majoritaire de ce régime. Pour vérifier cette piste, nous avons étudié la perte fécale en lipides, la sécrétion intestinale des TG, l'hypertriglycéridémie post prandiale et l'expression des gènes impliquées dans la synthèse des CM.

1. Protocole

L'ensemble des investigations suivantes a nécessité plusieurs lots de souris. Nous avons toujours observé les effets délétères du régime HL isio4 chez les souris CD36 (-/-) mais avec une certaine variation dans la cinétique de l'effet (3 à 10 jours en considérant la variation de masse corporelle). C'est pourquoi, par la suite nous avons réalisé les expériences à partir du moment où la masse corporelle des animaux transgéniques était significativement différente des souris témoins.

Perte fécale en lipides

La perte fécale a été estimée sur 24h en récupérant l'intégralité des fécès et en extrayant les lipides selon le protocole de (Mataki et al. 2007). Elle est exprimée en pourcentage de la quantité de lipides excrétés sur le pourcentage de lipides ingérés par jour.

Sécretion intestinale et clairance des CM

La sécrétion des TRL a été estimée en gavant les souris avec 0,5ml de l'huile présente dans leur régime suite à un jeun de 6h. Pour inhiber la LPL, une injection en rétroorbital de tyloxapol (500mg/kg) a été réalisée 10 minutes avant le gavage. Dans ces conditions, les TG mesurés au niveau sanguin (par prélèvement au niveau de la queue) sont la résultante de la sécrétion des VLDL hépatiques et des CM intestinaux. Cependant, comme précisé en introduction, en période post prandiale la sécrétion des CM est majoritaire. C'est pourquoi nous estimons que les TG mesurés dans ces conditions réflètent la sécrétion des TRL intestinaux (Kit PAP 150, Biomérieux).

La taille des CM a également été estimée 4h après le gavage en présence de tyloxapol. Après centrifugation des échantillons de sang à 2500g pendant 20 minutes à température ambiante, les plasmas ont été récupérés puis recentrifugés à 18000g pendant 20 minutes et la taille des lipoprotéines

a été évaluée par diffusion dynamique de la lumière (ou DLS pour Dynamic Light Scattering). Cette technique spectroscopique, basée sur la vitesse de déplacement des particules (fonction de leur taille), permet d'évaluer le diamètre de particules en suspension dans une solution.

Hypertriglycéridémie post prandiale

Afin de vérifier l'hypertriglycéridémie observée à l'état nourri en cages physiologiques, nous avons gavé des souris CD36 (+/+) et CD36 (-/-) avec 0,5 ml d'huile Isio4 ou d'huile de palme tous les jours pendant 10 jours, une fois par jour. Les souris étaient nourries avec des croquettes standard de laboratoire (Mucedola 3% lipides (m/m)) afin de déterminer si une surconsommation d'huile Isio4 ou d'huile de palme influence l'hypertriglycéridémie post prandiale. La lipémie est mesurée au 10ème gavage toutes les heures pendant 6h (prélèvement de sang par la veine de la queue).

Régulation de gènes

Suite aux régimes HL, les souris ont été sacrifiées à l'état nourri à 9h du matin. Lors du sacrifice l'intestin a été divisé en 3 parties égales. Les muqueuses jéjunale et iléale, correspondant respectivement aux 2ème et 3ème segments, ont été récupérées par grattage puis congélées avant extraction. L'extraction des ARN a été réalisé à l'aide de colonne Qiagen. Une Reverse Transcriptase PCR est réalisée à partir de 500g d'ARN (kit Applied High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit Applied Biosystems). Une PCR quantitative en temps réel est réalisée à partir de 10ng d'ADNc. Les amorces utilisées sont inventoriées en Taqman chez Applied Biosystems (Life technologies). Les conditions d'hybridation des amorces sont : 60°C-1 minute.

2. Impact du régime HL isio4 chez les souris CD36 (-/-) sur la morphologie intestinale

Comme le montre le tableau 12, en régime HL isio4, les souris CD36 (-/-) présentent une moindre épaisseur de la muqueuse intestinale (masse de l'intestin / longueur) ce qui laisse supposer qu'elles ont une surface d'absorption moins importante. Signalons qu'en régime NL, les souris CD36 (-/-) ne présentent pas de différence d'épaisseur de muqueuse intestinale, comparés aux souris sauvages (*thèse Trang THI THU TRANG, 2011)*. Ce résultat suggère que contrairement aux souris sauvages, le régime isio4 n'est pas à l'origine d'une prolifération intestinale chez les souris CD36 (-/-) (Petit et al., 2007). De plus, cette moindre adaptation pourrait en partie expliquer une augmentation de la perte fécale observée chez les souris CD36 (-/-).

`

Masse de tissu relative	CD36 (+/+)	CD36 (-/-)	Test t
Estimation de la surface d'absorption masse (mg) / longueur (cm)	30,60 ± 0,7	26,10 ± 0,9	**

Tableau 12 : Estimation de la surface d'absorption de la muqueuse intestinale chez des soruis femelles sauvages et CD36 (-/-) soumises à un régime HL isio4 et sacrifiées à l'état nourri. *Moyenne ± sem. n=5 ; Test de student, * P < 0.05; ** P < 0.01; *** P < 0.001.*

Cette absence d'adaptation de la surface à la teneur en lipides du régime pourrait conduire à une mal absorption des nutriments et en particulier des lipides. Pour tester cette hypothèse nous avons mesuré par la suite la perte fécale en lipides.

3. Les souris CD36 (-/-) présentent, seulement en régime HL riche en huile Isio4, une perte fécale en lipides.

Dans le but de déterminer si les souris CD36 (-/-) présentent en régime HL Isio4 ont une malabsorption des lipides, nous avons mesuré, dans un premier temps, les lipides présents dans les fécès.

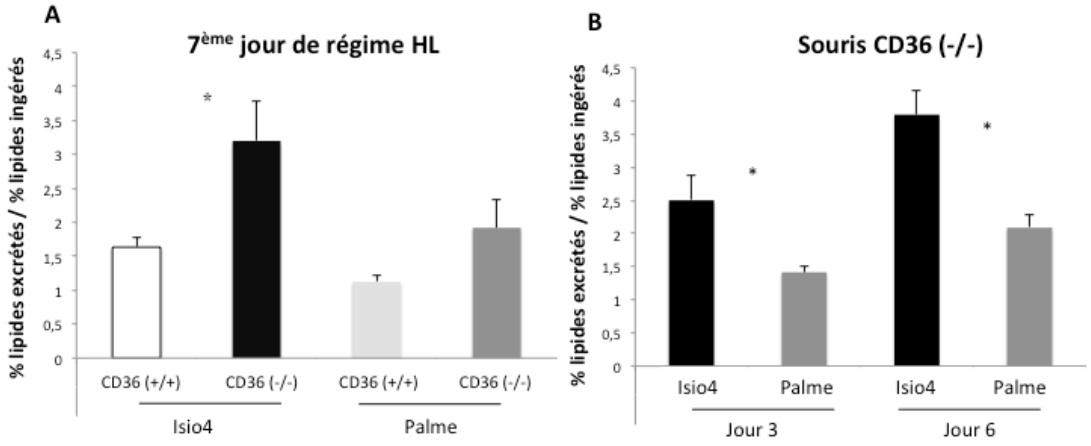


Figure 48 : Perte fécale en lipides totaux chez des souris CD36 (+/+) et CD36 (-/-) nourries avec un régime HL riche en AG saturés (huile Isio4) et en AG saturés (huile de palme). *Les lipides ont été extraits selon le protocole de Mataki et al., 2007. A) Perte fécale en lipides chez des souris CD36 (+/+) et CD36 (-/-) après 7 jours de régime HL. B) Perte fécale en lipides chez des souris CD36 (-/-) après 3 et 6 jours de régime HL. Moyenne ± sem. n=5-6/ groupe. Test de Student *p<0,05.*

Le régime HL Isio4 conduit à une augmentation de la perte fécale en lipides totaux chez les souris CD36 (-/-) nourries avec un régime HL Isio4 comparés aux souris CD36 (+/+) nourries avec le même régime (figure 48A). Il est important de signaler que la perte fécale en lipides est augmentée chez les souris CD36 (-/-) en régime HL isio4 dès 3 jours de régime et s'aggrave avec le temps du régime (Figure 48B). Ces données sont dépendantes de la quantité de lipides dans le régime puisque les souris CD36 (-/-) en régime NL ne présentent pas de perte fécale plus importantes (données de l'équipe non présentées ; (Nauli et al., 2006)).

Ce résultat démontre que les souris CD36 (-/-) présentent une malabsorption des lipides au niveau intestinal uniquement quand le régime contient une grande quantité d'huile isio4.

4. Les souris CD36 (-/-) présentent un recrutement de la partie iléale seulement en régime HL Isio4.

En situation de mal absorption, la partie distale de l'intestin est recrutée pour compenser la moindre efficacité jéjunale. En effet, les lipides non absorbés au niveau jéjunal, se retrouvent au niveau de l'iléon et induisent l'expression des gènes impliqués dans leur absorption (de Wit et al., 2008). Pour vérifier cette hypothèse, nous avons mesuré l'expression des gènes impliqués dans l'absorption intestinale qui sont régulés par les lipides au niveau de l'iléum.

Un recrutement de la partie iléale semble exister chez les souris CD36 (-/-) en régime HL Isio4 (figure 49). En effet, un taux d'ARNm plus élevé de l'ApoB (P=0,046), de la MTP (P=0,048) plus élevé que chez les souris sauvages (Figure 49). Le taux d'ARNm L-FABP est plus élévé en régime HL isio4 qu'en régime HL palme chez les CD36 (-/-) (P=0,049).

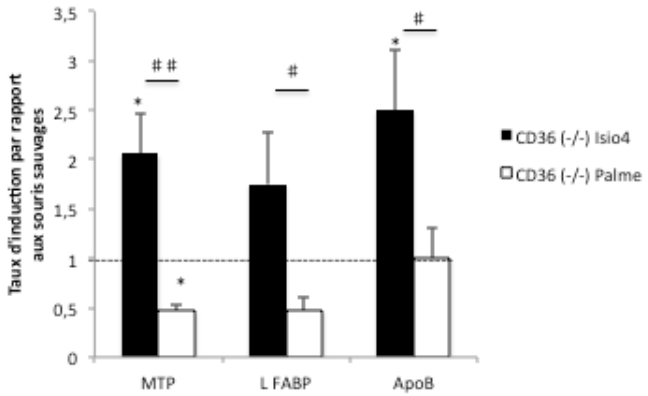


Figure 49 : Mesure de l'expression des principaux gènes impliqués dans l'absorption des lipides et la synthèse des chylomicrons au niveau du l'iléum de souris CD36 (-/-) et CD36 (+/+) correspondantes après un régime riche en AG insaturés (huile Isio4) ou riche en AG saturés (huile de palme). *Les ARN totaux de la muqueuse jéjunale ont été analysés par PCR quantitative en temps réel. Les données obtenues ont été normalisées par la 36B4 et rapportées aux valeurs des souris contrôles. Les résultats sont exprimés en taux d'induction. Moyenne ± sem N=5-6/groupe ; test de Student *p<0,05 ; ** p<0,01 ; ***p<0,001 : comparaison entre les souris CD36 (-/-) et CD36 (+/+). : comparaison entre les souris CD36 (-/-) en régime HL Isio4 et les souris CD36 (-/-)en régime HL palme.*

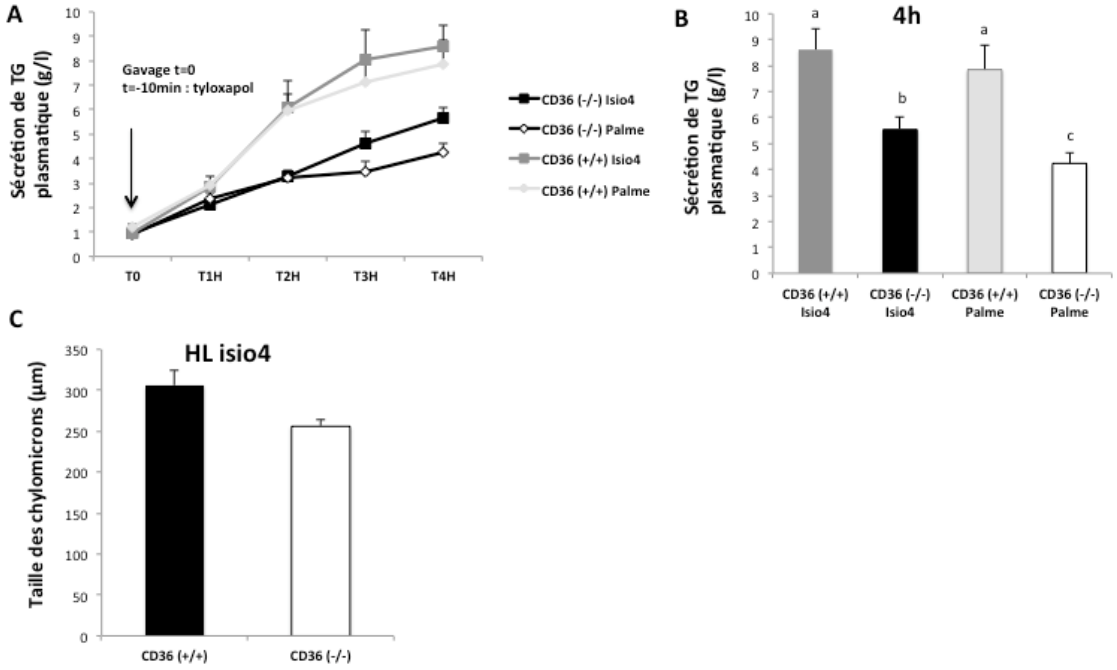
Ces données confirment qu'il existe bien une malabsorption jéjunale chez les souris CD36 (-/-) nourries avec un régime HL isio4.

On peut donc en conclure, à ce stade, que la chute de masse corporelle, portée par une diminution de la masse grasse observée chez les souris CD36 (-/-) nourries avec un régime HL riche en AG insaturés, peut s'expliquer par une diminution de la prise alimentaire, de l'absorption des lipides et une augmentation de l'oxydation des lipides. L'effet du régime HL isio4 chez les souris CD36 (-/-) est sans doute très délétère au niveau intestinal puisque de façon surprenante nous observons une chute de la prise alimentaire associée à une perte fécale en lipides accrue. Les défauts de morphologie intestinale associés à une malabsorption des lipides suggèrent que la synthèse des CM est altérée.

5. La consommation d'une grande quantité d'Huile Isio4 riche en AG Insaturés est associée à une hypertriglycéridémie post prandiale plus importante qu'avec un régime riche en huile de palme chez les souris CD36 (-/-).

5.1 Estimation de la sécrétion des TG intestinaux

Une des pistes pour expliquer la malabsorption des lipides alimentaires pourrait être un défaut de formation et de sécrétion des CM face à l'arrivée d'une grande quantité de lipides. Pour estimer la capacité de l'intestin à sécréter des CM dans ces conditions, nous avons évalué dans un premier temps la sécrétion des CM en inhibant la LPL par injection de tyloxapol 10 minutes avant une charge en lipides.



<u>Figure 50</u> : Sécrétion de TG suite à un gavage d'huile Isio4 ou d'huile de palme chez des souris CD36 (+/+) et CD36 (-/-) soumises à 4 jours de régimes HL riches en AG insaturés (Huile Isio4) ou en AG saturés (huile de palme). *A) Suivi de la sécrétion de TG plasmatiques toutes les heures pendant 4h suite à une charge en lipides. B) Sécrétion de TG 4h après gavage. C) Taille des lipoprotéines plasmatiques mesurés par DLS.* Moyenne <u>+</u> sem. *n=5-6/ groupe ; test de Student *p<0,05 ; ** p<0,01 ; ***p<0,001.*

Les souris CD36 (-/-) sécrètent significativement moins de TG à partir de 2h après le gavage comparés aux souris sauvages correspondantes (figure 50). En effet, 4h après gavage, les souris CD36 (-/-) en

régime HL palme sécrètent environ moitié moins de TG comparés aux souris sauvages correspondantes (Palme : P=0,009). De plus, il est intéressant de noter que cet effet est moins prononcé lorsque les souris CD36 (-/-) sont nourries avec un régime HL isio4 comparé au régime palme (Figure 50). En effet, les souris CD36 (-/-) en régime HL isio4 sécrètent environ 35% de moins de TG 4h après gavage comparés aux souris sauvages correspondantes (P=0,014) et sécrètent plus de TG que les CD36 (-/-) en régime HL palme (P=0,042) (figure 50B). Ce résultat pourrait s'expliquer par l'impact de AGS comme inducteurs moins puissants de la formation des CM.

Les CM isolés du plasma des souris CD36 (-/-) en régime HL isio4 semblent être de plus petite taille que ceux sécrétés par les souris témoins (P=0,09) (Figure 50C). Si cette expérience est reproduite, ce résultat pourrait corroborer les données de la littérature selon laquelle les souris CD36 (-/-) sécrètent moins de CM qui sont de plus petite taille (Drover et al., 2005 ; Nauli et al., 2006 ; Nassir et al., 2007).

5.2. Estimation de l'hypertriglycéridémie post prandiale

Puisque la taille des CM et le niveau de sécrétion de TG intestinaux influencent l'activité de la LPL, ces données peuvent modifier la triglycéridémie post prandiale. Cette piste est étayée par la mesure du taux de TG plasmatique à 9h du matin chez les souris nourries (Tableau 12). En effet, les souris CD36 (-/-) présentent une élévation de la triglycéridémie uniquement en régime HL Isio4 durant l'expérience en cage physiologique.

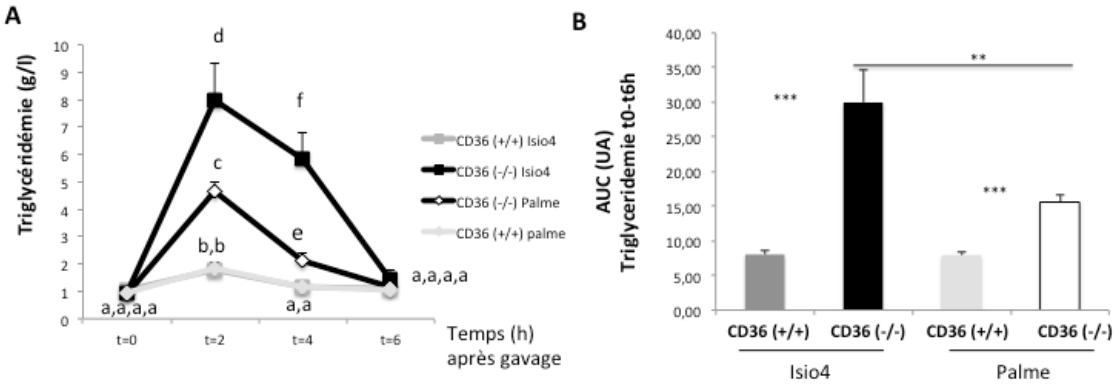


Figure 51 : Suivi de triglycéridémie post prandiale suite à un gavage d'huile Isio4 ou d'huile de palme au 10ème jour de gavage chez des souris CD36 (-/-) et chez des souris CD36 (+/+).

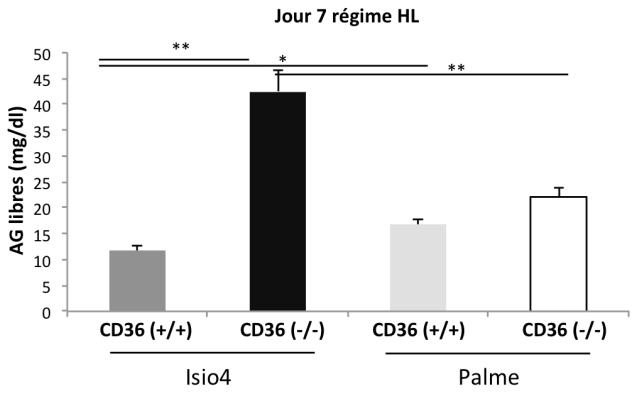
*(A) Résultats d'hypertriglycéridémie mesurée toutes les 2h pendant 6h. La concentration des TG plasmatiques est mesurée à partir de 2 µl de plasma (kit PAP 150 Biomérieux). B) Calculs d'aire sous courbe par la méthode des trapèzes. Moyenne ± sem. n=5-6/ groupe. ; test de Student *p<0,05 ; ** p<0,01 ; ***p<0,001.*

Les souris sauvages ont une légère augmentation de la triglycéridémie qui est significative à 2h (Palme : P=0,025 ; Isio4 : P=0,037) (Figure 51A), quelle que soit l'huile considérée. Cependant, 6h après gavage, la triglycéridémie post prandiale n'est pas différente de la triglycéridémie basale. Elle n'est pas affectée par 10 jours de gavage d'huile chez les souris sauvages quelle que soit l'huile considérée. Ces résultats suggèrent que dans ces conditions, les lipoprotéines intestinales riches en TG sont efficacement dégradées par la LPL et captés efficacement au niveau des tissus.

Au contraire, chez les souris CD36 (-/-), on observe une hypertriglycéridémie post prandiale plus élevée que ce soit avec de l'huile Isio4 comme de l'huile de palme comparés aux souris sauvages après 2h et 4h de gavage. De façon intéressante, l'hypertriglycéridémie est aggravée chez les souris CD36 (-/-) puisque celle-ci est significativement plus élevée à 2h (P=0,03) et 4h après gavage (P=0,004) avec l'huile Isio4 comparée avec l'huile de palme (figure 51A). De plus, la triglycéridémie caractérisée par la surface sous courbe (Figure 51B) est environ 2 fois plus élevée chez les souris CD36 (-/-) après 10 jours de gavage avec l'huile Isio4 comparés celle obtenue avec l'huile de palme. Puisque cette hypertriglycéridémie ne s'expliquerait pas par une augmentation de la sécrétion des TRL intestinales puisque les souris CD36 (-/-) sécrétent moins de TG en régime NL (Nauli et al., 2006) et HL (Figure 54), ce résultat peut être la conséquence sans doute d'une inhibition de la LPL.

En plus de la taille des CM, le taux d'AG libres (non estérifiés) circulants comme précisé dans l'introduction est aussi un inhibiteur puissant de l'activité de la LPL (Goudriaan et al., 2005). Cette hypothèse est d'autant plus valide que les souris CD36 (-/-) sont caractérisées par un défaut de captage des AG au niveau du tissu adipeux et du muscle (Hajri et al., 2002 ; Coburn et al., 2000).

Comme le montre la figure 52, l'augmentation des AG libres au niveau plasmatique est significative uniquement chez les souris CD36 (-/-) après le régime HL Isio4 comparés au régime HL palme (X 1,8) (P=0,0023) et comparés aux souris sauvages correspondantes (X4) (P=0,0017) (figure 52). L'aggravation de l'hypertriglycéridémie post prandiale en régime HL isio4 chez les souris CD36 (-/-) comparé aux souris CD36 (-/-) nourries en régime HL Palme peut par conséquent s'expliquer par une élévation du taux circulant d'AGL.



<u>Figure 52</u> : Taux plasmatiques des AGL chez les souris CD36 (+/+) et CD36 (-/-) après 7 jours de régime HL riche en AG insaturés (huile Isio4) et en AG saturés (huile de Palme). *Le prélèvement a été réalisé en rétro orbitale chez les souris à « l 'état nourri ». Moyenne <u>+</u> sem. n=4-6/ groupe. Test de Student *p<0,05 ; ** p<0,01 ; ***p<0,001.*

L'élévation plus élevée du taux d'AGL chez les souris CD36 (-/-) nourries avec un régime HL isio4 peut être le reflet de la fonte du tissu adipeux observée uniquement dans ces conditions. Elle peut être également le reflet d'une inefficacité de captage des AG provenant en particulier des CM par les tissus (cohérent avec le phénotype CD36) associée à une augmentation du spillover.

En résumé, une consommation excessive d'huile isio4 chez les souris CD36 (-/-) est à l'origine d'une moins bonne capacité d'absorption des lipides associée à une plus faible capacité d'hydrolyse des CM (taille des CM et taux d'AGL circulants élevé). Ces altérations retentissent sur l'hypertriglycéridémie post prandiale qui est aggravée par le régime HL isio4. Ces données suggèrent que le métabolisme de synthèse des CM est moins efficace chez les souris CD36 (-/-) nourries avec un régime HL isio4.

6. Les CD36 (-/-) présentent une synthèse des CM moins efficace en régime HL riche en huile Isio4 au niveau jéjunal

Comme l'adaptation du métabolisme intestinal à la teneur en lipides du régime est en particulier médiée par l'induction coordonnée des protéines impliquées dans la formation des CM, l'effet du régime HL isio4 sur l'expression des protéines impliquées dans le métabolisme intestinal des lipides a été analysé. Pour cette étude, l'effet du régime HL a été a été mesuré uniquement avec l'huile Isio4.

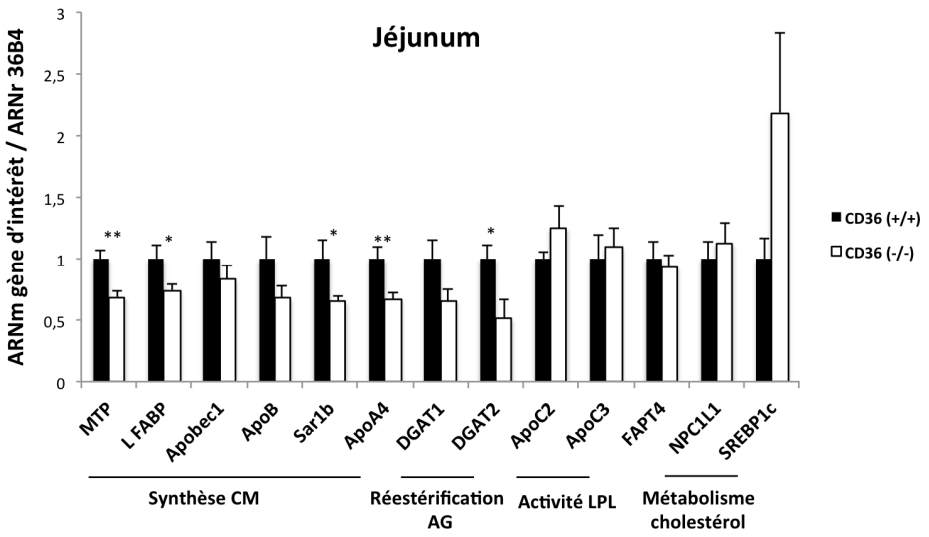


Figure 53 : Mesure de l'expression des principaux gènes impliqués dans l'absorption des lipides et la synthèse des CM chez des souris CD36 (-/-) et CD36 (+/+) après 7 jours de régime HL riche en huile Isio4. *Les ARN totaux de la muqueuse jéjunale ont été analysés par PCR quantitative en temps réel. Les données obtenues ont été normalisées par la 36B4 et rapportées aux valeurs des souris contrôles. Les résultats sont exprimés en taux d'induction. Moyenne ± sem. N=5-6/groupe ; test de Student *p<0,05 ; ** p<0,01 ; ***p<0,001.*

En accord avec notre hypothèse, l'analyse de la figure 53 montre que la majorité des gènes impliqués dans la formation des CM ont un taux d'ARNm d'environ 25 à 30 % plus faible que celui retrouvé chez les souris sauvages. C'est en particulier le cas pour des gènes limitants de la synthèse des chylomicrons : MTP (P=0,0035), L-FABP (P=0,041), Sar1b (P=0,033) ; ApoAIV (P=0,009). L'effet observé n'est pas global puisque certains gènes comme la DGAT1 impliquée dans la réestérification des AG en TG ou NPC1L1 qui est impliqué dans l'absorption du cholestérol, ne sont pas modifiés. Le captage des AGLC ne semble pas modifié puisque FAPT4 ne semble pas être différent entre les 2 groupes.

La synthèse des CM paraît donc moins efficace puisque le taux d'ARNm MTP en charge de la lipidation de l'apoB48 est plus faible chez les souris CD36 (-/-). Les quantités d'ARNm L-FABP, responsable du bourgonnemnt des PCTV vers l'appareil de Golgi ainsi que de Sar1b en charge de la fusion des PCTV avec l'appareil de Golgi sont plus faibles également chez les souris CD36 (-/-).

Ces données suggèrent qu'en régime HL isio4, les souris CD36 (-/-) ne s'adaptent pas à la teneur en lipides du régime et de ce fait ont une moins bonne capacité d'absorption des lipides qui explique certainement la perte fécale observée et le défaut de sécrétion des CM.

On peut donc en conclure à ce stade, que la chute de masse corporelle et de la masse grasse observée chez les souris CD36 (-/-) nourries avec un régime HL isio4 peut s'expliquer en partie par :

- ***Une diminution de la prise alimentaire (probablement liée à une aversion pour le régime)***
- ***Une induction de l'oxydation des lipides au niveau de l'organisme***
- ***Une malabsorption des lipides au niveau intestinal caractérisée par une perte fécale en lipides, un recrutement de la partie iléale, et une moindre activation des gènes impliqués dans la synthèse des CM***

L'ensemble de ces altérations est associé à une aggravation de l'hypertriglycéridémie post prandiale qui est due à un défaut de la clairance des TRL. CD36 est donc indispensable à l'adaptation du métabolisme intestinal à la teneur en lipides du régime de manière surprenante particulièrement quand celui-ci est riche en d'AGLC insaturés.

L'ensemble de ces données nous permet d'établir une hypothèse quant à la cinétique de l'effet d'une surconsommmation AGLC mono et polyinsaturés chez les souris CD36 (-/-). La diminution de la prise alimentaire qui apparait dès le 1er jour est associée dès le 3ème jour avec une perte fécale en lipides. Ces deux effets sont à l'origine de la fonte de la masse grasse puisqu'elle n'apparait qu'au 6ème jour de régime. Ces arguments suggèrent un rôle majeur de la sphère intestinale. Cette hypothèse pourrait être vérifiée en utilisant un modèle de souris CD36 (-/-) spécifique au niveau intestinal qui répondrait définitivement à notre hypothèse d'une origine intestinale du phénotype étudié. CD36 semble donc à ce stade essentiel à une absorption efficace des AGLC Insaturés, et surtout Polyinsaturés puisque l'huile de palme contient aussi des AGMI, majoritairement de l'OA.

La consommation d'un régime HL riche en AG insaturés est associée à une endotoxémie chez les souris CD36 (-/-) et une augmentation de la perméabilité intestinale

La contribution de l'intestin dans la mise en place de l'effet délétère de l'Isio4 chez les CD36 (-/-) qui rappelons le peut être léthal, nous a conduit à envisager un effet toxique associé à l'absorption de grande quantité de ces lipides, pouvant être lié au fait par exemple, que les CM transportent le LPS (Ghoshal et al., 2009). Le LPS est un lipopolysaccharide qui provient de l'hydrolyse des membranes des bactéries Gram (-). Le LPS est composé d'un lipide A qui a une activité pro-inflammatoire. En effet, le lipide A se lie à TLR4 et au CD14 au niveau des cellules épithéliales, immunitaires, adipocytaires et déclenche la sécrétion de cytokines inflammatoires (Moreira et al., 2012 ; Fabienne Laugerette et al., 2011 ; Park et Lee 2013 ; Baranova et al., 2008).

Puisque les CM transportent le LPS avec les lipides alimentaires, l'absence de CD36 *via* l'altération de la clairance de ces lipoprotéines pourrait déclencher en régime Isio4 une endotoxémie plus élevée associée à une hypertriglycéridémie post prandiale. Cette hypothèse est d'autant plus valide que Cani et al., ont montré qu'un régime HL favoriserait la prolifération des bactéries Gram (-) dont la paroi contient du LPS (Cani et al., 2008).

1. Protocole

100µL de sang ont été prélevé à 9h du matin en rétro-orbital chez les souris sauvages et CD36 (-/-) nourries avec un régime NL puis avec un régime HL isio4 et palme pendant 8 jours. Dans ces conditions, chaque animal était son propre témoin. Le dosage du LPS a été réalisé sur la plateau lipidomique LAP (UMR INSERM U866 / Université de Bourgogne). Ce protocole fait actuellement l'objet d'un dépôt de brevet.

Pour appréhender le mécanisme à l'origine de l'endotoxémie post prandiale, les souris ont été mises à jeun à 12h puis gavées à 19h (heure de passage du jour à la nuit et début de la reprise alimentaire). Elles ont été sacrifiées 4h après le gavage afin de mesurer les ARNm des récepteurs du LPS et de sa détoxification selon le protocole décrit précédemment.

La perméabilité intestinale a été mesurée en gavant les souris avec du dextran FITC 4000 (600mg/kg – 125mg/ml dans du PBS) et en mesurant la fluorescence plasmatique 4h après gavage (Excitation : 485nm ; Emission : 535 nm- Fluorimètre Perkin Elmer Victor 3, USA).

2. Les souris CD36 (-/-) présentent une endotoxémie plus importante après un régime HL riche en huile Isio4

Le LPS a été dosé au niveau plasmatique tout d'abord chez des souris sauvages et CD36 (-/-) femelles nourries avec des croquettes standard de laboratoire afin de savoir si la déficience en CD36 conduisait à une modification du taux basal circulant de LPS. Puis, nous avons déterminé l'endotoxémie chez les souris sauvages et CD36 (-/-) nourries avec à un régime HL Isio4 et palme comparés aux souris sauvages correspondantes (état nourri).

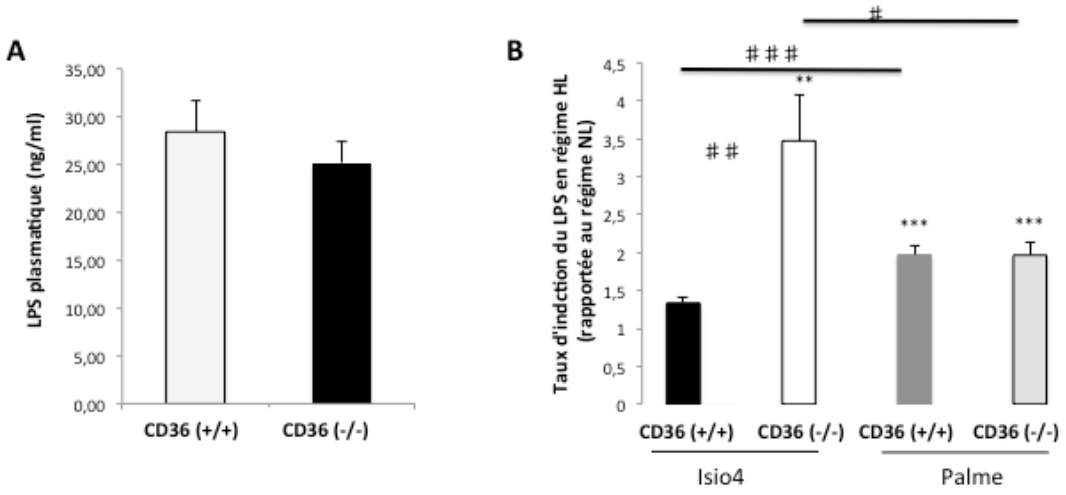


Figure 54 : Mesure de l'endotoxémie chez des souris sauvages et CD36 (-/-) femelles nourries avec un régime NL et HL riche en huile isio4 ou huile de palme *A) Mesure de la concentration plasmatique de LPS chez des souris CD36 (+/+) et CD36 (-/-) nourries avec des croquettes standard de laboratoire (Mucedola, 3% lipides (m/m)), et B) Mesure de la concentration plasmatique de LPS chez des souris CD36 (+/+) et CD36 (-/-) après 8 jours de régime HL riche en huile Isio4 ou riche en huile de palme. La quantité de LPS en régime HL est ramenée à la quantité de LPS en régime NL correspondant et exprimée en taux d'induction. Moyenne ± sem. n=7-12/ groupe ; test de Student *p<0,05 ; ** p<0,01 ; ***p<0,001.*

En régime standard sous forme de croquette, aucune différence de taux de LPS circulants chez les souris sauvages et CD36 (-/-) n'est observée (figure 54A). De plus, le régime HL palme (Figure 54B), induit une augmentation similaire du LPS circulants chez les souris sauvages et CD36 (-/-), environ X2 (CD36 (+/+) P=0,00012 ; CD36 (-/-) : P=0,0007)). De façon intéressante, seul le régime HL riche en huile de palme et donc en AG saturés induit une augmentation de l'endotoxémie chez les souris sauvages, puisque chez celles-ci, un régime HL riche en huile Isio4 n'induit pas une augmentation de l'endotoxémie (figure 54B).

Par conséquent, nos données confortent celles publiées démontrant que la qualité des AG du régime alimentaire peut influencer le niveau d'endotoxémie post prandiale chez les souris sauvages (Laugerette et al., 2012). De façon intéressante, le régime HL Isio4 déclenche une induction de l'endotoxémie plus importante chez les souris CD36 (-/-) que le régime palme (P=0,0128) (figure 54B). L'induction de cette endotoxémie est très importante puisqu'elle est trois fois supérieure à celle observée chez les souris sauvages nourries avec le même régime (P=0,008). Ce résultat suggère un nouveau rôle de CD36. En effet, CD36 serait nécessaire au contrôle de l'endotoxémie suite à la consommation d'un régime HL riche en AG Insaturés.

L'origine de cette élévation d'endotoxémie peut s'expliquer en particulier par :

- La moins bonne clairance des CM qui augmente le temps de résidence des CM contenant potentiellement du LPS
- Un défaut de détoxification du LPS au niveau intestinal via les alcalines phosphatases intestinales (IAP) situés au niveau apical des entérocytes (Lynes et Widmaier 2011). Elles diminuent la toxicité du LPS en le déphosphorylant (Koyama et al., 2002 ; Lallès 2014) empêchant ainsi sa liaison avec ses ligands notamment TLR4 (B. S. Park et Lee 2013)
- Une induction de la réponse inflammatoire intestinale *via* l'activation par liaison du LPS sur le complexe TLR4/CD14 (Guo et al. 2013)
- Une augmentation de la perméabilité intestinale

Pour vérifier ces différentes hypothèses, nous avons, dans un premier temps, mesuré l'expression génique de l'IAP, TLR4, CD14, les 2 principaux récepteurs au LPS au niveau intestinal et la FIAF (ou Angptl4), régulée par le microbiote qui inhibe l'activité de la LPL et la prise alimentaire et module l 'adiposité (Bäckhed et al., 2007).

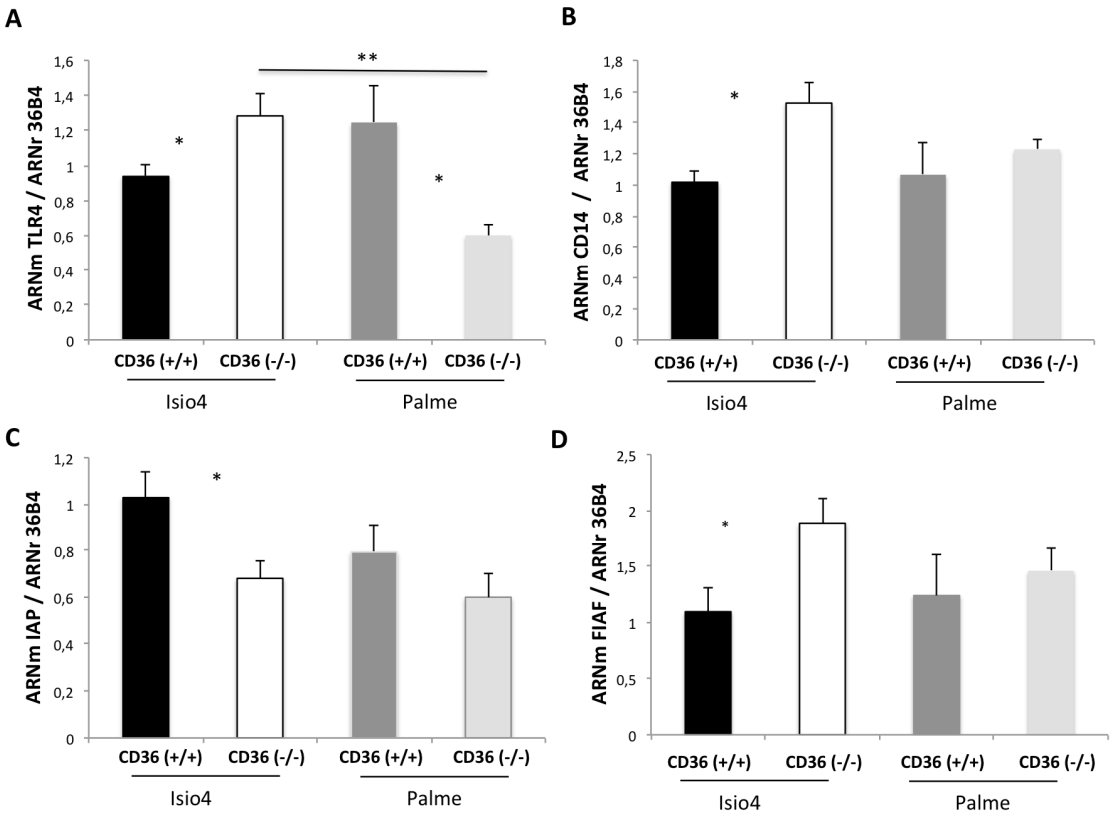


Figure 55 : Mesure de l'expression génique de TLR4 (A), CD14 (B), IAP (C) et l'Angptl4 (FIAF) (D) au niveau du jéjunum de souris CD36 (+/+) et CD36 (-/-) soumises à 4 jours de régime HL riche en huile Isio4 ou huile de Palme. *Les ARN totaux de la muqueuse jéjunale ont été analysés par PCR quantitative en temps réel. Les données obtenues ont été normalisées par la 36B4. Les résultats sont exprimés en taux d'induction. Moyenne ± sem. N=5-6/groupe. Test de Student *p<0,05 ; ** p<0,01 ; ***p<0,001.*

Comme le montre la figure 55, un taux d'ARNm significativement plus faible de l'IAP est observé chez les souris CD36 (-/-) en régime HL Isio4 comparé aux souris sauvages soumises au même régime (P=0,033) (figure 55C), suggérant une moindre détoxification du LPS par déphosphorylation.

Les taux d'ARNm jéjunal de CD14 et TLR4 sont plus élevés seulement chez les souris CD36 (-/-) en régime HL Isio4 comparé aux souris sauvages (Figures 55 A & B) (P=0,016 et P =0,05 respectivement). Cette régulation de TLR4 et de CD14 suggère une induction de la signalisation pro-inflammatoire du LPS, conduisant à l'activation de NFkB, ce qui conduit à la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires au niveau intestinal (Caesar et al., 2012 ; Santos-Galindo et al., 2011 ; Borner et al., 2012 ; Stewart et al., 2010). Puisque le FIAF qui est une hormone d'origine intestinale régulée par la flore intestinale, modulant la lipémie post prandiale, l'endotoxémie mais également l'adiposité, nous avons mesuré également son taux d'ARNm (Bäckhed et al., 2007).

Par ailleurs, comme le montre la figure 60D, seules les souris CD36 (-/-) présentent un taux élevé d'ARNm de FIAF en régime HL isio4 (P=0,05). Cette induction spécifique pourrait expliquer en

partie l'aggravation de l'hypertriglycéridémie post prandiale observée chez ces souris puisque le FIAF inhibe l'activité de la LPL. De plus, ce résultat est cohérent avec la chute de la prise alimentaire puisque le FIAF agit comme un facteur anoréxigène endogène. (Kim et al., 2010 ; Bäckhed et al., 2007).

En conclusion, l'augmentation de l'endotoxémie pourrait s'expliquer par l'aggravation de l'hypertriglycéridémie, et par une moindre détoxification du LPS. De plus l'induction de la voie TLR4/CD14 suggère une augmentation de la perméabilité intestinale. En effet l'activation de ces recepteurs par le LPS conduit à une altération des jonctions serrées (Guo et al. 2013). Sachant par ailleurs que la sécrétion des CM s'accumulent durant leur passage des entérocytes vers la lamina propria à cause à la présence de la lame basale. Cette accumulation altère transitoirement la perméabilité intestinale via les jonctions serrées. Par conséquent, nous avons estimé la perméabilité intestinale chez ces animaux.

3. Un régime HL riche en huile Isio4 induit une augmentation de la perméabilité intestinale chez les souris CD36 (-/-)

L'induction de l'endotoxémie est corrélée à une augmentation de la perméabilité intestinale chez les souris CD36 (-/-) en régime HL isio4 (P=0,0009) mais aussi en régime HL palme, comparés aux souris sauvages (P= 0,003) (figure 56A). L'augmentation de la perméabilité est donc CD36 dépendante. Cependant, cette induction est significativement plus élevée avec un régime HL Isio4 (Figure 56A) qu'avec le régime HL palme (P =0,03).

Pour comprendre le mécanisme à l'origine de cette modification de perméabilité, nous avons mesuré le taux d'ARNm de deux protéines impliquées dans les jonctions serrées : ZO1 et l'occludine. Comme le montre la figure 56B, l' augmentation de la perméabilité intestinale est associée à une diminution de l'expression de ZO-1 au niveau génique chez les souris CD36 (-/-) uniquement en régime HL Isio4 (P=0,04). Cependant, aucune différence d'expression de l'occludine n'est observée dans ces conditions (figure 56C).

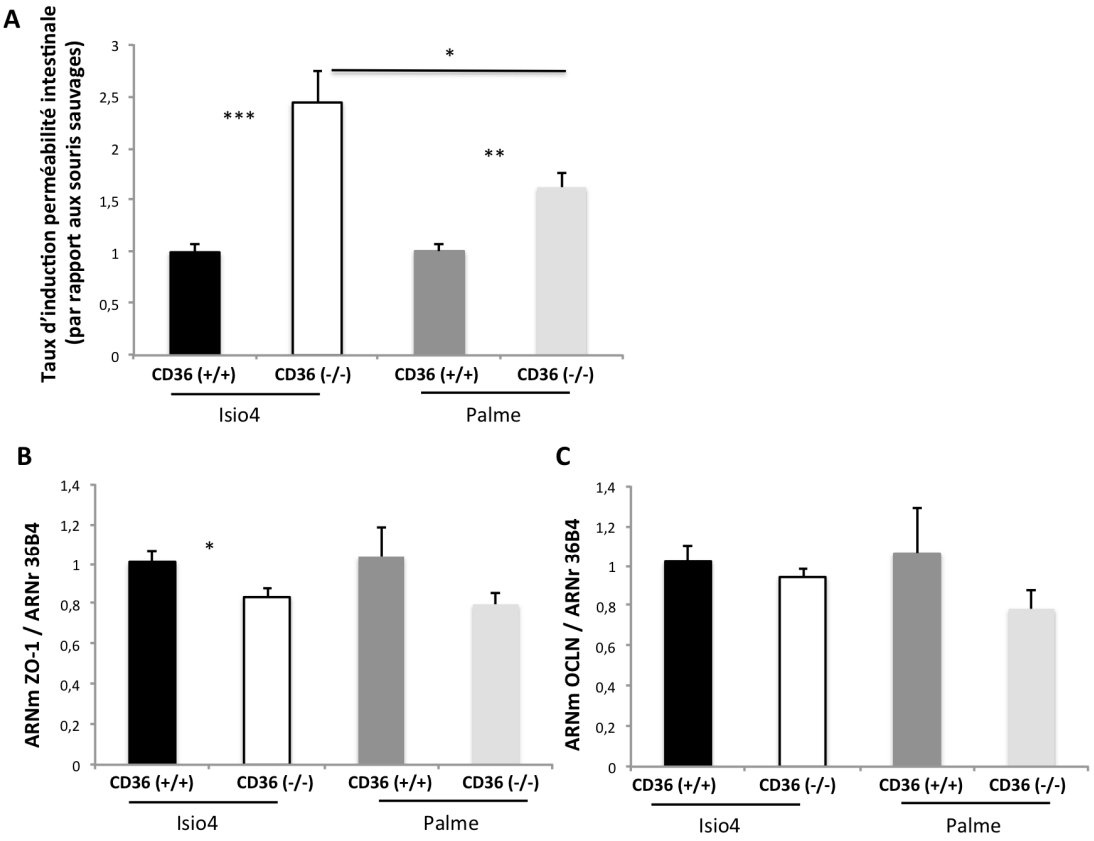


Figure 56 : Mesure de la perméabilité intestinale (A) et de l'expression génique de ZO-1 (B) et Occludine (C) , 2 marqueurs de jonctions serrées au niveau du jéjunum de souris CD36 (+/+) et CD36 (-/-) suite à un régime HL riche en huile Isio4 et en huile Palme. *A) La perméabilité intestinale est mesurée avec la méthode du Dextran 4000-FITC. B) Les souris ont été puis gavées avec 0,5ml d'huile de leur régime et sacrifiées 4h après gavage. Les ARN totaux de la muqueuse jéjunale ont été analysés par PCR quantitative en temps réel. Les données obtenues ont été normalisées par la 36B4. Les résultats sont exprimés en taux d'induction par rapport au groupe contrôle régime HL Isio4. Moyenne ± sem. N=5-6/groupe. Test de Student *p<0,05 ; ** p<0,01 ; ***p<0,001.*

En conclusion, ces résultats confortent l'hypothèse d'un passage accru du LPS au niveau paracellulaire par un défaut des jonctions serrées laissant entrer plus facilement le LPS. Cependant, cette altération peut avoir pour origine aussi bien l'intestin grêle que le colon. Ces résultats démontrent que CD36 est impliqué dans le maintien de la perméabilité intestinale en cas de régime HL isio4.

Afin de mieux comprendre le rôle de CD36 dans la régulation de l'endotoxémie et de l'inflammation intestinale due à la consommation de régime HL riche en AG insaturés, les résultats suivants se concentrent exclusivement sur le régime HL riche en AGPI (Régime Isio4).

La réponse inflammatoire intestinale est altérée chez les souris CD36 (-/-)

L'augmentation de la perméabilité intestinale associée à une diminution de l'épaisseur de la muqueuse, laissent supposer qu'une surconsommation d'huile isio4 conduit chez les souris CD36 (-/-) a une altération importante de l'intégrité de la barrière intestinale. Parmi les mécanismes mis en jeu lors des phénomènes de réparation suite à une agression tissulaire, citons la production de cytokines inflammatoires et dans des cas plus délétères le recrutement de cellules immunitaires ((de Wit et al., 2008) ; (Ji, Sakata, et Tso 2011) ; (Lissner et Siegmund 2011)). Comme nous l'avons vu dans l'introduction, CD36 est indispensable à la production de la cytokine inflammatoire IL1β au niveau des macrophages (Sheedy et al., 2013) et au recrutement des macrophages au niveau du tissu adipeux (Cai et al., 2012). Par conséquent, notre hypothèse est que les souris déficientes en CD36 pourraient présenter un défaut de réponse inflammatoire à l'origine d'une augmentation de la perméabilité intestinale et d'une entrée massive de LPS liée à une réponse inflammatoire moins efficace.

Notre premier objectif a été d'estimer la présence de macrophages au niveau de la muqueuse intestinale des souris CD36 (-/-) nourries avec un régime NL ou HL isio4, comparées aux souris sauvages. Puis dans un deuxième temps, nous avons mesuré la production et la sécrétion de cytokines pro inflammatoires (TNFα, IL1β, IL6, MCP1).

1. Protocole

La présence de macrophages a été estimée chez des souris sauvages (n=6) et souris CD36 (-/-) (n=6) nourries avec un régime NL puis avec un régime HL isio4 (40% lipides (m/m)). Les souris ont été sacrifiées à l'état nourries à 9h du matin après 7 jours de régime NL ou isio4.
L'analyse du taux d'ARNm de marqueurs de macrophages (CD68 et Emr1) et de leur recrutement (CCL2) et des cytokines inflammatoires (TNFa, IL6 et IL1β) au niveau jéjunal a été réalisé par PCR quantitative en temps réel comme décrit précédemment. Puisque le mécanisme d'inflammation est lié à l'absorption des lipides alimentaires, nous avons également estimé la quantité IL1β suite à un gavage de 0,5mL d'huile isio4 dans le jéjunum de souris sauvages et souris CD36 (-/-) nourries avec un régime HL isio4. Cette étude a été réalisée par *western blotting*.
Ces expériences ont été complétées par l'analyse du taux plasmatique des cytokines proinflammatoires par la technologie Luminex 200®, fondée sur le principe de la cytométrie en flux, et alliant l'utilisation de microsphères fluorescentes et une double lecture après excitation par deux lasers. Cette technologie permet de doser plusieurs cytokines au sein d'un même échantillon (Millipore).

2. Les souris CD36 (-/-) présentent moins de marqueurs de macrophages et d'inflammation au niveau intestinal

2.1. Détermination de l'expression génique des marqueurs de macrophages, chez des souris CD36 (+/+) et CD36 (-/-) en régime HL Isio4

Chez les souris sauvages, dans nos conditions, l'ingestion chronique de forte quantité de lipides ne déclenche pas de recrutement de macrophages au niveau de la muqueuse intestinale. Ce résultat est également retrouvé chez les souris CD36 (-/-) (Figure 57). Cependant, de manière inédite, on observe que les souris CD36 (-/-) ont une expression des marqueurs de macrophages (CD68 et Emr1) environ 2 fois plus faible que chez les souris sauvages en régimes NL et HL (figure 57). Nous observons également en régime HL un taux d'ARNm 4 fois plus plus faible Ccl2 chez les souris CD36 (-/-) comparés aux souris sauvages. L'ensemble de ces données suggère une plus faible quantité de macrophages résidents au niveau de la muqueuse intestinale dans des conditions standard et également en cas de surconsommation de lipides riche en AGLC insaturés. Ce résultat laisse supposer que les souris CD36 (-/-) auraient une plus faible capacité à répondre aux agressions de la muqueuse intestinale.

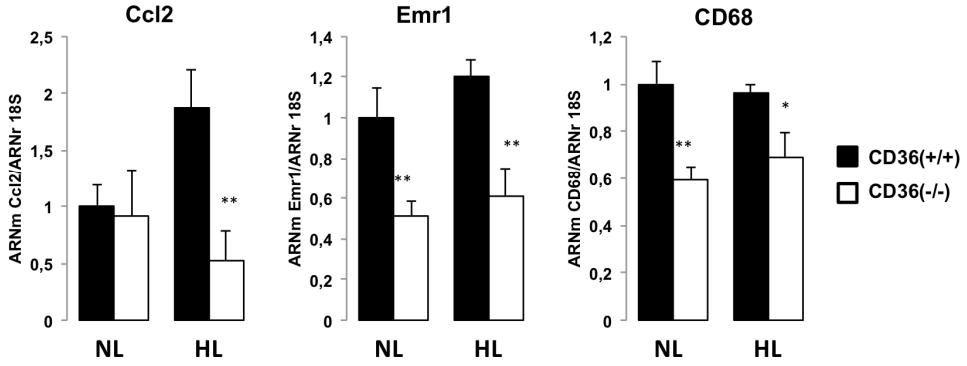


Figure 57 : Expression génique *in vivo* de marqueurs de macrophages et d'inflammation au niveau du jéjunum de souris CD36 (+/+) et CD36 (-/-) soumises à un régime HL riche en huile Isio4. *Les souris ont été sacrifiées à l'état nourri. Les ARN totaux de la muqueuse jéjunale ont été analysés par PCR quantitative en temps réel. Les données obtenues ont été normalisées par la 36B4. Les résultats sont exprimés en taux d'induction par rapport au groupe contrôle régime NL. Moyenne ± sem. N=5-6/groupe. Test de Student *p<0,05 ; ** p<0,01 ; ***p<0,001.*

Afin de déterminer si ce taux faible de marqueurs d'inflammation chez les CD36 (-/-) est retrouvé dans l'ensemble des tissus ou propre à l'intestin, nous avons également dosé ces marqueurs au niveau du tissu adipeux des souris CD36 (-/-) soumises à un régime HL riche en huile Isio4.

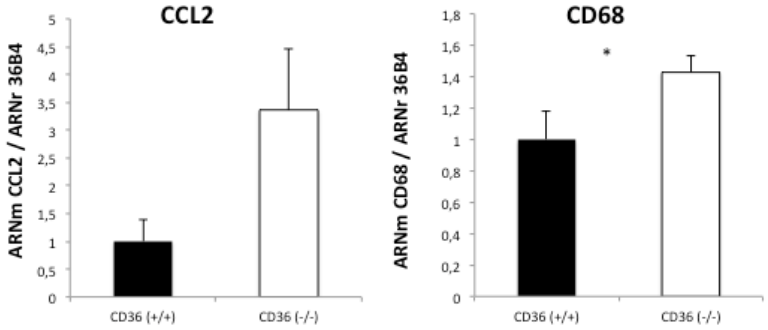


Figure 58 : Estimation de la présence de macrophages dans le tissu adipeux périutérin de souris CD36 (+/+) et CD36 (-/-) soumises à un régime HL riche en huile Isio4. *Les souris ont été sacrifiées à l'état nourri. Les ARN totaux de la muqueuse jéjunale ont été analysés par PCR quantitative en temps réel. Les données obtenues ont été normalisées par la 36B4. Les résultats sont exprimés en taux d'induction par rapport au groupe contrôle. Moyenne ± sem. N=5-6/groupe. Test de Student *p<0,05 ; ** p<0,01 ; ***p<0,001.*

On remarque qu'en régime HL iso4, les souris CD36 (-/-) auraient plus de macrophages au niveau tissu adipeux que chez les souris sauvages contrairement à ce qui a été observé au niveau intestinal. En effet, un taux élevé de CD68 (P=0,05) mais également de Ccl2 (P=0,06) est observé chez les souris CD36 (-/-) en régime HL (figure 58). La présence de macrophages plus importante dans ce tissu chez les souris CD36 (-/-) pourrait s'expliquer par l'endotoxémie (Caesar et al., 2012). De plus, une lipolyse accrue du tissu adipeux serait cohérente avec l'infiltration de macrophages observée chez les souris CD36 (-/-) et la concentration élevée d'AGL au niveau plasmatique (Kosteli et al., 2010). Puisque ces résultats ne sont pas retrouvés au niveau intestinal, l'ensemble de ces données suggère que l'effet observé est dépendant du tissu considéré.

2.2. Production et sécrétion de cytokines pro-inflammatoires chez des souris CD36 (+/+) et CD36 (-/-) en régime HL Isio4

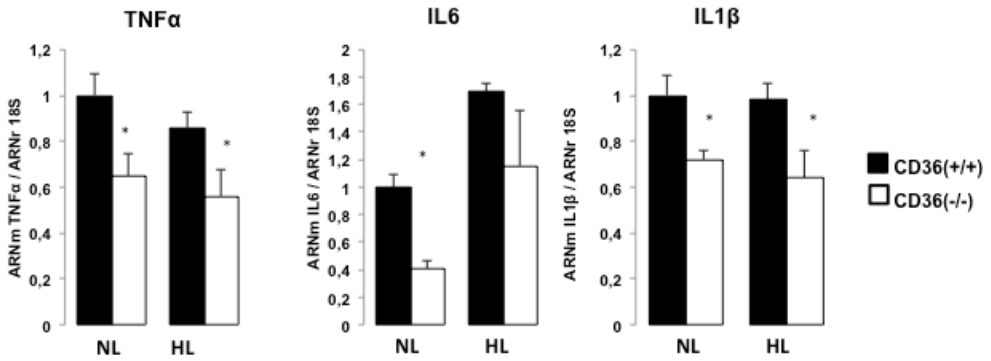


Figure 59 : Expression génique de 3 cytokines pro inflammatoires TNFα, IL6, IL1β au niveau du jéjunum de souris CD36 (+/+) et CD36 (-/-) soumises à 7 jours de régime HL Isio4. *Les souris ont été sacrifiées à l'état nourri. Les ARN totaux de la muqueuse jéjunale ont été analysés par PCR quantitative en temps réel. Les données obtenues ont été normalisées par la 36B4. Les résultats sont exprimés en taux d'induction par rapport au groupe contrôle en régime NL. Moyenne ± sem. N=5-6/groupe. Test de Student *p<0,05 ; ** p<0,01 ; ***p<0,001.*

Le taux d'ARNm des cytokines proinflammatoires TNFα, IL1β est significativement plus faible en régime NL et HL isio4 chez les souris CD36 (-/-) comparé aux souris sauvages. Ces résultats pourraient s'expliquer par une plus faible population de macrophages en absence de CD36 (figure 57). Cependant, l'origine de la synthèse de ces cytokines reste à déterminer puisqu'elles peuvent être synthétisées par les cellules immunitaires mais également par les entérocytes (de Wit et al., 2008).

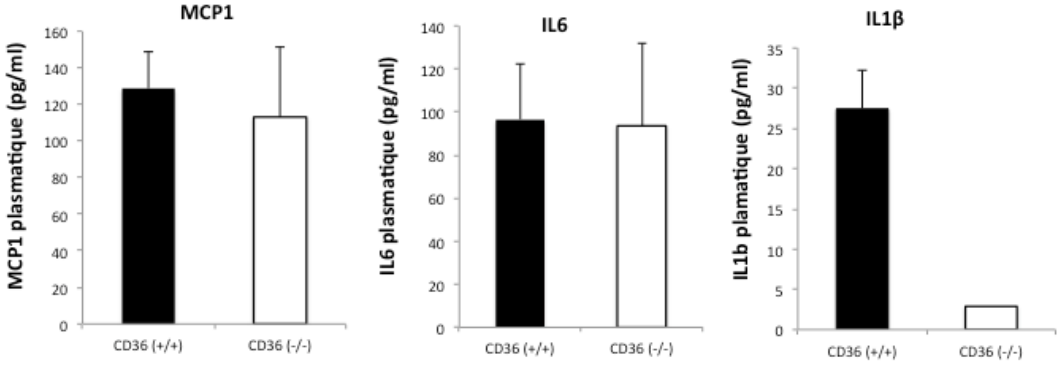
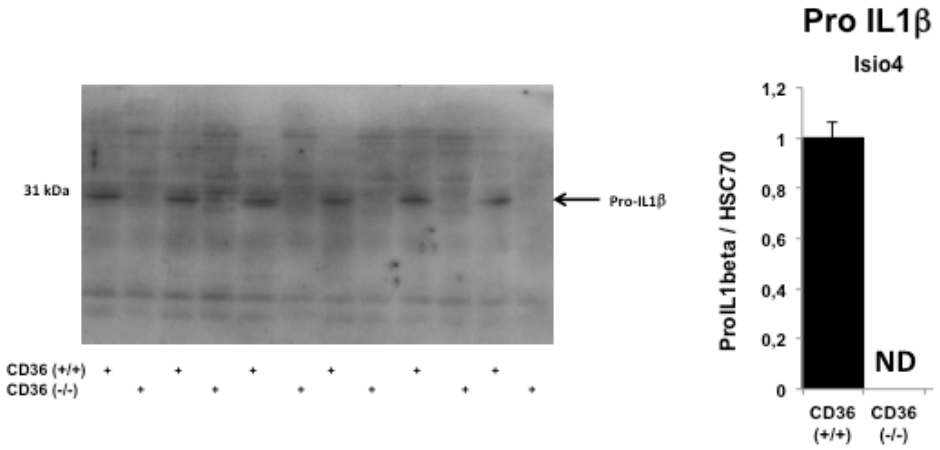


Figure 60 : Expression génique de cytokines pro-inflammatoires au niveau plasmatique chez des souris CD36 (+/+) et CD36 (-/-) soumises à 7 jours de régime HL Isio4. *Dosage par la technologie Luminex 200® (kit Millipore). Moyenne ± sem. n=5-6/ groupe. test de Student *p<0,05 ; ** p<0,01 ; ***p<0,001.*

Il est observé une sécrétion d'IL6 et MCP1 au niveau plasmatique chez les souris CD36 (+/+) et CD36 (-/-) (figure 60). Aucune différence de sécrétion pour ces 2 cytokines n'est observée entre les 2 groupes. En revanche, IL1β est sécrété chez les souris sauvages en régime HL isio4 alors qu'elle n'est pas presque pas détectable chez les souris CD36 (-/-). En effet, la sécrétion d'IL1β n'est détectable que pour une seule souris sur 9 et à un taux extrêmement faible (2,89 pg/ml).

En conclusion, l'ensemble de ces données montre que la muqueuse intestinale des souris CD36 (-/-) en régime HL isio4 mais également en régime NL, ont une moindre capacité à déclencher une réponse inflammatoire.

Nous avons pu montrer que le taux d'ARNm IL1β est plus faible au niveau jéjunal chez les souris CD36 (-/-) comparés aux souris témoins. De plus, la sécrétion d'IL1β au niveau plasmatique suite à un régime HL isio4 ne semble être déclenchée que chez les souris sauvages. Afin de vérifier si la production d'IL1β est présente au niveau jéjunal chez les souris CD36 (-/-), nous avons mesuré suite à un régime HL riche en huile Isio4, l'expression protéique de la forme inactive d'IL1β : le pro IL1β, forme synthétisée dans l'entérocyte avant d'être sécrétée.



<u>Figure 61</u> : Niveau d'expression de Pro-IL1β dans la muqueuse jéjunale de souris sauvages et CD36 (-/-) soumises à un régime HL riche en huile Isio4 puis sacrifiées 4h après un gavage avec 0,5 ml d'huile Isio4. *L'expression des protéines au niveau du jéjunum a été analysée par Western Blotting à partir d'homogénats protéiques totaux. Moyenne <u>±</u> sem. n=6/groupe ; Test de Student : *p<0,05 ; ** p<0,01 ; ***p<0,001.*

De façon intéressante, il est observé une absence de production de Pro IL1β chez les souris CD36 (-/-) en régime HL Isio4 (figure 61). Ces données corroborent les précédentes où il était observé un taux d'ARNm plus faible au niveau jéjunal (figure 59) et suggèrent que CD36 est indispensable à la production IL1β au niveau jéjunal en cas de régime HL isio4.

En conclusion, l'ensemble de ces données montre que la muqueuse intestinale des souris CD36 (-/-) ont une moindre capacité à déclencher une réponse inflammatoire. CD36 semble indispensable à la production IL1β au niveau intestinal au cours de l'absorption des lipides riche en AGLC insaturés.

Comme les souris CD36 (-/-) en régime HL isio4 présentent une endoxotémie, une augmentation de la perméabilité et une moindre réponse inflammatoire, nous avons voulu déterminer si ces effets ne s'accompagnaient pas de l'infiltration de bactéries Gram (–) ou (+) au niveau du jéjunum.

2.3. Un régime HL isio4 conduirait à une infiltration de bactéries dans la muqueuse intestinale chez les souris CD36 (-/-)

De façon inédite, nous détectons la présence de bactéries Gram (-) et Gram (+) au niveau du jéjunum d'une souris CD36 (-/-) en régime HL Isio4 au contraire de la souris sauvage (figure 62). En plus de celles obtenues précédemment avec le dextran, ces données préliminaires démontrent l'existence d'une perméabilité de la barrière intestinale au niveau du jéjunum et le rôle joué par le jéjunum et donc sans doute l'absorption des lipides dans l'endotoxémie. L'infiltration des bactéries et la perte d'intégrité de la barrière intestinale est sans doute liée à un défaut de réponse inflammatoire observée chez les souris CD36 (-/-). Ces données sont préliminaires et nécessitent d'être confirmées chez d'autres souris CD36 (+/+) et CD36 (-/-).

L'ensemble de ces données démontrent que CD36 est indispensable au niveau intestinal au déclenchement de la réponse inflammatoire innée induite par un stress qu'il soit d'origine nutritionnel et ou bactérien.

CD36 semble donc indispensable à l'absorption de grandes quantités d'AGLC en particulier les AGPI en situation de challenge lipidique chronique et également indispensable à la régulation de l'endotoxémie. Ce récepteur pourrait ainsi constituer un régulateur commun de 2 phénomènes : la synthèse des CM (Tran et al., 2011) et la capacité à déclencher une réponse inflammatoire en cas d'excès de lipides au niveau intestinal permettant de contrôler l'endotoxémie et l'inflammation qui lui sont associées.

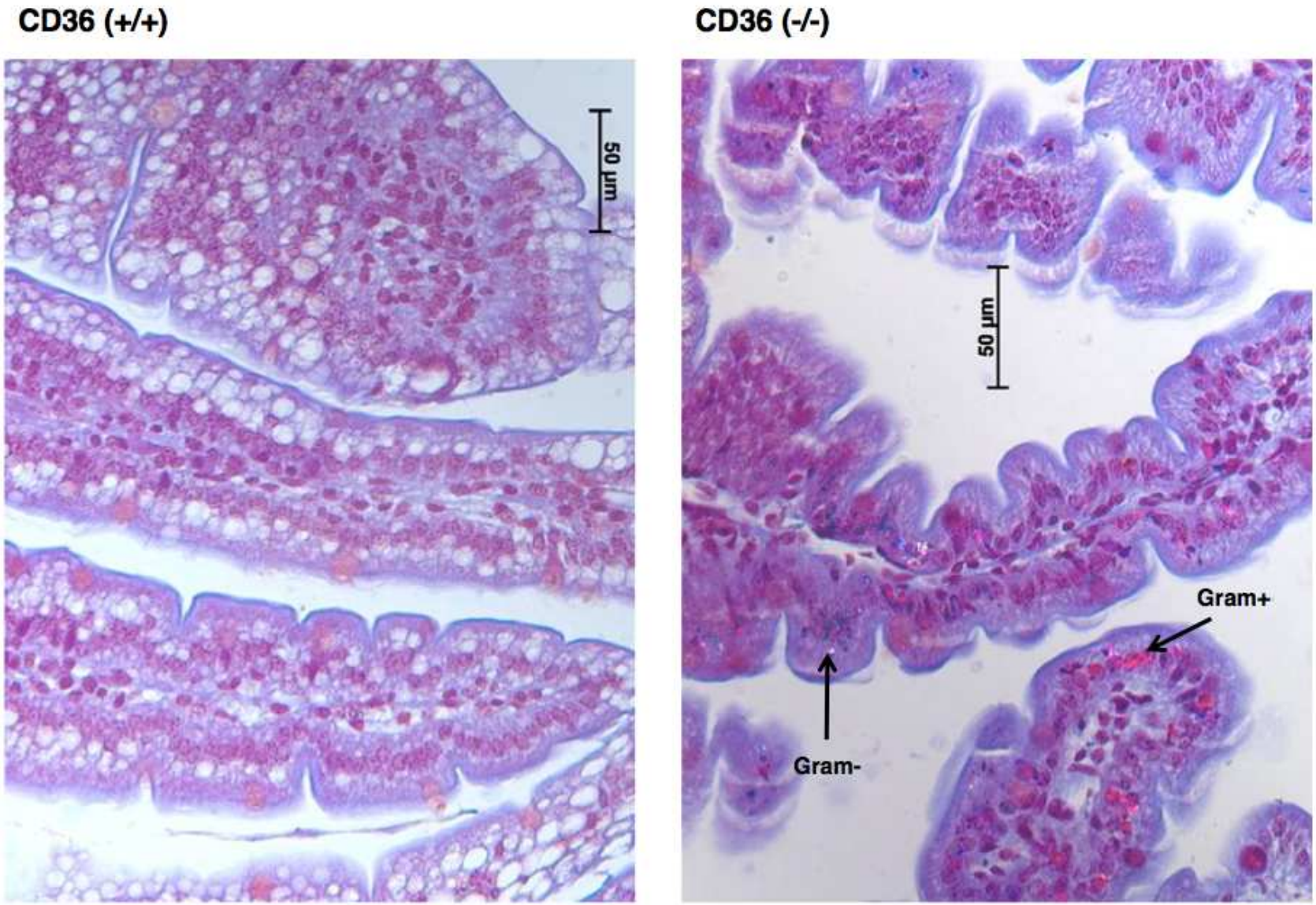


Figure 62 : Coupe histologique de jéjunum d'une souris CD36 (+/+) et d'une souris CD36 (-/-) soumises à 10 jours de régime HL riche en huile Isio4 (40% (m/m)). Coloration Gram.

Discussion

CD36 récepteur aux lipides et rôle des ERK1/2 dans la cascade de signalisation CD36 dépendante

Les premières expériences réalisées *ex vivo* nous ont permis de démontrer que CD36 était un récepteur aux AGLC, Nous avons ainsi démontré que c'est la liaison de CD36 avec ses ligands au niveau de lysine 164 de sa poche hydrophobe (acides aminés 127 – 279), qui déclenche l'activation de la voie de signalisation ERK1/2. En effet, le SSO comme les AGLC saturés ou insaturés qui se lient au niveau de ce site (Kuda et al., 2013) activent les ERK1/2 (Figures 22 et 24). Il serait intéressant de compléter cette étude par la réalisation d'effet doses d'AGLC pour vérifier si leur insaturation, leur longueur de chaîne et donc leur encombrement conformationnel n'affectent pas le niveau d'activation des ERK1/2. De plus, nous avons démontré que comme de nombreux récepteurs sa dégradation est ligand dépendante et très rapide (Miranda et Sorkin 2007). Il serait nécessaire de déterminer si CD36 possède des différences d'affinité et de liaison en fonction du nombre d'insturations des AGLC.

Par la suite, nous avons étudié le rôle des ERK1/2 en tant que relai précoce de la signalisation CD36 dépendante. Nos expériences menées *ex vivo* ont permis de démontrer que l'activation des ERK1/2 *via* CD36 conduit à l'induction du taux d'ARNm de protéines impliquées dans la synthèse des CM : l'Apobec1, la MTP et la L-FABP. Sans que nous l'ayons démontré au cours de cette thèse, la régulation de l'expression de ces gènes peut être d'origine transcriptionnelle. C'est d'autant plus envisageable que les ERK1/2 activent ou inhibent la transcription des gènes en régulant par exemple des facteurs de transcription tels que les PPAR en particulier par phosphorylation ((Lawrence et al., 2005) ; (Zassadowski et al., 2012)). Il est d'ailleurs intéressant de signaler que la L-FABP (Poirier et al., 1996) sont effectivement régulées par les PPAR. La pertinence physiologique de ces résultats obtenus *ex vivo* a été en partie confirmée *in vivo* en utilisant des souris ERK1 (-/-). Chez ces souris, un gavage avec de l'huile est à l'origine d'une plus faible induction de la L-FABP et d'un rapport ApoC2/ApoC3 plus faible qui pourraient expliquer l'hypertriglycéridémie observée chez ces animaux. Cependant, comme nous l'avons vu, ce modèle ne permet pas de conclure définitivement quant à l'implication des kinases ERK1 dans ce mécanisme puisque au niveau intestinal on observe chez ces animaux une suractivation des ERK2. Pour connaître la contribution physiologique de ces ERK dans le mécanisme d'absorption des lipides, des études complémentaires peuvent être envisagées :

- Inhiber la suractivation des ERK2 par le U0126 sur des cultures de segments intestinaux de souris ERK1 (-/-) et mesurer l'expression des gènes cibles
- Inhiber *in vivo* chez des souris sauvages les ERK1/2 par le U0126 avant une charge en lipides et estimer la capacité d'absorption intestinale et la qualité des CM sécrétés.

Par ailleurs, nous avons pu également démontrer grâce aux modèles de souris ERK1 (-/-) que les ERK1/2 exerceraient un rétrocontrôle négatif sur CD36 puisque l'absence de ERK1 ou la surexpression de ERK2 inhibent la dégradation post prandiale de CD36 par les lipides alimentaires. Cet effet est fondamental puisque plusieurs données de la littérature (Kuda et al. 2013 ; Chevrot et al. 2013) ainsi que les travaux de l'équipe (Buttet, Traynard et al. soumis) démontrent que la dégradation de CD36 reflète son activité et correspond ainsi à une désensibilisation vis-à-vis d'un excès de ligand. Dans le cas de l'étude menée au laboratoire, nous avons démontré que l'absence de dégradation du CD36 observée chez des souris en syndrome métabolique est associée à une absence d'induction de la MTP, de la L-FABP et de l'Apobec1 qui se traduit par une sécrétion de TRL de plus petites tailles. Ce défaut de régulation post prandiale du CD36 pourrait expliquer l'hypertriglycéridémie post prandiale observée en cas de syndrome métabolique (Buttet, Traynard et al. soumis).

CD36 (et sa cascade de signalisation) peut être considéré comme un senseur des lipides à l'origine de l'adpatation des capacités d'absorption à la teneur en lipides du régime. L'induction coordonnée des cibles de CD36, la L-FABP, la MTP et l'Apobec1, protéines limitantes dans le mécanisme d'absorption des lipides, permet d'optimiser la formation de CM de grande taille bien dégradés par la LPL, limitant ainsi l'hypertriglycéridémie post prandiale.
Cette fonction de CD36 est tout à fait en accord avec son affinité pour les AGLC qui est de l'ordre du nM (Bailly et al., 1996). L'ensemble de ces données remet donc en cause son rôle de transporteur intestinal efficace des AGLC en particulier en période post prandiale où la concentration en AGLC dans la lumière intestinale est de l'ordre du mM (Siddiqi et al., 2013). Cette nouvelle fonction de récepteur de CD36 au niveau intestinal vient compléter les derniers travaux de l'équipe de Nada Abumrad et al. qui démontre que CD36 est également exprimé au niveau des cellules entéroendocrines où il participe en présence de lipides alimentaires à la sécrétion de CCK et de sécrétine (Sundaresan et al., 2012). Finalement quel que soit l'organe considéré (papille gustative (Laugerette et al., 2005; Gaillard et al., 2008)), tissu adipeux (Zhou et al., 2012), muscles ((Holloway et al., 2009), (Drahota et al., 2010)). De plus en plus de données démontrent que CD36 est un récepteur aux AGLC et que son rôle dans leur captage initialement admis est le reflet de sa capacité à stimuler le métabolisme (oxydation dans le muscle, optimisation de la synthèse des CM dans l'intestin, …).

Les différentes étapes de la détection des lipides sont résumées dans la figure 63.

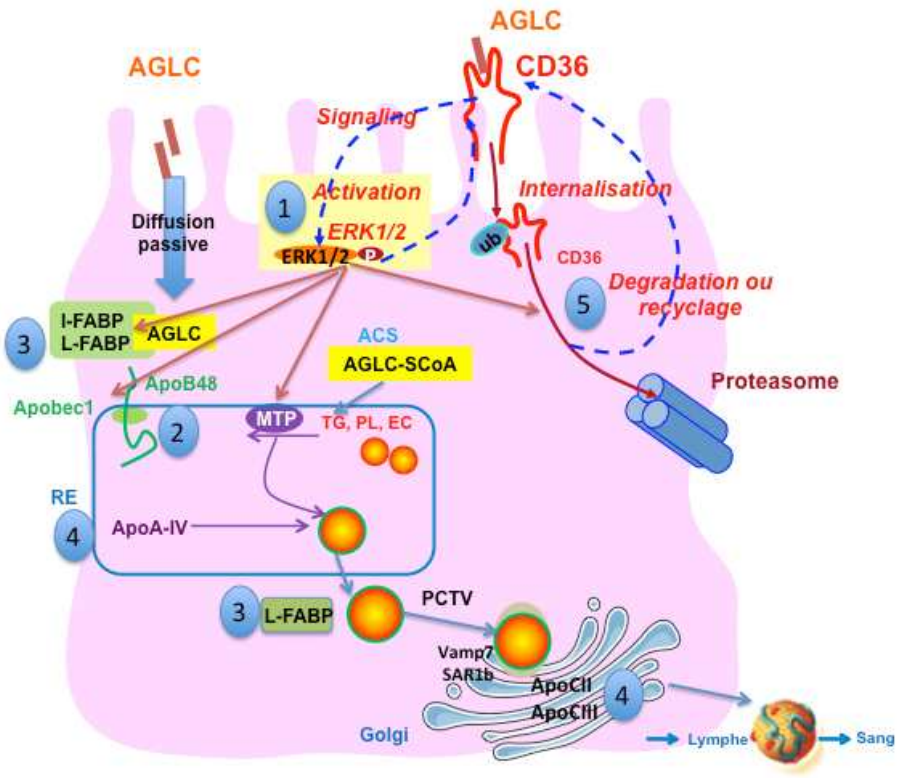


Figure 63 : Rôle du récepteur aux AGLC, CD36, et de sa voie de signalisation ERK1/2 dépendante dans l'optimisation de la synthèse des CM en période post prandiale. *ACS : AcylCoA synthase ; AGLC : Acides Gras Longues Chaînes ; ApoAIV : apolipoprotéine AIV ; ApoB48 : apolipoprotéine B48 ; ApoCII : apolipoproteine CII ; ApoCIII : apolipoproteine CIII ; EC : ester de cholesterol ; ERK : Extracellular Regulated signal Kinases ; I ou L- FABP : Intestine or Liver Fatty Acid Binding Proteins ; MTP : Microsomal Triglyceride Transfer Protein ; PCTV : Pre Chylomicron Transfer Vesicles ; PL : PhosphoLipides ; RE : Reticulum Endoplasmique ; Sar1b : Secretion Associated, Ras related GTPase 1B ; TG : triglyceride ; Vamp7 : Vesicle Associabted Membrane Protein 7.*

Au début de la digestion des lipides alimentaires, les AGLC lient CD36.

1) la liaison de CD36 avec son ligand déclenche l'activation de la voie ERK1/2
2) la phosphorylation des ERK1/2 augmente le taux protéique de l'ApoB48 *via* l'induction du taux d'ARNm de l'apobec1, enzyme en charge de sa synthèse
3) la phosphorylation des ERK1/2 induit la L-FABP et la MTP *via* un mécanisme transcriptionnel
4) la phosphorylation des ERK1/2 induit le taux d'ARNm de l'ApoAIV et de l'ApoC2 en faveur d'une activation de la LPL et donc d'une clairance rapide des CM au niveau sanguin
5) la phosphorylation des ERK1/2 est nécessaire à la dégradation du récepteur CD36, qui reflète son activité.

L'objectif de la deuxième partie de ma thèse a été d'estimer la pertinence physiologique de ce mécanisme de *sensing* des lipides au niveau intestinal en étudiant l'effet chronique d'un régime HL chez des souris CD36 (-/-).

CD36 est indispensable à l'absorption et à la métabolisation des AG insaturés

De façon inédite, nous avons pu montrer que l'absence de CD36 conduit à un effet anti-obésité en régime HL qui, en quelques jours, peut être léthal. Cependant, ces données sont retrouvées uniquement lorsque le régime contient une forte proportion d'AGLC insaturés. Notre objectif a été de comprendre l'origine d'un tel phénotype. C'est pourquoi plusieurs pistes ont été expérimentées depuis la balance énergétique jusqu'à l'implication de la sphère intestinale et nous ont conduits à ouvrir deux nouveaux axes de recherche : le rôle de CD36 dans l'endotoxémie post prandiale et l'inflammation intestinale innée.

CD36 est indispensable à l'adaptation de la capacité d'absorption intestinale à la teneur en lipides d'un régime chronique

Une étude menée en 2007 au laboratoire avait montré que l'intestin grêle était capable d'adapter ses capacités d'absorption à la teneur en lipides du régime lorsque ce dernier contenait une forte proportion d'AGLC insaturés (Petit et al., 2007). Cet effet est la résultante d'une augmentation de la surface d'absorption intestinale et de l'expression des gènes clés du mécanisme d'absorption des lipides (Petit et al., 2007 ; De Wit et al., 2011). C'est pourquoi, nous avons choisi d'utiliser le même régime pour tester notre hypothèse chez des souris sauvages et CD36 (-/-). Nous démontrons que cette adaptation n'est pas retrouvée chez les souris CD36 (-/-). Par conséquent, ces données obtenues *in vivo* démontrent l'importance physiologique de CD36 dans ce mécanisme. En effet, cette adaptation est fondamentale puisque en son absence, on observe une malabsorption des lipides alimentaires en régime HL, comme en témoigne à la fois le recrutement iléal et la perte fécale en lipides. Cette moins bonne absorption des lipides pourrait s'expliquer par un défaut de sécrétion de la CCK et de la sécrétine qui est CD36 dépendante, deux hormones participant au mécanisme de digestion des lipides (Sundaresan et al. 2012). De plus, en absence de CD36 intestinal, la moindre induction de la MTP et de la L-FABP en limitant la lipidation de l'ApoB48 et la formation de vésicules de transfert, conduit à la formation de CM de plus petites tailles (Buttet et al., 2014). On peut envisager que ce défaut soit à l'origine d'une absorption moins efficace de grandes quantités de lipides puisque CD36 est également indispensable à l'induction post prandiale de l'ApoB48 (Tran et al., 2011). Cette altération de l'adaptation conduit à un défaut de clairance des CM caractérisés par une augmentation de leur temps

de résidence plasmatique (Figure 51). De plus, cette moindre capacité d'absorption en régime HL isio4 pourrait être également la conséquence d'une plus faible surface intestinale (Petit et al., 2007) approximée pour l'instant dans notre étude (par le rapport masse sur longueur de l'intestin, (Tableau 13) et de l'altération de l'intégrité de la muqueuse.

CD36 est indispensable à l'initiation de l'inflammation intestinale

De façon inédite, nous avons pu montrer que CD36 est nécessaire au contrôle de l'inflammation au niveau intestinal. En effet, les souris CD36 (-/-) ont une moindre capacité à déclencher une inflammation puisqu'elles présentent moins de macrophages et semblent avoir un défaut de production d'IL1β en particulier en post prandial, essentielle au recrutement d'autres cytokines et à la réponse inflammatoire (Ding et al., 2010). Nos données démontrent que ces effets ne sont pas tissu spécifique puisque CD36 a aussi été montré indispensable au recrutement des macrophages dans le tissu adipeux de souris soumises à un régime type « *western diet* » (Cai et al., 2012) et à la sécrétion d'IL1β au niveau des macrophages (Sheedy et al., 2013). Son rôle dans l'inflammation est également étayé par le fait qu'il optimise la réponse inflammatoire au LPS dans des cellules rénales (Zamora et al., 2012).

Des données émergentes encore peu discutées dans la littérature indiquent que le mécanisme d'absorption des lipides peut représenter une agression pour la muqueuse intestinale *via* l'accumulation importante de CM dans l'espace interstitiel de l'épithélium qui par distention peut altérer les jonctions serrées (Tso et al., 2011). Cette agression transitoire doit être réparée pour maintenir l'intégrité de la muqueuse intestinale. Cette réparation est rapide (50 minutes selon certains auteurs) et nécessite l'activation de l'inflammation innée. Comme les CM sont capables de véhiculer le LPS dans l'organisme (Ghoshal et al., 2009), l'endotoxémie est associée à la quantité de lipides consommés. De plus, cet effet est d'autant plus aggravé en régime HL, puisque d'une part la quantité de LPS dans la lumière intestinale est plus élevée (Cani et al., 2008) et d'autre part la quantité de CM sécrétée est stimulée ((Buttet et al., 2014) ; (Cartwright et Higgins 1999)). En accord avec ces données, nous avons démontré que la consommation d'un régime HL riche en AGLC chez les souris CD36 (-/-) s'accompagne d'une augmentation de la permabilité intestinale telle, qu'elle est associée à une endotoxémie majeure. Cette endotoxémie est probablement aggravée par l'augmentation du temps de résidence plasmatique des CM retrouvé chez ces animaux (Figure 51). Cette endotoxémie pourrait être à l'origine de l'inflammation des tissus périphériques comme nous l'avons observée au niveau du tissu adipeux blanc (Figure 58).

Notre étude préliminaire montrant l'infiltration de bactéries Gram (-) et Gram (+) dans la muqueuse indique que l'intégrité de la barrière intestinale est altérée en particulier au niveau du jéjunum. Ce résultat conforte le rôle de l'absorption des lipides dans l'effet du régime HL riche en AGLC chez les souris déficientes en CD36.

On peut aussi supposer que la mort de certaines souris CD36 (-/-) observée suite à ce régime pourrait avoir comme origine une endotoxémie voire une septicémie. Pour conforter cette hypothèse, nous devrons identifier la présence de bactéries au niveau sanguin (bactériémie) et les caractériser pour valider l'existence de pathogènes.

L'ensemble de nos données montre que CD36 maintient l'intégrité de la muqueuse intestinale et protége l'organisme de l'endotoxémie post prandiale en cas d'une surconsommation d'AGLC insaturés. Quel est le mécanisme mis en jeu ?

La première hypothèse envisageable est le lien CD36 –PLA2. En effet, CD36 participe à l'activation de la PLA2 cytosolique (Kuda et al., 2011). Son activation conduit à la libération d'Acide Arachidonique (AA), médiateur important de l'inflammation puisqu'il est à l'origine de la synthèse de prostaglandines et leucotriènes, qui permettent le recrutement de neutrophiles et le mécanisme de défense de l'organisme face aux infections (Linkous et Yazlovitskaya 2010). On peut donc imaginer que la déficience en CD36 peut être associée, en cas d'endotoxémie, à une moindre activation de la PLA2 cytosolique ou à sa dérégulation, retardant la réponse inflammatoire, déjà démontrée comme étant moins efficace chez les souris CD36 (-/-).
Par ailleurs, quelques arguments obtenus au cours de ce travail nous permettent d'envisager un lien CD36 – NLRP3. En effet, le plus faible taux plasmatique d'IL1β observé en régime HL isio4 chez les souris CD36 (-/-) comparées au souris sauvages, associée à un défaut de sa synthèse au niveau jéjunal, laisse supposer que l'inflammasome NLRP3 qui est un médiateur essentiel des processus de régénération intestinale, en particulier *via* la maturation d'IL-1β, est impliqué dans les mécanismes mis en jeu dans notre étude (Zambetti et Mortellaro 2014). Le complexe protéique NLRP3 est activé en deux étapes :

- *Etape 1* : l'activation de récepteurs membranaires, comme les TLR, par des signaux extérieurs déclenche la production de pro-cytokines et des constituants de l'inflammasome comme le nucleotide-binding domain leucine-rich repeats (NOD-like receptors) (NLR) et la pro-enzyme caspase 1.
- *Etape 2* : l'oligomérisation de NLR et de la caspase 1 à l'aide d'une protéine adaptatrice appelée l'apoptosis-associated speck-like protein (ASC) est à l'origine de la formation de l'inflamamsome NLRP3 et par conséquent de son action (Tschopp et Schroder 2010).

L'activation de cet inflammasome limite les dommages dans la muqueuse intestinale. C'est pourquoi l'absence ou le dysfonctionnement de NLRP3 au niveau du compartiment épithélial intestinal est délétère (Pour revue Lissner et Siegmund, 2011). De plus, plusieurs arguments de la littérature suggèrent qu'il existe un lien entre CD36 et NLRP3. Récemment, par exemple, il a été démontré que

le CD36 est indispensable à la production d'IL1β au niveau du macrophage *via* NLRP3 (Sheedy et al., 2013). En résumé, l'absorption des graisses serait associée à une inflammation transitoire dépendante de NLRP3, qui permettrait de maintenir une absorption intestinale efficace en préservant l'intégrité de l'épithélium intestinal. De récents travaux viennent renforcer cette hypothèse puisque premièrement, des sujets humains présentant une mutation d'IL1β ont une hypertriglycéridémie post prandiale plus élevée (Delgado-Lista et al., 2011). Deuxièmement, les souris déficientes en caspase-1, enzyme qui active IL1β, ont une diminution de la capacité de synthèse et de sécrétion des CM qui se traduit par une diminution de la capacité d'absorption intestinale des graisses (Van Diepen et al., 2013). Pour vérifier l'implication de NLRP3, nous pourrions estimer l'activation de la caspase 1 et d'IL1β chez les souris sauvages et CD36 (-/-) nourries avec un régime HL isio4. De plus, nous avons l'opportunité de tester l'effet du régime HL isio4 chez des souris déficientes en NLRP3 (Collaboration Pr Jean- Louis Connat).

Si le lien fonctionnel CD36 – NLRP3 est confirmé, alors l'origine des effets délétères (chute de la prise alimentaire, oxydation accrue des lipides, chute de la masse grasse) d'une surconsommation d'AGLC insaturés en absence de CD36, serait l'altération de l'intégrité de la barrière intestinale.

Origine de la chute de la prise alimentaire chez les souris CD36 (-/-) lors d'une consommation excessive d'AGLC insaturés

Nos expériences ont permis d'identifier plusieurs mécanismes qui peuvent être à l'orgine de la chute de la prise alimentaire observée chez les souris CD36 (-/-) nourries avec un régime isio4. Tout d'abord, des expériences de comportement alimentaire, nous ont permis de montrer que seules les souirs CD36 (-/-) ont une aversion pour le régime riche en AGLC insaturés lorsqu'elles l'ont consommé de manière chronique. La préférence orale pour les lipides est principalement dépendante de CD36 (Laugerette et al., 2005). Par conséquent, puisqu'il est absent dans notre modèle, son rôle dans la détection orale des lipides ne peut pas être à l'origine de la chute de la prise alimentaire. En revanche, puisque la prise alimentaire n'est diminuée qu'au bout de 3 jours de régime, nous pouvons supposer que ce régime déclenche une souffrance chez l'animal expliquant cette aversion. Il est intéressant de signaler qu'un lien entre la malabsorption lipidique et la préférence pour les lipides a déjà été rapporté dans la littérature (Mera et al., 2014).
La malabsorption des lipides peut également réguler la prise alimentaire par la sécrétion de facteur intestinaux. Dans notre cas, la malabsorption conduit sans doute à la présence de produits de digestion des lipides comme les AGLC au niveau de la partie iléale qui doit être à l'origine d'une sécrétion accrue de PYY et GLP1, activant ainsi le frein iléal et diminuant la prise alimentaire (Hata et al., 2011). Par ailleurs, l'induction de la Angptl4 intestinale que nous avons retrouvée uniquement chez les souris CD36 (-/-) en régime HL isio4 est également un facteur anorexigène (Zhu et al., 2012) qui

pourrait expliquer la chute de la prise alimentaire. Enfin, l'endotoxémie post prandiale pourrait également être à l'origine de la chute de la prise alimentaire puisque le LPS régule l'expression au niveau du noyau arqué de POMC et CART (Sergeyev, Broberger, et Hökfelt 2001). D'autres arguments de la littérature suggèrent que la leptine qui est produite principalement par le tissu adipeux, pourrait également jouer un rôle dans la chute de la prise alimentaire puisqu'elle est induite chez les souris CD36 (-/-) (Hajri et al., 2007).

Origine de la chute de la masse adipeuse chez les souris CD36 (-/-) lors d'une consommation excessive d'AGLC insaturés

La chute de prise alimentaire associée à la perte fécale en lipides expliquent en partie la fonte du tissu adipeux observée chez les souris CD36 (-/-) nourries avec un régime HL isio4. En plus de ces effets, nous avons observé grâce à l'utilisation des cages métaboliques, une augmentation de l'oxydation des lipides (Figure 47). Comme les souris CD36 (-/-) captant moins bien les AG au niveau musculaire et adipocytaire (Febbraio et al., 1999 ; Hajri et al., 2002 ; Koonen et al., 2010), la fonte du tissu adipeux est sans doute la résultante d'une utilisation des réserves pour les besoins énergétiques. Cet effet est également supporté par l'augmentation du LPS plasmatique qui inhibe la LPL (Picard et al. 2002) et donc l'apport en lipides au tissu adipeux et stimule l'utilisation des lipides stockés par l'organisme nécessaire pour combattre l'endotoxémie (Harris, Gosnell, et Kumwenda 2000). De plus, le LPS en diminuant la taille des gouttelettes lipidiques adipocytaires (100-500 μm^2 au lieu de 900 μm^2) limiterait l'efficacité de stockage des AGL circulants et leur utilisation (Luche et al., 2013). Par ailleurs, le LPS augmenterait la lipolyse par une diminution de la lipine 1 au niveau du tissu adipeux. La lipine 1, étant impliquée dans la synthèse des TG, son inhibition par le LPS diminue la réestérification des TG et augmente le relargage des AG, ce qui est cohérent avec le phénotype observé (Lu et al., 2008).
Enfin, l'absence de CD36 au niveau du tissu adipeux peut aussi directement expliquer la fonte du tissu adipeux. En effet, CD36 régule la lipolyse mais aussi la PEPCK au niveau de ce tissu, enzyme clef de la glycéronéogénèse et donc participant à la synthèse des TG (Wan et al., 2013).

Pourquoi cet effet est dépendant de la qualité des AG ?

La force de notre étude est de pouvoir comparer un régime riche en AG saturés (huile de palme) et un autre riche en AG insaturés (huile Isio4) avec pour seule différence l'huile présente dans le régime. La différence de composition même pour un même type de régime (*Western Diet*) rend difficile les comparaisons. Afin de comparer les effets de différents régimes rapportés dans la littérature et ceux démontrés dans notre étude, le tableau 13 résume les principaux effets de régimes riche en AG insaturés, saturés ou type *Western Diet* de la littérature et dans notre étude.

Nous avons pu démontrer une diminution rapide de la masse supportée par une diminution de la masse grasse est observée chez les souris CD36 (-/-) seulement en régime HL riche en huile Isio4. Ce résultat n'est pas retrouvé chez les souris CD36 (-/-) en régime HL riche en huile de palme ni après un régime type *Western Diet* (HFHS) riche en AG saturés également. L'huile de palme contenant environ 40 % d'AGMI et l'huile Isio4 60 %, la différence la plus marquante entre l'huile de palme et l'huile Isio4 est la quantité d'AGPI : 10 % pour l'huile de palme et 32 % pour l'Isio4. CD36 serait donc nécessaire à l'absorption et à la métabolisation des AG insaturés et en particulier les AG polyinsaturés en situation de challenge lipidique.

Ce phénotype est expliqué par une chute de la prise alimentaire, une malabsorption des lipides (avec perte fécale en lipides), une augmentation du catabolisme des lipides, une endotoxémie élevée associée à une augmentation de la perméabilité intestinale et une moindre capacité à déclencher une réponse inflammatoire (résultats résumés en tableau 13). Nous avons pu montrer de façon inédite une perte fécale en lipides en régime HL isio4 chez les souris CD36 (-/-) non retrouvés ni en régime HL palme ni chez les souris sauvages. Cette perte fécale est associée à un recrutement de la partie iléale et une moindre induction des gènes impliqués dans la synthèse des CM. Cette malabsorption est corrélée à une hypertriglycéridémie qui est aggravée après 10 jours de gavage avec de l'huile Isio4, confirmant ainsi l'effet délétère des AG insaturés chez les souris CD36 (-/-).

De façon inédite, nous avons pu montrer que CD36 est nécessaire au contrôle de l'inflammation : en effet, nous avons pu montrer que les souris CD36 (-/-) ont une moindre capacité à déclencher une inflammation puisqu'elles présentent moins de macrophages et ne produisent pas d'IL1β, essentielle au recrutement d'autres cytokines, essentielles pour la réponse inflammatoire. Cette incapacité se traduit par une augmentation de la perméabilité intestinale, une endotoxémie et la présence de bactéries Gram (+) et (-) seulement au niveau jéjunal, suggérant un lien avec l'absorption des lipides.

En régime type *Western Diet,* nos résultats sont différents de la littérature : nous n'avons pas pu observer de différence de masse ni de composition corporelle (masse grasse) entre les souris CD36 (+/+) et CD36 (-/-) avec ce type de régime alors que d'autres équipes démontrent que les souris CD36 (-/-) sont protégées contre l'obésité induite par le régime (Koonen et al., 2010 ; Hajri et al., 2007 ; Vroegrijk et al., 2013 ; Cai et al., 2012). Nos résultats diffèrent sûrement dans la durée des régimes. En effet, nos résultats sont données pour une semaine de régime alors que dans la plupart des études, les régimes HL durent plusieurs semaines. Nous n'avons pas observé de différence de prise alimentaire en régime *Western Diet* entre les souris CD36 (+/+) et CD36 (-/-), en accord avec les résultats de l'équipe de Koonen et al., 2010 et Cai et al., 2012, mais en désaccord avec ceux de Hajri et al., 2007 qui rapportait une prise alimentaire plus faible.

Impact potentiel de la liaison des AG avec CD36

La première hypothèse envisageable est que CD36 est un récepteur aux AGLC dont l'affinité et donc la fonction sont dépendantes de leur degré d'insaturation. L'impact de son absence sera d'autant plus marquée pour des lipides ayant une haute affinité pour ce récepteur. Les travaux de l'équipe de Nada Abumrad soutiennent cette hypothèse puisqu'il faut respectivement 4 et 2 fois plus d'acide palmitique que de LA et d'OA pour déclencher la sécrétion de sécrétine par les cellules entéro-endocrines (Sundaresan et al., 2012). De plus, au niveau musculaire, la surexpression de CD36 augmente le captage des AG insaturés et dans une moindre mesure des AG saturés (Guo et al., 2013) suggérant que la fonction de CD36 est aussi dépendante de leur dégré d'insaturation. Enfin, au niveau intestinal, nos données réalisées *ex vivo* sur segments ne semblent pas en accord mais cette différence s'explique sans doute par la forte dose d'AG (200µM) utilisée dans nos expériences (Figure 24). Cependant, il est démontré que l'acide oléique favorise la formation de CM de plus grande taille que l'acide palmitique. Comme CD36 optimise la formation de CM, l'acide oléique pourrait être un meilleur ligand que l'acide palmitique.

Quant est-il du profil des AG contenus dans les huiles utilisées lors de nos expériences ? L'huile de palme et l'huile isio4 ont un profil d'AG distinct avec comme différences majeures : la teneur en acide palmitique (45 % *vs* 5 %), en acide oléique (40 % *vs* 60 %), en acide linoléique (10 % *vs* 26 %) et en acide linolénique (<0,5 % *vs* 5 %). Par conséquent, l'effet très marqué du régime HL isio4 pourrait par une proportion plus importante d'AGLC insaturés (mono et polyinsaturés) être plus efficace sur la signalisation de CD36 que l'acide palmitique. Cette hypothèse suggère que CD36 est surtout indispensable dans la prise en charge de forte quantité d'AGLC insaturés.

Effets d'un régime HL chez des souris CD36 (-/-) *vs* CD36 (+/+)	Régime HL Isio4	Régime HL Palme	Régime type western diet
Masse corporelle	↓↓	∅	∅ ↓ *(Cai et al., 2012) ; (Vroegrijk et al., 2013) (Hajri et al., 2007) : (Koonen et al,. 2010)*
Masse grasse	↓↓	∅	∅ ↓ *(Cai et al., 2012) ; (Vroegrijk et al., 2013) (Hajri et al., 2007)*
Prise alimentaire	↓↓	∅	∅ ∅ *(Cai et al., 2012) ; (Koonen et al., 2010)* ↓ *(Hajri et al., 2007)*
Létalité	oui	non	non
AGL	↑	∅	↑ *(Koonen et al., 2010)*
Glycémie	Hypoglycémie	Hypoglycémie	∅ *Hypoglycémie (Koonen et al., 2010)*
DE	∅	∅	↑ *(Koonen et al., 2010)*
Oxydation des lipides	↑		
Sécrétion postprandiale des TG	↓	↓↓	
Capacité de synthèse des CM	↓ Taux d'ARNm MTP, L-FABP, Sar1b , ApoAIV		
Adaptation iléale	oui	non	
Perte fécale	oui	non	
Endotoxémie	↑↑↑	↑	
Perméabilité intestinale	↑↑↑	↑	
Marqueurs d'inflammation jéjunale	↑ ARNm CD14, TLR4		
Marqueurs de Macrophages Dans l'Intestin	↓ Taux ARNm CD68, CCL2		
Marqueurs de Macrophages Tissu Adipeux	↑ Taux d'ARNm CD68, CCL2		↑ *Taux d'ARNm F4/80 (Cai et al., 2012)*
Cytokine IL1β	↓ ARNm jéjunal , ProIL1b non détectable, et taux plasmatique		

<u>Tableau 13</u> : Impact de différents types de régimes HL chez les souris CD36 (-/-) comparés aux souris CD36 (+/+). *(Vroegrijk et al., 2013 ; Cai et al., 2012 ; Hajri et al., 2007 ; Koonen et al., 2010). AGL : Acides Gras Libres : ApoAIV : Apolipoprotéine AIV ; CM : chylomicron ; DE : Dépense Energétique ; IL : InterLeukine ; L-FABP : Liver Fatty Acid Binding Protein ; MCP1 : Monocyte Chimoattractant Protein 1 ; MTP : Microsomal Triglyceride Transfer Protein ; Sar1b : : Secretion Associated, Ras related GTPase 1B TG : triglycéride ; TLR4 : Toll Like Receptor 4 ; TNFα : Tumor Necrosis Factor alpha.*

Impact potentiel du microbiote

Les AG polyinsaturés, bien que considérés comme anti inflammatoires (Robinson et Mazurak 2013) peuvent induire une dysbiose et une inflammation intestinale chez la souris âgée (Ghosh et al. 2013a). De façon intéressante, les AGPI n-3 aggravent les processus d'inflammation et la septicémie en diminuant la détoxificiation du LPS dépendante en particulier *via* l'alcaline phosphatase intestinale (Ghosh et al. 2013b). De plus, les AGPI diminuent la LPS binding protein (Hassanali et al., 2010), protéine qui permet le transfert du LPS sur les HDL ou les CM, diminuant ainsi son effet toxique (Laugerette et al., 2011). Parmi ces effets spécifiques des AGPI, soulignons que dans notre étude, une moindre détoxification du LPS est envisageable puisque l'expression génique de l'IAP dans le jéjunum des souris CD36 (-/-) en régime HL isio4 est diminuée.

La seconde hypothèse envisageable serait que les régimes riches en AG insaturés favorisent davantage la présence de bactéries Gram (-) dans la lumière intestinale que les régime HL contenant des AGS. Ainsi l'endotoxémie observée en régime HL isio4 chez les CD36 (-/-) aurait comme origine une augmentation de la population gram (-).

La dernière hypothèse que nous envisagerons est la possibilité que le microbiote transforme les AG contenus dans les régimes en dérivés. Les dérivés ainsi produits, peuvent être différents en fonction des AG du régime. Par exemple, il est connu que le microbiote présent dans l'intestin grêle de la souris et de l'Homme (Druart et al., 2014) est capable de synthétiser des acides conjugués de l'acide linoléique (CLA) à partir du LA. Par conséquent, dans notre cas, nous pouvons envisager que le régime HL isio4 conduit à une synthèse de CLA beaucoup plus importante que le régime palme puisqu'il contient 2,5 fois plus de LA. Or un de ces AG trans (10t, 12c-CLA) lorsqu'il est consommé *via* le régime alimentaire, conduit à des effets délétères identiques à ceux que nous avons observés avec le régime isio4 : altération des jonctions serrées intestinales (Roche et al., 2001), fonte et inflammation du tissu adipeux (Poirier et al., 2006), perte fécale en lipides (Terpstra et al., 2002), diminution de la prise alimentaire. Cette hypothèse suggère que le CD36 limiterait les effets délétères du 10t,12c-CLA en maintenant l'intégrité de la barrière intestinale.

Cette discussion amène des arguments indiquant que l'effet déletère d'une consommation excessive d'AGLC insaturés chez les souris CD36 (-/-) a comme origine l'absence de CD36 au niveau de la sphère intestinale. Seule la réalisation des mêmes expériences chez des animaux dont CD36 est invalidé uniquement au niveau intestinal nous permettra de valider définitivement notre hypothèse.

Conclusion

L'ensemble de ces travaux démontre que CD36 intestinal est un récepteur aux AGLC qui semble contrôler l'optimisation de la synthèse des CM ❶ permettant d'absorber efficacement de grandes quantités de lipides. CD36 en initiant les mécanismes inflammatoires permettrait la réparation de l'épithélium qui est altéré lors de la sécrétion massive de CM ❷. Ce maintien de l'intégrité limiterait l'entrée paracellulaire de LPS dans l'organisme et son intégration dans les CM ❷. De plus, CD36 activerait la détoxification du LPS ❸. L'ensemble de ces effets nous permet d'envisager que CD36 intestinal protègerait l'organisme contre l'hypertriglycéridémie post prandiale et l'endotoxémie et contrôlerait l'intégrité de l'épithélium intestinal ❹ (Figure 64).

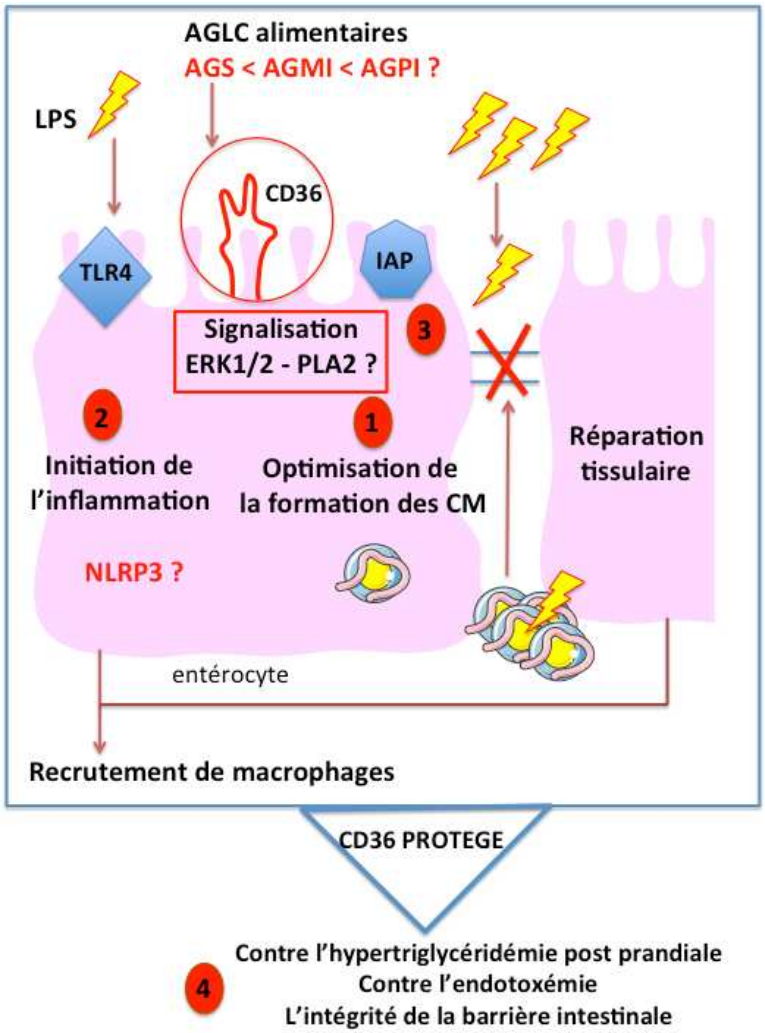


Figure 64 : rôles du récepteur CD36 au niveau intestinal

Ces données mettent en lumière l'importance que pourrait avoir CD36 dans la mise en place des maladies liées à des excès de lipides alimentaires puisqu'il contrôle l'hypertriglycéridémie et l'endotoxémie post prandiale. Cette dernière est de plus en plus considérée comme étant à l'origine de l'inflammation bas bruit qui est associée à l'obésité, le diabète de type II et le syndrome métabolique.

L’intestin *via* CD36 constituerait donc une cible thérapeutique pertinente. Les fonctions de CD36 semblent d’autant plus importantes que le régime contient une forte proportion d’AGLC insaturés. Une meilleure compréhension des effets spécifiques des AGLC insaturés devraient permettre d’envisager des corrections nutritionnelles pour les sujets déficients en CD36 ou souffrant d’hypertriglycéridémie post prandiale, d’endotoxémie et éventuellement d’inflammation intestinale.

Références bibliographiques

Abumrad, Nada A, et Nicholas O Davidson. 2012. « Role of the Gut in Lipid Homeostasis ». *Physiological Reviews* 92 (3): 1061‑85. doi:10.1152/physrev.00019.2011.

Al-Aubaidy, Hayder A, et Herbert F Jelinek. 2011. « Oxidative DNA Damage and Obesity in Type 2 Diabetes Mellitus ». *European Journal of Endocrinology / European Federation of Endocrine Societies* 164 (6): 899‑904. doi:10.1530/EJE-11-0053.

Almandoz, Jaime P., Ekta Singh, Lisa A. Howell, Karen Grothe, Danielle T. Vlazny, Almira Smailovic, Brian A. Irving, Robert H. Nelson, et John M. Miles. 2013. « Spillover of Fatty Acids During Dietary Fat Storage in Type 2 Diabetes Relationship to Body Fat Depots and Effects of Weight Loss ». *Diabetes* 62 (6): 1897‑1903. doi:10.2337/db12-1407.

Amri, E Z, G Ailhaud, et P A Grimaldi. 1994. « Fatty Acids as Signal Transducing Molecules: Involvement in the Differentiation of Preadipose to Adipose Cells ». *Journal of Lipid Research* 35 (5): 930‑37.

Apfelbaum, T F, N O Davidson, et R M Glickman. 1987. « Apolipoprotein A-IV Synthesis in Rat Intestine: Regulation by Dietary Triglyceride ». *The American Journal of Physiology* 252 (5 Pt 1): G662‑66.

Atshaves, B P, W B Foxworth, A Frolov, J B Roths, A B Kier, B K Oetama, J A Piedrahita, et F Schroeder. 1998. « Cellular Differentiation and I-FABP Protein Expression Modulate Fatty Acid Uptake and Diffusion ». *The American Journal of Physiology* 274 (3 Pt 1): C633‑44.

Baba, Nahla Hwalla, Rana Sultan, Nadim Cortas, et Zuheir Habbal. 1999. « Diet composition affects weight gain, adiposity and blood parameters in healthy human volunteers ». *Nutrition Research* 19 (9): 1313‑26. doi:10.1016/S0271-5317(99)00089-5.

Bäckhed, Fredrik, Jill K. Manchester, Clay F. Semenkovich, et Jeffrey I. Gordon. 2007. « Mechanisms Underlying the Resistance to Diet-Induced Obesity in Germ-Free Mice ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104 (3): 979‑84. doi:10.1073/pnas.0605374104.

Baier, L J, J C Sacchettini, W C Knowler, J Eads, G Paolisso, P A Tataranni, H Mochizuki, P H Bennett, C Bogardus, et M Prochazka. 1995. « An Amino Acid Substitution in the Human Intestinal Fatty Acid Binding Protein Is Associated with Increased Fatty Acid Binding, Increased Fat Oxidation, and Insulin Resistance ». *The Journal of Clinical Investigation* 95 (3): 1281‑87. doi:10.1172/JCI117778.

Baillie, A G, C T Coburn, et N A Abumrad. 1996. « Reversible Binding of Long-Chain Fatty Acids to Purified FAT, the Adipose CD36 Homolog ». *The Journal of Membrane Biology* 153 (1): 75‑81.

Bansal, Sandeep, Julie E Buring, Nader Rifai, Samia Mora, Frank M Sacks, et Paul M Ridker. 2007. « Fasting Compared with Nonfasting Triglycerides and Risk of Cardiovascular Events in Women ». *JAMA: The Journal of the American Medical Association* 298 (3): 309‑16. doi:10.1001/jama.298.3.309.

Baranova, Irina N, Roger Kurlander, Alexander V Bocharov, Tatyana G Vishnyakova, Zhigang Chen, Alan T Remaley, Gyorgy Csako, Amy P Patterson, et Thomas L Eggerman. 2008. « Role of Human CD36 in Bacterial Recognition, Phagocytosis, and Pathogen-Induced JNK-Mediated Signaling ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 181 (10): 7147‑56.

Barson, Jessica R, Olga Karatayev, Valeriya Gaysinskaya, Guo-Qing Chang, et Sarah F Leibowitz. 2012. « Effect of Dietary Fatty Acid Composition on Food Intake, Triglycerides, and Hypothalamic Peptides ». *Regulatory Peptides* 173 (1-3): 13□20. doi:10.1016/j.regpep.2011.08.012.

Baruch, D I, X C Ma, B Pasloske, R J Howard, et L H Miller. 1999. « CD36 Peptides That Block Cytoadherence Define the CD36 Binding Region for Plasmodium Falciparum-Infected Erythrocytes ». *Blood* 94 (6): 2121□27.

Baum, Seth J., Penny M. Kris-Etherton, Walter C. Willett, Alice H. Lichtenstein, Lawrence L. Rudel, Kevin C. Maki, Jay Whelan, Christopher E. Ramsden, et Robert C. Block. 2012. « Fatty Acids in Cardiovascular Health and Disease: A Comprehensive Update ». *Journal of Clinical Lipidology* 6 (3): 216□34. doi:10.1016/j.jacl.2012.04.077.

Baynes, Kevin C R, Waljit S Dhillo, et Stephen R Bloom. 2006. « Regulation of Food Intake by Gastrointestinal Hormones ». *Current Opinion in Gastroenterology* 22 (6): 626□31. doi:10.1097/01.mog.0000245537.43142.63.

Bayoumy, Nervana M, Mohamed M El-Shabrawi, et Hamdi H Hassan. 2012. « Association of Cluster of Differentiation 36 Gene Variant rs1761667 (G>A) with Metabolic Syndrome in Egyptian Adults ». *Saudi Medical Journal* 33 (5): 489□94.

Béaslas, Olivier, Carine Cueille, François Delers, Danielle Chateau, Jean Chambaz, Monique Rousset, et Véronique Carrière. 2009. « Sensing of Dietary Lipids by Enterocytes: A New Role for SR-BI/CLA-1 ». *PloS One* 4 (1): e4278. doi:10.1371/journal.pone.0004278.

Beigneux, Anne P., Brandon S. J. Davies, André Bensadoun, Loren G. Fong, et Stephen G. Young. 2009. « GPIHBP1, a GPI-Anchored Protein Required for the Lipolytic Processing of Triglyceride-Rich Lipoproteins ». *Journal of Lipid Research* 50 Suppl (avril): S57□62. doi:10.1194/jlr.R800030-JLR200.

Beigneux, Anne P., Brandon S. J. Davies, Peter Gin, Michael M. Weinstein, Emily Farber, Xin Qiao, Franklin Peale, et al. 2007. « Glycosylphosphatidylinositol-Anchored High-Density Lipoprotein-Binding Protein 1 Plays a Critical Role in the Lipolytic Processing of Chylomicrons ». *Cell Metabolism* 5 (4): 279□91. doi:10.1016/j.cmet.2007.02.002.

Berriot-Varoqueaux, N, A H Dannoura, A Moreau, N Verthier, A Sassolas, G Cadiot, A Lachaux, et al. 2001. « Apolipoprotein B48 Glycosylation in Abetalipoproteinemia and Anderson's Disease ». *Gastroenterology* 121 (5): 1101□8.

Bezaire, Veronic, Clinton R Bruce, George J F Heigenhauser, Narendra N Tandon, Jan F C Glatz, Joost J J F Luiken, Arend Bonen, et Lawrence L Spriet. 2006. « Identification of Fatty Acid Translocase on Human Skeletal Muscle Mitochondrial Membranes: Essential Role in Fatty Acid Oxidation ». *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism* 290 (3): E509□15. doi:10.1152/ajpendo.00312.2005.

Bickerton, Alex S. T., Rachel Roberts, Barbara A. Fielding, Leanne Hodson, Ellen E. Blaak, Anton J. M. Wagenmakers, Marjorie Gilbert, Fredrik Karpe, et Keith N. Frayn. 2007. « Preferential Uptake of Dietary Fatty Acids in Adipose Tissue and Muscle in the Postprandial Period ». *Diabetes* 56 (1): 168□76. doi:10.2337/db06-0822.

Blanc, Valerie, Yan Xie, Jianyang Luo, Susan Kennedy, et Nicholas O Davidson. 2012. « Intestine-Specific Expression of Apobec-1 Rescues Apolipoprotein B RNA Editing and Alters Chylomicron Production in Apobec1 -/- Mice ». *Journal of Lipid Research* 53 (12): 2643□55. doi:10.1194/jlr.M030494.

Bokor, Szilvia, Vanessa Legry, Aline Meirhaeghe, Jonatan R Ruiz, Beatrice Mauro, Kurt Widhalm, Yannis Manios, et al. 2010. « Single-Nucleotide Polymorphism of CD36 Locus and Obesity in European Adolescents ». *Obesity (Silver Spring, Md.)* 18 (7): 1398□1403. doi:10.1038/oby.2009.412.

Borén, Jan, Niina Matikainen, Martin Adiels, et Marja-Riitta Taskinen. 2014a. « Postprandial Hypertriglyceridemia as a Coronary Risk Factor ». *Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry* 431C (février): 131□42. doi:10.1016/j.cca.2014.01.015.

———. 2014b. « Postprandial Hypertriglyceridemia as a Coronary Risk Factor ». *Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry* 431 (avril): 131□42. doi:10.1016/j.cca.2014.01.015.

Borner, Tito, Sarah Pinkernell, Thomas A Lutz, et Thomas Riediger. 2012. « Lipopolysaccharide Inhibits Ghrelin-Excited Neurons of the Arcuate Nucleus and Reduces Food Intake via Central Nitric Oxide Signaling ». *Brain, Behavior, and Immunity* 26 (6): 867□79. doi:10.1016/j.bbi.2012.03.005.

Bost, Frédéric, Myriam Aouadi, Leslie Caron, Patrick Even, Nathalie Belmonte, Matthieu Prot, Christian Dani, et al. 2005. « The Extracellular Signal-Regulated Kinase Isoform ERK1 Is Specifically Required for in Vitro and in Vivo Adipogenesis ». *Diabetes* 54 (2): 402□11.

Bray, George A, Sahasporn Paeratakul, et Barry M Popkin. 2004. « Dietary Fat and Obesity: A Review of Animal, Clinical and Epidemiological Studies ». *Physiology & Behavior* 83 (4): 549□55. doi:10.1016/j.physbeh.2004.08.039.

Breckenridge, W C, et A Kuksis. 1975. « Triacylglycerol Biosynthesis in Everted Sacs of Rat Intestinal Mucosa ». *Canadian Journal of Biochemistry* 53 (11): 1184□95.

Bruewer, Matthias, Andreas Luegering, Torsten Kucharzik, Charles A. Parkos, James L. Madara, Ann M. Hopkins, et Asma Nusrat. 2003. « Proinflammatory Cytokines Disrupt Epithelial Barrier Function by Apoptosis-Independent Mechanisms ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 171 (11): 6164□72.

Buckley, J. D., et P. R. C. Howe. 2009. « Anti-Obesity Effects of Long-Chain Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids ». *Obesity Reviews* 10 (6): 648□59. doi:10.1111/j.1467-789X.2009.00584.x.

Buhman, Kimberly K, Steven J Smith, Scot J Stone, Joyce J Repa, Jinny S Wong, F F Knapp Jr, Betty J Burri, Robert L Hamilton, Nada A Abumrad, et Robert V Farese Jr. 2002. « DGAT1 Is Not Essential for Intestinal Triacylglycerol Absorption or Chylomicron Synthesis ». *The Journal of Biological Chemistry* 277 (28): 25474□79. doi:10.1074/jbc.M202013200.

Burr G. O., et Burr. 1929. « A new deficiency disease produced by the rigid exclusion of fat from the diet ». *Journal of Biological Chemistry*, 82 édition.

Buts, J P, V Vijverman, C Barudi, N De Keyser, P Maldague, et C Dive. 1990. « Refeeding after Starvation in the Rat: Comparative Effects of Lipids, Proteins and Carbohydrates on Jejunal and Ileal Mucosal Adaptation ». *European Journal of Clinical Investigation* 20 (4): 441□52.

Buttet, Marjorie, Véronique Traynard, Thi Thu Trang Tran, Philippe Besnard, Hélène Poirier, et Isabelle Niot. 2014. « From fatty-acid sensing to chylomicron synthesis: Role of intestinal lipid-binding proteins ». *Biochimie* 96 (janvier): 37□47. doi:10.1016/j.biochi.2013.08.011.

Caesar, Robert, Christopher S Reigstad, Helene Kling Bäckhed, Christoph Reinhardt, Maria Ketonen, Gunnel Östergren Lundén, Patrice D Cani, et Fredrik Bäckhed. 2012. « Gut-Derived Lipopolysaccharide Augments Adipose Macrophage Accumulation but Is Not Essential for Impaired Glucose or Insulin Tolerance in Mice ». *Gut* 61 (12): 1701‑7. doi:10.1136/gutjnl-2011-301689.

Cai, Lei, Zhen Wang, Ailing Ji, Jason M Meyer, et Deneys R van der Westhuyzen. 2012a. « Scavenger Receptor CD36 Expression Contributes to Adipose Tissue Inflammation and Cell Death in Diet-Induced Obesity ». *PloS One* 7 (5): e36785. doi:10.1371/journal.pone.0036785.

Cai, Lei, Zhen Wang, Ailing Ji, Jason M. Meyer, et Deneys R. van der Westhuyzen. 2012b. « Scavenger Receptor CD36 Expression Contributes to Adipose Tissue Inflammation and Cell Death in Diet-Induced Obesity ». *PloS One* 7 (5): e36785. doi:10.1371/journal.pone.0036785.

Campbell, Shannon E, Narendra N Tandon, Gebretateos Woldegiorgis, Joost J F P Luiken, Jan F C Glatz, et Arend Bonen. 2004. « A Novel Function for Fatty Acid Translocase (FAT)/CD36: Involvement in Long Chain Fatty Acid Transfer into the Mitochondria ». *The Journal of Biological Chemistry* 279 (35): 36235‑41. doi:10.1074/jbc.M400566200.

Cani, Patrice D., Rodrigo Bibiloni, Claude Knauf, Aurélie Waget, Audrey M. Neyrinck, Nathalie M. Delzenne, et Rémy Burcelin. 2008. « Changes in Gut Microbiota Control Metabolic Endotoxemia-Induced Inflammation in High-Fat Diet-Induced Obesity and Diabetes in Mice ». *Diabetes* 57 (6): 1470‑81. doi:10.2337/db07-1403.

Cani, P. D., A. M. Neyrinck, F. Fava, C. Knauf, R. G. Burcelin, K. M. Tuohy, G. R. Gibson, et N. M. Delzenne. 2007. « Selective Increases of Bifidobacteria in Gut Microflora Improve High-Fat-Diet-Induced Diabetes in Mice through a Mechanism Associated with Endotoxaemia ». *Diabetologia* 50 (11): 2374‑83. doi:10.1007/s00125-007-0791-0.

Cao, Jingsong, Paul Burn, et Yuguang Shi. 2003. « Properties of the Mouse Intestinal Acyl-CoA:monoacylglycerol Acyltransferase, MGAT2 ». *The Journal of Biological Chemistry* 278 (28): 25657‑63. doi:10.1074/jbc.M302835200.

Cao, Jingsong, Eric Hawkins, Joseph Brozinick, Xiaoyu Liu, Hongxing Zhang, Paul Burn, et Yuguang Shi. 2004. « A Predominant Role of Acyl-CoA:monoacylglycerol Acyltransferase-2 in Dietary Fat Absorption Implicated by Tissue Distribution, Subcellular Localization, and up-Regulation by High Fat Diet ». *The Journal of Biological Chemistry* 279 (18): 18878‑86. doi:10.1074/jbc.M313272200.

Caricilli, Andrea Moro, Angela Castoldi, et Niels Olsen Saraiva Câmara. 2014. « Intestinal Barrier: A Gentlemen's Agreement between Microbiota and Immunity ». *World Journal of Gastrointestinal Pathophysiology* 5 (1): 18‑32. doi:10.4291/wjgp.v5.i1.18.

Cartwright, I. J., et J. A. Higgins. 1999. « Increased Dietary Triacylglycerol Markedly Enhances the Ability of Isolated Rabbit Enterocytes to Secrete Chylomicrons: An Effect Related to Dietary Fatty Acid Composition ». *Journal of Lipid Research* 40 (10): 1858‑66.

Cartwright, I J, et J A Higgins. 2001. « Direct Evidence for a Two-Step Assembly of ApoB48-Containing Lipoproteins in the Lumen of the Smooth Endoplasmic Reticulum of Rabbit Enterocytes ». *The Journal of Biological Chemistry* 276 (51): 48048‑57. doi:10.1074/jbc.M104229200.

Casas-Agustench, P, P López-Uriarte, M Bulló, E Ros, A Gómez-Flores, et J Salas-Salvadó. 2009. « Acute Effects of Three High-Fat Meals with Different Fat Saturations on Energy Expenditure, Substrate Oxidation and Satiety ». *Clinical Nutrition (Edinburgh, Scotland)* 28 (1): 39‑45. doi:10.1016/j.clnu.2008.10.008.

Cascio, Giuseppe, Gabriella Schiera, et Italia Di Liegro. 2012. « Dietary Fatty Acids in Metabolic Syndrome, Diabetes and Cardiovascular Diseases ». *Current Diabetes Reviews* 8 (1): 2□17.

Castro-Sánchez, Patricia, et José M. Martín-Villa. 2013. « Gut Immune System and Oral Tolerance ». *The British Journal of Nutrition* 109 Suppl 2 (janvier): S3□11. doi:10.1017/S0007114512005223.

Chen, Kan, Maria Febbraio, Wei Li, et Roy L Silverstein. 2008. « A Specific CD36-Dependent Signaling Pathway Is Required for Platelet Activation by Oxidized Low-Density Lipoprotein ». *Circulation Research* 102 (12): 1512□19. doi:10.1161/CIRCRESAHA.108.172064.

Chevrot, Michael, Arnaud Bernard, Déborah Ancel, Marjorie Buttet, Céline Martin, Souleymane Abdoul-Azize, Jean-François Merlin, et al. 2013. « Obesity Alters the Gustatory Perception of Lipids in the Mouse: Plausible Involvement of Lingual CD36 ». *Journal of Lipid Research* 54 (9): 2485□94. doi:10.1194/jlr.M039446.

Chevrot, Michael, Patricia Passilly-Degrace, Déborah Ancel, Arnaud Bernard, Géraldine Enderli, Marlène Gomes, Isabelle Robin, et al. 2014. « Obesity Interferes with the Orosensory Detection of Long-Chain Fatty Acids in Humans ». *The American Journal of Clinical Nutrition* 99 (5): 975□83. doi:10.3945/ajcn.113.077198.

Choquet, Hélène, Yann Labrune, Franck De Graeve, Anke Hinney, Johannes Hebebrand, André Scherag, Cécile Lecoeur, et al. 2011. « Lack of Association of CD36 SNPs with Early Onset Obesity: A Meta-Analysis in 9,973 European Subjects ». *Obesity (Silver Spring, Md.)* 19 (4): 833□39. doi:10.1038/oby.2010.226.

Clugston, Robin D, Jason J Yuen, Yunying Hu, Nada A Abumrad, Paul D Berk, Ira J Goldberg, William S Blaner, et Li-Shin Huang. 2014. « CD36-Deficient Mice Are Resistant to Alcohol- and High-Carbohydrate-Induced Hepatic Steatosis ». *Journal of Lipid Research* 55 (2): 239□46. doi:10.1194/jlr.M041863.

Coburn, C. T., F. F. Knapp, M. Febbraio, A. L. Beets, R. L. Silverstein, et N. A. Abumrad. 2000. « Defective Uptake and Utilization of Long Chain Fatty Acids in Muscle and Adipose Tissues of CD36 Knockout Mice ». *The Journal of Biological Chemistry* 275 (42): 32523□29. doi:10.1074/jbc.M003826200.

Coort, Susan L M, Jodil Willems, Will A Coumans, Ger J van der Vusse, Arend Bonen, Jan F C Glatz, et Joost J F P Luiken. 2002. « Sulfo-N-Succinimidyl Esters of Long Chain Fatty Acids Specifically Inhibit Fatty Acid Translocase (FAT/CD36)-Mediated Cellular Fatty Acid Uptake ». *Molecular and Cellular Biochemistry* 239 (1-2): 213□19.

Coppack, S. W., M. D. Jensen, et J. M. Miles. 1994. « In Vivo Regulation of Lipolysis in Humans ». *Journal of Lipid Research* 35 (2): 177□93.

Corpeleijn, E, C J H van der Kallen, M Kruijshoop, M G P Magagnin, T W A de Bruin, E J M Feskens, W H M Saris, et E E Blaak. 2006. « Direct Association of a Promoter Polymorphism in the CD36/FAT Fatty Acid Transporter Gene with Type 2 Diabetes Mellitus and Insulin Resistance ». *Diabetic Medicine: A Journal of the British Diabetic Association* 23 (8): 907□11. doi:10.1111/j.1464-5491.2006.01888.x.

Corpeleijn, Eva, Liselotte Petersen, Claus Holst, Wim H Saris, Arne Astrup, Dominique Langin, Ian MacDonald, et al. 2010. « Obesity-Related Polymorphisms and Their Associations with the Ability to Regulate Fat Oxidation in Obese Europeans: The NUGENOB Study ». *Obesity (Silver Spring, Md.)* 18 (7): 1369□77. doi:10.1038/oby.2009.377.

Couillard, C., N. Bergeron, D. Prud'homme, J. Bergeron, A. Tremblay, C. Bouchard, P. Mauriège, et J. P. Després. 1998. « Postprandial Triglyceride Response in Visceral Obesity in Men ». *Diabetes* 47 (6): 953‑60.

Crosnier, Cécile, Despina Stamataki, et Julian Lewis. 2006. « Organizing Cell Renewal in the Intestine: Stem Cells, Signals and Combinatorial Control ». *Nature Reviews. Genetics* 7 (5): 349‑59. doi:10.1038/nrg1840.

Deckelbaum, Richard J, Tilla S Worgall, et Toru Seo. 2006. « N-3 Fatty Acids and Gene Expression ». *The American Journal of Clinical Nutrition* 83 (6 Suppl): 1520S‑ 1525S.

Delgado-Lista, Javier, Antonio Garcia-Rios, Pablo Perez-Martinez, Juan Solivera, Elena M. Yubero-Serrano, Francisco Fuentes, Laurence D. Parnell, et al. 2011. « Interleukin 1B Variant -1473G/C (rs1143623) Influences Triglyceride and Interleukin 6 Metabolism ». *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 96 (5): E816‑20. doi:10.1210/jc.2010-2455.

Desmarchelier, Charles, Christoph Dahlhoff, Sylvia Keller, Manuela Sailer, Gerhard Jahreis, et Hannelore Daniel. 2012. « C57Bl/6 N Mice on a Western Diet Display Reduced Intestinal and Hepatic Cholesterol Levels despite a Plasma Hypercholesterolemia ». *BMC Genomics* 13: 84. doi:10.1186/1471-2164-13-84.

Desmarchelier, Charles, Jean-Charles Martin, Richard Planells, Marguerite Gastaldi, Marion Nowicki, Aurélie Goncalves, René Valéro, Denis Lairon, et Patrick Borel. 2014. « The Postprandial Chylomicron Triacylglycerol Response to Dietary Fat in Healthy Male Adults Is Significantly Explained by a Combination of Single Nucleotide Polymorphisms in Genes Involved in Triacylglycerol Metabolism ». *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, janvier, jc20133962. doi:10.1210/jc.2013-3962.

Dessì, Mariarita, Annalisa Noce, Pierfrancesco Bertucci, Simone Manca di Villahermosa, Rossella Zenobi, Veronica Castagnola, Eliana Addessi, et Nicola Di Daniele. 2013. « Atherosclerosis, Dyslipidemia, and Inflammation: The Significant Role of Polyunsaturated Fatty Acids ». *ISRN Inflammation* 2013: 191823. doi:10.1155/2013/191823.

De Wit, Nicole, Muriel Derrien, Hanneke Bosch-Vermeulen, Els Oosterink, Shohreh Keshtkar, Caroline Duval, Johan de Vogel-van den Bosch, Michiel Kleerebezem, Michael Müller, et Roelof van der Meer. 2012. « Saturated Fat Stimulates Obesity and Hepatic Steatosis and Affects Gut Microbiota Composition by an Enhanced Overflow of Dietary Fat to the Distal Intestine ». *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology* 303 (5): G589‑99. doi:10.1152/ajpgi.00488.2011.

De Wit, Nicole J W, Mark V Boekschoten, Eva-Maria Bachmair, Guido J E J Hooiveld, Philip J de Groot, Isabel Rubio-Aliaga, Hannelore Daniel, et Michael Müller. 2011. « Dose-Dependent Effects of Dietary Fat on Development of Obesity in Relation to Intestinal Differential Gene Expression in C57BL/6J Mice ». *PloS One* 6 (4): e19145. doi:10.1371/journal.pone.0019145.

De Wit, Nicole Jw, Hanneke Bosch-Vermeulen, Philip J de Groot, Guido Jej Hooiveld, Mechteld M Grootte Bromhaar, Jenny Jansen, Michael Müller, et Roelof van der Meer. 2008. « The Role of the Small Intestine in the Development of Dietary Fat-Induced Obesity and Insulin Resistance in C57BL/6J Mice ». *BMC Medical Genomics* 1: 14. doi:10.1186/1755-8794-1-14.

Dijk, Wieneke, et Sander Kersten. 2014. « Regulation of Lipoprotein Lipase by Angptl4 ». *Trends in Endocrinology and Metabolism: TEM* 25 (3): 146‑55. doi:10.1016/j.tem.2013.12.005.

Dinarello, Charles A. 2009. « Interleukin-1beta and the Autoinflammatory Diseases ». *The New England Journal of Medicine* 360 (23): 2467‑70. doi:10.1056/NEJMe0811014.

Ding, Shengli, Michael M. Chi, Brooks P. Scull, Rachael Rigby, Nicole M. J. Schwerbrock, Scott Magness, Christian Jobin, et Pauline K. Lund. 2010. « High-Fat Diet: Bacteria Interactions Promote Intestinal Inflammation Which Precedes and Correlates with Obesity and Insulin Resistance in Mouse ». *PloS One* 5 (8): e12191. doi:10.1371/journal.pone.0012191.

Douglass, John D, Nashmia Malik, Su-Hyoun Chon, Kevin Wells, Yin Xiu Zhou, Andrew S Choi, Laurie B Joseph, et Judith Storch. 2012. « Intestinal Mucosal Triacylglycerol Accumulation Secondary to Decreased Lipid Secretion in Obese and High Fat Fed Mice ». *Frontiers in Physiology* 3: 25. doi:10.3389/fphys.2012.00025.

Drahota, Zdenek, Marek Vrbacký, Hana Nůsková, Ludmila Kazdová, Václav Zídek, Vladimír Landa, Michal Pravenec, et Josef Houstek. 2010. « Succinimidyl Oleate, Established Inhibitor of CD36/FAT Translocase Inhibits Complex III of Mitochondrial Respiratory Chain ». *Biochemical and Biophysical Research Communications* 391 (3): 1348□51. doi:10.1016/j.bbrc.2009.12.050.

Drover, Victor A., Mohammad Ajmal, Fatiha Nassir, Nicholas O. Davidson, Andromeda M. Nauli, Daisy Sahoo, Patrick Tso, et Nada A. Abumrad. 2005. « CD36 deficiency impairs intestinal lipid secretion and clearance of chylomicrons from the blood ». *Journal of Clinical Investigation* 115 (5): 1290□97. doi:10.1172/JCI21514.

Drover, Victor A, David V Nguyen, Claire C Bastie, Yolanda F Darlington, Nada A Abumrad, Jeffrey E Pessin, Erwin London, Daisy Sahoo, et Michael C Phillips. 2008. « CD36 Mediates Both Cellular Uptake of Very Long Chain Fatty Acids and Their Intestinal Absorption in Mice ». *The Journal of Biological Chemistry* 283 (19): 13108□15. doi:10.1074/jbc.M708086200.

Druart, Céline, Audrey M Neyrinck, Bruno Vlaeminck, Veerle Fievez, Patrice D Cani, et Nathalie M Delzenne. 2014. « Role of the Lower and Upper Intestine in the Production and Absorption of Gut Microbiota-Derived PUFA Metabolites ». *PloS One* 9 (1): e87560. doi:10.1371/journal.pone.0087560.

Duca, Frank A., Yassine Sakar, et Mihai Covasa. 2013. « The modulatory role of high fat feeding on gastrointestinal signals in obesity ». *The Journal of Nutritional Biochemistry* 24 (10): 1663□77. doi:10.1016/j.jnutbio.2013.05.005.

Duez, Hélène, Mirjana Pavlic, et Gary F Lewis. 2008. « Mechanism of Intestinal Lipoprotein Overproduction in Insulin Resistant Humans ». *Atherosclerosis. Supplements* 9 (2): 33□38. doi:10.1016/j.atherosclerosissup.2008.05.013.

Ellis, Jessica M, Jennifer L Frahm, Lei O Li, et Rosalind A Coleman. 2010. « Acyl-Coenzyme A Synthetases in Metabolic Control ». *Current Opinion in Lipidology* 21 (3): 212□17.

El-Yassimi, Abdelghani, Aziz Hichami, Philippe Besnard, et Naim Akhtar Khan. 2008. « Linoleic Acid Induces Calcium Signaling, Src Kinase Phosphorylation, and Neurotransmitter Release in Mouse CD36-Positive Gustatory Cells ». *The Journal of Biological Chemistry* 283 (19): 12949□59. doi:10.1074/jbc.M707478200.

Erdman, Laura K, Gabriela Cosio, Andrew J Helmers, D Channe Gowda, Sergio Grinstein, et Kevin C Kain. 2009. « CD36 and TLR Interactions in Inflammation and Phagocytosis: Implications for Malaria ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 183 (10): 6452□59. doi:10.4049/jimmunol.0901374.

Erridge, Clett, Teresa Attina, Corinne M. Spickett, et David J. Webb. 2007. « A High-Fat Meal Induces Low-Grade Endotoxemia: Evidence of a Novel Mechanism of Postprandial Inflammation ». *The American Journal of Clinical Nutrition* 86 (5): 1286□92.

Even, Patrick C, et Nachiket A Nadkarni. 2012. « Indirect Calorimetry in Laboratory Mice and Rats: Principles, Practical Considerations, Interpretation and Perspectives ». *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 303 (5): R459‑76. doi:10.1152/ajpregu.00137.2012.

Eyster, Kathleen M. 2007. « The Membrane and Lipids as Integral Participants in Signal Transduction: Lipid Signal Transduction for the Non-Lipid Biochemist ». *Advances in Physiology Education* 31 (1): 5‑16. doi:10.1152/advan.00088.2006.

Farese, R. V., T. J. Yost, et R. H. Eckel. 1991. « Tissue-Specific Regulation of Lipoprotein Lipase Activity by Insulin/glucose in Normal-Weight Humans ». *Metabolism: Clinical and Experimental* 40 (2): 214‑16.

Febbraio, M, N A Abumrad, D P Hajjar, K Sharma, W Cheng, S F Pearce, et R L Silverstein. 1999. « A Null Mutation in Murine CD36 Reveals an Important Role in Fatty Acid and Lipoprotein Metabolism ». *The Journal of Biological Chemistry* 274 (27): 19055‑62.

Febbraio, M., N. A. Abumrad, D. P. Hajjar, K. Sharma, W. Cheng, S. F. Pearce, et R. L. Silverstein. 1999. « A Null Mutation in Murine CD36 Reveals an Important Role in Fatty Acid and Lipoprotein Metabolism ». *The Journal of Biological Chemistry* 274 (27): 19055‑62.

Febbraio, Maria, et Roy L. Silverstein. 2007. « CD36: Implications in cardiovascular disease ». *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 39 (11): 2012‑30. doi:10.1016/j.biocel.2007.03.012.

Febbraio, M, D P Hajjar, et R L Silverstein. 2001. « CD36: A Class B Scavenger Receptor Involved in Angiogenesis, Atherosclerosis, Inflammation, and Lipid Metabolism ». *The Journal of Clinical Investigation* 108 (6): 785‑91. doi:10.1172/JCI14006.

Federico, Lisa M, Mark Naples, Denise Taylor, et Khosrow Adeli. 2006. « Intestinal Insulin Resistance and Aberrant Production of Apolipoprotein B48 Lipoproteins in an Animal Model of Insulin Resistance and Metabolic Dyslipidemia: Evidence for Activation of Protein Tyrosine Phosphatase-1B, Extracellular Signal-Related Kinase, and Sterol Regulatory Element-Binding Protein-1c in the Fructose-Fed Hamster Intestine ». *Diabetes* 55 (5): 1316‑26.

Field, F J, E Born, S Murthy, et S N Mathur. 1998. « Caveolin Is Present in Intestinal Cells: Role in Cholesterol Trafficking? ». *Journal of Lipid Research* 39 (10): 1938‑50.

Fouquet, Stéphane, Verónica-Haydée Lugo-Martínez, Anne-Marie Faussat, Flore Renaud, Philippe Cardot, Jean Chambaz, Martine Pinçon-Raymond, et Sophie Thenet. 2004. « Early Loss of E-Cadherin from Cell-Cell Contacts Is Involved in the Onset of Anoikis in Enterocytes ». *The Journal of Biological Chemistry* 279 (41): 43061‑69. doi:10.1074/jbc.M405095200.

Frank, Philippe G, Yves L Marcel, Margery A Connelly, Douglas M Lublin, Vivian Franklin, David L Williams, et Michael P Lisanti. 2002. « Stabilization of Caveolin-1 by Cellular Cholesterol and Scavenger Receptor Class B Type I ». *Biochemistry* 41 (39): 11931‑40.

Frayn, Keith N. 1998. « Non-esterified fatty acid metabolism and postprandial lipaemia ». *Atherosclerosis* 141, Supplement 1 (décembre): S41‑46. doi:10.1016/S0021-9150(98)00216-0.

Frochot, Vincent, Malik Alqub, Anne-Laure Cattin, Véronique Carrière, Anne Houllier, Floriane Baraille, Laurence Barbot, et al. 2012. « The Transcription Factor HNF-4α: A Key Factor of the Intestinal Uptake of Fatty Acids in Mouse ». *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology* 302 (11): G1253‑63. doi:10.1152/ajpgi.00329.2011.

Fukuwatari, T., T. Kawada, M. Tsuruta, T. Hiraoka, T. Iwanaga, E. Sugimoto, et T. Fushiki. 1997. « Expression of the Putative Membrane Fatty Acid Transporter (FAT) in Taste Buds of the Circumvallate Papillae in Rats ». *FEBS Letters* 414 (2): 461‑64.

Gaillard, Dany, Fabienne Laugerette, Nicolas Darcel, Abdelghani El-Yassimi, Patricia Passilly-Degrace, Aziz Hichami, Naim Akhtar Khan, Jean-Pierre Montmayeur, et Philippe Besnard. 2008. « The Gustatory Pathway Is Involved in CD36-Mediated Orosensory Perception of Long-Chain Fatty Acids in the Mouse ». *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 22 (5): 1458‑68. doi:10.1096/fj.07-8415com.

Garrett, Wendy S., Jeffrey I. Gordon, et Laurie H. Glimcher. 2010. « Homeostasis and Inflammation in the Intestine ». *Cell* 140 (6): 859‑70. doi:10.1016/j.cell.2010.01.023.

Georgiadi, Anastasia, et Sander Kersten. 2012. « Mechanisms of Gene Regulation by Fatty Acids ». *Advances in Nutrition (Bethesda, Md.)* 3 (2): 127‑34. doi:10.3945/an.111.001602.

Gertow, K, M Bellanda, P Eriksson, S Boquist, A Hamsten, M Sunnerhagen, et R M Fisher. 2004. « Genetic and Structural Evaluation of Fatty Acid Transport Protein-4 in Relation to Markers of the Insulin Resistance Syndrome ». *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 89 (1): 392‑99. doi:10.1210/jc.2003-030682.

Ghoshal, Sarbani, Jassir Witta, Jian Zhong, Willem de Villiers, et Erik Eckhardt. 2009. « Chylomicrons Promote Intestinal Absorption of Lipopolysaccharides ». *Journal of Lipid Research* 50 (1): 90‑97. doi:10.1194/jlr.M800156-JLR200.

Ghosh, Arunima, Wei Li, Maria Febbraio, Ricardo G Espinola, Keith R McCrae, Erin Cockrell, et Roy L Silverstein. 2008. « Platelet CD36 Mediates Interactions with Endothelial Cell-Derived Microparticles and Contributes to Thrombosis in Mice ». *The Journal of Clinical Investigation* 118 (5): 1934‑43. doi:10.1172/JCI34904.

Ghosh, Sanjoy, Daniella DeCoffe, Kirsty Brown, Ethendhar Rajendiran, Mehrbod Estaki, Chuanbin Dai, Ashley Yip, et Deanna L. Gibson. 2013. « Fish Oil Attenuates Omega-6 Polyunsaturated Fatty Acid-Induced Dysbiosis and Infectious Colitis but Impairs LPS Dephosphorylation Activity Causing Sepsis ». *PloS One* 8 (2): e55468. doi:10.1371/journal.pone.0055468.

Ghosh, Sanjoy, Erin Molcan, Daniella DeCoffe, Chaunbin Dai, et Deanna L. Gibson. 2013. « Diets Rich in N-6 PUFA Induce Intestinal Microbial Dysbiosis in Aged Mice ». *The British Journal of Nutrition* 110 (3): 515‑23. doi:10.1017/S0007114512005326.

Gimeno, Ruth E, David J Hirsch, Sandhya Punreddy, Ying Sun, Angelica M Ortegon, Hui Wu, Tom Daniels, Alain Stricker-Krongrad, Harvey F Lodish, et Andreas Stahl. 2003. « Targeted Deletion of Fatty Acid Transport Protein-4 Results in Early Embryonic Lethality ». *The Journal of Biological Chemistry* 278 (49): 49512‑16. doi:10.1074/jbc.M309759200.

Glatz, Jan F. C., Joost J. F. P. Luiken, et Arend Bonen. 2010. « Membrane Fatty Acid Transporters as Regulators of Lipid Metabolism: Implications for Metabolic Disease ». *Physiological Reviews* 90 (1): 367‑417. doi:10.1152/physrev.00003.2009.

Goudriaan, Jeltje R, Marion A M den Boer, Patrick C N Rensen, Maria Febbraio, Folkert Kuipers, Johannes A Romijn, Louis M Havekes, et Peter J Voshol. 2005. « CD36 Deficiency in Mice Impairs Lipoprotein Lipase-Mediated Triglyceride Clearance ». *Journal of Lipid Research* 46 (10): 2175‑81. doi:10.1194/jlr.M500112-JLR200.

Grygiel-Górniak, Bogna. 2014. « Peroxisome Proliferator-Activated Receptors and Their Ligands:

Nutritional and Clinical Implications - a Review ». *Nutrition Journal* 13 (1): 17. doi:10.1186/1475-2891-13-17.

Guesnet Philippe, Alessandri Jean Marc, Astorg Pierre, Pifferi Fabien, et Lavialle Monique. 2005. « Les rôles physiologiques majeurs exercés par les acides gras polyinsaturés (AGPI) ». *OCL*, sect. 12.

Guijarro, Ana, Jin Fu, Giuseppe Astarita, et Daniele Piomelli. 2010. « CD36 Gene Deletion Decreases Oleoylethanolamide Levels in Small Intestine of Free-Feeding Mice ». *Pharmacological Research: The Official Journal of the Italian Pharmacological Society* 61 (1): 27□33. doi:10.1016/j.phrs.2009.09.003.

Guo, Shuhong, Rana Al-Sadi, Hamid M Said, et Thomas Y Ma. 2013. « Lipopolysaccharide Causes an Increase in Intestinal Tight Junction Permeability in Vitro and in Vivo by Inducing Enterocyte Membrane Expression and Localization of TLR-4 and CD14 ». *The American Journal of Pathology* 182 (2): 375□87. doi:10.1016/j.ajpath.2012.10.014.

Gu, Shenghua, Dandan Chen, Jin-Na Zhang, Xiaoman Lv, Kun Wang, Li-Ping Duan, Yong Nie, et Xiao-Lei Wu. 2013. « Bacterial Community Mapping of the Mouse Gastrointestinal Tract ». *PloS One* 8 (10): e74957. doi:10.1371/journal.pone.0074957.

Haidari, Mehran, Nathalie Leung, Farhana Mahbub, Kristine D Uffelman, Rita Kohen-Avramoglu, Gary F Lewis, et Khosrow Adeli. 2002. « Fasting and Postprandial Overproduction of Intestinally Derived Lipoproteins in an Animal Model of Insulin Resistance. Evidence That Chronic Fructose Feeding in the Hamster Is Accompanied by Enhanced Intestinal de Novo Lipogenesis and ApoB48-Containing Lipoprotein Overproduction ». *The Journal of Biological Chemistry* 277 (35): 31646□55. doi:10.1074/jbc.M200544200.

Hajri, Tahar, Angela M Hall, Dalan R Jensen, Terri A Pietka, Victor A Drover, Huan Tao, Robert Eckel, et Nada A Abumrad. 2007. « CD36-Facilitated Fatty Acid Uptake Inhibits Leptin Production and Signaling in Adipose Tissue ». *Diabetes* 56 (7): 1872□80. doi:10.2337/db06-1699.

Hajri, Tahar, Xiao Xia Han, Arend Bonen, et Nada A Abumrad. 2002. « Defective Fatty Acid Uptake Modulates Insulin Responsiveness and Metabolic Responses to Diet in CD36-Null Mice ». *The Journal of Clinical Investigation* 109 (10): 1381□89. doi:10.1172/JCI14596.

Hall, Angela M, Brian M Wiczer, Thomas Herrmann, Wolfgang Stremmel, et David A Bernlohr. 2005. « Enzymatic Properties of Purified Murine Fatty Acid Transport Protein 4 and Analysis of Acyl-CoA Synthetase Activities in Tissues from FATP4 Null Mice ». *The Journal of Biological Chemistry* 280 (12): 11948□54. doi:10.1074/jbc.M412629200.

Hansotia, Tanya, et Daniel J Drucker. 2005. « GIP and GLP-1 as Incretin Hormones: Lessons from Single and Double Incretin Receptor Knockout Mice ». *Regulatory Peptides* 128 (2): 125□34. doi:10.1016/j.regpep.2004.07.019.

Hariri, Niloofar, et Louise Thibault. 2010. « High-Fat Diet-Induced Obesity in Animal Models ». *Nutrition Research Reviews* 23 (2): 270□99. doi:10.1017/S0954422410000168.

Harris, H. W., J. E. Gosnell, et Z. L. Kumwenda. 2000. « The Lipemia of Sepsis: Triglyceride-Rich Lipoproteins as Agents of Innate Immunity ». *Journal of Endotoxin Research* 6 (6): 421□30.

Hassanali, Z., B. N. Ametaj, C. J. Field, S. D. Proctor, et D. F. Vine. 2010. « Dietary Supplementation of N-3 PUFA Reduces Weight Gain and Improves Postprandial Lipaemia and the Associated Inflammatory Response in the Obese JCR:LA-Cp Rat ». *Diabetes, Obesity & Metabolism* 12 (2): 139□47. doi:10.1111/j.1463-1326.2009.01130.x.

Hata, T, Y Mera, T Kawai, Y Ishii, Y Kuroki, K Kakimoto, T Ohta, et M Kakutani. 2011. « JTT-130,

a Novel Intestine-Specific Inhibitor of Microsomal Triglyceride Transfer Protein, Ameliorates Impaired Glucose and Lipid Metabolism in Zucker Diabetic Fatty Rats ». *Diabetes, Obesity & Metabolism* 13 (7): 629□38. doi:10.1111/j.1463-1326.2011.01387.x.

Hein, Gustavo J, Chris Baker, Joanne Hsieh, Sarah Farr, et Khosrow Adeli. 2013. « GLP-1 and GLP-2 as Yin and Yang of Intestinal Lipoprotein Production: Evidence for Predominance of GLP-2-Stimulated Postprandial Lipemia in Normal and Insulin-Resistant States ». *Diabetes* 62 (2): 373□81. doi:10.2337/db12-0202.

Heni, Martin, Karsten Müssig, Fausto Machicao, Jürgen Machann, Fritz Schick, Claus D. Claussen, Norbert Stefan, Andreas Fritsche, Hans-Ulrich Häring, et Harald Staiger. 2011. « Variants in the CD36 Gene Locus Determine Whole-Body Adiposity, but Have No Independent Effect on Insulin Sensitivity ». *Obesity (Silver Spring, Md.)* 19 (5): 1004□9. doi:10.1038/oby.2010.251.

Hernández Vallejo, Sandra Jimena, Malik Alqub, Serge Luquet, Céline Cruciani-Guglielmacci, Philippe Delerive, Jean-Marc Lobaccaro, Athina-Despina Kalopissis, Jean Chambaz, Monique Rousset, et Jean-Marc Lacorte. 2009. « Short-Term Adaptation of Postprandial Lipoprotein Secretion and Intestinal Gene Expression to a High-Fat Diet ». *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology* 296 (4): G782□92. doi:10.1152/ajpgi.90324.2008.

Hirsch, D, A Stahl, et H F Lodish. 1998. « A Family of Fatty Acid Transporters Conserved from Mycobacterium to Man ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95 (15): 8625□29.

Holehouse, E L, M L Liu, et G W Aponte. 1998. « Oleic Acid Distribution in Small Intestinal Epithelial Cells Expressing Intestinal-Fatty Acid Binding Protein ». *Biochimica et Biophysica Acta* 1390 (1): 52□64.

Holloway, G P, J J F P Luiken, J F C Glatz, L L Spriet, et A Bonen. 2008. « Contribution of FAT/CD36 to the Regulation of Skeletal Muscle Fatty Acid Oxidation: An Overview ». *Acta Physiologica (Oxford, England)* 194 (4): 293□309. doi:10.1111/j.1748-1716.2008.01878.x.

Holloway, Graham P, Veronic Bezaire, George J F Heigenhauser, Narendra N Tandon, Jan F C Glatz, Joost J F P Luiken, Arend Bonen, et Lawrence L Spriet. 2006. « Mitochondrial Long Chain Fatty Acid Oxidation, Fatty Acid translocase/CD36 Content and Carnitine Palmitoyltransferase I Activity in Human Skeletal Muscle during Aerobic Exercise ». *The Journal of Physiology* 571 (Pt 1): 201□10. doi:10.1113/jphysiol.2005.102178.

Holloway, Graham P, Swati S Jain, Veronic Bezaire, Xiao Xia Han, Jan F C Glatz, Joost J F P Luiken, Mary-Ellen Harper, et Arend Bonen. 2009. « FAT/CD36-Null Mice Reveal That Mitochondrial FAT/CD36 Is Required to Upregulate Mitochondrial Fatty Acid Oxidation in Contracting Muscle ». *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 297 (4): R960□67. doi:10.1152/ajpregu.91021.2008.

Holm, C, T Osterlund, H Laurell, et J A Contreras. 2000. « Molecular Mechanisms Regulating Hormone-Sensitive Lipase and Lipolysis ». *Annual Review of Nutrition* 20: 365□93. doi:10.1146/annurev.nutr.20.1.365.

Holmer-Jensen, Jens, Lene S Mortensen, Arne Astrup, Michael de Vrese, Jens J Holst, Claus Thomsen, et Kjeld Hermansen. 2013. « Acute Differential Effects of Dietary Protein Quality on Postprandial Lipemia in Obese Non-Diabetic Subjects ». *Nutrition Research (New York, N.Y.)* 33 (1): 34□40. doi:10.1016/j.nutres.2012.11.004.

Hsieh, J, C Longuet, C L Baker, B Qin, L M Federico, D J Drucker, et K Adeli. 2010. « The

Glucagon-like Peptide 1 Receptor Is Essential for Postprandial Lipoprotein Synthesis and Secretion in Hamsters and Mice ». *Diabetologia* 53 (3): 552‑61. doi:10.1007/s00125-009-1611-5.

Hsieh, Joanne, Christine Longuet, Adriano Maida, Jasmine Bahrami, Elaine Xu, Christopher L Baker, Patricia L Brubaker, Daniel J Drucker, et Khosrow Adeli. 2009. « Glucagon-like Peptide-2 Increases Intestinal Lipid Absorption and Chylomicron Production via CD36 ». *Gastroenterology* 137 (3): 997‑1005, 1005.e1‑4. doi:10.1053/j.gastro.2009.05.051.

Hulbert, A J, N Turner, L H Storlien, et P L Else. 2005. « Dietary Fats and Membrane Function: Implications for Metabolism and Disease ». *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society* 80 (1): 155‑69.

Hussain, M. Mahmood. 2014. « Intestinal Lipid Absorption and Lipoprotein Formation ». *Current Opinion in Lipidology* 25 (3): 200‑206. doi:10.1097/MOL.0000000000000084.

Hussain, M M, D K Strickland, et A Bakillah. 1999. « The Mammalian Low-Density Lipoprotein Receptor Family ». *Annual Review of Nutrition* 19: 141‑72. doi:10.1146/annurev.nutr.19.1.141.

Ibrahimi Azeddine, et Abumrad Nada A. 2002. « Role of CD36 in membrane transport of long-chain fatty acids ». *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 5: 139‑45.

Iqbal, Jahangir, et M. Mahmood Hussain. 2009. « Intestinal Lipid Absorption ». *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism* 296 (6): E1183‑94. doi:10.1152/ajpendo.90899.2008.

Jager, J, V Corcelle, T Grémeaux, K Laurent, A Waget, G Pagès, B Binétruy, et al. 2011. « Deficiency in the Extracellular Signal-Regulated Kinase 1 (ERK1) Protects Leptin-Deficient Mice from Insulin Resistance without Affecting Obesity ». *Diabetologia* 54 (1): 180‑89. doi:10.1007/s00125-010-1944-0.

Ji, Yong, Yasuhisa Sakata, et Patrick Tso. 2011. « Nutrient-Induced Inflammation in the Intestine ». *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care* 14 (4): 315‑21. doi:10.1097/MCO.0b013e3283476e74.

Joost Hans Georg. 2012. « Appetite Control ». In *Handbook of Experimental Pharmacology*, Springer. Vol. 209.

Kaikkonen, J. E., P. Kresanov, M. Ahotupa, A. Jula, V. Mikkilä, J. S. A. Viikari, M. Kähönen, T. Lehtimäki, et O. T. Raitakari. 2014. « High Serum n6 Fatty Acid Proportion Is Associated with Lowered LDL Oxidation and Inflammation: The Cardiovascular Risk in Young Finns Study ». *Free Radical Research* 48 (4): 420‑26. doi:10.3109/10715762.2014.883071.

Kalish, Brian T, Mark W Kieran, Mark Puder, et Dipak Panigrahy. 2013. « The Growing Role of Eicosanoids in Tissue Regeneration, Repair, and Wound Healing ». *Prostaglandins & Other Lipid Mediators* 104-105 (août): 130‑38. doi:10.1016/j.prostaglandins.2013.05.002.

Kamp, F, J A Hamilton, F Kamp, H V Westerhoff, et J A Hamilton. 1993. « Movement of Fatty Acids, Fatty Acid Analogues, and Bile Acids across Phospholipid Bilayers ». *Biochemistry* 32 (41): 11074‑86.

Karpe, F., T. Olivecrona, A. Hamsten, et M. Hultin. 1997. « Chylomicron/chylomicron Remnant Turnover in Humans: Evidence for Margination of Chylomicrons and Poor Conversion of Larger to Smaller Chylomicron Remnants ». *Journal of Lipid Research* 38 (5): 949‑61.

Kaur, Gunveen, David Cameron-Smith, Manohar Garg, et Andrew J Sinclair. 2011. « Docosapentaenoic Acid (22:5n-3): A Review of Its Biological Effects ». *Progress in Lipid Research*

50 (1): 28□34. doi:10.1016/j.plipres.2010.07.004.

Keller, Kathleen L, Lisa C H Liang, Johannah Sakimura, Daniel May, Christopher van Belle, Cameron Breen, Elissa Driggin, et al. 2012. « Common Variants in the CD36 Gene Are Associated with Oral Fat Perception, Fat Preferences, and Obesity in African Americans ». *Obesity (Silver Spring, Md.)* 20 (5): 1066□73. doi:10.1038/oby.2011.374.

Kendrick, J S, L Chan, et J A Higgins. 2001. « Superior Role of Apolipoprotein B48 over Apolipoprotein B100 in Chylomicron Assembly and Fat Absorption: An Investigation of Apobec-1 Knock-out and Wild-Type Mice ». *The Biochemical Journal* 356 (Pt 3): 821□27.

Kennedy, David J, Sai Kuchibhotla, Kristen M Westfall, Roy L Silverstein, Richard E Morton, et Maria Febbraio. 2011. « A CD36-Dependent Pathway Enhances Macrophage and Adipose Tissue Inflammation and Impairs Insulin Signalling ». *Cardiovascular Research* 89 (3): 604□13. doi:10.1093/cvr/cvq360.

Kersten, Sander. 2014. « Physiological regulation of lipoprotein lipase ». *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids* 1841 (7): 919□33. doi:10.1016/j.bbalip.2014.03.013.

Kim, Hyun-Kyong, Byung-Soo Youn, Mi-Seon Shin, Churl Namkoong, Kyeong Han Park, Ja Hyun Baik, Jae Bum Kim, et al. 2010. « Hypothalamic Angptl4/Fiaf Is a Novel Regulator of Food Intake and Body Weight ». *Diabetes* 59 (11): 2772□80. doi:10.2337/db10-0145.

Klop, Boudewijn, Spencer D Proctor, John C Mamo, Kathleen M Botham, et Manuel Castro Cabezas. 2012. « Understanding Postprandial Inflammation and Its Relationship to Lifestyle Behaviour and Metabolic Diseases ». *International Journal of Vascular Medicine* 2012: 947417. doi:10.1155/2012/947417.

Kohan, Alison B, Fei Wang, Xiaoming Li, Suzanne Bradshaw, Qing Yang, Jody L Caldwell, Tera M Bullock, et Patrick Tso. 2012. « Apolipoprotein A-IV Regulates Chylomicron Metabolism-Mechanism and Function ». *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology* 302 (6): G628□36. doi:10.1152/ajpgi.00225.2011.

Kontrová, K, J Zídková, B Bartos, V Skop, J Sajdok, L Kazdová, K Mikulík, P Mlejnek, V Zídek, et M Pravenec. 2007. « CD36 Regulates Fatty Acid Composition and Sensitivity to Insulin in 3T3-L1 Adipocytes ». *Physiological Research / Academia Scientiarum Bohemoslovaca* 56 (4): 493□96.

Koonen, Debby P Y, Carley R Benton, Yoga Arumugam, Narendra N Tandon, Jorge Calles-Escandon, Jan F C Glatz, Joost J F P Luiken, et Arend Bonen. 2004. « Different Mechanisms Can Alter Fatty Acid Transport When Muscle Contractile Activity Is Chronically Altered ». *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism* 286 (6): E1042□49. doi:10.1152/ajpendo.00531.2003.

Koonen, Debby P Y, Maria Febbraio, Sebastien Bonnet, Jayan Nagendran, Martin E Young, Evangelos D Michelakis, et Jason R B Dyck. 2007. « CD36 Expression Contributes to Age-Induced Cardiomyopathy in Mice ». *Circulation* 116 (19): 2139□47. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.107.712901.

Koonen, Debby P Y, Jan F C Glatz, Arend Bonen, et Joost J F P Luiken. 2005. « Long-Chain Fatty Acid Uptake and FAT/CD36 Translocation in Heart and Skeletal Muscle ». *Biochimica et Biophysica Acta* 1736 (3): 163□80. doi:10.1016/j.bbalip.2005.08.018.

Koonen, Debby P Y, René L Jacobs, Maria Febbraio, Martin E Young, Carrie-Lynn M Soltys, Huy Ong, Dennis E Vance, et Jason R B Dyck. 2007. « Increased Hepatic CD36 Expression Contributes to

Dyslipidemia Associated with Diet-Induced Obesity ». *Diabetes* 56 (12): 2863□71. doi:10.2337/db07-0907.
Koonen, Debby P Y, Miranda M Y Sung, Cindy K C Kao, Vernon W Dolinsky, Timothy R Koves, Olga Ilkayeva, René L Jacobs, et al. 2010. « Alterations in Skeletal Muscle Fatty Acid Handling Predisposes Middle-Aged Mice to Diet-Induced Insulin Resistance ». *Diabetes* 59 (6): 1366□75. doi:10.2337/db09-1142.

Kosteli, Aliki, Eiji Sugaru, Guenter Haemmerle, Jayne F Martin, Jason Lei, Rudolf Zechner, et Anthony W Ferrante Jr. 2010. « Weight Loss and Lipolysis Promote a Dynamic Immune Response in Murine Adipose Tissue ». *The Journal of Clinical Investigation* 120 (10): 3466□79. doi:10.1172/JCI42845.

Koyama, Iwao, Toshiyuki Matsunaga, Tsuyoshi Harada, Shigeru Hokari, et Tsugikazu Komoda. 2002. « Alkaline Phosphatases Reduce Toxicity of Lipopolysaccharides in Vivo and in Vitro through Dephosphorylation ». *Clinical Biochemistry* 35 (6): 455□61.

Kuda, Ondrej, Christopher M. Jenkins, James R. Skinner, Sung Ho Moon, Xiong Su, Richard W. Gross, et Nada A. Abumrad. 2011. « CD36 Protein Is Involved in Store-Operated Calcium Flux, Phospholipase A2 Activation, and Production of Prostaglandin E2 ». *The Journal of Biological Chemistry* 286 (20): 17785□95. doi:10.1074/jbc.M111.232975.

Kuda, Ondrej, Terri A. Pietka, Zuzana Demianova, Eva Kudova, Josef Cvacka, Jan Kopecky, et Nada A. Abumrad. 2013a. « Sulfo-N-Succinimidyl Oleate (SSO) Inhibits Fatty Acid Uptake and Signaling for Intracellular Calcium via Binding CD36 Lysine 164: SSO Also Inhibits Oxidized Low Density Lipoprotein Uptake by Macrophages ». *The Journal of Biological Chemistry* 288 (22): 15547□55. doi:10.1074/jbc.M113.473298.

Kuda, Ondrej, Terri A Pietka, Zuzana Demianova, Eva Kudova, Josef Cvacka, Jan Kopecky, et Nada A Abumrad. 2013b. « Sulfo-N-Succinimidyl Oleate (SSO) Inhibits Fatty Acid Uptake and Signaling for Intracellular Calcium via Binding CD36 Lysine 164: SSO Also Inhibits Oxidized Low Density Lipoprotein Uptake by Macrophages ». *The Journal of Biological Chemistry* 288 (22): 15547□55. doi:10.1074/jbc.M113.473298.

Kvietys, P. R., R. D. Specian, M. B. Grisham, et P. Tso. 1991. « Jejunal Mucosal Injury and Restitution: Role of Hydrolytic Products of Food Digestion ». *The American Journal of Physiology* 261 (3 Pt 1): G384□91.

Lairon, Denis. 2008. « Macronutrient Intake and Modulation on Chylomicron Production and Clearance ». *Atherosclerosis. Supplements* 9 (2): 45□48. doi:10.1016/j.atherosclerosissup.2008.05.006.
Lajoie, Patrick, et Ivan R Nabi. 2010. « Lipid Rafts, Caveolae, and Their Endocytosis ». *International Review of Cell and Molecular Biology* 282: 135□63. doi:10.1016/S1937-6448(10)82003-9.

Lallès, Jean-Paul. 2014. « Intestinal Alkaline Phosphatase: Novel Functions and Protective Effects ». *Nutrition Reviews* 72 (2): 82□94. doi:10.1111/nure.12082.

Lambert, Jennifer E, et Elizabeth J Parks. 2012. « Postprandial Metabolism of Meal Triglyceride in Humans ». *Biochimica et Biophysica Acta* 1821 (5): 721□26. doi:10.1016/j.bbalip.2012.01.006.

Lam, Ian P Y, Leo T O Lee, H S Choi, et Billy K C Chow. 2006. « Localization of Small Heterodimer Partner (SHP) and Secretin in Mouse Duodenal Cells ». *Annals of the New York Academy of Sciences* 1070 (juillet): 371□75. doi:10.1196/annals.1317.047.

Laugerette, Fabienne, Jean-Pierre Furet, Cyrille Debard, Patricia Daira, Emmanuelle Loizon, Alain Géloën, Christophe O Soulage, et al. 2012. « Oil Composition of High-Fat Diet Affects Metabolic

Inflammation Differently in Connection with Endotoxin Receptors in Mice ». *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism* 302 (3): E374□86. doi:10.1152/ajpendo.00314.2011.

Laugerette, Fabienne, Patricia Passilly-Degrace, Bruno Patris, Isabelle Niot, Maria Febbraio, Jean-Pierre Montmayeur, et Philippe Besnard. 2005. « CD36 Involvement in Orosensory Detection of Dietary Lipids, Spontaneous Fat Preference, and Digestive Secretions ». *The Journal of Clinical Investigation* 115 (11): 3177□84. doi:10.1172/JCI25299.

Laugerette, Fabienne, Cécile Vors, Noël Peretti, et Marie-Caroline Michalski. 2011. « Complex links between dietary lipids, endogenous endotoxins and metabolic inflammation ». *Biochimie* 93 (1): 39□45. doi:10.1016/j.biochi.2010.04.016.

Laugerette, F., D. Gaillard, P. Passilly-Degrace, I. Niot, et P. Besnard. 2007. « Do We Taste Fat? ». *Biochimie* 89 (2): 265□69. doi:10.1016/j.biochi.2006.10.011.

Lawrence, Michael C., Kathleen McGlynn, Byung-Hyun Park, et Melanie H. Cobb. 2005. « ERK1/2-Dependent Activation of Transcription Factors Required for Acute and Chronic Effects of Glucose on the Insulin Gene Promoter ». *Journal of Biological Chemistry* 280 (29): 26751□59. doi:10.1074/jbc.M503158200.

Lecerf J. M. 2013. « L'huile de palme□: aspects nutritionnels et métaboliques - rôle sur le risque cardiovasculaire ». *OCL* 20(3) (147-159).

Le Foll, Christelle, Ambrose Dunn-Meynell, Serguei Musatov, Christophe Magnan, et Barry E Levin. 2013. « FAT/CD36: A Major Regulator of Neuronal Fatty Acid Sensing and Energy Homeostasis in Rats and Mice ». *Diabetes* 62 (8): 2709□16. doi:10.2337/db12-1689.

Levy, Emile, Daniel Ménard, Edgard Delvin, Alain Montoudis, Jean-François Beaulieu, Geneviève Mailhot, Nadia Dubé, Daniel Sinnett, Ernest Seidman, et Moise Bendayan. 2009. « Localization, Function and Regulation of the Two Intestinal Fatty Acid-Binding Protein Types ». *Histochemistry and Cell Biology* 132 (3): 351□67. doi:10.1007/s00418-009-0608-y.

Levy, Emile, Schohraya Spahis, Carole Garofalo, Valérie Marcil, Alain Montoudis, Daniel Sinnet, Rocio Sanchez, Noel Peretti, Jean-François Beaulieu, et Alain Sane. 2014. « Sar1b Transgenic Male Mice Are More Susceptible to High-Fat Diet-Induced Obesity, Insulin Insensitivity and Intestinal Chylomicron Overproduction ». *The Journal of Nutritional Biochemistry* 25 (5): 540□48. doi:10.1016/j.jnutbio.2014.01.004.

Lewis, Gary F, Kristine Uffelman, Mark Naples, Linda Szeto, Mehran Haidari, et Khosrow Adeli. 2005. « Intestinal Lipoprotein Overproduction, a Newly Recognized Component of Insulin Resistance, Is Ameliorated by the Insulin Sensitizer Rosiglitazone: Studies in the Fructose-Fed Syrian Golden Hamster ». *Endocrinology* 146 (1): 247□55. doi:10.1210/en.2004-1143.

L'homme, Laurent, Nathalie Esser, Laura Riva, André Scheen, Nicolas Paquot, Jacques Piette, et Sylvie Legrand-Poels. 2013. « Unsaturated Fatty Acids Prevent Activation of NLRP3 Inflammasome in Human Monocytes/macrophages ». *Journal of Lipid Research* 54 (11): 2998□3008. doi:10.1194/jlr.M037861.

Linkous, Amanda, et Eugenia Yazlovitskaya. 2010. « Cytosolic Phospholipase A2 as a Mediator of Disease Pathogenesis ». *Cellular Microbiology* 12 (10): 1369□77. doi:10.1111/j.1462-5822.2010.01505.x.

Lin, M C, C Arbeeny, K Bergquist, B Kienzle, D A Gordon, et J R Wetterau. 1994. « Cloning and Regulation of Hamster Microsomal Triglyceride Transfer Protein. The Regulation Is Independent

from that of Other Hepatic and Intestinal Proteins Which Participate in the Transport of Fatty Acids and Triglycerides ». *The Journal of Biological Chemistry* 269 (46): 29138‑45.

Lissner, Donata, et Britta Siegmund. 2011. « The Multifaceted Role of the Inflammasome in Inflammatory Bowel Diseases ». *TheScientificWorldJournal* 11: 1536‑47. doi:10.1100/tsw.2011.139.

Little, Tanya J, Michael Horowitz, et Christine Feinle-Bisset. 2007. « Modulation by High-Fat Diets of Gastrointestinal Function and Hormones Associated with the Regulation of Energy Intake: Implications for the Pathophysiology of Obesity ». *The American Journal of Clinical Nutrition* 86 (3): 531‑41.

Li, W P, P Liu, B K Pilcher, et R G Anderson. 2001. « Cell-Specific Targeting of Caveolin-1 to Caveolae, Secretory Vesicles, Cytoplasm or Mitochondria ». *Journal of Cell Science* 114 (Pt 7): 1397‑1408.

Lobo, M V, L Huerta, N Ruiz-Velasco, E Teixeiro, P de la Cueva, A Celdrán, A Martín-Hidalgo, M A Vega, et R Bragado. 2001. « Localization of the Lipid Receptors CD36 and CLA-1/SR-BI in the Human Gastrointestinal Tract: Towards the Identification of Receptors Mediating the Intestinal Absorption of Dietary Lipids ». *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry: Official Journal of the Histochemistry Society* 49 (10): 1253‑60.

Lo, Chun-Min, Brian K Nordskog, Andromeda M Nauli, Shuqin Zheng, Sarah B Vonlehmden, Qing Yang, Dana Lee, Larry L Swift, Nicholas O Davidson, et Patrick Tso. 2008. « Why Does the Gut Choose Apolipoprotein B48 but Not B100 for Chylomicron Formation? ». *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology* 294 (1): G344‑52. doi:10.1152/ajpgi.00123.2007.

Lopez-Miranda, José, Christine Williams, et Denis Lairon. 2007. « Dietary, Physiological, Genetic and Pathological Influences on Postprandial Lipid Metabolism ». *The British Journal of Nutrition* 98 (3): 458‑73. doi:10.1017/S000711450774268X.

Lopez, Sergio, Beatriz Bermudez, Almudena Ortega, Lourdes M Varela, Yolanda M Pacheco, Jose Villar, Rocio Abia, et Francisco J G Muriana. 2011. « Effects of Meals Rich in Either Monounsaturated or Saturated Fat on Lipid Concentrations and on Insulin Secretion and Action in Subjects with High Fasting Triglyceride Concentrations ». *The American Journal of Clinical Nutrition* 93 (3): 494‑99. doi:10.3945/ajcn.110.003251.

Lorente-Cebrián, Silvia, André G V Costa, Santiago Navas-Carretero, María Zabala, J Alfredo Martínez, et María J Moreno-Aliaga. 2013. « Role of Omega-3 Fatty Acids in Obesity, Metabolic Syndrome, and Cardiovascular Diseases: A Review of the Evidence ». *Journal of Physiology and Biochemistry* 69 (3): 633‑51. doi:10.1007/s13105-013-0265-4.

Lottenberg, Ana Maria, Milessa da Silva Afonso, Maria Silvia Ferrari Lavrador, Roberta Marcondes Machado, et Edna Regina Nakandakare. 2012. « The Role of Dietary Fatty Acids in the Pathology of Metabolic Syndrome ». *The Journal of Nutritional Biochemistry* 23 (9): 1027‑40. doi:10.1016/j.jnutbio.2012.03.004.

Lu, Biao, Yang Lu, Arthur H Moser, Judy K Shigenaga, Carl Grunfeld, et Kenneth R Feingold. 2008. « LPS and Proinflammatory Cytokines Decrease Lipin-1 in Mouse Adipose Tissue and 3T3-L1 Adipocytes ». *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism* 295 (6): E1502‑9. doi:10.1152/ajpendo.90323.2008.

Luche, Elodie, Béatrice Cousin, Lucile Garidou, Matteo Serino, Aurélie Waget, Corinne Barreau, Mireille André, et al. 2013. « Metabolic Endotoxemia Directly Increases the Proliferation of

Adipocyte Precursors at the Onset of Metabolic Diseases through a CD14-Dependent Mechanism ». *Molecular Metabolism* 2 (3): 281□91. doi:10.1016/j.molmet.2013.06.005.

Lynes, Matthew D, et Eric P Widmaier. 2011. « Involvement of CD36 and Intestinal Alkaline Phosphatases in Fatty Acid Transport in Enterocytes, and the Response to a High-Fat Diet ». *Life Sciences* 88 (9-10): 384□91. doi:10.1016/j.lfs.2010.12.015.

Magnolo, Lucia, Mohamed Najah, Tatiana Fancello, Enza Di Leo, Elisa Pinotti, Ines Brini, Neji M Gueddiche, Sebastiano Calandra, Naceur M Slimene, et Patrizia Tarugi. 2013. « Novel Mutations in SAR1B and MTTP Genes in Tunisian Children with Chylomicron Retention Disease and Abetalipoproteinemia ». *Gene* 512 (1): 28□34. doi:10.1016/j.gene.2012.09.117.

Mandard, S, M Müller, et S Kersten. 2004. « Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Alpha Target Genes ». *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS* 61 (4): 393□416. doi:10.1007/s00018-003-3216-3.

Mansbach, Charles M, 2nd, et Fred Gorelick. 2007. « Development and Physiological Regulation of Intestinal Lipid Absorption. II. Dietary Lipid Absorption, Complex Lipid Synthesis, and the Intracellular Packaging and Secretion of Chylomicrons ». *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology* 293 (4): G645□50. doi:10.1152/ajpgi.00299.2007.

Mansbach, Charles M, et Shadab A Siddiqi. 2010. « The Biogenesis of Chylomicrons ». *Annual Review of Physiology* 72: 315□33. doi:10.1146/annurev-physiol-021909-135801.

Mansour, Asieh, Saeed Hosseini, Bagher Larijani, Mohamad Pajouhi, et Mohammad Reza Mohajeri-Tehrani. 2013. « Nutrients related to GLP1 secretory responses ». *Nutrition* 29 (6): 813□20. doi:10.1016/j.nut.2012.11.015.

Mariadason, John M, Courtney Nicholas, Kaitlin E L'Italien, Min Zhuang, Helena J M Smartt, Barbara G Heerdt, Wancai Yang, et al. 2005. « Gene Expression Profiling of Intestinal Epithelial Cell Maturation along the Crypt-Villus Axis ». *Gastroenterology* 128 (4): 1081□88.

Martin Céline, Chevrot Michael, Poirier Hélène, Passilly Degrace Patricia, Niot Isabelle, et Besnard Philippe. 2011. « CD36 as a lipid sensor ». *Physiology & Behavior* 105: 36□42.

Martins, I J, B C Mortimer, J Miller, et T G Redgrave. 1996. « Effects of Particle Size and Number on the Plasma Clearance of Chylomicrons and Remnants ». *Journal of Lipid Research* 37 (12): 2696□2705.

Massaro, Marika, Egeria Scoditti, Maria Annunziata Carluccio, et Raffaele De Caterina. 2008. « Basic Mechanisms behind the Effects of N-3 Fatty Acids on Cardiovascular Disease ». *Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids* 79 (3-5): 109□15. doi:10.1016/j.plefa.2008.09.009.

Masuda, Daisaku, Ken-ichi Hirano, Hiroyuki Oku, Jose C Sandoval, Ryota Kawase, Miyako Yuasa-Kawase, Yasushi Yamashita, et al. 2009. « Chylomicron Remnants Are Increased in the Postprandial State in CD36 Deficiency ». *Journal of Lipid Research* 50 (5): 999□1011. doi:10.1194/jlr.P700032-JLR200.

Mataki, Chikage, Benjamin C Magnier, Sander M Houten, Jean-Sébastien Annicotte, Carmen Argmann, Charles Thomas, Henk Overmars, et al. 2007. « Compromised Intestinal Lipid Absorption in Mice with a Liver-Specific Deficiency of Liver Receptor Homolog 1 ». *Molecular and Cellular Biology* 27 (23): 8330□39. doi:10.1128/MCB.00852-07.

Mattes, Richard D. 2002. « Oral Fat Exposure Increases the First Phase Triacylglycerol Concentration due to Release of Stored Lipid in Humans ». *The Journal of Nutrition* 132 (12): 3656□62.

Mattijssen, Frits, Sheril Alex, Hans J Swarts, Albert K Groen, Evert M van Schothorst, et Sander Kersten. 2014. « Angptl4 Serves as an Endogenous Inhibitor of Intestinal Lipid Digestion ». *Molecular Metabolism* 3 (2): 135□44. doi:10.1016/j.molmet.2013.11.004.

Mazzucchelli, Cristina, Chiara Vantaggiato, Alessandro Ciamei, Stefania Fasano, Pavel Pakhotin, Wojciech Krezel, Hans Welzl, et al. 2002. « Knockout of ERK1 MAP Kinase Enhances Synaptic Plasticity in the Striatum and Facilitates Striatal-Mediated Learning and Memory ». *Neuron* 34 (5): 807□20.

McKimmie, Ryan L, Linda Easter, et Richard B Weinberg. 2013. « Acyl Chain Length, Saturation, and Hydrophobicity Modulate the Efficiency of Dietary Fatty Acid Absorption in Adult Humans ». *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology* 305 (9): G620□27. doi:10.1152/ajpgi.00258.2013.

Meier, J J, A Gethmann, O Götze, B Gallwitz, J J Holst, W E Schmidt, et M A Nauck. 2006. « Glucagon-like Peptide 1 Abolishes the Postprandial Rise in Triglyceride Concentrations and Lowers Levels of Non-Esterified Fatty Acids in Humans ». *Diabetologia* 49 (3): 452□58. doi:10.1007/s00125-005-0126-y.

Mekki, N., M. A. Christofilis, M. Charbonnier, C. Atlan-Gepner, C. Defoort, C. Juhel, P. Borel, et al. 1999. « Influence of Obesity and Body Fat Distribution on Postprandial Lipemia and Triglyceride-Rich Lipoproteins in Adult Women ». *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 84 (1): 184□91. doi:10.1210/jcem.84.1.5397.

Meller, Nahum, Michelle E Morgan, Winifred Ps Wong, Jessica B Altemus, et Ephraim Sehayek. 2013. « Targeting of Acyl-CoA Synthetase 5 Decreases Jejunal Fatty Acid Activation with No Effect on Dietary Long-Chain Fatty Acid Absorption ». *Lipids in Health and Disease* 12: 88. doi:10.1186/1476-511X-12-88.

Mellitzer, Georg, et Gerard Gradwohl. 2011. « Enteroendocrine Cells and Lipid Absorption ». *Current Opinion in Lipidology* 22 (3): 171□75. doi:10.1097/MOL.0b013e32834622a2.

Mera, Yasuko, Takahiro Hata, Yukihito Ishii, Daisuke Tomimoto, Takashi Kawai, Takeshi Ohta, et Makoto Kakutani. 2014. « JTT-130, a Novel Intestine-Specific Inhibitor of Microsomal Triglyceride Transfer Protein, Reduces Food Preference for Fat ». *Journal of Diabetes Research* 2014: 583752. doi:10.1155/2014/583752.

Merkel, Martin, Robert H Eckel, et Ira J Goldberg. 2002. « Lipoprotein Lipase: Genetics, Lipid Uptake, and Regulation ». *Journal of Lipid Research* 43 (12): 1997□2006.

Michalski, M C, C Genot, C Gayet, C Lopez, F Fine, F Joffre, J L Vendeuvre, et al. 2013. « Multiscale Structures of Lipids in Foods as Parameters Affecting Fatty Acid Bioavailability and Lipid Metabolism ». *Progress in Lipid Research* 52 (4): 354□73. doi:10.1016/j.plipres.2013.04.004.

Michas, George, Renata Micha, et Antonis Zampelas. 2014. « Dietary Fats and Cardiovascular Disease: Putting Together the Pieces of a Complicated Puzzle ». *Atherosclerosis* 234 (2): 320□28. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2014.03.013.

Milger, Katrin, Thomas Herrmann, Christiane Becker, Daniel Gotthardt, Jelena Zickwolf, Robert Ehehalt, Paul A Watkins, Wolfgang Stremmel, et Joachim Füllekrug. 2006. « Cellular Uptake of Fatty Acids Driven by the ER-Localized Acyl-CoA Synthetase FATP4 ». *Journal of Cell Science* 119 (Pt 22): 4678□88. doi:10.1242/jcs.03280.

Miranda, Manuel, et Alexander Sorkin. 2007. « Regulation of Receptors and Transporters by Ubiquitination: New Insights into Surprisingly Similar Mechanisms ». *Molecular Interventions* 7 (3): 157□67. doi:10.1124/mi.7.3.7.

Miyauchi, Satoshi, Akira Hirasawa, Atsuhiko Ichimura, Takafumi Hara, et Gozoh Tsujimoto. 2010. « New Frontiers in Gut Nutrient Sensor Research: Free Fatty Acid Sensing in the Gastrointestinal Tract ». *Journal of Pharmacological Sciences* 112 (1): 19□24.

Moran, Nuala. 2012. « First Gene Therapy Nears Landmark European Market Authorization ». *Nature Biotechnology* 30 (9): 807□9. doi:10.1038/nbt0912-807.

Moreira, Ana Paula Boroni, Tatiana Fiche Salles Texeira, Alessandra Barbosa Ferreira, Maria do Carmo Gouveia Peluzio, et Rita de Cássia Gonçalves Alfenas. 2012. « Influence of a High-Fat Diet on Gut Microbiota, Intestinal Permeability and Metabolic Endotoxaemia ». *The British Journal of Nutrition* 108 (5): 801□9. doi:10.1017/S0007114512001213.

Morgantini, Cecilia, Changting Xiao, Satya Dash, et Gary F Lewis. 2014. « Dietary Carbohydrates and Intestinal Lipoprotein Production ». *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, avril. doi:10.1097/MCO.0000000000000059.

Moullé, Valentine S, Christelle Le Foll, Erwann Philippe, Nadim Kassis, Claude Rouch, Nicolas Marsollier, Linh-Chi Bui, et al. 2013. « Fatty Acid Transporter CD36 Mediates Hypothalamic Effect of Fatty Acids on Food Intake in Rats ». *PloS One* 8 (9): e74021. doi:10.1371/journal.pone.0074021.

Moullé, V-S, A Picard, C Le Foll, B-E Levin, et C Magnan. 2014. « Lipid Sensing in the Brain and Regulation of Energy Balance ». *Diabetes & Metabolism* 40 (1): 29□33. doi:10.1016/j.diabet.2013.10.001.

Mudráková, E, R Poledne, et J Kovář. 2013. « Postprandial Triglyceridemia after Single Dose of Alcohol in Healthy Young Men ». *Nutrition, Metabolism, and Cardiovascular Diseases: NMCD* 23 (3): 183□88. doi:10.1016/j.numecd.2011.05.003.

Muhlhausler, Beverly S., et Gérard P. Ailhaud. 2013. « Omega-6 Polyunsaturated Fatty Acids and the Early Origins of Obesity ». *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes, and Obesity* 20 (1): 56□61. doi:10.1097/MED.0b013e32835c1ba7.

Mu, Huiling, et Carl-Erik Høy. 2004. « The Digestion of Dietary Triacylglycerols ». *Progress in Lipid Research* 43 (2): 105□33.

Müller, C. A., I. B. Autenrieth, et A. Peschel. 2005. « Innate Defenses of the Intestinal Epithelial Barrier ». *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS* 62 (12): 1297□1307. doi:10.1007/s00018-005-5034-2.

Muthusamy, Kalpana, Robert H. Nelson, Ekta Singh, Danielle Vlazny, Almira Smailovic, et John M. Miles. 2012. « Effect of Insulin Infusion on Spillover of Meal-Derived Fatty Acids ». *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 97 (11): 4201□5. doi:10.1210/jc.2012-1468.

Nakamura, Manabu T, Barbara E Yudell, et Juan J Loor. 2014. « Regulation of Energy Metabolism by Long-Chain Fatty Acids ». *Progress in Lipid Research* 53 (janvier): 124□44. doi:10.1016/j.plipres.2013.12.001.

Nassir, Fatiha, Okunade L Adewole, Elizabeth M Brunt, et Nada A Abumrad. 2013. « CD36 Deletion Reduces VLDL Secretion, Modulates Liver Prostaglandin Levels and Exacerbates Hepatic Steatosis in Ob/ob Mice ». *Journal of Lipid Research*, août. doi:10.1194/jlr.M037812.

Nassir, Fatiha, Brody Wilson, Xianlin Han, Richard W Gross, et Nada A Abumrad. 2007. « CD36 Is Important for Fatty Acid and Cholesterol Uptake by the Proximal but Not Distal Intestine ». *The Journal of Biological Chemistry* 282 (27): 19493□501. doi:10.1074/jbc.M703330200.

Nauli, Andromeda M, Fatiha Nassir, Shuqin Zheng, Qing Yang, Chun-Min Lo, Sarah B Vonlehmden, Dana Lee, Ronald J Jandacek, Nada A Abumrad, et Patrick Tso. 2006. « CD36 Is Important for Chylomicron Formation and Secretion and May Mediate Cholesterol Uptake in the Proximal Intestine ». *Gastroenterology* 131 (4): 1197□1207. doi:10.1053/j.gastro.2006.08.012.

Navazo, M D, L Daviet, J Savill, Y Ren, L L Leung, et J L McGregor. 1996. « Identification of a Domain (155-183) on CD36 Implicated in the Phagocytosis of Apoptotic Neutrophils ». *The Journal of Biological Chemistry* 271 (26): 15381□85.

Naville, Danielle, Adeline Duchampt, Michèle Vigier, Delphine Oursel, René Lessire, Hélène Poirier, Isabelle Niot, Martine Bégeot, Philippe Besnard, et Gilles Mithieux. 2012. « Link between Intestinal CD36 Ligand Binding and Satiety Induced by a High Protein Diet in Mice ». *PLoS ONE* 7 (1): e30686. doi:10.1371/journal.pone.0030686.

Neeli, Indira, Shadab A Siddiqi, Shahzad Siddiqi, James Mahan, William S Lagakos, Bert Binas, Tarun Gheyi, Judith Storch, et Charles M Mansbach 2nd. 2007. « Liver Fatty Acid-Binding Protein Initiates Budding of Pre-Chylomicron Transport Vesicles from Intestinal Endoplasmic Reticulum ». *The Journal of Biological Chemistry* 282 (25): 17974□84. doi:10.1074/jbc.M610765200.

Nelson, Robert H., Manpreet S. Mundi, Danielle T. Vlazny, Almira Smailovic, Kalpana Muthusamy, Jaime P. Almandoz, Ekta Singh, Michael D. Jensen, et John M. Miles. 2013. « Kinetics of Saturated, Monounsaturated, and Polyunsaturated Fatty Acids in Humans ». *Diabetes* 62 (3): 783□88. doi:10.2337/db12-0367.

Newberry, Elizabeth P, Yan Xie, Susan Kennedy, Xianlin Han, Kimberly K Buhman, Jianyang Luo, Richard W Gross, et Nicholas O Davidson. 2003. « Decreased Hepatic Triglyceride Accumulation and Altered Fatty Acid Uptake in Mice with Deletion of the Liver Fatty Acid-Binding Protein Gene ». *The Journal of Biological Chemistry* 278 (51): 51664□72. doi:10.1074/jbc.M309377200.

Newberry, Elizabeth P, Yan Xie, Susan M Kennedy, Jianyang Luo, et Nicholas O Davidson. 2006. « Protection against Western Diet-Induced Obesity and Hepatic Steatosis in Liver Fatty Acid-Binding Protein Knockout Mice ». *Hepatology (Baltimore, Md.)* 44 (5): 1191□1205. doi:10.1002/hep.21369.

Ng, Marie, Tom Fleming, Margaret Robinson, Blake Thomson, Nicholas Graetz, Christopher Margono, Erin C Mullany, et al. 2014. « Global, Regional, and National Prevalence of Overweight and Obesity in Children and Adults during 1980–2013: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study 2013 ». *The Lancet*, mai. doi:10.1016/S0140-6736(14)60460-8.

Niot, Isabelle, Hélène Poirier, Thi Thu Trang Tran, et Philippe Besnard. 2009. « Intestinal Absorption of Long-Chain Fatty Acids: Evidence and Uncertainties ». *Progress in Lipid Research* 48 (2): 101□15.

Nishimukai, Megumi, et Hiroshi Hara. 2007. « Soybean Phosphatidylcholine-Induced Enhancement of Lymphatic Absorption of Triglyceride Depends on Chylomicron Formation in Rats ». *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 71 (5): 1192□97.

Noel, Sabrina E, Chao-Qiang Lai, Josiemer Mattei, Laurence D Parnell, Jose M Ordovas, et Katherine L Tucker. 2010. « Variants of the CD36 Gene and Metabolic Syndrome in Boston Puerto Rican Adults ». *Atherosclerosis* 211 (1): 210□15. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2010.02.009.

Nordestgaard BG, Benn M, Schnohr P, et Tybjærg-Hansen A. 2007. « NOnfasting triglycerides and risk of myocardial infarction, ischemic heart disease, and death in men and women ». *JAMA* 298 (3):

299□308. doi:10.1001/jama.298.3.299.

Oba, M., R. L. Baldwin, et B. J. Bequette. 2004. « Oxidation of Glucose, Glutamate, and Glutamine by Isolated Ovine Enterocytes in Vitro Is Decreased by the Presence of Other Metabolic Fuels ». *Journal of Animal Science* 82 (2): 479□86.

Oh, Da Young, Saswata Talukdar, Eun Ju Bae, Takeshi Imamura, Hidetaka Morinaga, WuQiang Fan, Pingping Li, Wendell J. Lu, Steven M. Watkins, et Jerrold M. Olefsky. 2010. « GPR120 Is an Omega-3 Fatty Acid Receptor Mediating Potent Anti-Inflammatory and Insulin-Sensitizing Effects ». *Cell* 142 (5): 687□98. doi:10.1016/j.cell.2010.07.041.

Ohgami, N, R Nagai, M Ikemoto, H Arai, A Kuniyasu, S Horiuchi, et H Nakayama. 2001. « CD36, a Member of Class B Scavenger Receptor Family, Is a Receptor for Advanced Glycation End Products ». *Annals of the New York Academy of Sciences* 947 (décembre): 350□55.

Okawa, Mayumi, Kenji Fujii, Katsuya Ohbuchi, Mayumi Okumoto, Katsumi Aragane, Hiromu Sato, Yoshitaka Tamai, Toru Seo, Yoshiki Itoh, et Ryo Yoshimoto. 2009. « Role of MGAT2 and DGAT1 in the Release of Gut Peptides after Triglyceride Ingestion ». *Biochemical and Biophysical Research Communications* 390 (3): 377□81. doi:10.1016/j.bbrc.2009.08.167.

Olivecrona, G, et U Beisiegel. 1997. « Lipid Binding of Apolipoprotein CII Is Required for Stimulation of Lipoprotein Lipase Activity against Apolipoprotein CII-Deficient Chylomicrons ». *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 17 (8): 1545□49.

Ooi, Esther M. M., Theodore W. K. Ng, Gerald F. Watts, et P. Hugh R. Barrett. 2013. « Dietary Fatty Acids and Lipoprotein Metabolism: New Insights and Updates ». *Current Opinion in Lipidology* 24 (3): 192□97. doi:10.1097/MOL.0b013e3283613ba2.

Ottosson, M., K. Vikman-Adolfsson, S. Enerbäck, G. Olivecrona, et P. Björntorp. 1994. « The Effects of Cortisol on the Regulation of Lipoprotein Lipase Activity in Human Adipose Tissue ». *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 79 (3): 820□25. doi:10.1210/jcem.79.3.8077367.

Pagès, G, S Guérin, D Grall, F Bonino, A Smith, F Anjuere, P Auberger, et J Pouysségur. 1999. « Defective Thymocyte Maturation in p44 MAP Kinase (Erk 1) Knockout Mice ». *Science (New York, N.Y.)* 286 (5443): 1374□77.

Pang, Jing, Dick C Chan, P Hugh R Barrett, et Gerald F Watts. 2012. « Postprandial Dyslipidaemia and Diabetes: Mechanistic and Therapeutic Aspects ». *Current Opinion in Lipidology* 23 (4): 303□9. doi:10.1097/MOL.0b013e328354c790.

Park, Beom Seok, et Jie-Oh Lee. 2013. « Recognition of Lipopolysaccharide Pattern by TLR4 Complexes ». *Experimental & Molecular Medicine* 45: e66. doi:10.1038/emm.2013.97.

Park, Yongsoon, et William S. Harris. 2003. « Omega-3 Fatty Acid Supplementation Accelerates Chylomicron Triglyceride Clearance ». *Journal of Lipid Research* 44 (3): 455□63. doi:10.1194/jlr.M200282-JLR200.

Passilly-Degrace, Patricia, Michael Chevrot, Arnaud Bernard, Déborah Ancel, Céline Martin, et Philippe Besnard. 2013. « Is the Taste of Fat Regulated? ». *Biochimie*, août. doi:10.1016/j.biochi.2013.07.029.

Pavlic, Mirjana, Changting Xiao, Linda Szeto, Bruce W Patterson, et Gary F Lewis. 2010. « Insulin Acutely Inhibits Intestinal Lipoprotein Secretion in Humans in Part by Suppressing Plasma Free Fatty

Acids ». *Diabetes* 59 (3): 580□87. doi:10.2337/db09-1297.

Pedersen, S. B., J. F. Bak, P. Holck, O. Schmitz, et B. Richelsen. 1999. « Epinephrine Stimulates Human Muscle Lipoprotein Lipase Activity in Vivo ». *Metabolism: Clinical and Experimental* 48 (4): 461□64.

Pepino, Marta Yanina, Ondrej Kuda, Dmitri Samovski, et Nada A. Abumrad. 2014. « Structure-Function of CD36 and Importance of Fatty Acid Signal Transduction in Fat Metabolism ». *Annual Review of Nutrition* 34 (juillet): 281□303. doi:10.1146/annurev-nutr-071812-161220.

Pepino, Marta Yanina, Latisha Love-Gregory, Samuel Klein, et Nada A Abumrad. 2012. « The Fatty Acid Translocase Gene CD36 and Lingual Lipase Influence Oral Sensitivity to Fat in Obese Subjects ». *Journal of Lipid Research* 53 (3): 561□66. doi:10.1194/jlr.M021873.

Perry, B, et Y Wang. 2012. « Appetite Regulation and Weight Control: The Role of Gut Hormones ». *Nutrition & Diabetes* 2: e26. doi:10.1038/nutd.2011.21.

Peterson, Lance W., et David Artis. 2014. « Intestinal Epithelial Cells: Regulators of Barrier Function and Immune Homeostasis ». *Nature Reviews. Immunology* 14 (3): 141□53. doi:10.1038/nri3608.

Petit, Valerie, Laurent Arnould, Pascal Martin, Marie-Claude Monnot, Thierry Pineau, Philippe Besnard, et Isabelle Niot. 2007. « Chronic High-Fat Diet Affects Intestinal Fat Absorption and Postprandial Triglyceride Levels in the Mouse ». *Journal of Lipid Research* 48 (2): 278□87. doi:10.1194/jlr.M600283-JLR200.

Picard, Frédéric, Denis Arsenijevic, Denis Richard, et Yves Deshaies. 2002. « Responses of Adipose and Muscle Lipoprotein Lipase to Chronic Infection and Subsequent Acute Lipopolysaccharide Challenge ». *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 9 (4): 771□76.

Pietka, Terri A., Matthew S. Sulkin, Ondrej Kuda, Wei Wang, Dequan Zhou, Kathryn A. Yamada, Kui Yang, et al. 2012. « CD36 Protein Influences Myocardial Ca2+ Homeostasis and Phospholipid Metabolism CONDUCTION ANOMALIES IN CD36-DEFICIENT MICE DURING FASTING ». *Journal of Biological Chemistry* 287 (46): 38901□12. doi:10.1074/jbc.M112.413609.

Pike, Linda J. 2005. « Growth Factor Receptors, Lipid Rafts and Caveolae: An Evolving Story ». *Biochimica et Biophysica Acta* 1746 (3): 260□73. doi:10.1016/j.bbamcr.2005.05.005.

Pilch, Paul F, Ricardo P Souto, Libin Liu, Mark P Jedrychowski, Eric A Berg, Catherine E Costello, et Steven P Gygi. 2007. « Cellular Spelunking: Exploring Adipocyte Caveolae ». *Journal of Lipid Research* 48 (10): 2103□11. doi:10.1194/jlr.R700009-JLR200.

Pirillo, Angela, Giuseppe Danilo Norata, et Alberico Luigi Catapano. 2014. « POSTPRANDIAL LIPEMIA AS A CARDIOMETABOLIC RISK FACTOR ». *Current Medical Research and Opinion*, mars. doi:10.1185/03007995.2014.909394.

Pohl, Jürgen, Axel Ring, Umine Korkmaz, Robert Ehehalt, et Wolfgang Stremmel. 2005. « FAT/CD36-Mediated Long-Chain Fatty Acid Uptake in Adipocytes Requires Plasma Membrane Rafts ». *Molecular Biology of the Cell* 16 (1): 24□31. doi:10.1091/mbc.E04-07-0616.

Poirier, H, P Degrace, I Niot, A Bernard, et P Besnard. 1996. « Localization and Regulation of the Putative Membrane Fatty-Acid Transporter (FAT) in the Small Intestine. Comparison with Fatty Acid-Binding Proteins (FABP) ». *European Journal of Biochemistry / FEBS* 238 (2): 368□73.

Poirier, Hélène, Jennifer S. Shapiro, Roy J. Kim, et Mitchell A. Lazar. 2006. « Nutritional Supplementation with Trans-10, Cis-12-Conjugated Linoleic Acid Induces Inflammation of White

Adipose Tissue ». *Diabetes* 55 (6): 1634□41. doi:10.2337/db06-0036.

Potten, C S, C Booth, et D M Pritchard. 1997. « The Intestinal Epithelial Stem Cell: The Mucosal Governor ». *International Journal of Experimental Pathology* 78 (4): 219□43.

Poulsen, Lars la Cour, Majken Siersbæk, et Susanne Mandrup. 2012. « PPARs: Fatty Acid Sensors Controlling Metabolism ». *Seminars in Cell & Developmental Biology* 23 (6): 631□39. doi:10.1016/j.semcdb.2012.01.003.

Prows, D R, et F Schroeder. 1997. « Metallothionein-IIA Promoter Induction Alters Rat Intestinal Fatty Acid Binding Protein Expression, Fatty Acid Uptake, and Lipid Metabolism in Transfected L-Cells ». *Archives of Biochemistry and Biophysics* 340 (1): 135□43. doi:10.1006/abbi.1997.9880.

Puente Navazo, M D, L Daviet, E Ninio, et J L McGregor. 1996. « Identification on Human CD36 of a Domain (155-183) Implicated in Binding Oxidized Low-Density Lipoproteins (Ox-LDL) ». *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 16 (8): 1033□39.

Raphael, William, et Lorraine M. Sordillo. 2013. « Dietary Polyunsaturated Fatty Acids and Inflammation: The Role of Phospholipid Biosynthesis ». *International Journal of Molecular Sciences* 14 (10): 21167□88. doi:10.3390/ijms141021167.

RAYNAL LJUTOVAC Ketsia, BOUVIER Jérôme, GAYET Constance, SIMON Noëmie, JOFFRE Florent, FINE Frédéric, VENDEUVRE Jean Luc, et al. 2011. « Organisation structurale et moléculaire des lipides dans les aliments□: impacts possibles sur leur digestion et leur assimilation par l'Homme. » *OCL* 18(6): 324□51.

Razani, Babak, Terry P Combs, Xiao Bo Wang, Philippe G Frank, David S Park, Robert G Russell, Maomi Li, et al. 2002. « Caveolin-1-Deficient Mice Are Lean, Resistant to Diet-Induced Obesity, and Show Hypertriglyceridemia with Adipocyte Abnormalities ». *The Journal of Biological Chemistry* 277 (10): 8635□47. doi:10.1074/jbc.M110970200.

Ring, Axel, Soazig Le Lay, Juergen Pohl, Paul Verkade, et Wolfgang Stremmel. 2006. « Caveolin-1 Is Required for Fatty Acid Translocase (FAT/CD36) Localization and Function at the Plasma Membrane of Mouse Embryonic Fibroblasts ». *Biochimica et Biophysica Acta* 1761 (4): 416□23. doi:10.1016/j.bbalip.2006.03.016.

Rizos, Evangelos C., Evangelia E. Ntzani, Eftychia Bika, Michael S. Kostapanos, et Moses S. Elisaf. 2012. « Association between Omega-3 Fatty Acid Supplementation and Risk of Major Cardiovascular Disease Events: A Systematic Review and Meta-Analysis ». *JAMA: The Journal of the American Medical Association* 308 (10): 1024□33. doi:10.1001/2012.jama.11374.

Robinson, Lindsay E., et Vera C. Mazurak. 2013. « N-3 Polyunsaturated Fatty Acids: Relationship to Inflammation in Healthy Adults and Adults Exhibiting Features of Metabolic Syndrome ». *Lipids* 48 (4): 319□32. doi:10.1007/s11745-013-3774-6.

Roche, H. M., A. M. Terres, I. B. Black, M. J. Gibney, et D. Kelleher. 2001. « Fatty Acids and Epithelial Permeability: Effect of Conjugated Linoleic Acid in Caco-2 Cells ». *Gut* 48 (6): 797□802.

Rolls, B J, et V A Hammer. 1995. « Fat, Carbohydrate, and the Regulation of Energy Intake ». *The American Journal of Clinical Nutrition* 62 (5 Suppl): 1086S □ 1095S.

Ruge, Toralph, Leanne Hodson, Jane Cheeseman, A. Louise Dennis, Barbara A. Fielding, Sandy M. Humphreys, Keith N. Frayn, et Fredrik Karpe. 2009. « Fasted to Fed Trafficking of Fatty Acids in Human Adipose Tissue Reveals a Novel Regulatory Step for Enhanced Fat Storage ». *Journal of*

Clinical Endocrinology & Metabolism 94 (5): 1781‑88. doi:10.1210/jc.2008-2090.

Saba-El-Leil, Marc K, Francis D J Vella, Bertrand Vernay, Laure Voisin, Lan Chen, Nathalie Labrecque, Siew-Lan Ang, et Sylvain Meloche. 2003. « An Essential Function of the Mitogen-Activated Protein Kinase Erk2 in Mouse Trophoblast Development ». *EMBO Reports* 4 (10): 964‑68. doi:10.1038/sj.embor.embor939.

Santamarina-Fojo, S., et H. B. Brewer. 1991. « The Familial Hyperchylomicronemia Syndrome. New Insights into Underlying Genetic Defects ». *JAMA: The Journal of the American Medical Association* 265 (7): 904‑8.

Santos-Galindo, María, Estefanía Acaz-Fonseca, María J Bellini, et Luis M Garcia-Segura. 2011. « Sex Differences in the Inflammatory Response of Primary Astrocytes to Lipopolysaccharide ». *Biology of Sex Differences* 2: 7. doi:10.1186/2042-6410-2-7.

Santos, Susana, Andreia Oliveira, et Carla Lopes. 2013. « Systematic Review of Saturated Fatty Acids on Inflammation and Circulating Levels of Adipokines ». *Nutrition Research (New York, N.Y.)* 33 (9): 687‑95. doi:10.1016/j.nutres.2013.07.002.

Schneider, Hannah, Sarah Staudacher, Margarete Poppelreuther, Wolfgang Stremmel, Robert Ehehalt, et Joachim Füllekrug. 2014. « Protein Mediated Fatty Acid Uptake: Synergy between CD36/FAT-Facilitated Transport and Acyl-CoA Synthetase-Driven Metabolism ». *Archives of Biochemistry and Biophysics* 546 (mars): 8‑18. doi:10.1016/j.abb.2014.01.025.

Schoeller, C, M Keelan, G Mulvey, W Stremmel, et A B Thomson. 1995. « Oleic Acid Uptake into Rat and Rabbit Jejunal Brush Border Membrane ». *Biochimica et Biophysica Acta* 1236 (1): 51‑64.

Schwab, Ursula, Lotte Lauritzen, Tine Tholstrup, Thorhallur Haldorssoni, Ulf Riserus, Matti Uusitupa, et Wulf Becker. 2014. « Effect of the Amount and Type of Dietary Fat on Cardiometabolic Risk Factors and Risk of Developing Type 2 Diabetes, Cardiovascular Diseases, and Cancer: A Systematic Review ». *Food & Nutrition Research* 58. doi:10.3402/fnr.v58.25145.

Schwartz, Gary J, Jin Fu, Giuseppe Astarita, Xiaosong Li, Silvana Gaetani, Patrizia Campolongo, Vincenzo Cuomo, et Daniele Piomelli. 2008. « The Lipid Messenger OEA Links Dietary Fat Intake to Satiety ». *Cell Metabolism* 8 (4): 281‑88. doi:10.1016/j.cmet.2008.08.005.

Schwingshackl, Lukas, et Georg Hoffmann. 2012. « Monounsaturated Fatty Acids and Risk of Cardiovascular Disease: Synopsis of the Evidence Available from Systematic Reviews and Meta-Analyses ». *Nutrients* 4 (12): 1989‑2007. doi:10.3390/nu4121989.

Sekar, Revathi, et Billy K C Chow. 2014. « Secretin Receptor-Knockout Mice Are Resistant to High-Fat Diet-Induced Obesity and Exhibit Impaired Intestinal Lipid Absorption ». *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, avril. doi:10.1096/fj.13-247536.

Sergeyev, V, C Broberger, et T Hökfelt. 2001. « Effect of LPS Administration on the Expression of POMC, NPY, Galanin, CART and MCH mRNAs in the Rat Hypothalamus ». *Brain Research. Molecular Brain Research* 90 (2): 93‑100.

Sheedy, Frederick J, Alena Grebe, Katey J Rayner, Parisa Kalantari, Bhama Ramkhelawon, Susan B Carpenter, Christine E Becker, et al. 2013. « CD36 Coordinates NLRP3 Inflammasome Activation by Facilitating Intracellular Nucleation of Soluble Ligands into Particulate Ligands in Sterile

Inflammation ». *Nature Immunology* 14 (8): 812□20. doi:10.1038/ni.2639.

Shiau, Y F, P Fernandez, M J Jackson, et S McMonagle. 1985. « Mechanisms Maintaining a Low-pH Microclimate in the Intestine ». *The American Journal of Physiology* 248 (6 Pt 1): G608□17.

Shim, Jien, Casey L Moulson, Elizabeth P Newberry, Meei-Hua Lin, Yan Xie, Susan M Kennedy, Jeffrey H Miner, et Nicholas O Davidson. 2009. « Fatty Acid Transport Protein 4 Is Dispensable for Intestinal Lipid Absorption in Mice ». *Journal of Lipid Research* 50 (3): 491□500. doi:10.1194/jlr.M800400-JLR200.

Shoulders, Carol C, David J Stephens, et Bethan Jones. 2004. « The Intracellular Transport of Chylomicrons Requires the Small GTPase, Sar1b ». *Current Opinion in Lipidology* 15 (2): 191□97.

Siddiqi, Shadab A, et Charles M Mansbach 2nd. 2008. « PKC Zeta-Mediated Phosphorylation Controls Budding of the Pre-Chylomicron Transport Vesicle ». *Journal of Cell Science* 121 (Pt 14): 2327□38. doi:10.1242/jcs.022780.

Siddiqi, Shadab A, Shahzad Siddiqi, James Mahan, Kiffany Peggs, Fred S Gorelick, et Charles M Mansbach 2nd. 2006. « The Identification of a Novel Endoplasmic Reticulum to Golgi SNARE Complex Used by the Prechylomicron Transport Vesicle ». *The Journal of Biological Chemistry* 281 (30): 20974□82. doi:10.1074/jbc.M601401200.

Siddiqi, Shahzad, Umair Saleem, Nada A Abumrad, Nicholas O Davidson, Judith Storch, Shadab A Siddiqi, et Charles M Mansbach 2nd. 2010. « A Novel Multiprotein Complex Is Required to Generate the Prechylomicron Transport Vesicle from Intestinal ER ». *Journal of Lipid Research* 51 (7): 1918□28. doi:10.1194/jlr.M005611.

Siddiqi, Shahzad, Atur Sheth, Feenalie Patel, Matthew Barnes, et Charles M Mansbach 2nd. 2013. « Intestinal Caveolin-1 Is Important for Dietary Fatty Acid Absorption ». *Biochimica et Biophysica Acta* 1831 (8): 1311□21. doi:10.1016/j.bbalip.2013.05.001.

Silver, Heidi J., Hakmook Kang, Charles D. Keil, James A. Muldowney, Heidi Kocalis, Sergio Fazio, Douglas E. Vaughan, et Kevin D. Niswender. 2014. « Consuming a Balanced High Fat Diet for 16 Weeks Improves Body Composition, Inflammation and Vascular Function Parameters in Obese Premenopausal Women ». *Metabolism: Clinical and Experimental* 63 (4): 562□73. doi:10.1016/j.metabol.2014.01.004.

Silverstein, Roy L, et Maria Febbraio. 2009. « CD36, a Scavenger Receptor Involved in Immunity, Metabolism, Angiogenesis, and Behavior ». *Science Signaling* 2 (72): re3. doi:10.1126/scisignal.272re3.

Simons, Peter J., J. Alain Kummer, Joost J. F. P. Luiken, et Louis Boon. 2011. « Apical CD36 Immunolocalization in Human and Porcine Taste Buds from Circumvallate and Foliate Papillae ». *Acta Histochemica* 113 (8): 839□43. doi:10.1016/j.acthis.2010.08.006.

Simon, Trang, Victoria R Cook, Anuradha Rao, et Richard B Weinberg. 2011. « Impact of Murine Intestinal Apolipoprotein A-IV Expression on Regional Lipid Absorption, Gene Expression, and Growth ». *Journal of Lipid Research* 52 (11): 1984□94. doi:10.1194/jlr.M017418.

Simopoulos, Artemis P. 2008. « The Omega-6/omega-3 Fatty Acid Ratio, Genetic Variation, and Cardiovascular Disease ». *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition* 17 Suppl 1: 131□34.

Siri-Tarino, Patty W, Qi Sun, Frank B Hu, et Ronald M Krauss. 2010. « Meta-Analysis of Prospective Cohort Studies Evaluating the Association of Saturated Fat with Cardiovascular Disease ». *The American Journal of Clinical Nutrition* 91 (3): 535□46. doi:10.3945/ajcn.2009.27725.

Smith, Dean P. 2012. « Volatile Pheromone Signalling in Drosophila ». *Physiological Entomology* 37 (1). doi:10.1111/j.1365-3032.2011.00813.x.

Smith Jill, Su Xiong, El-Maghrabi Raafat, Stahl Philip D., et Abumrad Nada A. 2008. « Opposite regulation of CD36 ubiquination by fatty acids and insulin ». *The journal of Biological Chemistry* 283 (20): 13578□85.

Smith, S J, S Cases, D R Jensen, H C Chen, E Sande, B Tow, D A Sanan, J Raber, R H Eckel, et R V Farese Jr. 2000. « Obesity Resistance and Multiple Mechanisms of Triglyceride Synthesis in Mice Lacking Dgat ». *Nature Genetics* 25 (1): 87□90. doi:10.1038/75651.

Stahl, A, R E Gimeno, L A Tartaglia, et H F Lodish. 2001. « Fatty Acid Transport Proteins: A Current View of a Growing Family ». *Trends in Endocrinology and Metabolism: TEM* 12 (6): 266□73.

Stahl, A, D J Hirsch, R E Gimeno, S Punreddy, P Ge, N Watson, S Patel, et al. 1999. « Identification of the Major Intestinal Fatty Acid Transport Protein ». *Molecular Cell* 4 (3): 299□308.

Steinbusch, Laura K M, Robert W Schwenk, D Margriet Ouwens, Michaela Diamant, Jan F C Glatz, et Joost J F P Luiken. 2011. « Subcellular Trafficking of the Substrate Transporters GLUT4 and CD36 in Cardiomyocytes ». *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS* 68 (15): 2525□38. doi:10.1007/s00018-011-0690-x.

Steinert, Robert E, et Christoph Beglinger. 2011. « Nutrient Sensing in the Gut: Interactions between Chemosensory Cells, Visceral Afferents and the Secretion of Satiation Peptides ». *Physiology & Behavior* 105 (1): 62□70. doi:10.1016/j.physbeh.2011.02.039.

Stewart, Cameron R, Lynda M Stuart, Kim Wilkinson, Janine M van Gils, Jiusheng Deng, Annett Halle, Katey J Rayner, et al. 2010. « CD36 Ligands Promote Sterile Inflammation through Assembly of a Toll-like Receptor 4 and 6 Heterodimer ». *Nature Immunology* 11 (2): 155□61. doi:10.1038/ni.1836.

Stremmel, W. 1988. « Uptake of Fatty Acids by Jejunal Mucosal Cells Is Mediated by a Fatty Acid Binding Membrane Protein ». *The Journal of Clinical Investigation* 82 (6): 2001□10. doi:10.1172/JCI113820.

Stremmel, W, G Lotz, G Strohmeyer, et P D Berk. 1985. « Identification, Isolation, and Partial Characterization of a Fatty Acid Binding Protein from Rat Jejunal Microvillous Membranes ». *The Journal of Clinical Investigation* 75 (3): 1068□76. doi:10.1172/JCI111769.

Sukhotnik, I, A S Gork, M Chen, R A Drongowski, A G Coran, et C M Harmon. 2001. « Effect of Low Fat Diet on Lipid Absorption and Fatty-Acid Transport Following Bowel Resection ». *Pediatric Surgery International* 17 (4): 259□64.

Sundaresan Sinju, Shahid Rafiq, Riehl Terrence E., Chandra Rashmi, Nassir Fatiha, Stenson William F., Liddle Rodger A., et Abumrad Nada A. 2012. « CD36-dependant signaling mediates fatty acid induced gut release of secretin and cholecystokinin ». *FASEB*, n° 23(7): 1191□1202.

Sung Miranda M. Y., Koonen Debby P. Y., Soltys Carrie-Lynn M., Jacobs René L., Febbraio Maria, et Dyck Jason R. B. 2011. « Increased CD36 expression in middle-aged mice contributes to obesity-related cardiac hypertrophy in the absence of cardiac dysfunction ». *J Mol Med* 89: 459□69.

Su, Xiong, et Nada A. Abumrad. 2009. « Cellular Fatty Acid Uptake: A Pathway under Construction ». *Trends in Endocrinology and Metabolism: TEM* 20 (2): 72□77. doi:10.1016/j.tem.2008.11.001.

Swift, Larry L, Aneta Jovanovska, Bharati Kakkad, et David E Ong. 2005. « Microsomal Triglyceride Transfer Protein Expression in Mouse Intestine ». *Histochemistry and Cell Biology* 123 (4-5): 475□82. doi:10.1007/s00418-005-0772-7.

Talukdar, Saswata, Jerrold M Olefsky, et Olivia Osborn. 2011. « Targeting GPR120 and Other Fatty Acid-Sensing GPCRs Ameliorates Insulin Resistance and Inflammatory Diseases ». *Trends in Pharmacological Sciences* 32 (9): 543□50. doi:10.1016/j.tips.2011.04.004.

Tanaka, T., T. Nakata, T. Oka, T. Ogawa, F. Okamoto, Y. Kusaka, K. Sohmiya, K. Shimamoto, et K. Itakura. 2001. « Defect in Human Myocardial Long-Chain Fatty Acid Uptake Is Caused by FAT/CD36 Mutations ». *Journal of Lipid Research* 42 (5): 751□59.

Terpstra, A. H. M., A. C. Beynen, H. Everts, S. Kocsis, M. B. Katan, et P. L. Zock. 2002. « The Decrease in Body Fat in Mice Fed Conjugated Linoleic Acid Is due to Increases in Energy Expenditure and Energy Loss in the Excreta ». *The Journal of Nutrition* 132 (5): 940□45.

Thomsen, Claus, Ole Rasmussen, Thea Lousen, Jens J. Holst, Susanne Fenselau, Jürgen Schrezenmeir, et Kjeld Hermansen. 1999. « Differential Effects of Saturated and Monounsaturated Fatty Acids on Postprandial Lipemia and Incretin Responses in Healthy Subjects ». *The American Journal of Clinical Nutrition* 69 (6): 1135□43.

Tomkin, Gerald H, et Daphne Owens. 2012. « The Chylomicron: Relationship to Atherosclerosis ». *International Journal of Vascular Medicine* 2012: 784536. doi:10.1155/2012/784536.

Tran, Thi Thu Trang, Hélène Poirier, Lionel Clément, Fatiha Nassir, Maurice M A L Pelsers, Valérie Petit, Pascal Degrace, et al. 2011. « Luminal Lipid Regulates CD36 Levels and Downstream Signaling to Stimulate Chylomicron Synthesis ». *The Journal of Biological Chemistry* 286 (28): 25201□10. doi:10.1074/jbc.M111.233551.

Tremblay, André J, Benoît Lamarche, Valérie Guay, Amélie Charest, Valéry Lemelin, et Patrick Couture. 2013. « Short-Term, High-Fat Diet Increases the Expression of Key Intestinal Genes Involved in Lipoprotein Metabolism in Healthy Men ». *The American Journal of Clinical Nutrition* 98 (1): 32□41. doi:10.3945/ajcn.113.060251.

Triantafilou, Martha, Frederick G J Gamper, Rowenna M Haston, Marios Angelos Mouratis, Siegfried Morath, Thomas Hartung, et Kathy Triantafilou. 2006. « Membrane Sorting of Toll-like Receptor (TLR)-2/6 and TLR2/1 Heterodimers at the Cell Surface Determines Heterotypic Associations with CD36 and Intracellular Targeting ». *The Journal of Biological Chemistry* 281 (41): 31002□11. doi:10.1074/jbc.M602794200.

Trigatti, B L, R G Anderson, et G E Gerber. 1999. « Identification of Caveolin-1 as a Fatty Acid Binding Protein ». *Biochemical and Biophysical Research Communications* 255 (1): 34□39. doi:10.1006/bbrc.1998.0123.

Tsai, Julie, Wei Qiu, Rita Kohen-Avramoglu, et Khosrow Adeli. 2007. « MEK-ERK Inhibition Corrects the Defect in VLDL Assembly in HepG2 Cells: Potential Role of ERK in VLDL-ApoB100 Particle Assembly ». *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 27 (1): 211□18. doi:10.1161/01.ATV.0000249861.80471.96.

Tschopp, Jurg, et Kate Schroder. 2010. « NLRP3 Inflammasome Activation: The Convergence of Multiple Signalling Pathways on ROS Production? ». *Nature Reviews. Immunology* 10 (3): 210□15. doi:10.1038/nri2725.

Tso, Patrick, et Min Liu. 2004. « Apolipoprotein A-IV, Food Intake, and Obesity ». *Physiology & Behavior* 83 (4): 631‑43. doi:10.1016/j.physbeh.2004.07.032.

Tsuchida, Takuma, Sayaka Fukuda, Hisanori Aoyama, Nobuhiko Taniuchi, Tomomi Ishihara, Noriko Ohashi, Hiroko Sato, Koji Wakimoto, Masaharu Shiotani, et Akira Oku. 2012. « MGAT2 Deficiency Ameliorates High-Fat Diet-Induced Obesity and Insulin Resistance by Inhibiting Intestinal Fat Absorption in Mice ». *Lipids in Health and Disease* 11: 75. doi:10.1186/1476-511X-11-75.

Tucker, Robin M, Richard D Mattes, et Cordelia A Running. 2014. « Mechanisms and Effects of "Fat Taste" in Humans ». *BioFactors (Oxford, England)*, mars. doi:10.1002/biof.1162.

Uchida, Aki, Mikhail N Slipchenko, Trisha Eustaquio, James F Leary, Ji-Xin Cheng, et Kimberly K Buhman. 2013. « Intestinal Acyl-CoA:diacylglycerol Acyltransferase 2 Overexpression Enhances Postprandial Triglyceridemic Response and Exacerbates High Fat Diet-Induced Hepatic Triacylglycerol Storage ». *Biochimica et Biophysica Acta* 1831 (8): 1377‑85. doi:10.1016/j.bbalip.2013.04.013.

Uchida, Aki, Mary C Whitsitt, Trisha Eustaquio, Mikhail N Slipchenko, James F Leary, Ji-Xin Cheng, et Kimberly K Buhman. 2012. « Reduced Triglyceride Secretion in Response to an Acute Dietary Fat Challenge in Obese Compared to Lean Mice ». *Frontiers in Physiology* 3: 26. doi:10.3389/fphys.2012.00026.

Ulm, Susanne, Wei Liu, Min Zi, Hoyee Tsui, Sanjoy K. Chowdhury, Shogo Endo, Yasushi Satoh, et al. 2014. « Targeted Deletion of ERK2 in Cardiomyocytes Attenuates Hypertrophic Response but Provokes Pathological Stress Induced Cardiac Dysfunction ». *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 72 (juillet): 104‑16. doi:10.1016/j.yjmcc.2014.03.002.

Van Diepen, Janna A., Rinke Stienstra, Irene O. C. M. Vroegrijk, Sjoerd A. A. van den Berg, Daniela Salvatori, Guido J. Hooiveld, Sander Kersten, et al. 2013. « Caspase-1 Deficiency in Mice Reduces Intestinal Triglyceride Absorption and Hepatic Triglyceride Secretion ». *Journal of Lipid Research* 54 (2): 448‑56. doi:10.1194/jlr.M031963.

Vassileva, G, L Huwyler, K Poirier, L B Agellon, et M J Toth. 2000. « The Intestinal Fatty Acid Binding Protein Is Not Essential for Dietary Fat Absorption in Mice ». *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 14 (13): 2040‑46. doi:10.1096/fj.99-0959com.

Vroegrijk, Irene O C M, Jan Bert van Klinken, Janna A van Diepen, Sjoerd A A van den Berg, Maria Febbraio, Laura K M Steinbusch, Jan F C Glatz, et al. 2013. « CD36 Is Important for Adipocyte Recruitment and Affects Lipolysis ». *Obesity (Silver Spring, Md.)*, mars. doi:10.1002/oby.20354.

Wang, Chuan, Lin Hu, Lei Zhao, Ping Yang, John F Moorhead, Zac Varghese, Yaxi Chen, et Xiong Z Ruan. 2014. « Rapamycin-Mediated CD36 Translational Suppression Contributes to Alleviation of Hepatic Steatosis ». *Biochemical and Biophysical Research Communications*, mars. doi:10.1016/j.bbrc.2014.03.103.

Wang, Fei, Alison B Kohan, H Henry Dong, Qing Yang, Min Xu, Sarah Huesman, Danwen Lou, David Y Hui, et Patrick Tso. 2014. « Overexpression of Apolipoprotein C-III Decreases Secretion of Dietary Triglyceride into Lymph ». *Physiological Reports* 2 (3): e00247. doi:10.1002/phy2.247.

Wang, Hong, Giuseppe Astarita, Matthew D Taussig, Kalyani G Bharadwaj, Nicholas V DiPatrizio, Klaus-Armin Nave, Daniele Piomelli, Ira J Goldberg, et Robert H Eckel. 2011. « Deficiency of Lipoprotein Lipase in Neurons Modifies the Regulation of Energy Balance and Leads to Obesity ». *Cell Metabolism* 13 (1): 105‑13. doi:10.1016/j.cmet.2010.12.006.

Wang, Hong, et Robert H Eckel. 2009. « Lipoprotein Lipase: From Gene to Obesity ». *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism* 297 (2): E271‑88. doi:10.1152/ajpendo.90920.2008.

Wan, Zhongxiao, Sarthak Matravadia, Graham P Holloway, et David C Wright. 2013. « FAT/CD36 Regulates PEPCK Expression in Adipose Tissue ». *American Journal of Physiology. Cell Physiology* 304 (5): C478‑84. doi:10.1152/ajpcell.00372.2012.

Weinstock, P. H., C. L. Bisgaier, K. Aalto-Setälä, H. Radner, R. Ramakrishnan, S. Levak-Frank, A. D. Essenburg, R. Zechner, et J. L. Breslow. 1995. « Severe Hypertriglyceridemia, Reduced High Density Lipoprotein, and Neonatal Death in Lipoprotein Lipase Knockout Mice. Mild Hypertriglyceridemia with Impaired Very Low Density Lipoprotein Clearance in Heterozygotes ». *The Journal of Clinical Investigation* 96 (6): 2555‑68. doi:10.1172/JCI118319.

Weiser, M. M. 1973. « Intestinal Epithelial Cell Surface Membrane Glycoprotein Synthesis. I. An Indicator of Cellular Differentiation ». *The Journal of Biological Chemistry* 248 (7): 2536‑41.

Weng, Yu-Rong, Xuan Kong, Ya-Nan Yu, Ying-Chao Wang, Jie Hong, Shu-Liang Zhao, et Jing-Yuan Fang. 2014. « The Role of ERK2 in Colorectal Carcinogenesis Is Partly Regulated by TRAPPC4 ». *Molecular Carcinogenesis* 53 Suppl 1 (février): E72‑84. doi:10.1002/mc.22031.

Westphal, Sabine, Stephanie Kästner, Elina Taneva, Andreas Leodolter, Jutta Dierkes, et Claus Luley. 2004. « Postprandial Lipid and Carbohydrate Responses after the Ingestion of a Casein-Enriched Mixed Meal ». *The American Journal of Clinical Nutrition* 80 (2): 284‑90.

Wetterau, J. R., L. P. Aggerbeck, M. E. Bouma, C. Eisenberg, A. Munck, M. Hermier, J. Schmitz, G. Gay, D. J. Rader, et R. E. Gregg. 1992. « Absence of Microsomal Triglyceride Transfer Protein in Individuals with Abetalipoproteinemia ». *Science (New York, N.Y.)* 258 (5084): 999‑1001.

Weylandt, Karsten H, Cheng-Ying Chiu, Beate Gomolka, Simon F Waechter, et Bertram Wiedenmann. 2012. « Omega-3 Fatty Acids and Their Lipid Mediators: Towards an Understanding of Resolvin and Protectin Formation ». *Prostaglandins & Other Lipid Mediators* 97 (3-4): 73‑82. doi:10.1016/j.prostaglandins.2012.01.005.

Wilson, F A, V L Sallee, et J M Dietschy. 1971. « Unstirred Water Layers in Intestine: Rate Determinant of Fatty Acid Absorption from Micellar Solutions ». *Science (New York, N.Y.)* 174 (4013): 1031‑33.

Wong, Annette T Y, Dick C Chan, Jing Pang, Gerald F Watts, et P Hugh R Barrett. 2014. « Plasma Apolipoprotein B-48 Transport in Obese Men: A New Tracer Kinetic Study in the Postprandial State ». *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 99 (1): E122‑26. doi:10.1210/jc.2013-2477.

Wong, Diana M, Jennifer P Webb, Paul M Malinowski, Elaine Xu, Joseph Macri, et Khosrow Adeli. 2010. « Proteomic Profiling of Intestinal Prechylomicron Transport Vesicle (PCTV)-Associated Proteins in an Animal Model of Insulin Resistance (94 Char) ». *Journal of Proteomics* 73 (7): 1291‑1305. doi:10.1016/j.jprot.2010.01.010.

Wren, A M, et S R Bloom. 2007. « Gut Hormones and Appetite Control ». *Gastroenterology* 132 (6): 2116‑30. doi:10.1053/j.gastro.2007.03.048.

Xiang, S Q, K Cianflone, D Kalant, et A D Sniderman. 1999. « Differential Binding of Triglyceride-

Rich Lipoproteins to Lipoprotein Lipase ». *Journal of Lipid Research* 40 (9): 1655□63.

Xiao, Changting, Satya Dash, Cecilia Morgantini, et Gary F Lewis. 2014. « New and Emerging Regulators of Intestinal Lipoprotein Secretion ». *Atherosclerosis* 233 (2): 608□15. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2013.12.047.

Xie, Yan, Jianyang Luo, Susan Kennedy, et Nicholas O Davidson. 2007. « Conditional Intestinal Lipotoxicity in Apobec-1-/- Mttp-IKO Mice: A Survival Advantage for Mammalian Intestinal Apolipoprotein B mRNA Editing ». *The Journal of Biological Chemistry* 282 (45): 33043□51. doi:10.1074/jbc.M705386200.

Xie, Yan, Fatiha Nassir, Jianyang Luo, Kimberly Buhman, et Nicholas O Davidson. 2003. « Intestinal Lipoprotein Assembly in Apobec-1-/- Mice Reveals Subtle Alterations in Triglyceride Secretion Coupled with a Shift to Larger Lipoproteins ». *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology* 285 (4): G735□46. doi:10.1152/ajpgi.00202.2003.

Xie, Yan, Elizabeth P Newberry, Stephen G Young, Sylvie Robine, Robert L Hamilton, Jinny S Wong, Jianyang Luo, Susan Kennedy, et Nicholas O Davidson. 2006. « Compensatory Increase in Hepatic Lipogenesis in Mice with Conditional Intestine-Specific Mttp Deficiency ». *The Journal of Biological Chemistry* 281 (7): 4075□86. doi:10.1074/jbc.M510622200.

Yao, Yao, Wei Li, Junwei Wu, Ursula A Germann, Michael S S Su, Keisuke Kuida, et Diane M Boucher. 2003. « Extracellular Signal-Regulated Kinase 2 Is Necessary for Mesoderm Differentiation ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100 (22): 12759□64. doi:10.1073/pnas.2134254100.

Yen, Chi-Liang Eric, Mei-Leng Cheong, Carrie Grueter, Ping Zhou, Junya Moriwaki, Jinny S Wong, Brian Hubbard, Stephen Marmor, et Robert V Farese Jr. 2009. « Deficiency of the Intestinal Enzyme Acyl CoA:monoacylglycerol Acyltransferase-2 Protects Mice from Metabolic Disorders Induced by High-Fat Feeding ». *Nature Medicine* 15 (4): 442□46. doi:10.1038/nm.1937.

Yessoufou, A, et W Wahli. 2010. « Multifaceted Roles of Peroxisome Proliferator-Activated Receptors (PPARs) at the Cellular and Whole Organism Levels ». *Swiss Medical Weekly* 140: w13071. doi:10.4414/smw.2010.13071.

Yli-Jama, P., T. S. Haugen, H. M. Rebnord, J. Ringstad, et J. I. Pedersen. 2001. « Selective Mobilisation of Fatty Acids from Human Adipose Tissue ». *European Journal of Internal Medicine* 12 (2): 107□15.

Young, S. G., B. S. J. Davies, C. V. Voss, P. Gin, M. M. Weinstein, P. Tontonoz, K. Reue, A. Bensadoun, L. G. Fong, et A. P. Beigneux. 2011. « GPIHBP1, an Endothelial Cell Transporter for Lipoprotein Lipase ». *The Journal of Lipid Research* 52 (11): 1869□84. doi:10.1194/jlr.R018689.

Young, Stephen G, et Rudolf Zechner. 2013. « Biochemistry and Pathophysiology of Intravascular and Intracellular Lipolysis ». *Genes & Development* 27 (5): 459□84. doi:10.1101/gad.209296.112.

Zadeh-Vakili, Azita, Bita Faam, Maryam S. Daneshpour, Mehdi Hedayati, et Fereidoun Azizi. 2012. « Association of CD36 Gene Variants and Metabolic Syndrome in Iranians ». *Genetic Testing and Molecular Biomarkers* 16 (4): 234□38. doi:10.1089/gtmb.2011.0195.

Zambetti, Lia Paola, et Alessandra Mortellaro. 2014. « NLRPs, Microbiota, and Gut Homeostasis: Unravelling the Connection ». *The Journal of Pathology* 233 (4): 321□30. doi:10.1002/path.4357.

Zammit, Victor A, Linda K Buckett, Andrew V Turnbull, Haja Wure, et Andrew Proven. 2008.

« Diacylglycerol Acyltransferases: Potential Roles as Pharmacological Targets ». *Pharmacology & Therapeutics* 118 (3): 295□302. doi:10.1016/j.pharmthera.2008.03.010.

Zamora, Carlos, Elisabet Cantó, Juan C Nieto, M Angels Ortiz, Candido Juarez, et Sílvia Vidal. 2012. « Functional Consequences of CD36 Downregulation by TLR Signals ». *Cytokine* 60 (1): 257□65. doi:10.1016/j.cyto.2012.06.020.

Zassadowski, Fabien, Cecile Rochette-Egly, Christine Chomienne, et Bruno Cassinat. 2012. « Regulation of the transcriptional activity of nuclear receptors by the MEK/ERK1/2 pathway ». *Cellular Signalling* 24 (12): 2369□77. doi:10.1016/j.cellsig.2012.08.003.

Zhou, Dequan, Dmitri Samovski, Adewole L Okunade, Philip D Stahl, Nada A Abumrad, et Xiong Su. 2012. « CD36 Level and Trafficking Are Determinants of Lipolysis in Adipocytes ». *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 26 (11): 4733□42. doi:10.1096/fj.12-206862.

Zhu, Pengcheng, Yan Yih Goh, Hwee Fang Alison Chin, Sander Kersten, et Nguan Soon Tan. 2012. « Angiopoietin-like 4: A Decade of Research ». *Bioscience Reports* 32 (3): 211□19. doi:10.1042/BSR20110102.