

# Traceurs et étude de flux du métabolisme lipidique



M.Krempf et K Ougerram  
CRNH Nantes

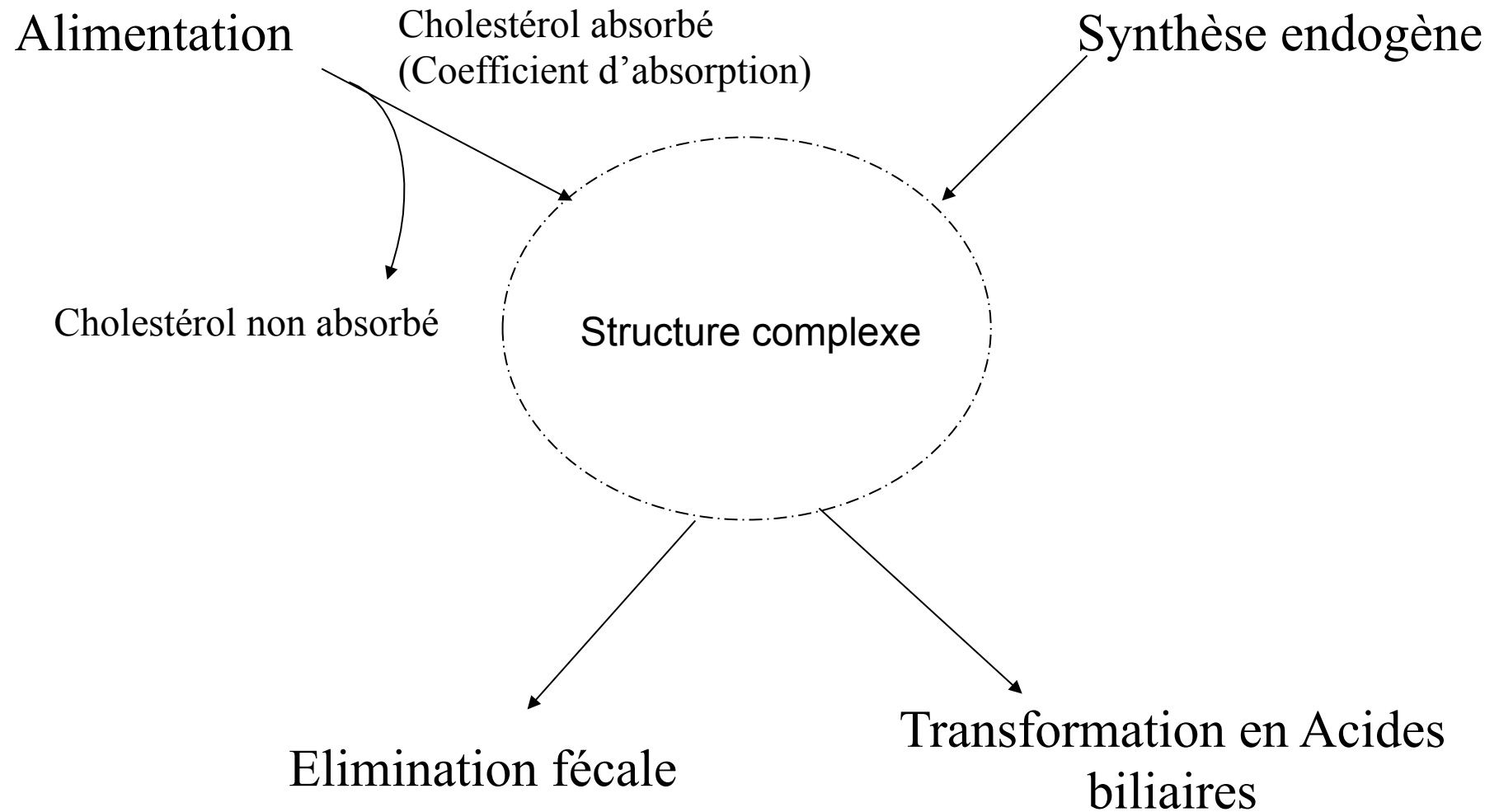
# Disclosures



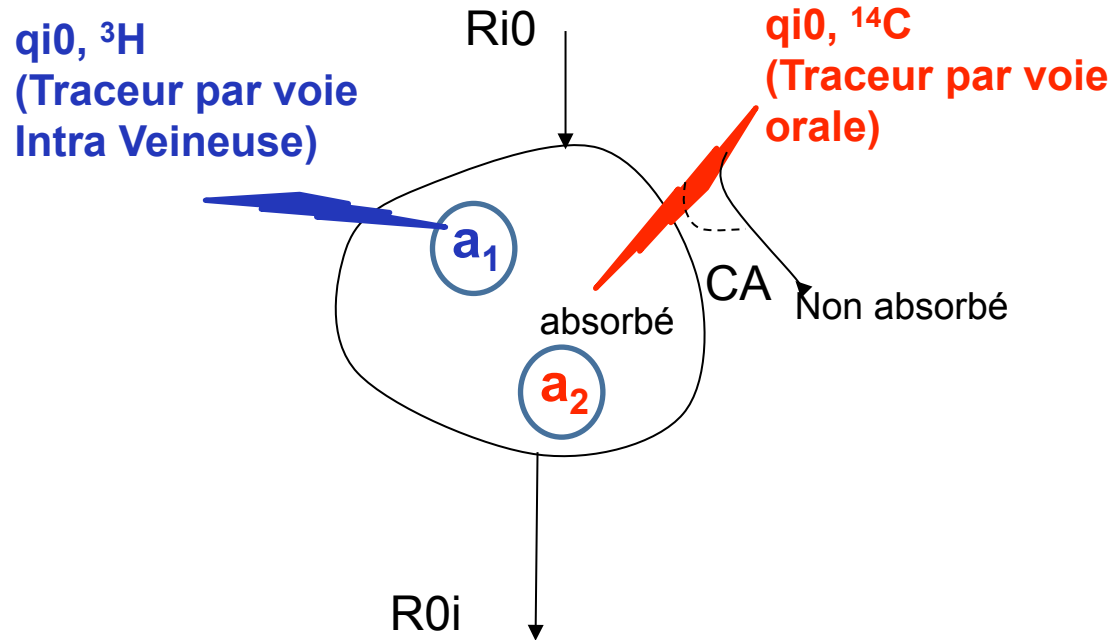
## **Consultant, Lectures, research grants, clinical trials :**

Astra-Zeneca, Abbot, BMS, Bayer pharma,  
MSD, Shering-Plough, Sanofi-Aventis, Novo  
Nordisk, Lilly, Pierre Fabre, GSK, Takeda,  
Pfizer, Novartis, Roche, FCIT, Danone, Nestlé,  
Unilever, Lesieur

# Le métabolisme du cholestérol

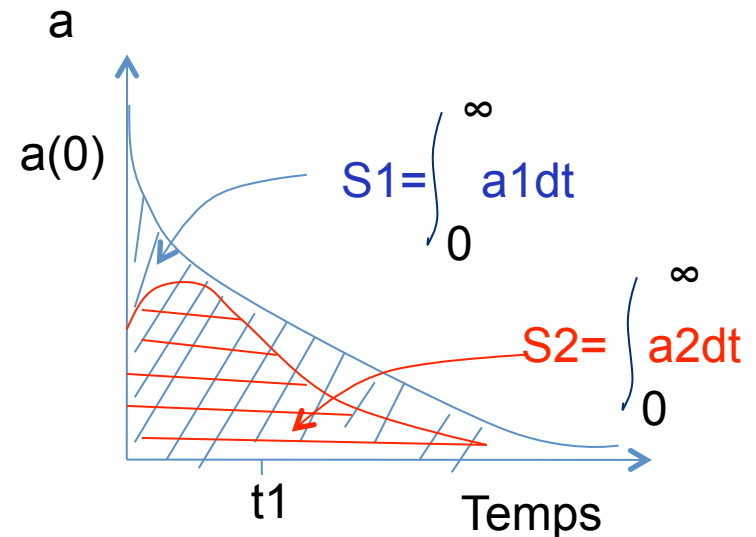


# Détermination du coefficient d'absorption du cholestérol par le principe d'occupation (Double introduction de marquage)



$$R_{i0} = q_{i0} / \int_0^{\infty} a_1 dt$$

$$R_{i0} = CA * q_{i0} / \int_0^{\infty} a_2 dt$$



$$\text{CA (coefficient d'absorption)} = \frac{\int_0^{\infty} a_2 dt}{\int_0^{\infty} a_1 dt}$$

Approximation de Zilversmit (cholestérol)      CA =  $a_2(t_1)/a_1(t_1)$   
 « dual-isotope ratio method »                      (t1 47-72h)

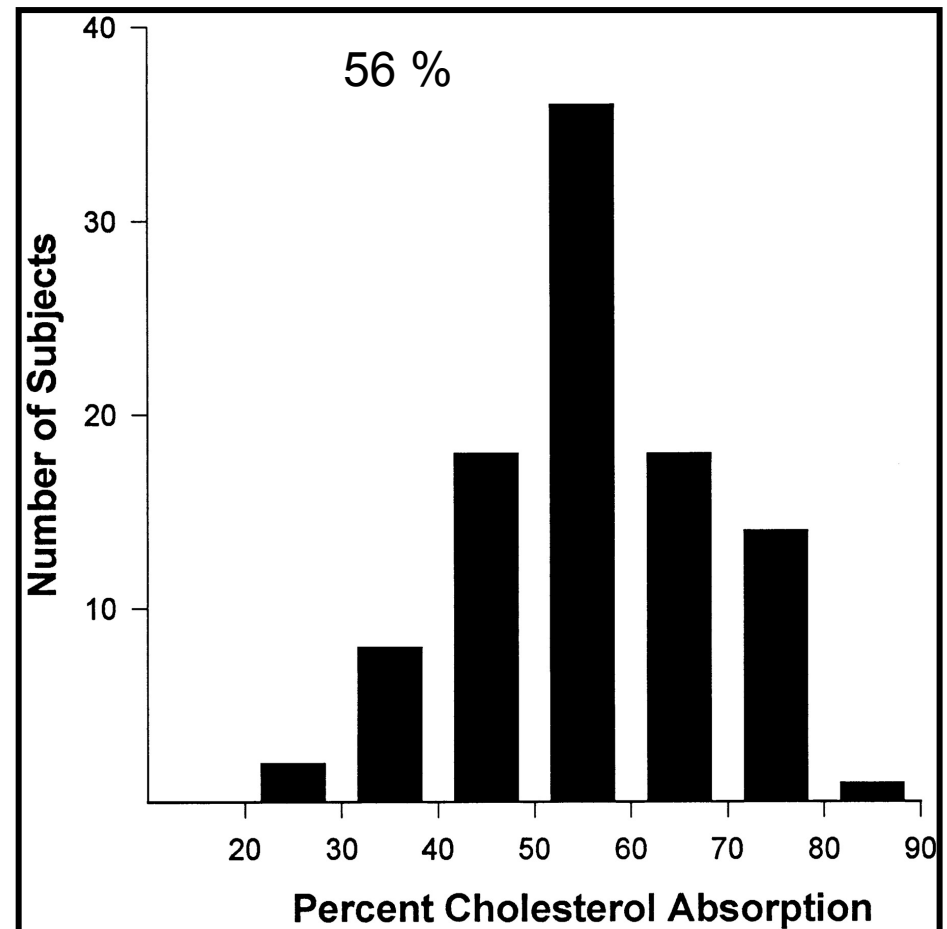
Méthode appliquée au chien obèse IR traité ou non par  
 l'atorvastatine :

$$\text{CA} = 91.5 \pm 2.8\% \text{ vs } 74.9 \pm 2.9\%$$

# Percent cholesterol absorption in normal women and men quantified with dual stable isotopic tracers and negative ion mass spectrometry

J Lipid Res 1999, 40 : 302-308

- 94 normal subjects (17-80 yrs)
- Diet low in cholesterol  
•(226 ± 126 mg/d)
- Dual stable isotopic method with two tracers (deuterated cholesterol)



# Cholesterol metabolism : synthesis and absorption

## Plasma markers (GC-MS or LC-MS)

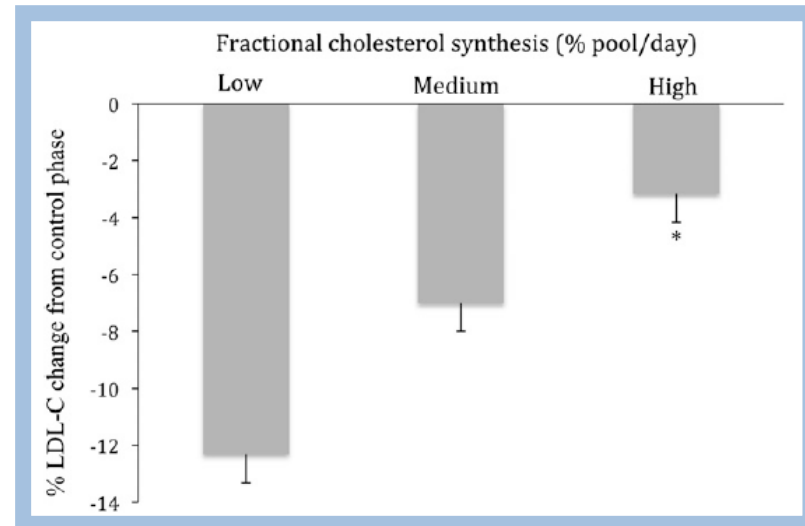
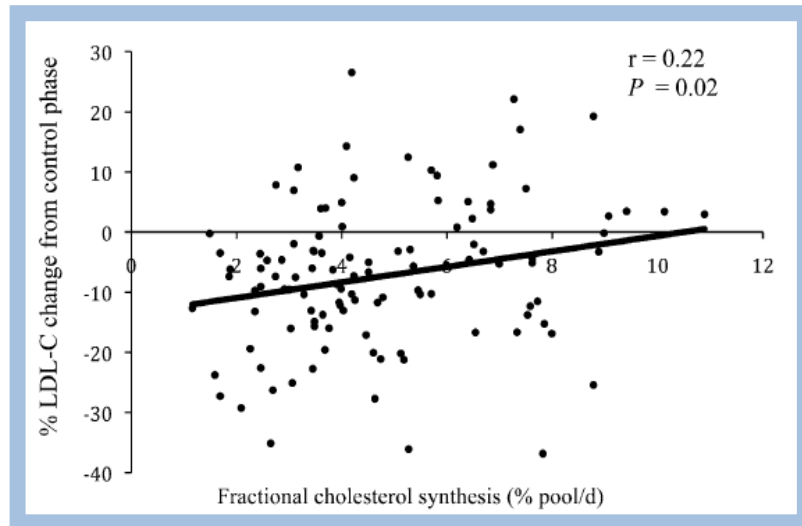
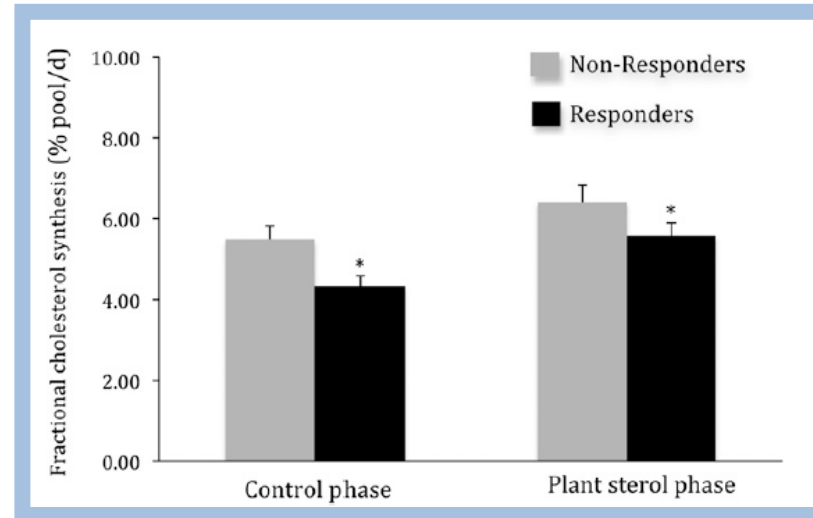
### Synthesis

- Squalenes
- Cholestenol
- Desmosterol
- Lathosterol

### Absorption

- Cholestanol
- Campesterol
- Sitosterol
- Avenasterol

High basal fractional cholesterol synthesis is associated with nonresponse of plasma LDL cholesterol to plant sterol therapy<sup>1-3</sup>

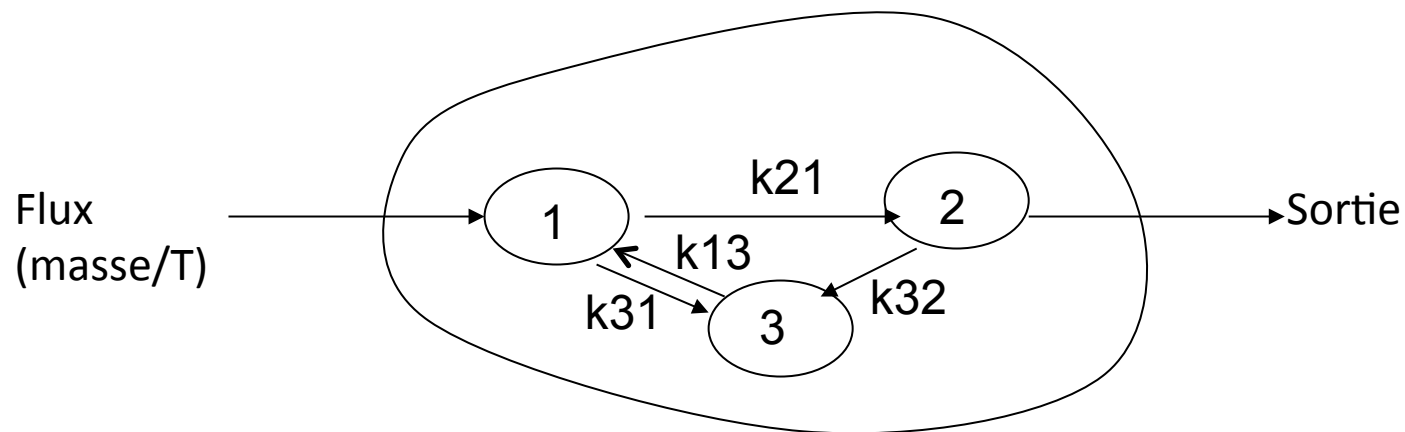




# Approche compartimentale

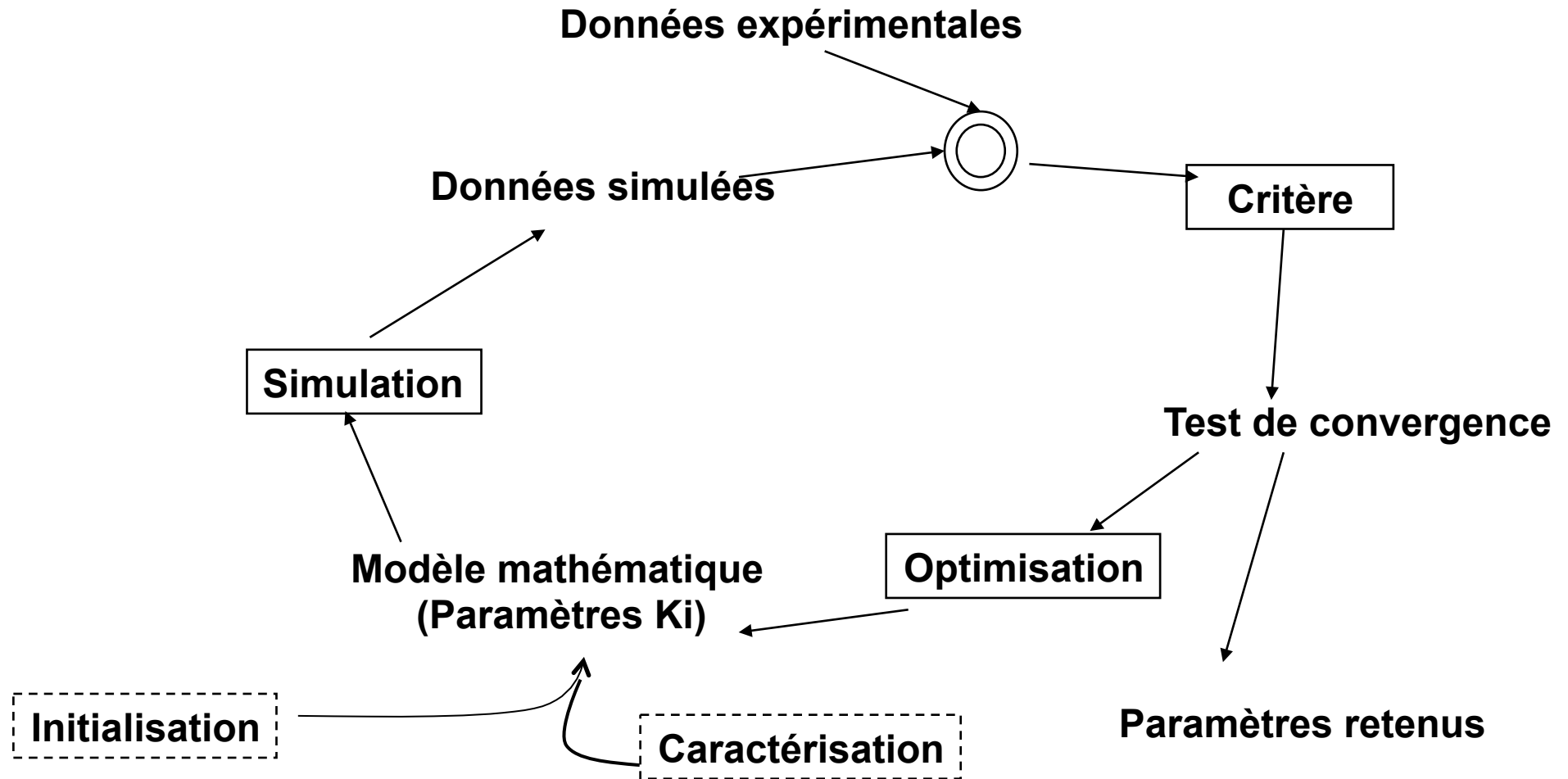
**Un système** est un ensemble de molécules composé de parties (**ou sous ensembles homogènes = compartiment**) ayant des liens entre elles et éventuellement avec le milieu extérieur.

**Un compartiment** est une sous ensemble du système indécomposable dont les parties ne sont pas discernables entre elles.



**K= paramètre d'efficacité des échanges (en  $T^{-1}$ )**

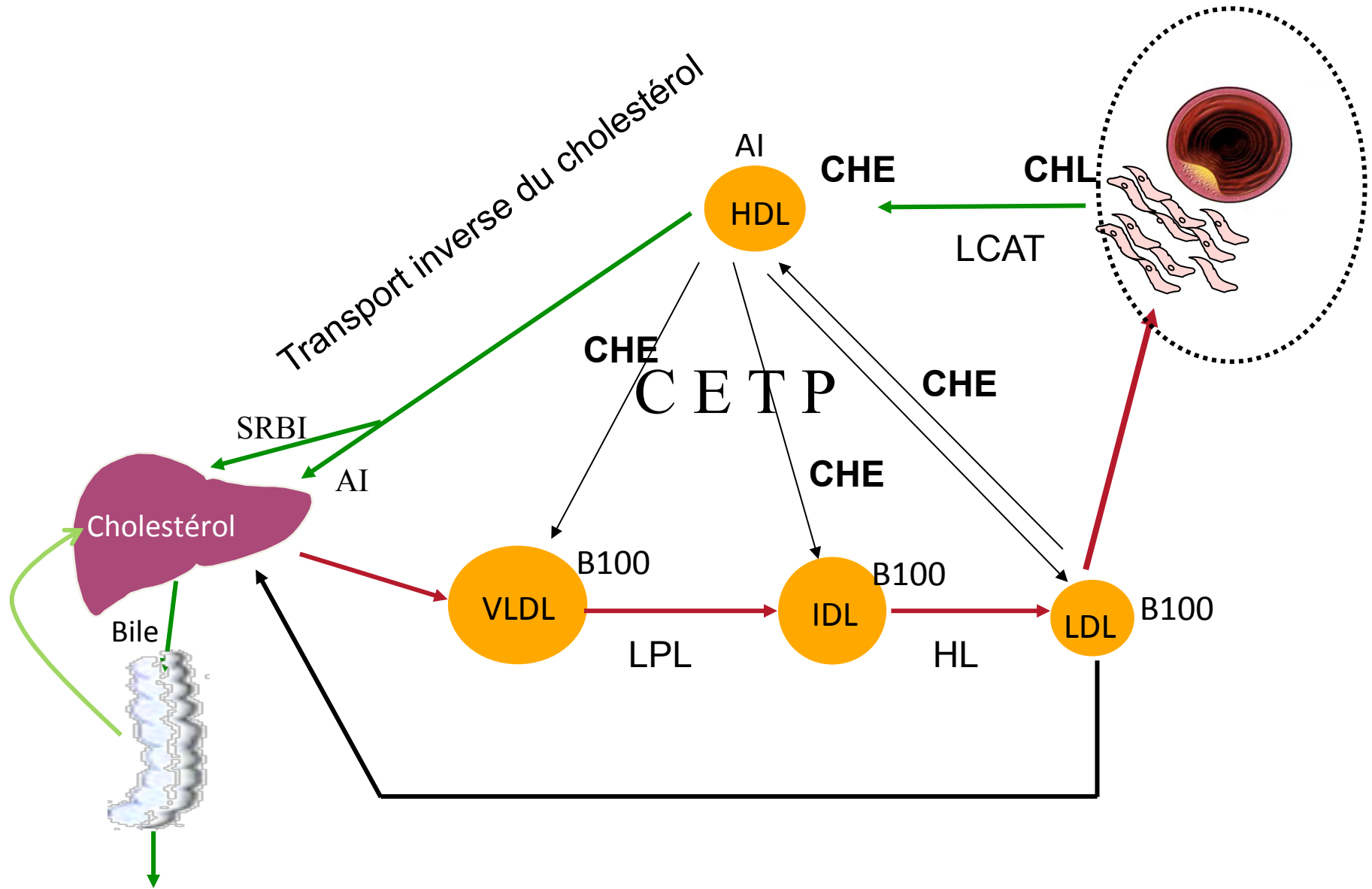
# Méthode du Modèle



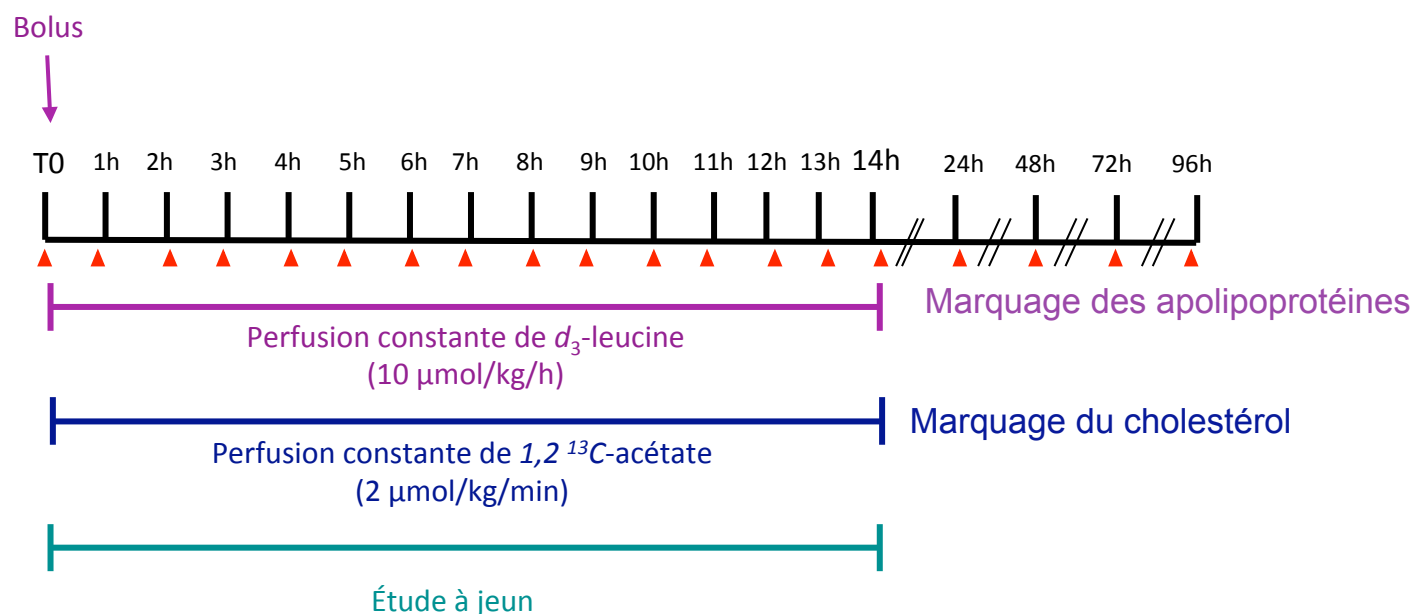
Modélisation élémentaire  
Méthodes simples d'identification  
Connaissances préalables

(SAAM2)

# Métabolisme du cholestérol



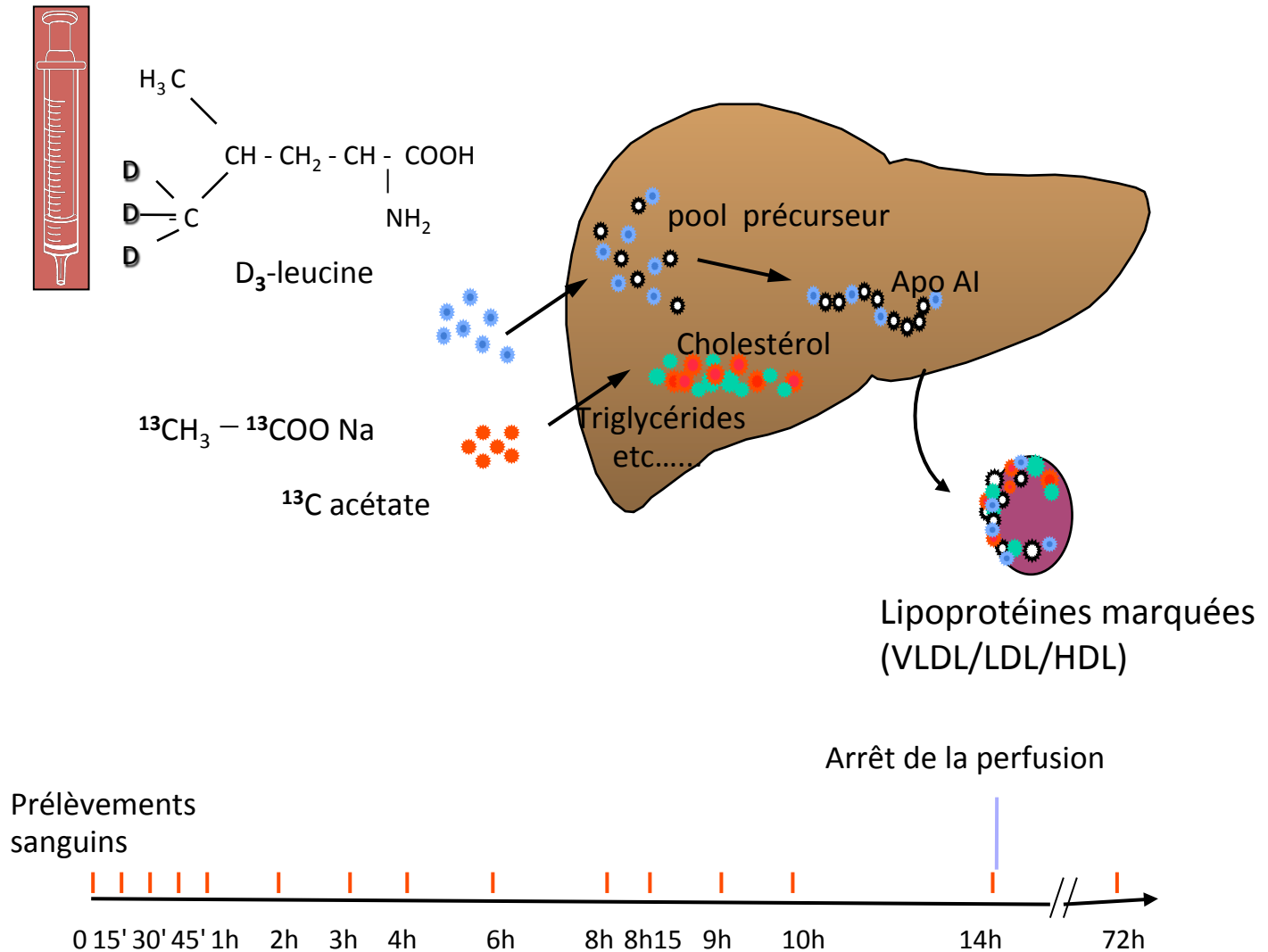
# Protocole expérimental

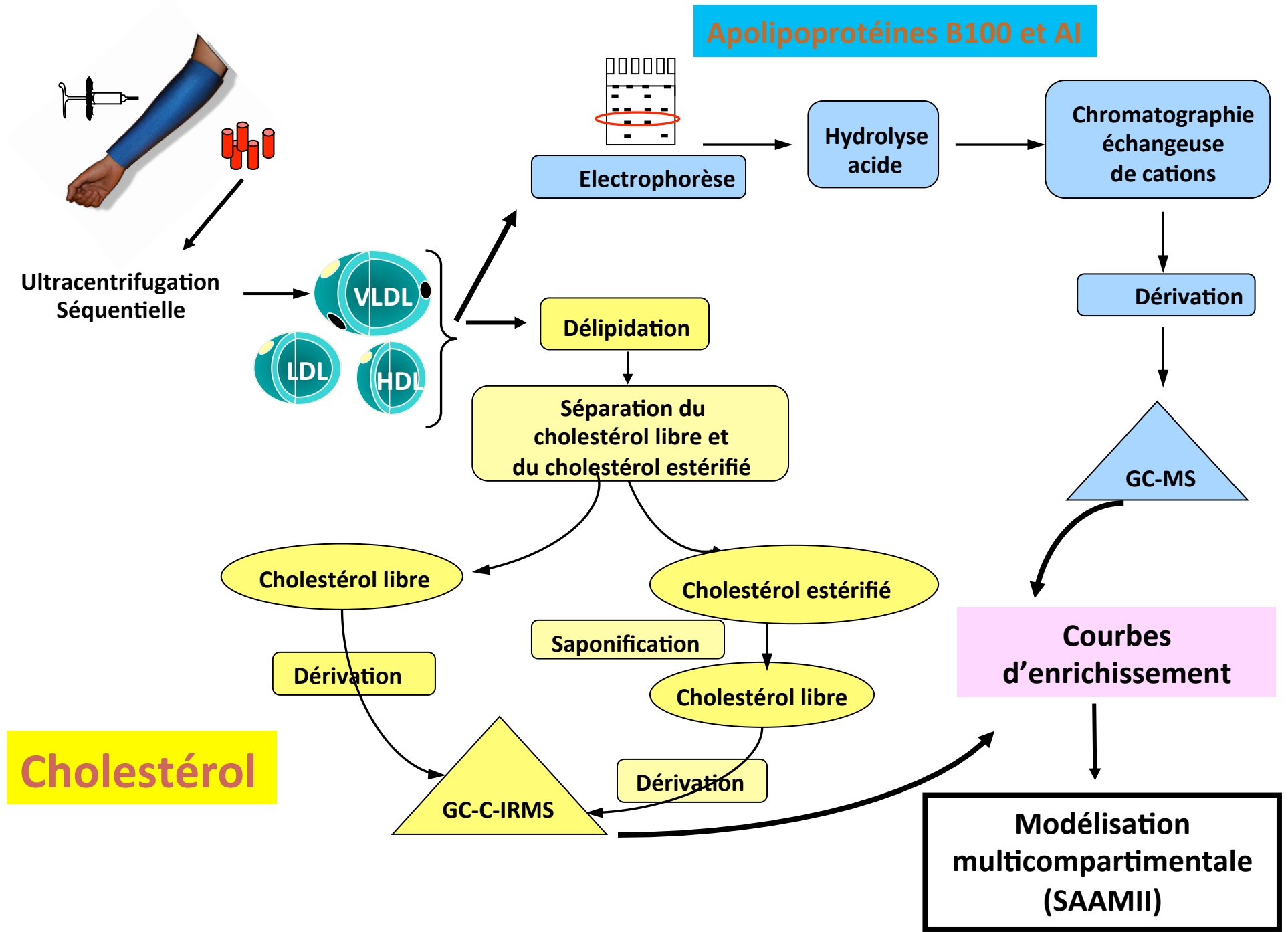


- Marquage simultané des apolipoprotéines ( $d_3$ -leucine) et du cholestérol ( $^{13}\text{C}$ -acétate) pour une analyse complète du renouvellement du cholestérol des lipoprotéines dans le transport inverse du cholestérol

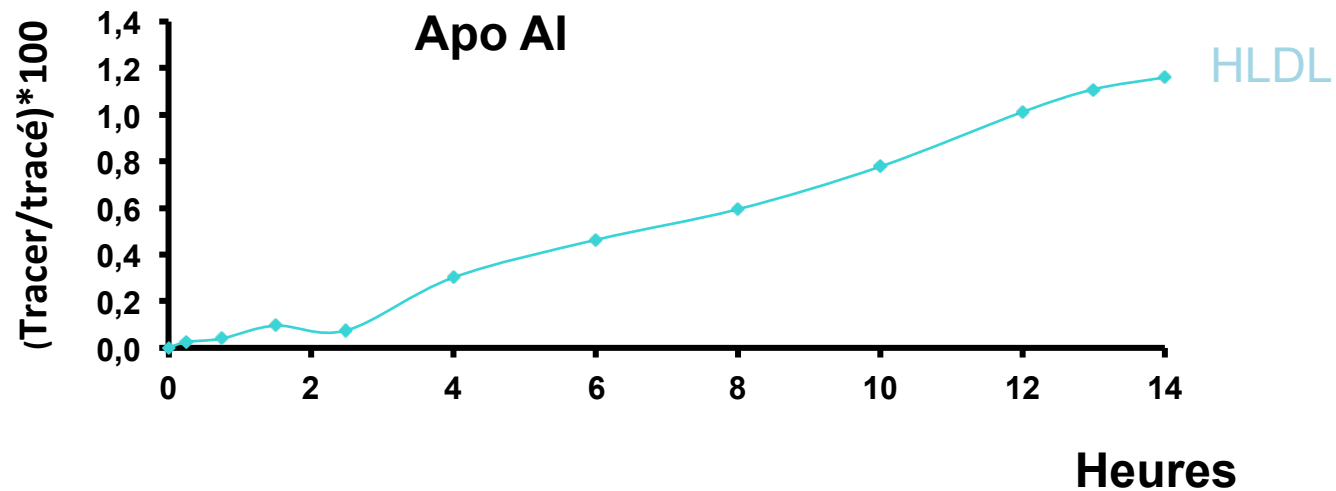
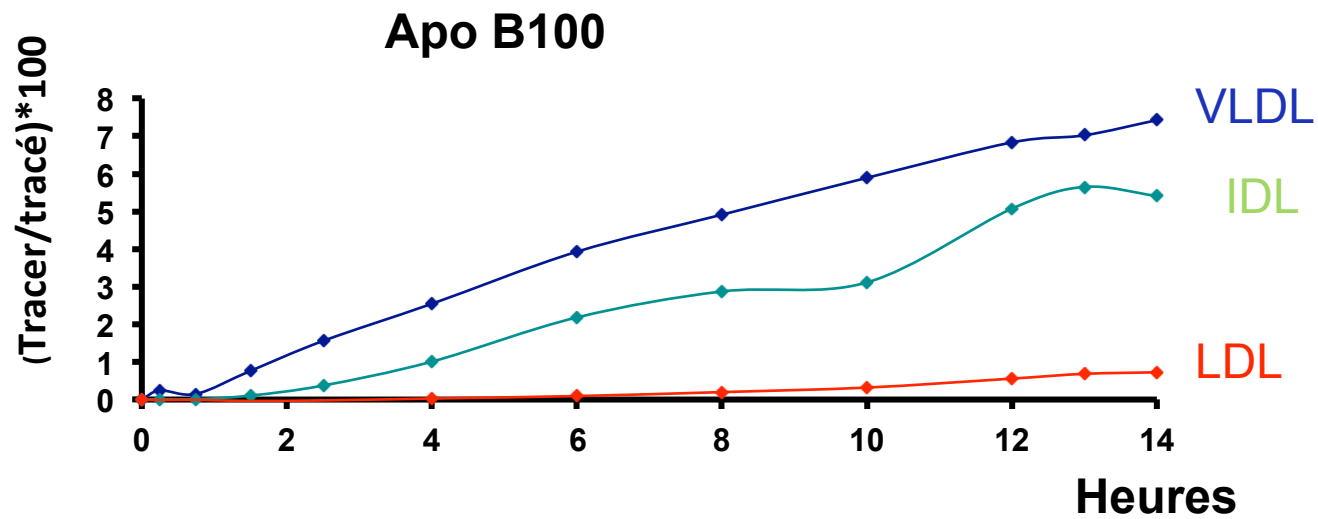
# MESURE DES FLUX DU CHOLESTEROL

Exploration cinétique par marquage endogène  
des apolipoprotéines et du cholestérol des lipoprotéines



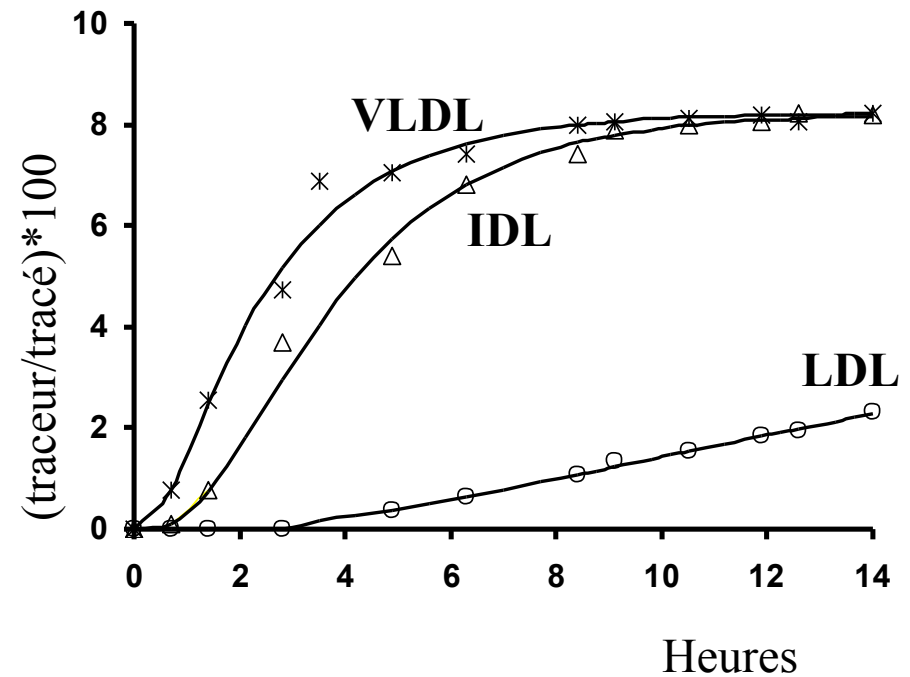
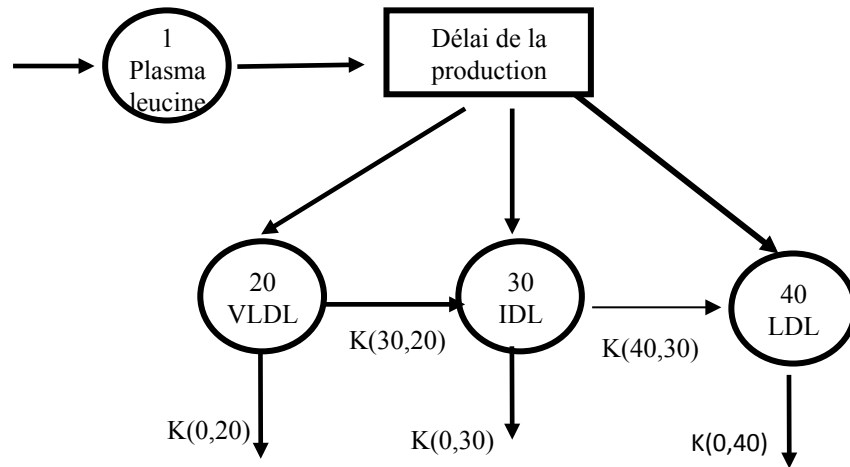


# Evolution de l'enrichissement en $^2\text{H}_3$ -leucine des apolipoprotéines



# Cinétique de l'apoB100

## Sujets normolipidémiques

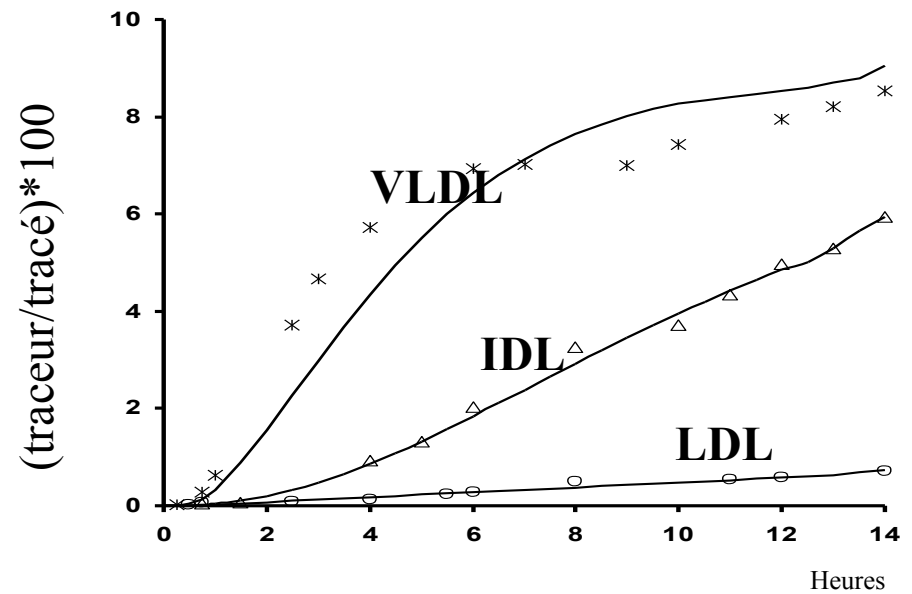
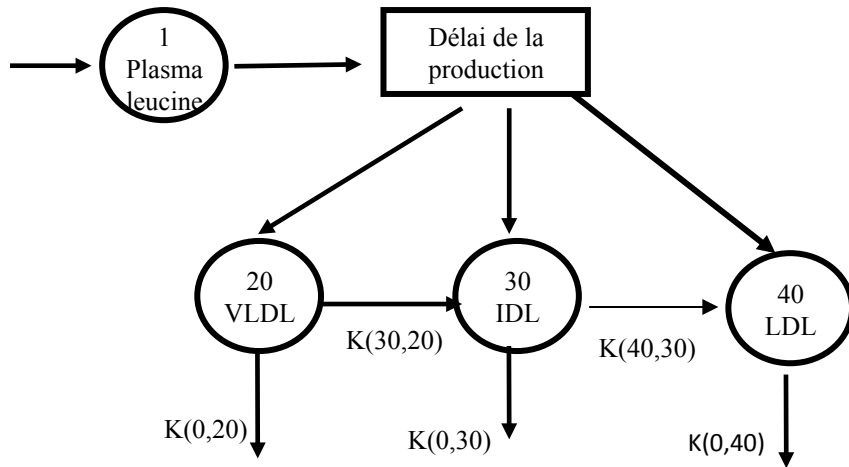


Bonne identification  $\longrightarrow$  Mesure des paramètres d'efficacité et des flux de production



# Cinétique de l'apoB100

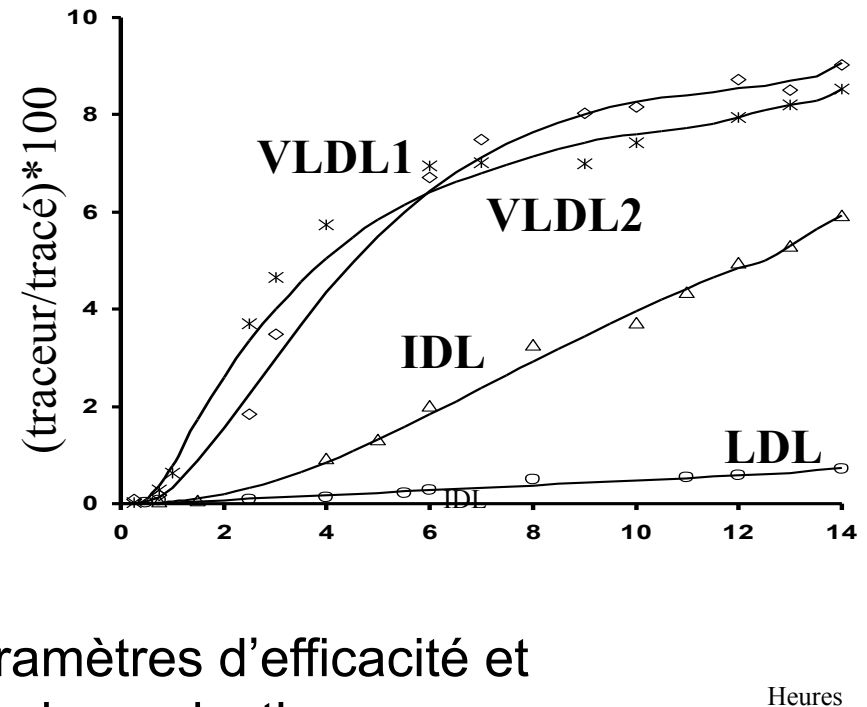
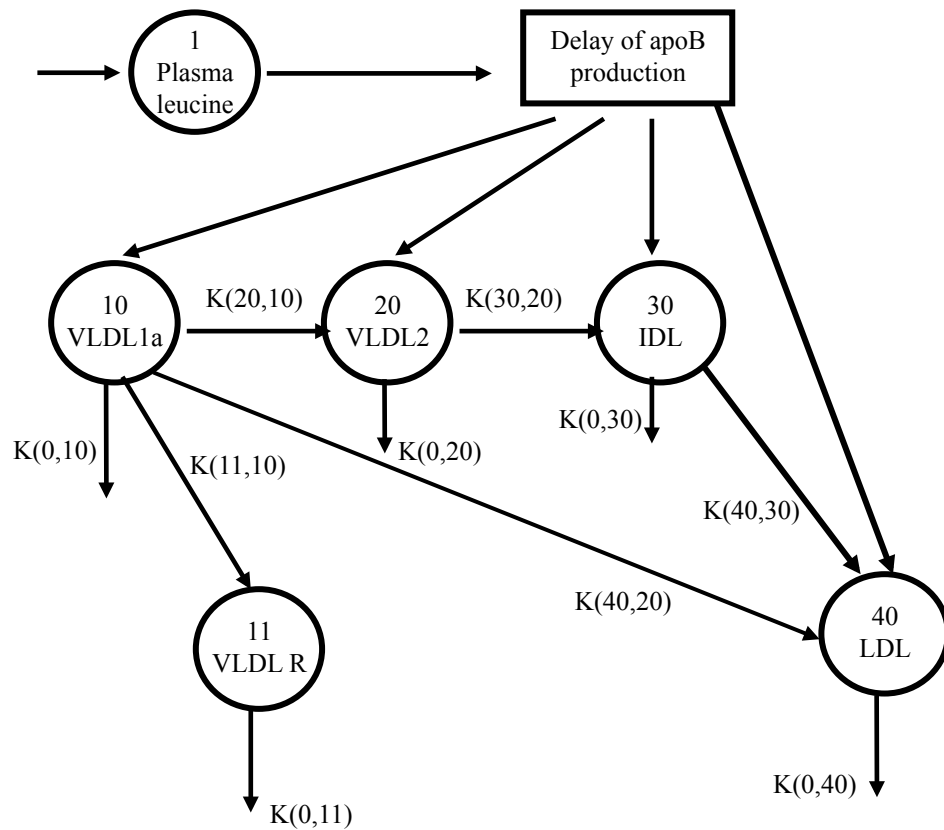
## Sujets hypertriglycéridémiques



Mauvaise identification  $\longrightarrow$  Modèle inadapté

# Cinétique de l'apoB100

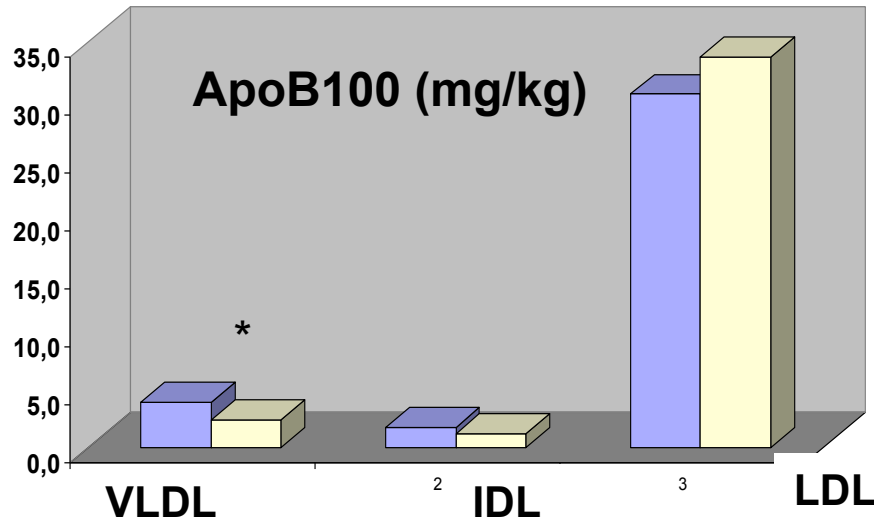
## Sujets hypertriglycéridémiques



Bonne identification ➡ Mesure des paramètres d'efficacité et des flux de production

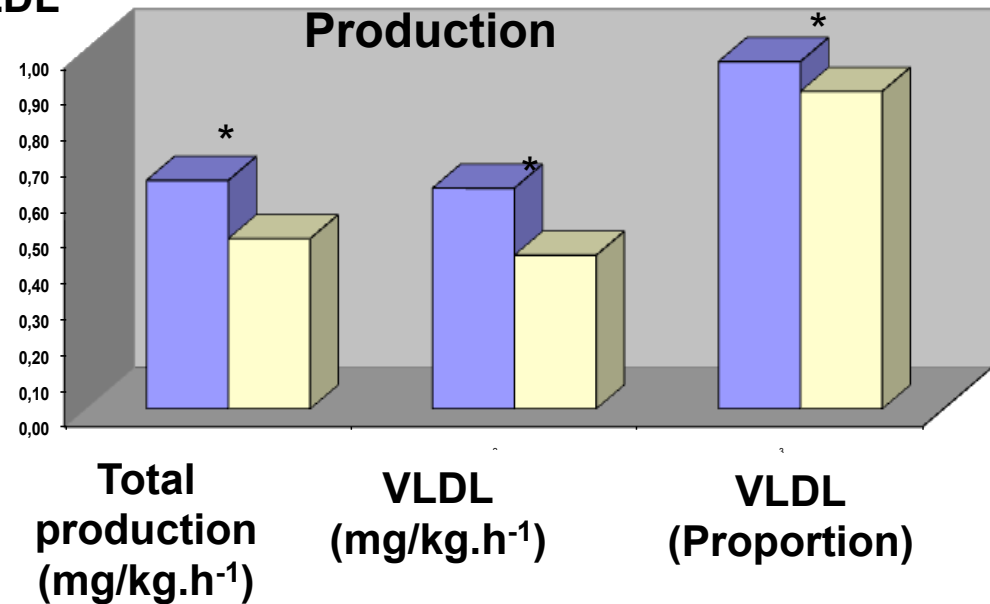
Heures

# Etude omega 3



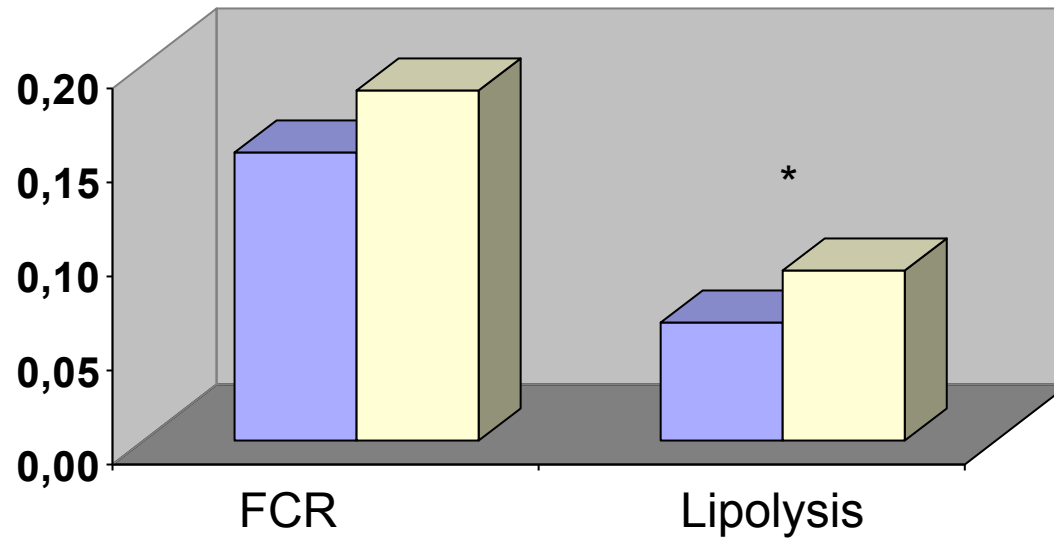
apoB100 turnover

 before omega3  
 After omega3  
\*P<0.05



## Etude omega 3

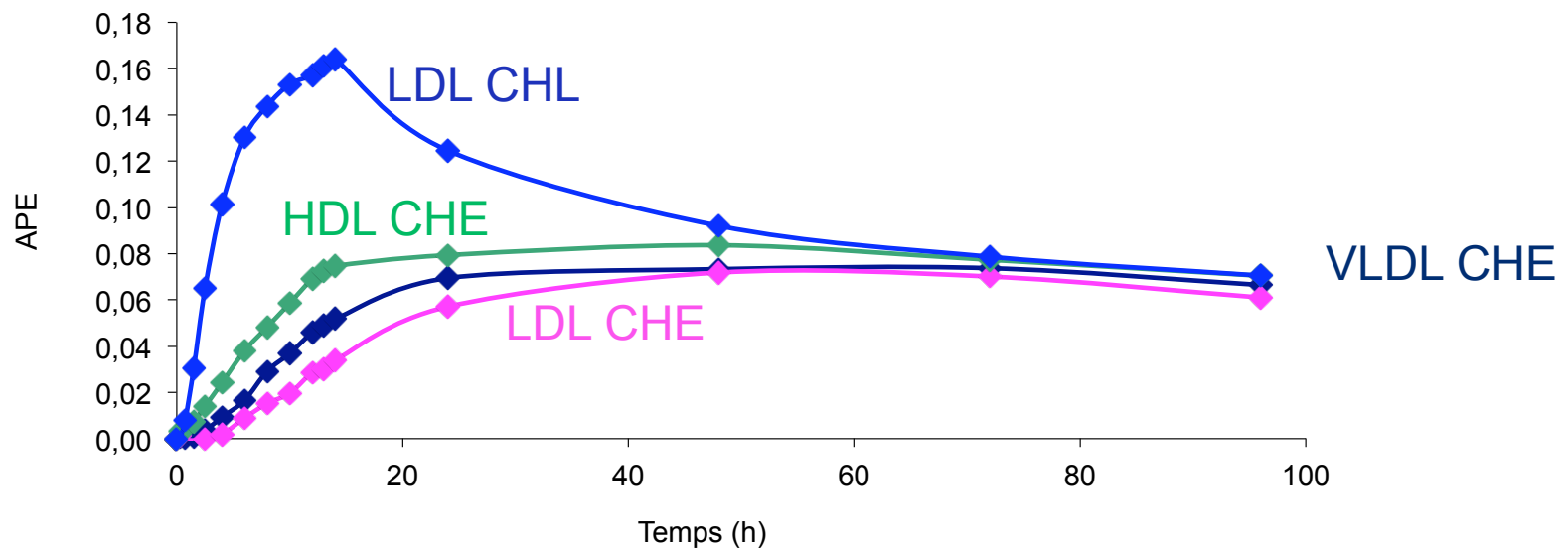
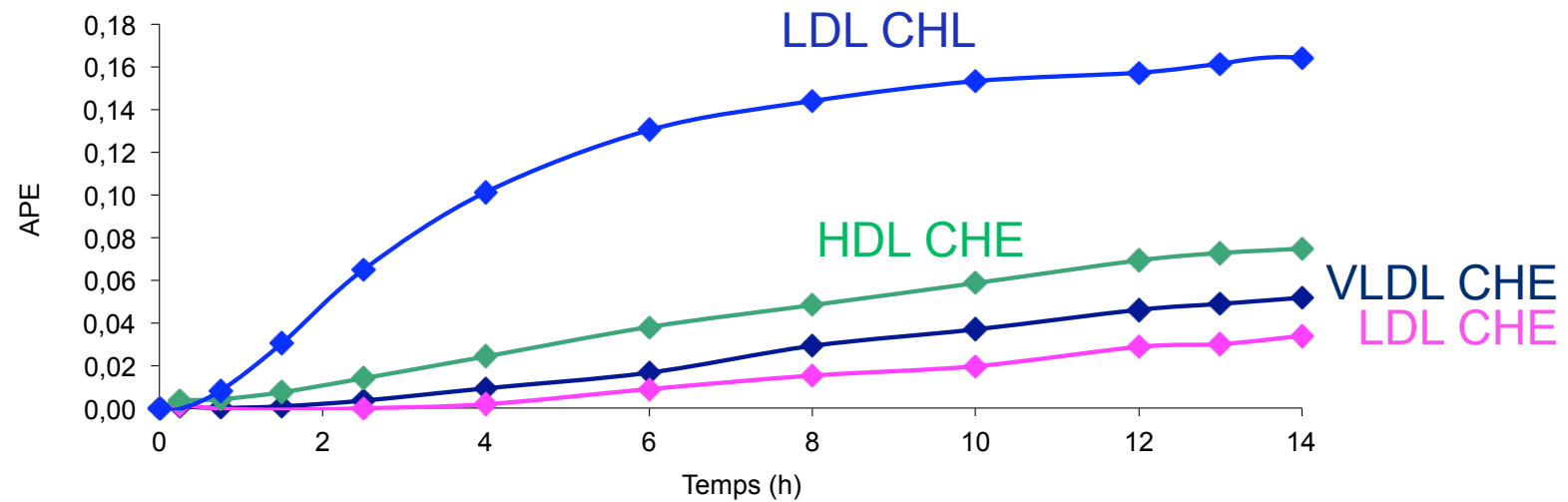
### VLDL conversion into LDL ( $\text{h}^{-1}$ )



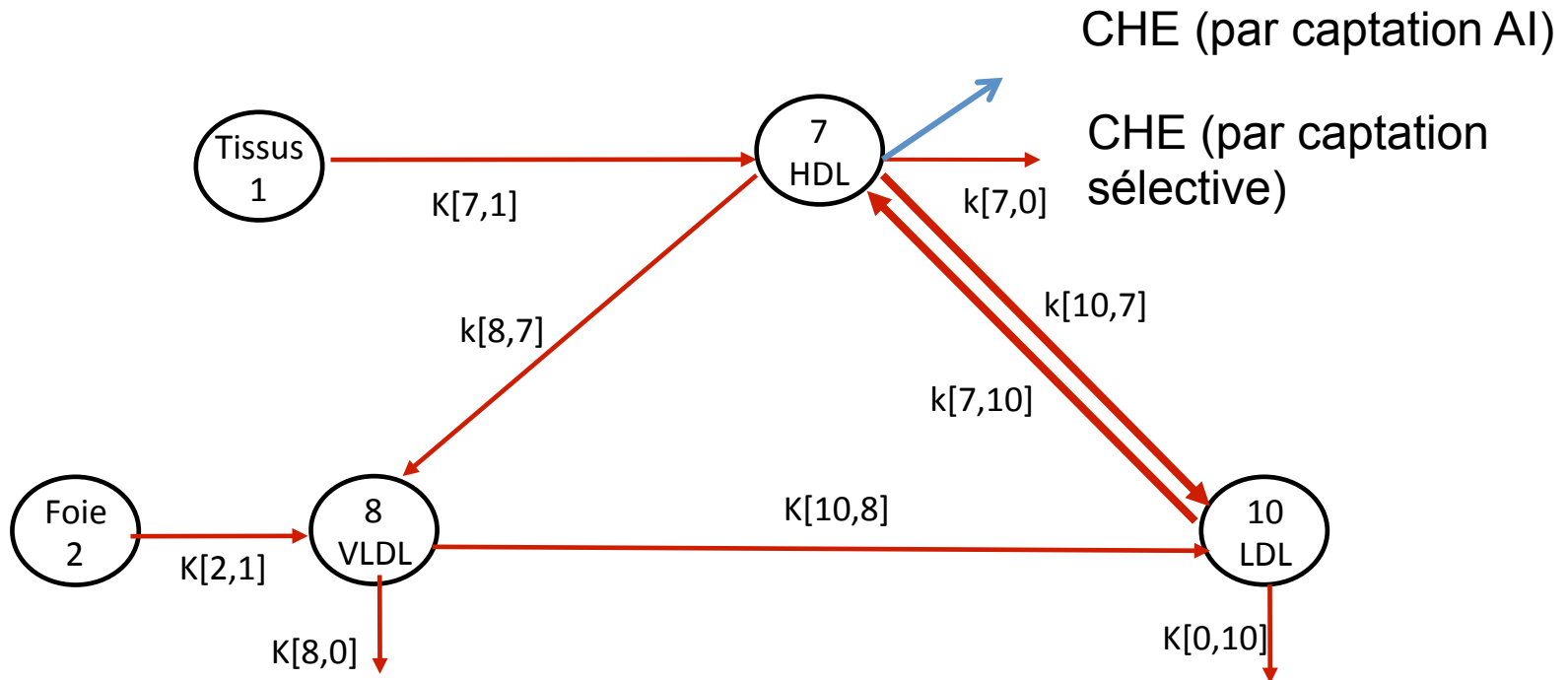
 before omega3  
 After omega3

\*P<0.05

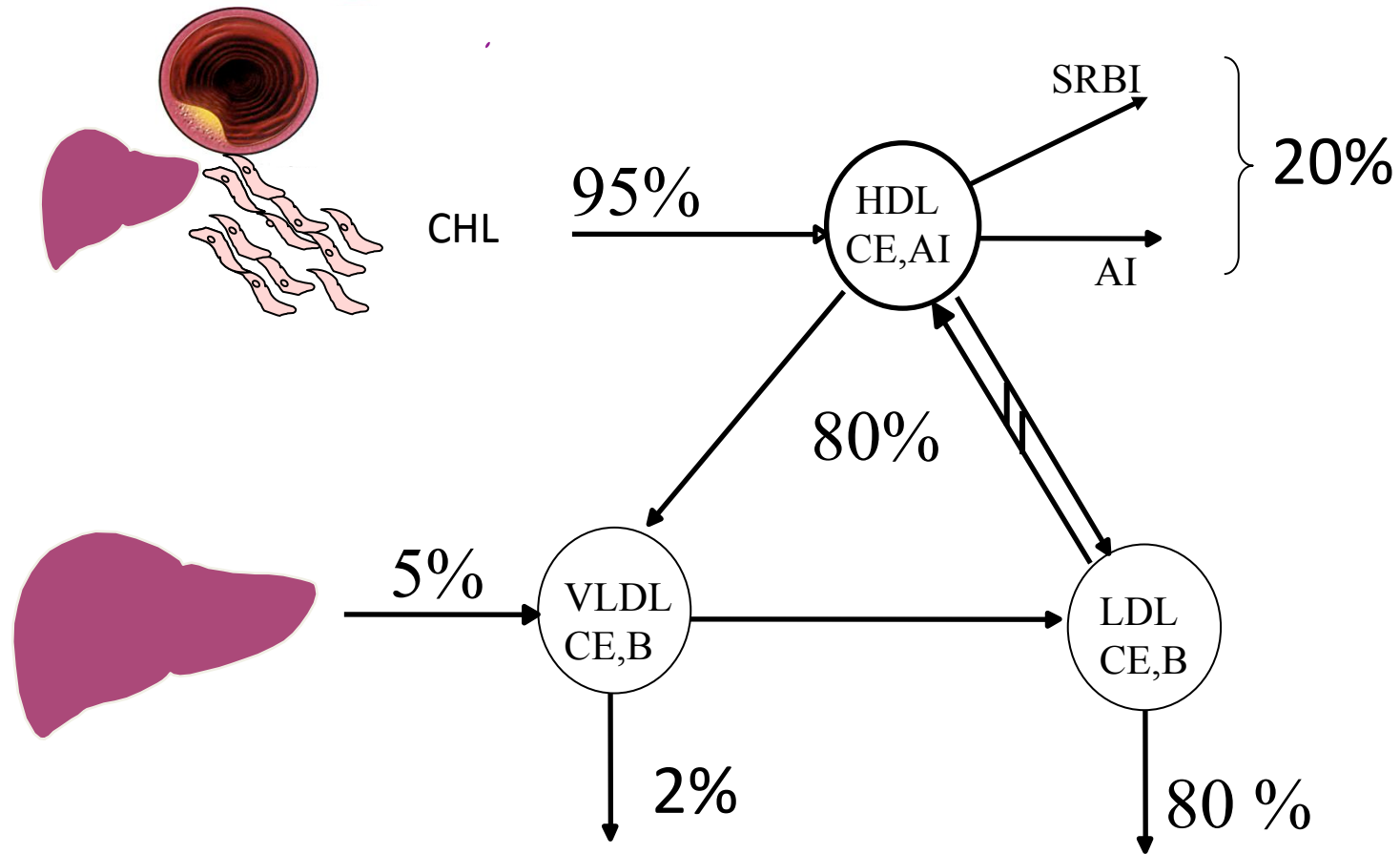
# Evolution de l'enrichissement en $^{13}\text{C}$ cholestérol des lipoprotéines



# Modèle de renouvellement du cholestérol



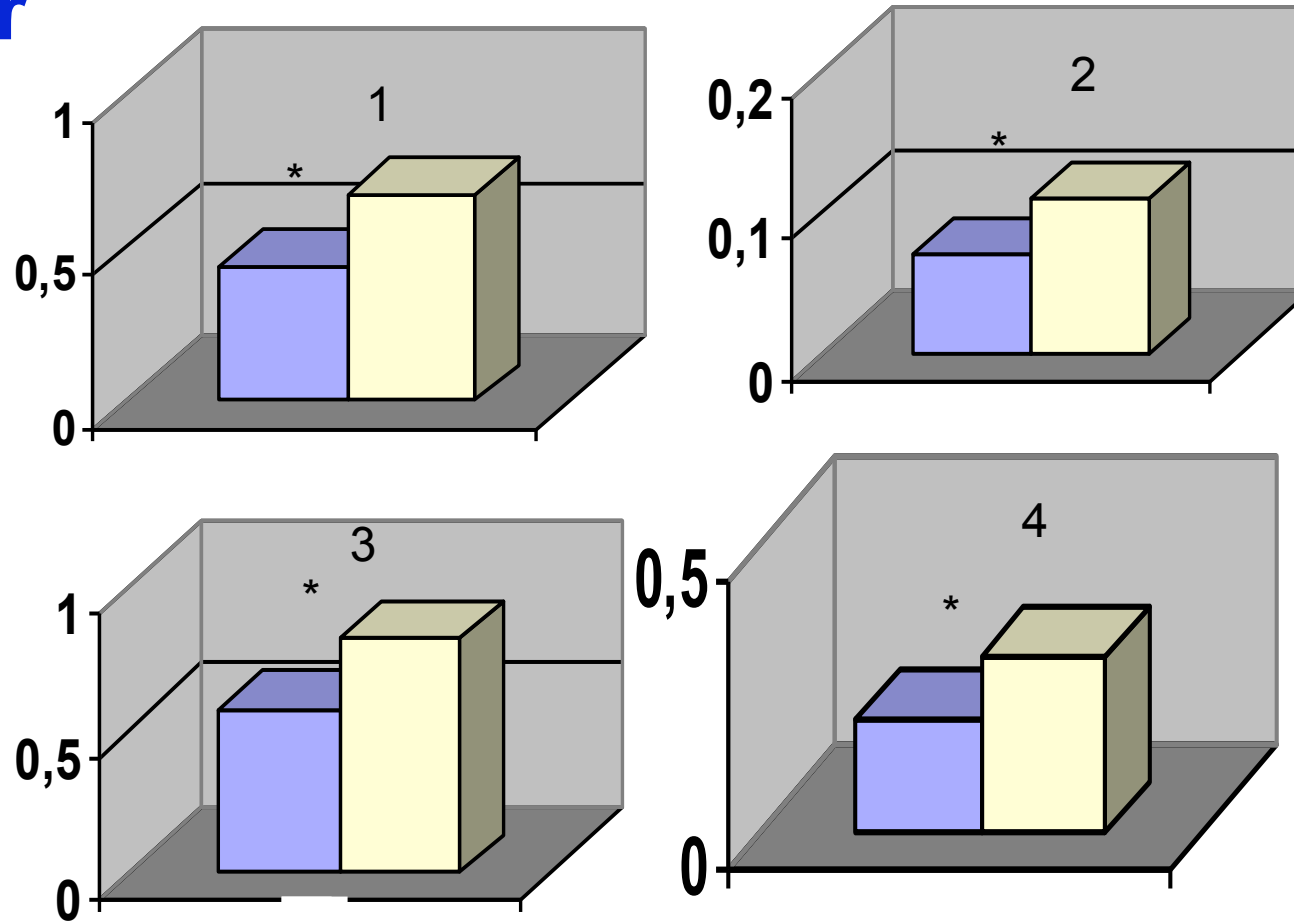
# Les flux Cholestérol estérifié plasmatique



**Importance des mouvements de cholestérol dans le transport inverse du cholestérol**

# HDL-CHE turnover

## Etude omega 3



1 : transfert from HDL to LDL (h<sup>-1</sup>)

2 : esterification rate (h<sup>-1</sup>)

3 : total transfert activity (h<sup>-1</sup>)

4 : turnover rate of HDL-CHE (h<sup>-1</sup>)

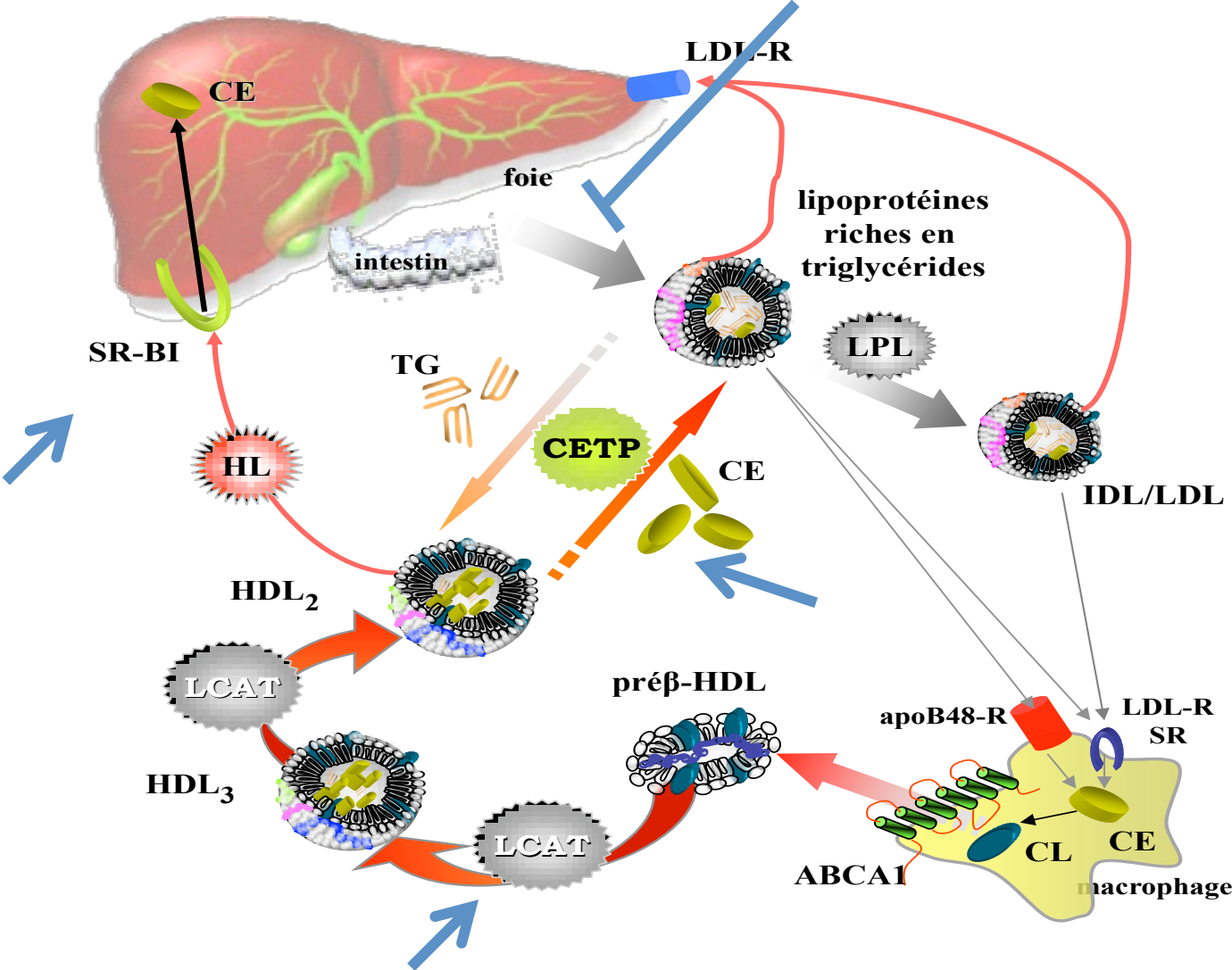
■ before omega3

■ After omega3

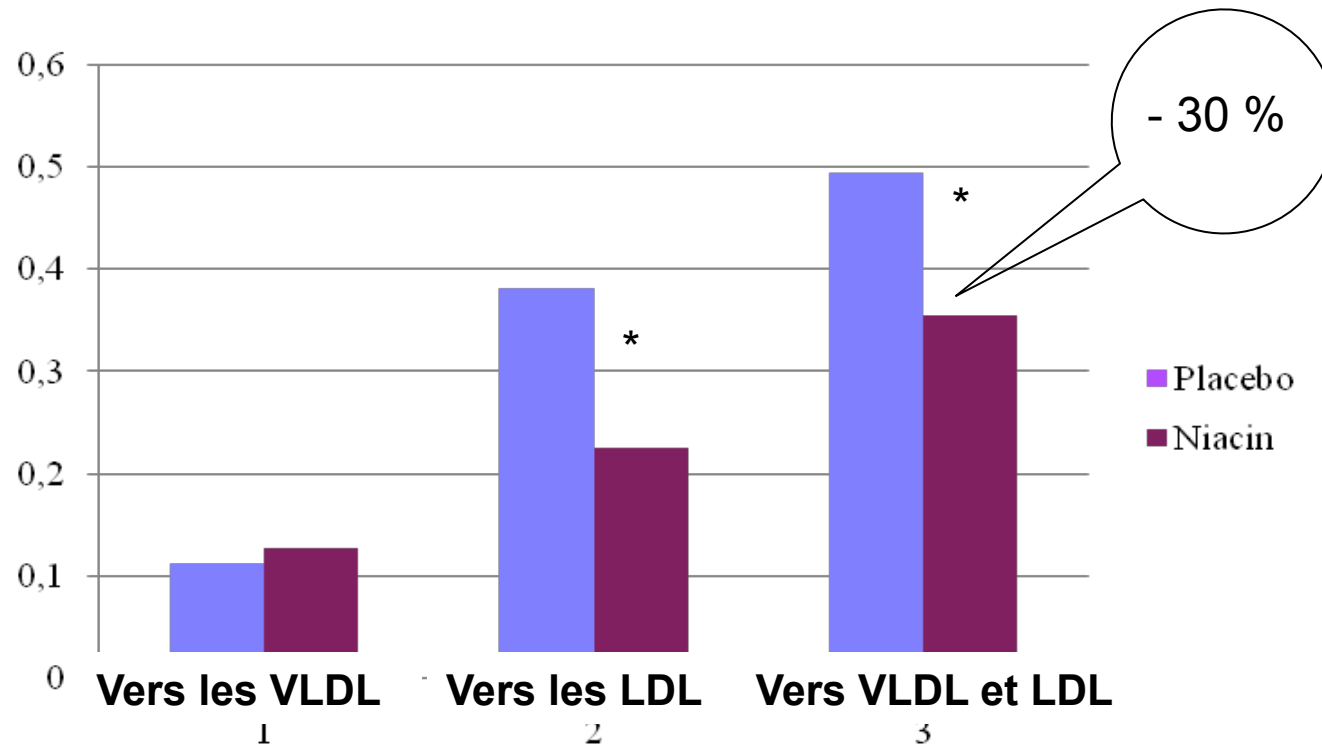
\*P<0.05



# Effet n-3

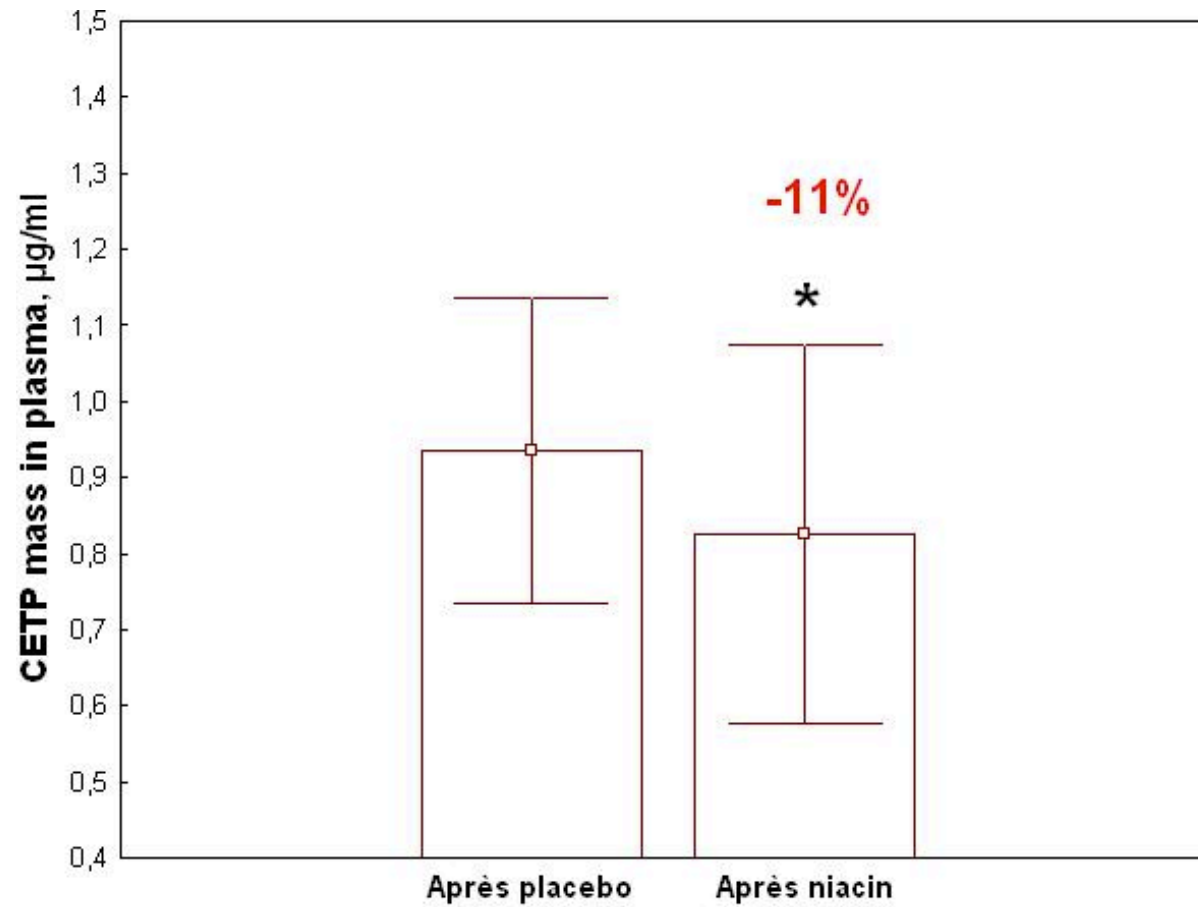


# Transfert du CHE via la CETP à partir des HDL ( $\text{h}^{-1}$ )



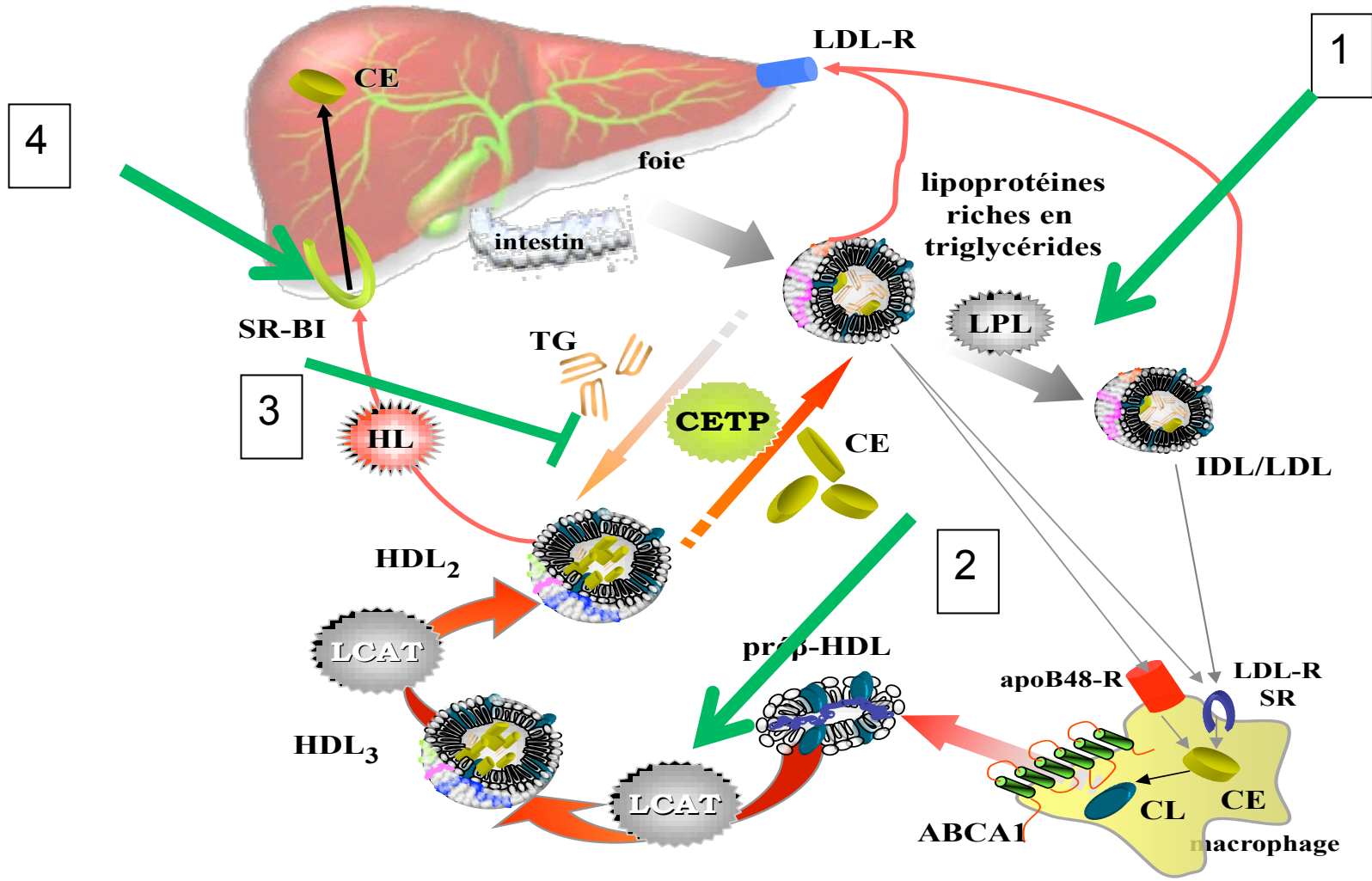
**Effet de l'Acide Nicotinique**

# Masse CETP



# Métabolisme du cholestérol chez l'homme

## Rôle multiple de GPR 109 A ?



# Conclusion

- **Les études cinétiques du métabolisme des lipides apportent des données in vivo sur les mécanismes d'action d' interventions diététiques ou thérapeutiques**
- **Elles sont un complément indispensable des données in vitro**
- **Elles permettent de valider des marqueurs « statiques » utilisés sur de larges échantillons de sujets**