Déclaration d'intérêts de M. Vial Guillaume

- **Activités de conseil, fonctions de gouvernance, rédaction de rapports**

  Non *Société(s) : ……*

- **Essais cliniques, autres travaux, communications de promotion**

  *Oui ** *Société(s) : Fresenius Kabi*

  Fresenius Kabi

  Prix de recherche fondamentale sous l'égide de la SFNEP

- **Intérêts financiers (actions, obligations)**

  Non *Société(s) : ……*

- **Liens avec des personnes ayant des intérêts financiers ou impliquées dans la gouvernance**

  Non *Société(s) : ……*

- **Réception de dons sur une association dont je suis responsable**

  Non *Société(s) : ……*

- **Perception de fonds d'une association dont je suis responsable et qui a reçu un don**

  Non *Société(s) : ……*

- **Détention d'un brevet, rédaction d'un ouvrage utilisé par l'industrie**

  Non *Société(s) : ……*

** Effacer l'option inadéquate*

Journées Francophones de Nutrition

LYON
12 - 14 décembre 2012

UNIVERSITÉ DE LYON

Inserm
Institut national de la santé et de la recherche médicale

Apport des modèles animaux d'obésité et de diabète de type 2

Guillaume Vial

CarMeN - Unité INSERM U1060

INRA 1235/ Université-Lyon1/ INSA-Lyon

Guillaume.vial@inserm.fr

CarMeN LYON

Laboratoire de Recherche en Cardiovasculaire, Métabolisme, Diabétologie et Nutrition

cens
YOUR EXPERTS IN NUTRITION

Introduction : définitions et caractéristiques de la pathologie

Obésité

" L'obésité est définie comme un excès de masse grasse qui entraîne des conséquences néfastes pour la santé".

IMC= Poids (kg)/Taille (m^2)

18,5 < IMC < 25 = Corpulence normale
25 < IMC < 30 = Surpoids
30 < IMC < 35 = Obésité modérée
35 < IMC < 40 = Obésité sévère
IMC < 40 = Obésité morbide ou cliniquement sévère

Mesure du tour de taille :
femme > 90 cm
homme >100 cm → **Obésité abdominale**

Diabète de type 2

- glycémie au hasard ≥ 200 mg/dl accompagnée de symptômes (polyurie, polydipsie, polyphagie...)
- glycémie à jeun ≥ 126 mg/dl
- glycémie ≥ 200 mg/dl deux heures après surcharge orale de glucose (SOG) produite avec 75 g de sucre.
- Hémoglobine glyquée supérieure à 7 %.

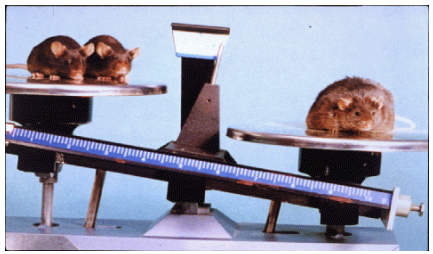
Trois étapes :

-Insulinorésistance

- hyperinsulinisme

- insulinodéficience

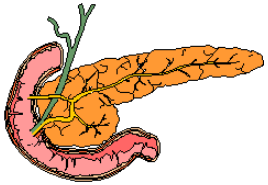
Quels critères pour la souris ou le rat ?

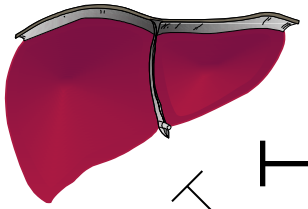


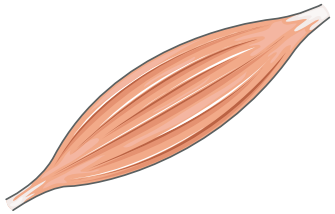
Quel modèle choisir pour quel problème ?

Utilisation du glucose quantitativement normale
au prix d'une hyperinsulinémie et d'une hyperglycémie
Diminution de la sensibilité à l'insuline

Insuline







Absence d'inhibition de la production hépatique de glucose

Inhibition de la β-oxydation
Accumulation intracellulaire de TG

Augmentation de la lipogenèse

Roden, M. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* (2003).

Comment passer de l'Homme à l'animal ?

Comment induire une obésité et/ou un diabète dans des modèles animaux ?

Historique :

-Utilisation de régimes hyper gras (1942)

-Utilisation de souches sauvages exotiques (1960)

-L'ère de la sélection puis de la génétique (1976 (GK)-1996(Ob/Ob))

-Un retour progressif aux modèles nutritionnels

Qu'ont apporté l'étude sur ces prototypes ?

Les souches sauvages exotiques au secours de la science ?

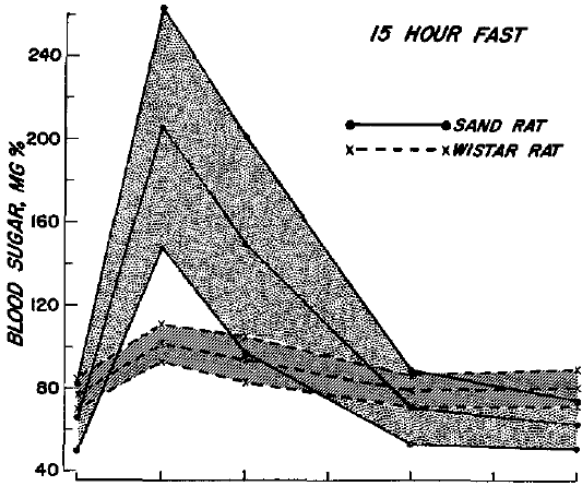
Chez ces animaux adaptés à la restriction alimentaire,
l'abondance de nourriture induit un syndrome métabolique.

Psammomys obesus :

Gerbille du désert :
Modèle animal de développement de diabète non-insulino dépendant.
(Insulinorésistance musculaire puis dégénérescence pancréatique).

Science. 1964 Feb 14;143(3607):689-90.

GTT



Diabetologia. 1967 Apr The effects of feeding and various hormones on the glucose tolerance of the sand rat (Psammomys obesus). Brodoff BN

210 références de 1964 à 2012

Psammomys obesus :

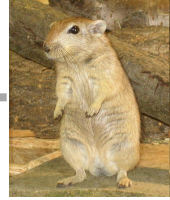


Table 1: Body weight and biochemical parameters of control ($n = 10$) and high caloric diet-fed *Psammomys* rats ($n = 15$). Each run was performed in duplicate. $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$, $^{***}P < 0.001$ versus control rat group (natural food).

Parameter	Control (18 weeks)	Diabetic (18 weeks)
Initial body wt (g)	87.8 ± 3.3	85 ± 3.9
Final body wt (g)	121.5 ± 4.1	138.5 ± 8.7*
Hepatic mass/body wt ratio (%)	3.4 ± 0.09	4.05 ± 0.12*
Glucose (mg/dL)	65.2 ± 0.03	267 ± 0.5**
Insulin (pmol/L)	166.5 ± 1.8	1439 ± 3.3***
Triglycerides (mg/dL)	74.6 ± 19	253 ± 45.4**
Cholesterol (mg/dL)	61 ± 4.2	145.7 ± 4.9**
HDL-C (mg/dL)	44.2 ± 3.3	48.5 ± 7.2
LDL-C (mg/dL)	17.8 ± 1.3	29.5 ± 3.2*
Hepatic total lipids (mg/100 g wet wt)	3720 ± 90	4900 ± 190*
Hepatic triglycerides (mg/100 g wet wt)	291 ± 19	654 ± 79**
Hepatic cholesterol (mg/100 g wet wt)	273 ± 11	322 ± 21*
Urea (mg/dL)	53.8 ± 4.6	73.6 ± 6.9*
Creatinine (mg/dL)	0.28 ± 0.05	0.45 ± 0.02*
ALT (U/L)	76 ± 8.4	136 ± 19**
AST (U/L)	86 ± 6.7	167 ± 25**

Table 2: Effect of dietary treatment on respiratory control ratios (RCR) of liver mitochondria from both *Psammomys* groups. $^{*}P < 0.05$ versus control group.

Mitochondries	Oxygen consumption rate (natoms O/min/mg protein)					
	Glutamate/Malate (GM)			Succinate/Malate (SM) + rotenone		
	State 3	State 4	RCR	State 3	State 4	RCR
Control	138.8 ± 9.9	14.8 ± 0.6	9.4 ± 0.9	143.1 ± 5.3	39.3 ± 3.0	3.7 ± 0.3
Diabetic	96.1 ± 7.3*	14.5 ± 0.6	6.6 ± 0.2*	133.0 ± 12.3	35.4 ± 3.5	3.8 ± 0.2

Exp Diabetes Res. 2012 May 17. **Hepatic mitochondrial alterations and increased oxidative stress in nutritional diabetes-prone Psammomys obesus model.** Bouderba S.

→ Implication d'un défaut de fonction mitochondriale hépatique dans le DNID

Psammomys obesus :

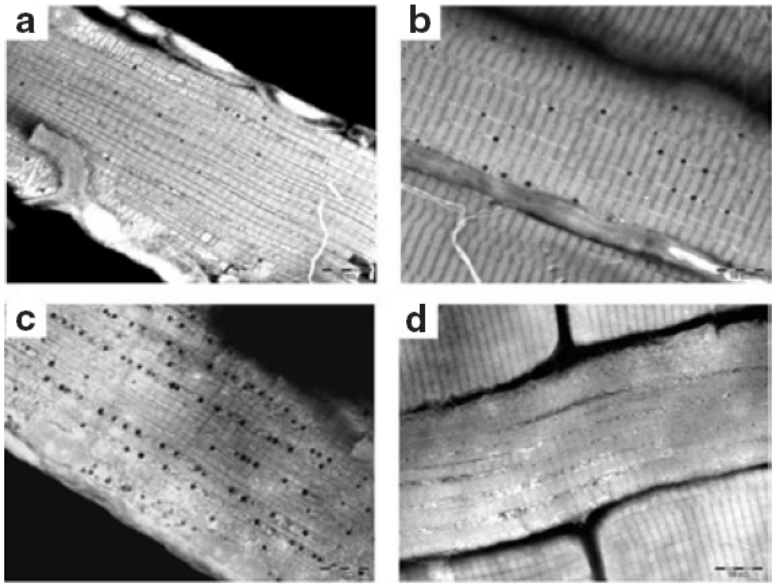


Figure 1 High resolution images of gastrocnemius muscle fibers of the diabetes-prone *Psammomys obesus* at different stages of the study. (**a**) Baseline, (**b**) 7 days on high-energy (HE) diet, (**c**) 23 days on HE diet, (**d**) 21 days on HE diet + 2 days on low-energy diet. Bar = 10 µm.

Obesity (Silver Spring). 2008 Mar;16(3):695-9. Epub 2008 Jan 17.
Scanning electron microscopic analysis of intramyocellular lipid droplets in an animal model of type 2 diabetes. Fraenkel M,

Adipose tissue GLUT 4 Relative to *Psammomys* on LE diet = 1.0		
LE	HE-diabetic	HE-rosiglitazone treated
1.0 ± 0.27	0.2 ± 0.07[a]	1.0 ± 0.26[c]
Skeletal muscle GLUT 4 Relative to *Psammomys* on LE diet = 1.0		
LE	HE-diabetic	HE-rosiglitazone treated
1.0 ± 0.2	0.53 ± 0.05[b]	0.65 ± 0.05

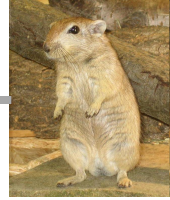
Figure 2. Effect of rosiglitazone treatment (20 mg/kg) on muscle and adipose tissue GLUT 4 glucose transporter content.

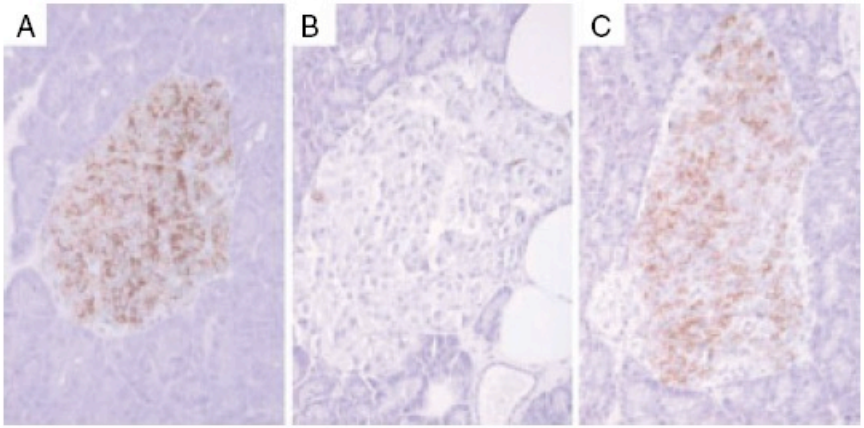
Diabetes Metab Res Rev. 2006 Mar-Apr;22(2):139-45.
Prevention of nutritionally induced diabetes by rosiglitazone in the gerbil Psammomys obesus. Hefetz S,

→ Mise en évidence d'une accumulation de gouttelettes lipidiques dans les fibres musculaires.

→ Tests de traitements pharmacologiques : mise en évidence du rétablissement de la quantité des transporteurs GLUT4 dans le développement du DNID par un traitement à la rosiglitazone.

Psammomys obesus :





→ Tests de traitements pharmacologiques : Amélioration du contenu en insuline des îlots béta pancréatiques par un traitement à la rosiglitazone.

Diabetes Metab Res Rev. 2006 Mar-Apr;22(2):139-45.
Prevention of nutritionally induced diabetes by rosiglitazone in the gerbil Psammomys obesus. Hefetz S,

Apports	- Troubles hépatiques associés à une altération de fonction mitochondriale - Défaut de signalisation insulinique au niveau musculaire associé à un déficit de transporteurs GLUT4 - Altération progressive de la fonction pancréatique prévenue par la rosiglitazone (première preuve d'action pancréatique)
Intérêts Avantages	- Bon modèle nutritionnel correspondant assez bien à la pathologie humaine - Répond au traitement à la rosiglitazone
Inconvénients	Difficultés de reproduction des animaux en captivité, forte variabilité interindividuelle et animaux peu disponibles (espèce protégée)

L'ère de la génétique et de la sélection :

Des souris obèses / diabétiques :

charles river
accelerating drug development. exactly.

THE POUND MOUSE™
C57BL/6NCrl-*Leprdb-lb*/Crl

The Jackson Laboratory

B6.V-*Lepob*/J

Des rats obèses / diabétiques :

charles river
accelerating drug development. exactly.

Zucker Diabetic Fatty (ZDF)
ZDF-*Leprfa*/Crl

charles river
accelerating drug development. exactly.

Spontaneously Hypertensive Obese (SHROB) SHROB/KolGmiCrl-*Lepr cp*/Crl

charles river
accelerating drug development. exactly.

Goto-Kakizaki (GK)
GK/TohiCskCrljCrl

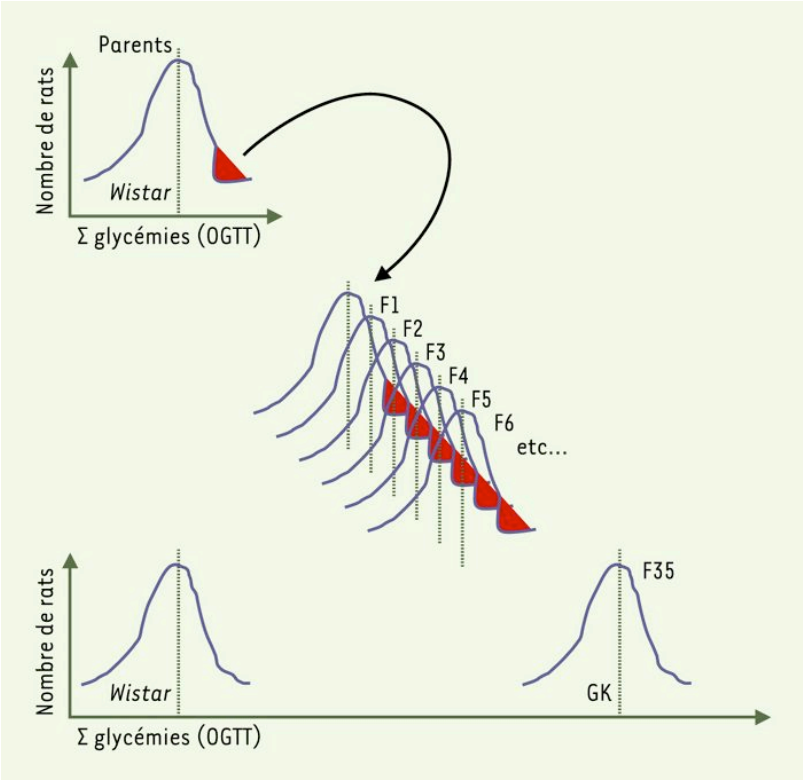
L'ère de la sélection et de la génétique : 1975- ….

Des rats diabétiques :

Goto-Kakizaki (GK)
GK/TohiCskCrljCrl

1993-2012
603 références

Tohoku University, Sendai, Japan in 1975.
non-obese Type 2 diabetes, mild hyperglycemia, insulin resistant, hyperinsulinemia



- Obtenus par des croisements sélectifs de rats normaux, de souche Wistar, sélectionnés sur la base d'une légère intolérance au glucose (OGTT) / 30 générations.

Goto-Kakizaki (GK) Rat

Time (wk)	Wistar Control	GK Control	GK TRG-Treated
Glucose (mmol/L)			
4 (baseline)	6.67 ± 0.42 (14)	12.64 ± 0.43 (98)*	
8	7.60 ± 0.46 (49)	15.29 ± 0.54 (49)*	14.50 ± 0.62 (16)
12	9.26 ± 0.37 (26)	17.88 ± 0.86 (53)*	16.99 ± 0.92 (10)
16	8.93 ± 0.20 (6)	20.80 ± 1.50 (28)*	17.58 ± 0.79 (17)
Insulin (pmol/L)			
4 (baseline)	74.50 ± 17.77 (8)	52.37 ± 6.17 (25)	
8	65.46 ± 12.56 (16)	67.35 ± 4.55 (33)	42.89 ± 2.29 (9)†
12	60.12 ± 5.75 (19)	113.72 ± 13.62 (31)*	90.28 ± 9.27 (10)
16	62.96 ± 14.48 (7)	51.79 ± 2.91 (41)	38.85 ± 2.73 (6)
Ketone bodies (μmol/L)			
4 (baseline)	172.89 ± 8.64 (28)	182.50 ± 12.49 (28)	
8	166.17 ± 9.61 (44)	170.97 ± 20.17 (23)	193.06 ± 19.21 (24)
12	177.69 ± 12.49 (6)	217.07 ± 38.42 (26)	181.54 ± 22.09 (16)
16	178.65 ± 26.89 (9)	170.01 ± 42.26 (13)	170.00 ± 16.33 (15)
Glycosylated hemoglobin (%)			
4 (baseline)	6.98 ± 0.34 (7)	10.75 ± 0.71 (65)*	
8	8.75 ± 1.24 (7)	7.70 ± 0.25 (22)	8.05 ± 0.26 (13)†
12	8.02 ± 0.43 (18)	10.33 ± 0.43 (20)*	8.80 ± 0.17 (16)†
16	7.41 ± 0.54 (5)	16.87 ± 1.48 (27)*	9.65 ± 0.55 (12)†
Triglycerides (mmol/L)			
4 (baseline)	0.37 ± 0.06 (14)	0.81 ± 0.07 (70)*	
8	0.31 ± 0.06 (5)	0.53 ± 0.03 (51)*	0.67 ± 0.11 (16)
12	0.38 ± 0.03 (26)	0.64 ± 0.03 (66)*	0.81 ± 0.14 (9)
16	0.73 ± 0.09 (9)	0.59 ± 0.06 (36)	0.92 ± 0.08 (13)†
Cholesterol (mmol/L)			
4 (baseline)	0.92 ± 0.07 (14)	1.63 ± 0.04 (46)*	
8	1.20 ± 0.06 (24)	2.31 ± 0.18 (32)*	1.86 ± 0.15 (12)
12	1.31 ± 0.05 (6)	1.74 ± 0.06 (42)*	1.29 ± 0.08 (16)†
16	1.87 ± 0.09 (9)	1.86 ± 0.06 (17)	1.81 ± 0.17 (13)
Free fatty acids (g/L)			
4 (baseline)	0.008 ± 0.001 (12)	0.013 ± 0.001 (35)	
8	0.012 ± 0.001 (24)	0.015 ± 0.002 (30)	0.014 ± 0.001 (15)
12	0.011 ± 0.001 (6)	0.011 ± 0.001 (52)	0.018 ± 0.001 (16)†
16	0.009 ± 0.001 (9)	0.012 ± 0.001 (17)	0.017 ± 0.002 (15)†
Body weight (g)			
4 (baseline)	73.00 ± 1.46 (8)	71.40 ± 2.70 (42)	
8	253.20 ± 3.77 (35)	211.25 ± 5.44 (35)*	197.27 ± 5.40 (22)†
12	396.43 ± 8.85 (41)	255.63 ± 3.18 (41)*	288.50 ± 4.78 (10)†
16	466.67 ± 15.04 (32)	300.00 ± 4.08 (32)*	299.62 ± 5.66 (14)

Metabolism. 1997 **Metabolic effects of troglitazone in the Goto-Kakizaki rat, a non-obese and normolipidemic rodent model of non-insulin-dependent diabetes mellitus.** O'Rourke CM.

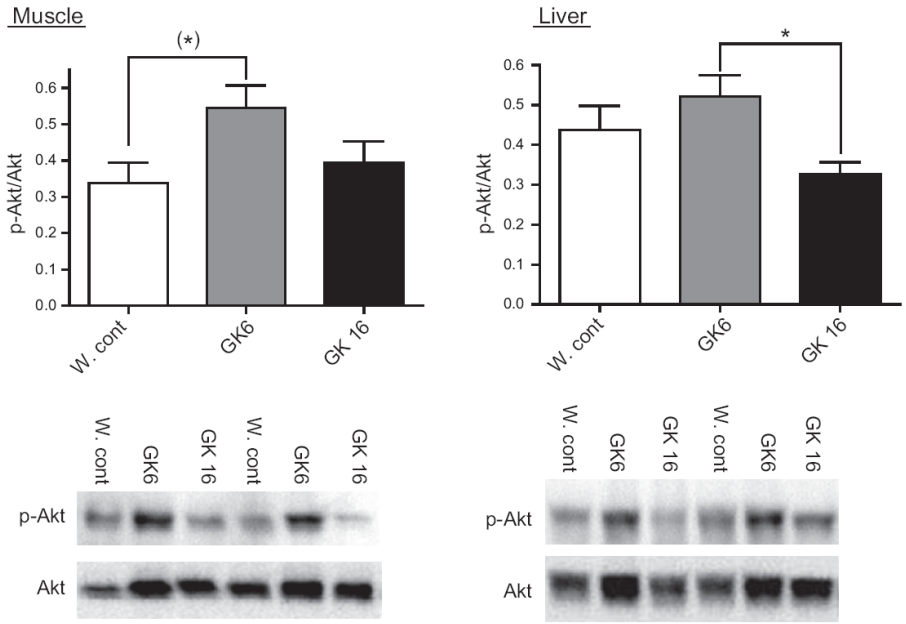
Rats diabétiques avec :

- hyper glycémie
- Hyper insulinémie puis carence
- Hyper triglycéridémie

- Sans obésité

Goto-Kakizaki (GK) Rat

Signalisation de l'insuline



Am J Physiol Endocrinol Metab. 2012 Aug **Progression of type 2 diabetes in GK rats affects muscle and liver mitochondria differently: pronounced reduction of complex II flux is observed in liver only.** Jørgensen W,

→ Défaut de signalisation de l'insuline au niveau hépatique et musculaire associé à une altération de la fonction mitochondriale hépatique plus précoce.

→ Implication du complexe II

Fonction mitochondriale

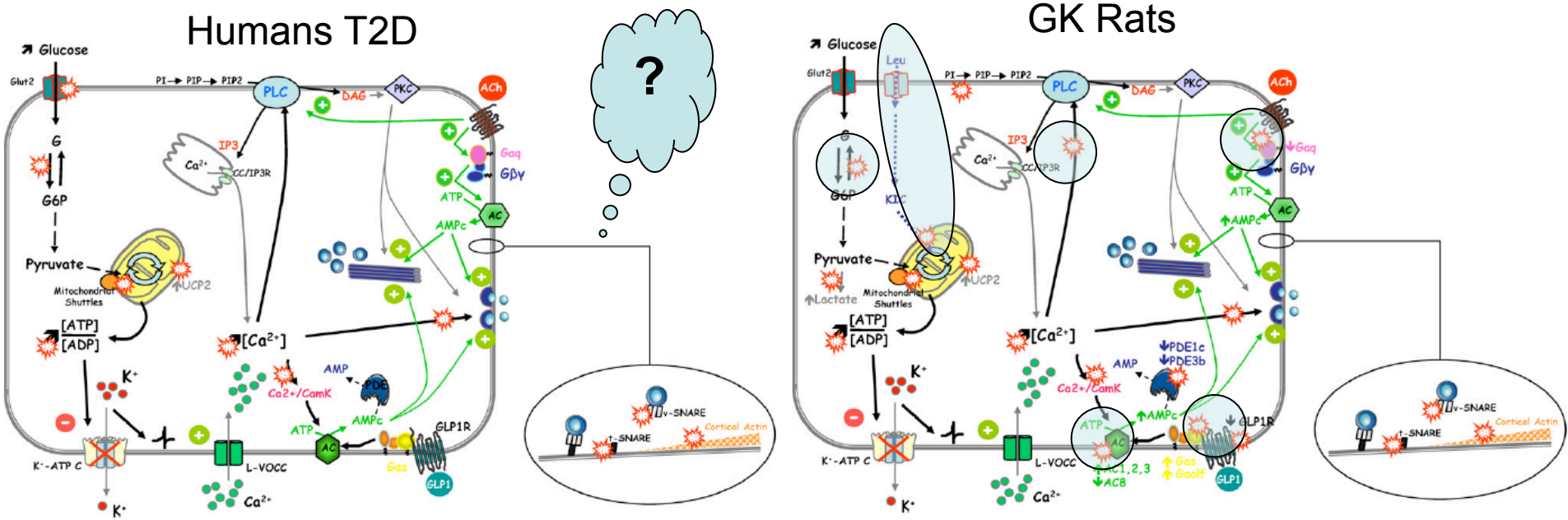
Substrate		Wistar (16 wk)	GK6	GK16
Succinate effect (Vo_{2max}; state 3)				
Malate + pyruvate		48.8 ± 7.8^{a}	$65.9 \pm 3.3^{a*}$	$58.4 \pm 5.6^{a*(\dagger)}$
Malate + PC		30.9 ± 8.4^{b}	$45.9 \pm 6.8^{b*}$	38.4 ± 4.0^{b}
Malate + pyruvate + PC		47.6 ± 5.5^{a}	$53.8 \pm 4.5^{c*}$	51.2 ± 3.6^{c}
Succinate effect (Vo_{2max}; state 3)				
Malate + pyruvate		34.2 ± 2.9^{a}	41.7 ± 4.7^{a}	$49.4 \pm 9.2^{a*}$
Malate + PC		23.4 ± 4.3^{b}	$10.5 \pm 13.0^{b*}$	$-10.5 \pm 4.1^{b*\dagger}$
Malate + pyruvate + PC		26.3 ± 3.5^{b}	19.7 ± 6.3^{b}	$17.5 \pm 8.8^{b(*)}$

« The observations support the notion that the pathogenesis of T2DM of the GK rat is initiated in the liver and only later also affects muscle mitochondria (27), and it indicates that a decreased complex II flux, as well as an enhanced respiratory coupling, is involved. » Jørgensen W

Goto-Kakizaki (GK) Rat

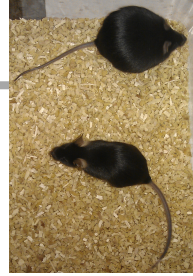
Fonction pancréatique

Mol Cell Endocrinol. 2009 Jan. **The GK rat beta-cell: a prototype for the diseased human beta-cell in type 2 diabetes?** Portha B



Apports	- Identification de 3 loci impliqués dans la perte de la fonction B pancréatique. - Diabète gestationnel induit un défaut de programmation des cellules béta. - Mise en évidence des mécanismes de glucotoxicité sur la prolifération des cellules béta. - Longtemps utilisé par Merck pour le screening de molécules.
Intérêts Avantages	-Bon modèle de DNID sans obésité. - Très bon modèle d'altération de la fonction pancréatique dans le DNID. -Répond au traitement à la troglitazone.
Inconvénients	-Nombreuses sous lignées de rats GK avec de fortes variabilités. - Lignée interdite à la reproduction (sous licence).

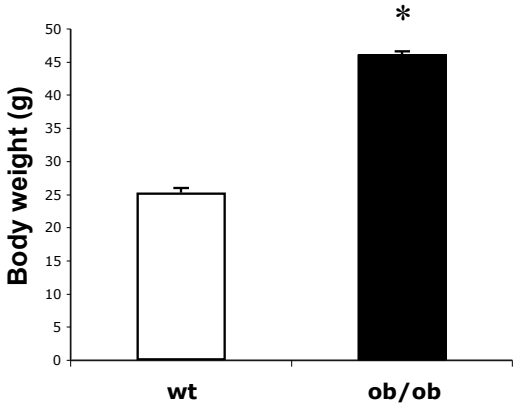
Souris ob/ob B6.V-*Lepob*/J



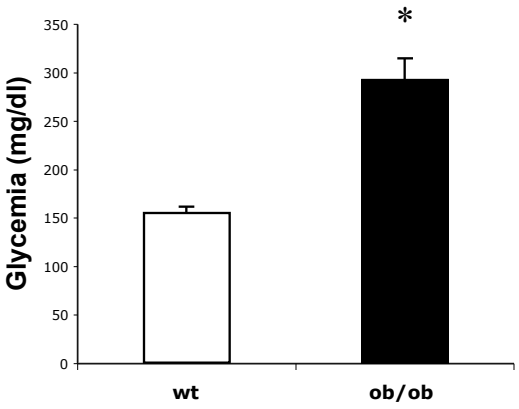
2839 références (1975-2012) environ 150/an

Une souris hyperphage, obèse, hyperinsulinémique et hyperglycémique,

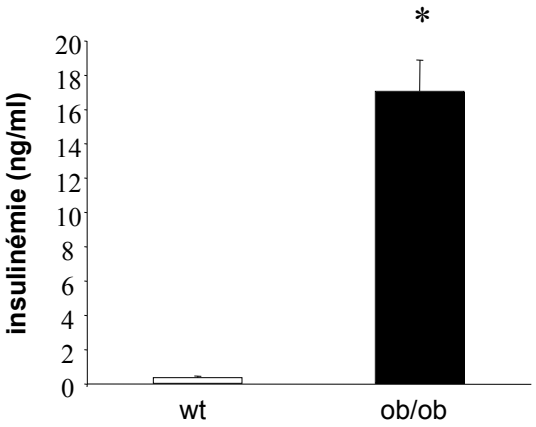
Poids



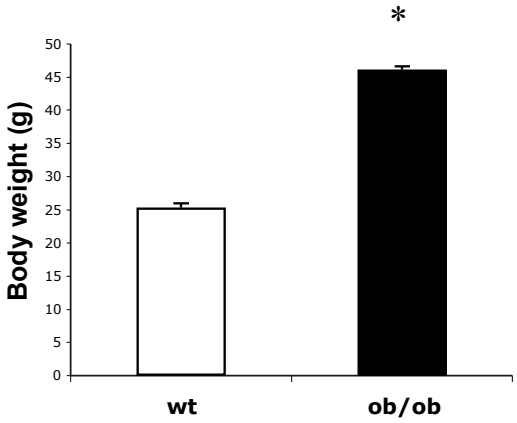
Glycémie



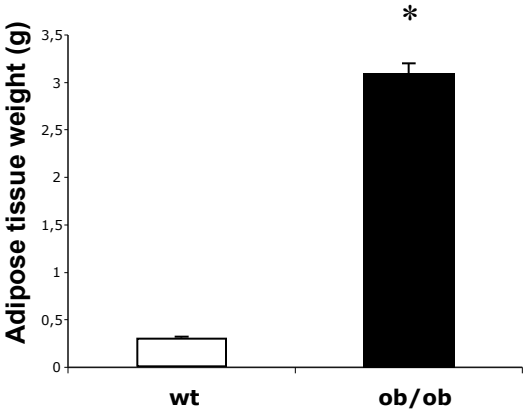
Insulinémie



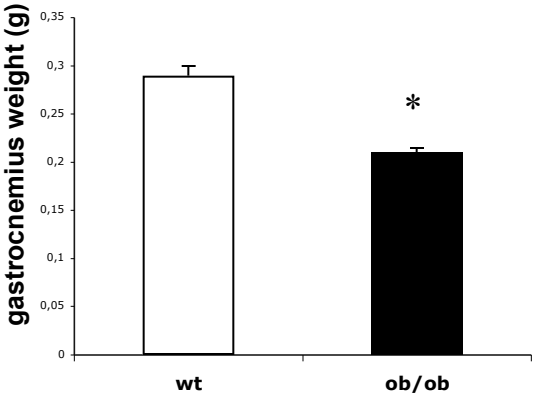
Poids foie



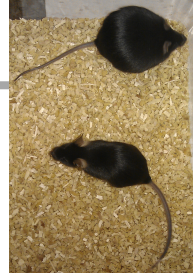
Poids TA



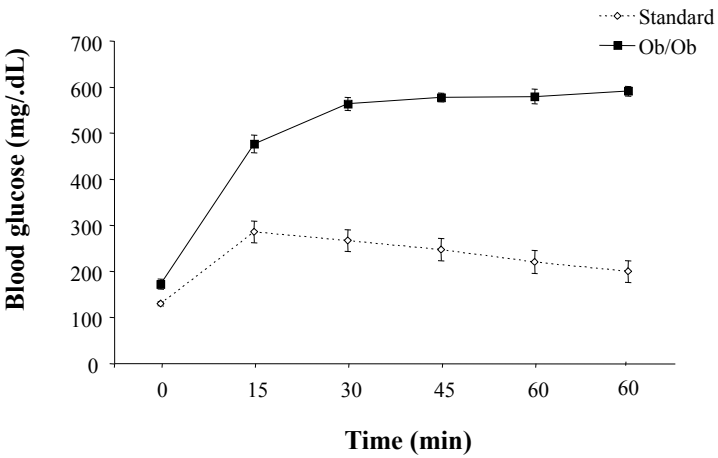
Poids muscle



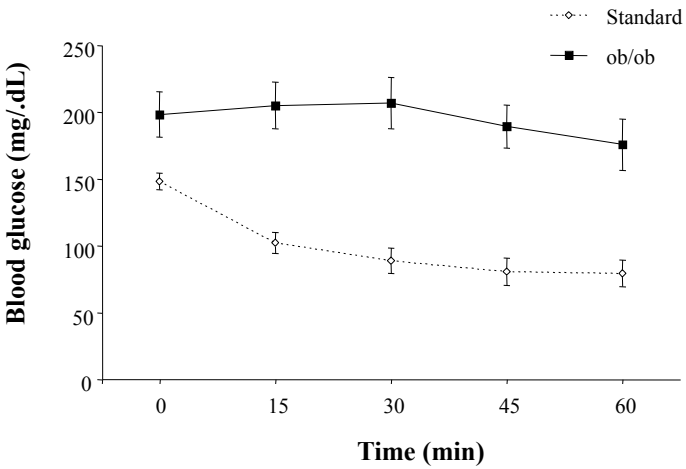
Souris ob/ob B6.V-*Lepob*/J



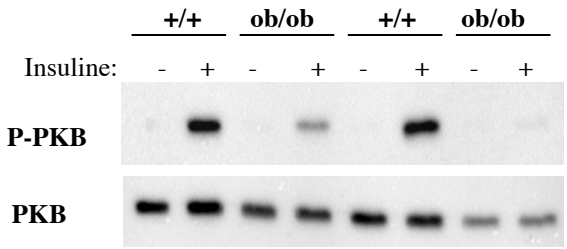
GTT

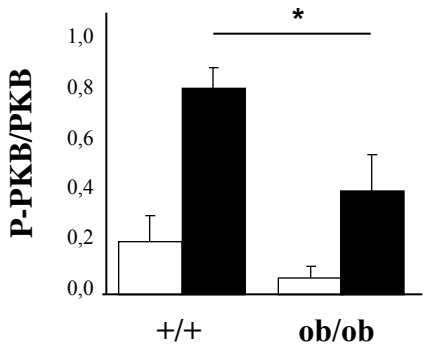


ITT

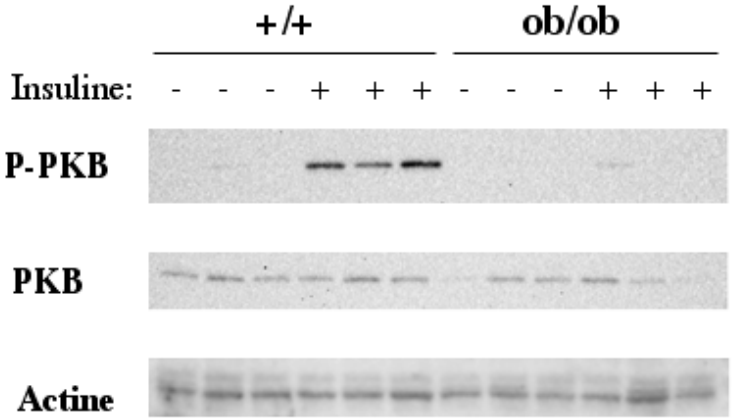


Signalisation hépatocytes primaires



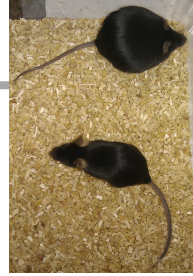


Signalisation muscle ex-vivo

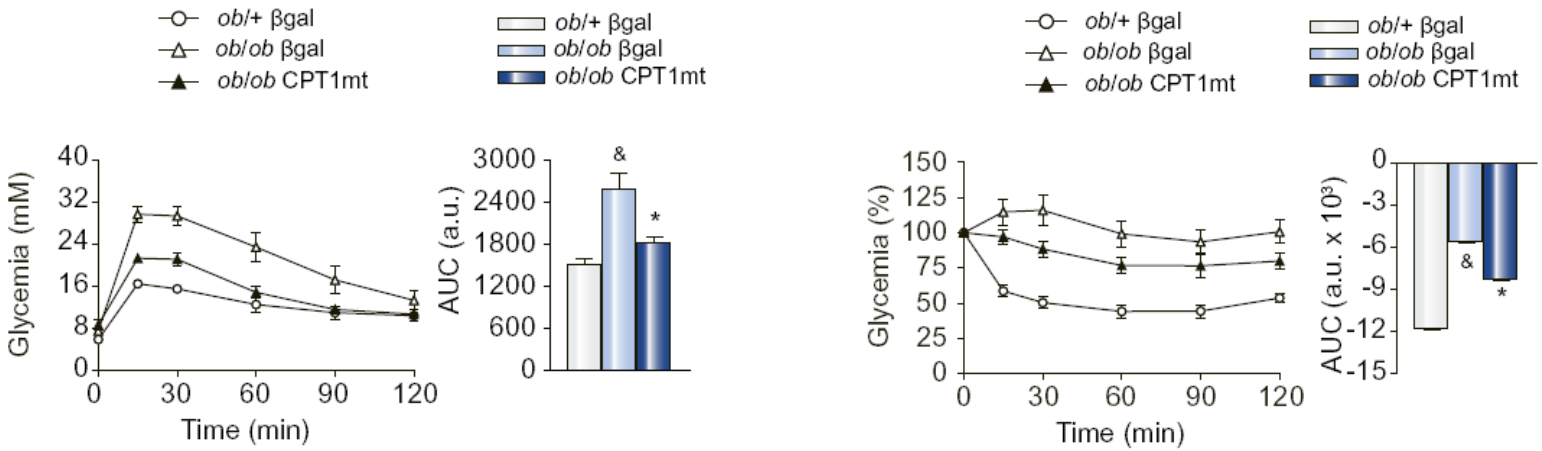


Insulino résistance : défauts de signalisation

Souris ob/ob B6.V-*Lepob*/J



Liver CPT1mt expression decreases glucose intolerance and IR in obese mice.



J Hepatol. 2012 **Enhancing liver mitochondrial fatty acid oxidation capacity in obese mice improves insulin sensitivity independently of hepatic steatosis.** Monsénégo J,

Apports	- Nombreuses études - Altération des voies de signalisation de l'insuline au niveau hépatique et musculaire. - Intéressant pour étudier les mécanismes impliqués dans la voie de signalisation de la leptine en particulier au niveau neuronal. -Mise en évidence d'altération de l'autophagie et d'un stress du RE au niveau pancréatique et hépatique - Screening de nouvelles molécules pharmacologiques.
Intérêts Avantages	- Bon modèle de DNID associé à une obésité massive. - Modèle standardisé, facile et accessible. - Répond au traitement à la troglitazone, metformine, inhibiteurs des DPP4.
Inconvénients	- Interdiction de reproduire les animaux / Onéreux. -Modification génétique qui perturbe l'animal dès sa naissance (adaptation massive). - Forte obésité associée à une sarcopénie

Les modèles nutritionnels : un outil d'induction du syndrome métabolique par la « malbouffe »

Un retour vers le passé :

En 1942 *Samuels* décrit l'effet d'un régime enrichi en graisse sur la tolérance au glucose.(*Endocrinology* 1942; 31:42-53).

« *Un apport calorique essentiellement basé sur des graisses est capable d'induire un Diabète de Type 2 chez les rongeurs* ».

HF diet → - Hyperglycémie

- Insulinorésistance

Actuellement 1000 références/an (environ 10 000 références)

Les effets physiologiques au niveau musculaire et hépatique sont largement décrits mais contradictoires selon les auteurs. Pourquoi ?

Quelles sont les précautions à prendre ?

High-Fat diet ou High-carbohydrate diet ?

Régimes HF-HFHS : Pourquoi une telle incohérence ?

- L'origine et la quantité des graisses utilisées
- La durée du régime
- La souche utilisée
- L'âge des animaux utilisés

Table 1. Systemic effects of HF diets in rodents

	Citation	Rodent type/strain	Fat type	Energy percentage from fat	Diet length (days)	Effect (%)
Weight	100	Wistar rats	Lard	60	120	+15
	101	Wistar rats	Lard	58	42	+10
	102	Balb/cJ mice	Milk fat	42	136	+11
	103	Long-Evans-rats	Butter	43	75	+10
	81	Lewis rats	Coconut fat	40	70	+16
	104	C57Bl/6 mice	Coconut fat	42	105	+8
	81	Lewis rats	Olive oil	40	70	+8
	104	C57Bl/6 mice	Corn oil	42	105	+11
	81	Lewis rats	Safflower oil	40	70	+19
	1	Wistar rats	Safflower oil	59	21	NC
	23	Wistar rats	Safflower oil	60	300	+28
	81	Lewis rats	Fish oil	40	70	+21
	98	Wistar rats	Fish oil	48*	28	NC
	105	Fischer rats	Fish oil	45	28	−8

Régimes HF-HFHS : Pourquoi une telle incohérence ?

➢ L'origine et la quantité des graisses utilisées

	HF-L	HF-O	HF-C	HF-F	SC
Final weight (g)	606±54*,¶,#	577±54*,#	551±40*,#	428±56*	504±36
Cumulative food intake (MJ)	33±2*,#	33±3*,#	30±3*	27±5	26±2
Liver weight (g)	20·8±3·1*	21·3±3·5*	19·5±4·3	19·9±4·0	17·3±2·6
(% of body weight)	3·4±0·5#	3·7±0·4#	3·5±0·6#	4·7±0·4*	3·5±0·4#
Liver triglyceride (mg/g)	15·8±5·5*,¶,#	14·8±3·7*,¶,#	11·4±3·7*,#	5·0±2·0	4·0±2·4
Plasma characteristics					
Glucose (mmol/l)	5·4±0·7	5·6±0·3*,¶	5·0±0·5	5·0±1·1	5·0±0·3
Triglycerides (mmol/l)	2·1±1·0	2·4±1·3	2·8±1·5*,#	1·1±0·7	1·2±0·4
Free fatty acids (μmol/l)	0·63±0·19	0·72±0·16#	0·72±0·20	0·51±0·11	0·53±0·16
Creatinine (μmol/l)	26·5±2·7	25·6±3·5	25·6±3·5	23·0±3·5	25·6±2·7
AST (IU/l)	119±59	127±38	140±68	87±31	124±37
ALT (IU/l)	48±3#	57±19	46±5*,#	64±6	71±25
Insulin (pmol/l)	780±230*,#	654±270	762±277	539±318	577±223
Glucagon (nmol/l)	0·81±0·09*	0·72±0·19	0·69±0·19	0·62±0·24	0·48±0·29
Adiponectin (μg/l)	4902±1154*	4612±944*	5588±932	5628±954	6253±818
HOMA index	27·2±8·0*	23·8±10·1	24·8±10·3	18·4±15·0	19·0±8·5

Defining high-fat-diet rat models: metabolic and molecular effects of different fat types
R Buettner *Journal of Molecular Endocrinology* (2006) **36,** 485–501

Seul le régime HF-L induit une réelle IR périphérique

Rats Wistar, régime de 12 semaines

Régimes HF-HFHS : Pourquoi une telle incohérence ?

➢ Le type d'acides gras

	Weight	Fasting glucose	Plasma insulin	Glucose disposal
SFA				
Lauric acid	0·15	−0·09	0·16	−0·11
Myristic acid	0·09	−0·17	0·03	−0·16
Palmitic acid	0·44*	0·29	0·06	0·28
Stearic acid	0·56*	0·33	0·29	0·4*
Sum	**0·34***	**0·08**	**0·14**	**0·07**
MUFA				
Palmitoleic acid	−0·34	−0·41*	−0·45*	−0·13
Oleic acid	0·29	0·34	0·01	0·43*
Sum	**0·21**	**0·25**	**−0·08**	**0·39***
PUFA				
Linoleic acid	0·09	0·17	0·03	−0·07
Linolenic acid	−0·02	0·08	−0·08	−0·12
Arachidonic acid	0·70*	0·65*	0·53*	0·48*
Eicosapentaenoic acid	−0·72*	−0·38*	−0·30	−0·33
Docosahexaenoic acid	−0·58*	−0·26	−0·23	−0·08
Sum	**0·17**	**0·29**	**0·13**	**0·04**
Sum ω-6	**0·29**	**0·34**	**0·18**	**0·08**
Sum ω-3	**−0·64***	**−0·26**	**−0·30**	**−0·22**

SFA: saturated fatty acids; MUFA: monounsaturated fatty acids; PUFA: polyunsaturated fatty acids.
n=6 in all diet groups. *$P < 0·05$.

Defining high-fat-diet rat models: metabolic and molecular effects of different fat types
R Buettner

Journal of Molecular Endocrinology (2006) **36,** 485–501

Corrélation de Pearson entre les taux d'acides gras circulants et les paramètres métaboliques

Exemple régime HFAT Wistar

J Hepatol. 2011 **Effects of a high-fat diet on energy metabolism and ROS production in rat liver.**
Vial G, Leverve XM.

Rats Wistar de 8 semaines soumis à HF-L 8 semaines / A04

50 % saindoux
+ 4% huile de soja

SAFE
Scientific Animal Food & Engineering

U8954 version 5

	CHO	HFAT
Protéines (g/100g)	16.1	31.5
Lipides (g/100g)	3.1	**54**
Glucides (g/100g)	60	7

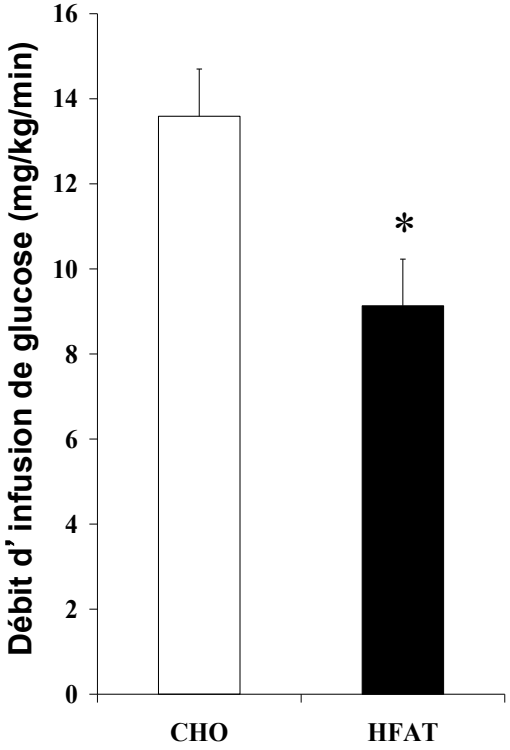
Profil d'acides gras défini :

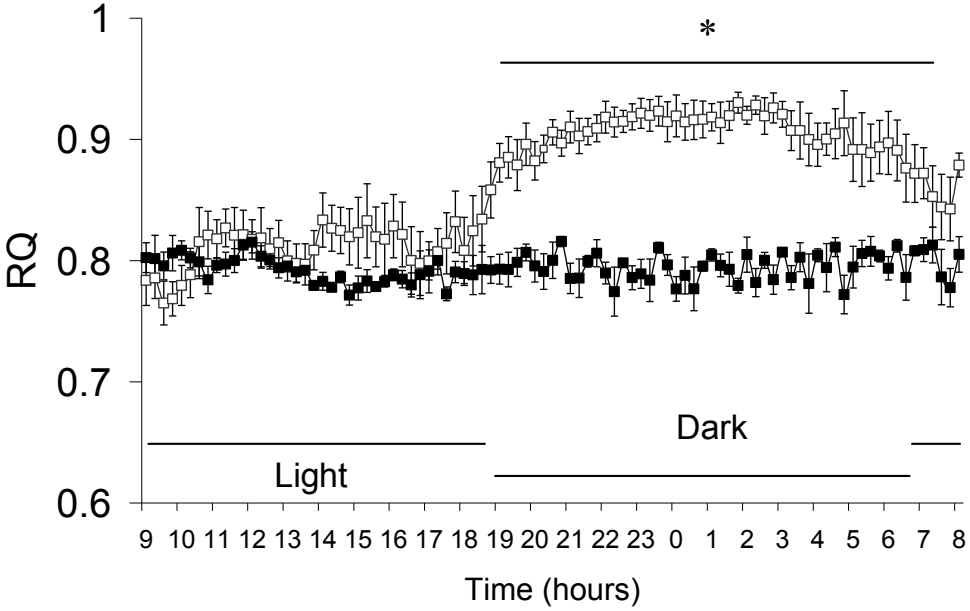
AG %	CHO	HFAT
14 :0	0.6	1.3
16 :1 n-9	0.1	0.3
16 :1 n-7	0.6	2.3
16 :0	19.6	23.1
18 :3 n-6	nd	nd
18 :3 n-3	4.2	1.2
18 :2 n-6	50.8	13.7
18 :1 n-9	1.2	39.6
18 :1 n-7	15.5	3.4
18 :0	1.9	11.8
20 :5 n-3	0.7	nd
20 :4 n-6	0.2	0.2
20 :3 n-6	nd	0.1
20 :3 n-3	nd	0.1
20 :1 n-9	1.0	0.8
20 :1 n-7	nd	nd
20 :0	0.2	0.2
22 :6 n-3	1.1	nd
22 :5 n-3	0.2	0.1
22 :5	nd	nd
22 :4 n-6	nd	0.1
somme (n-3) %	**6.2**	**1.4**
somme (n-6) %	**51.0**	**14.1**
(n-3)/(n-6)	**0.12**	**0.10**
Somme MUFA %	**18.4**	**46.4**
saturated fatty acid %	**22.3**	**36.4**
Total AG g/100g food	**3.1**	**54.4**

Régime HFAT Wistar

- **20 rats Wistar**
- **8 semaines de régime standard (CHO) ou enrichi en graisses (HFAT)**

	CHO	HFAT
Protéines (g/100g)	16.1	31.5
Lipides (g/100g)	3.1	**54**
Glucides (g/100g)	60	7



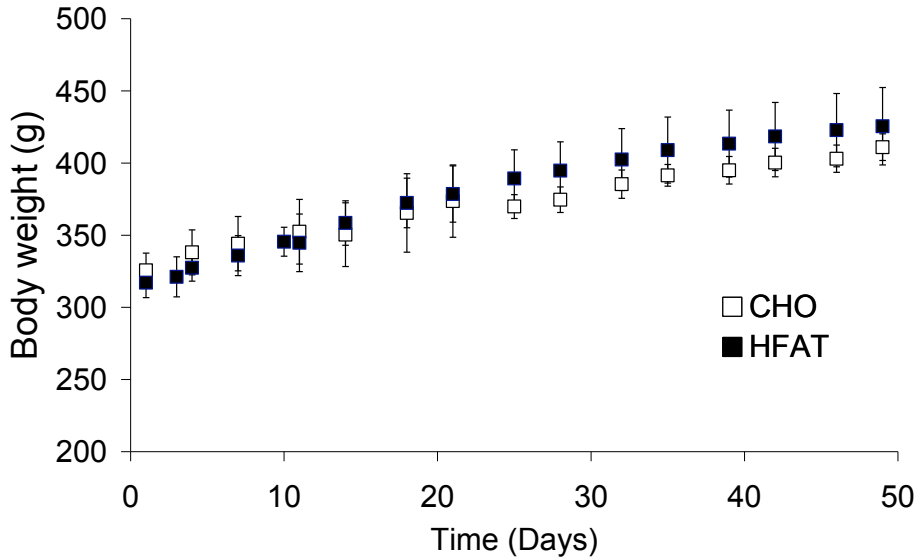


- **Le régime induit un état d' insulinorésistance**
- **Perte de flexibilité métabolique**

J Hepatol. 2011 **Effects of a high-fat diet on energy metabolism and ROS production in rat liver.**
Vial G, Leverve XM.

Régime HFAT Wistar

- **20 rats Wistar**
- **8 semaines de régime standard (CHO) ou enrichi en graisses (HFAT)**



- **Masses corporelles identiques**

	Liver				Adipose tissues		
	Weight (g)	Proteins (mg/g)	F.A. (mg/g)	Glycogen (mg/g)	MT weight (g)	RP weight (g)	EP weight (g)
CHO	12.3 ± *0.79*	194.5 ± *5.8*	27.7 ± *1.3*	55.4 ± *2.8*	6.9 ± *0.49*	4.9 ± *0.49*	4.8 ± *0.45*
HFAT	12.2 ± *0.45*	187.4 ± *9.1*	78.0 ± *6.8* *	28.4 ± *0.7* *	9.8 ± *0.70* *	9.9 ± *0.95* *	8.4 ± *0.65* *

- **Accumulation de graisse au niveau hépatique**

J Hepatol. 2011 **Effects of a high-fat diet on energy metabolism and ROS production in rat liver.**
Vial G, Leverve XM.

Effet du régime HFAT sur les compositions lipidiques

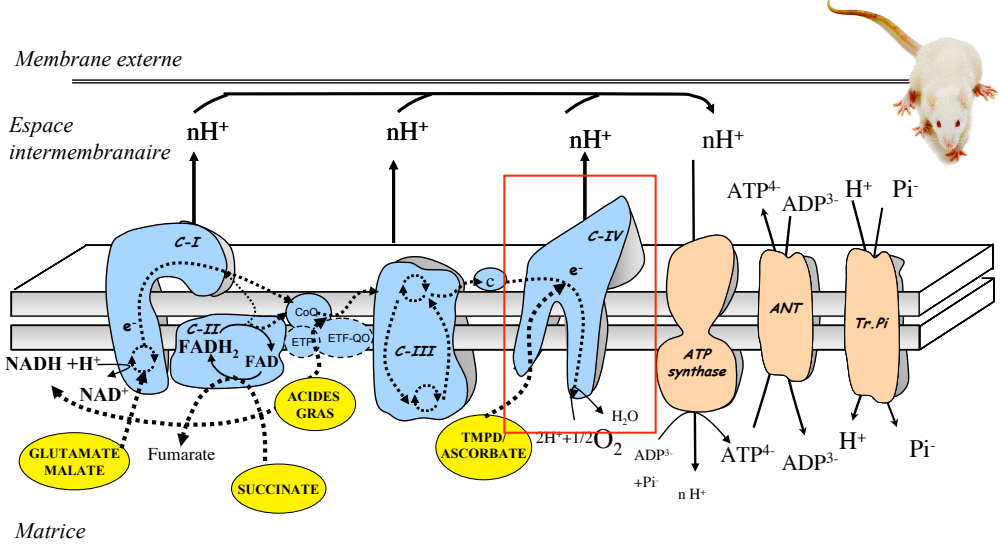
Table 1. Plasma, liver, and isolated liver mitochondria fatty acids compositions are altered by a HF diet. Values are expressed as relative amounts of the total fatty acids content from $n = 6$ in C group and $n = 10$ in HF group. Grand totals are expressed in ng/µL for plasma, in ng/µg for liver, and in ng/mg protein for mitochondria.

Fatty acids (%)	Plasma	
	C	HF
14:0	0.84 ± 0.06	0.36 ± 0.01*
16:0	29.8 ± 1.46	21.5 ± 0.20*
16:1 n-7	3.14 ± 0.52	0.63 ± 0.01*
16:1 n-9	0.33 ± 0.01	0.17 ± 0.00*
18:0	6.8 ± 0.23	16.0 ± 0.49*
18:1 n-7	3.37 ± 0.21	1.48 ± 0.02*
18:1 n-9	12.6 ± 0.80	20.3 ± 0.60*
18:2 n-6	25.0 ± 1.89	18.6 ± 0.41*
18:3 n-3	0.81 ± 0.06	0.30 ± 0.02*
18:3 n-6	0.06 ± 0.00	0.04 ± 0.00*
20:0	0.10 ± 0.01	0.06 ± 0.00*
20:1 n-7	0.44 ± 0.14	0.07 ± 0.01*
20:1 n-9	0.26 ± 0.02	0.26 ± 0.01
20:3 n-3	0.43 ± 0.02	0.31 ± 0.01*
20:3 n-6	0.65 ± 0.02	1.12 ± 0.04*
20:4 n-6	11.3 ± 0.72	17.0 ± 0.66*
20:5 n-3	0.70 ± 0.04	0.14 ± 0.01*
22:4 n-6	0.21 ± 0.02	0.29 ± 0.01*
22:5 n-3	0.09 ± 0.01	0.04 ± 0.00*
22:5 n-6	0.46 ± 0.05	0.29 ± 0.02*
22:6 n-3	1.98 ± 0.14	0.92 ± 0.05*
Total n-3 FA (%)	4.05 ± 0.21	1.73 ± 0.05*
Total n-6 FA (%)	37.2 ± 2.47	37.0 ± 0.65
(n-3)/(n-6)	0.11 ± 0.01	0.05 ± 0.00*
Total MUFA (%)	20.6 ± 1.31	23.0 ± 0.62
Total SFA (%)	37.7 ± 1.41	38.0 ± 0.05
Grand Total #	2427 ± 348	3202 ± 137

*Significantly different between C and HF ($p < 0.05$).

J Hepatol. 2011 Vial G, Leverve XM.

Effet du régime HFAT sur la respiration mitochondriale



➢ **Le régime HFAT inhibe la respiration mitochondriale**

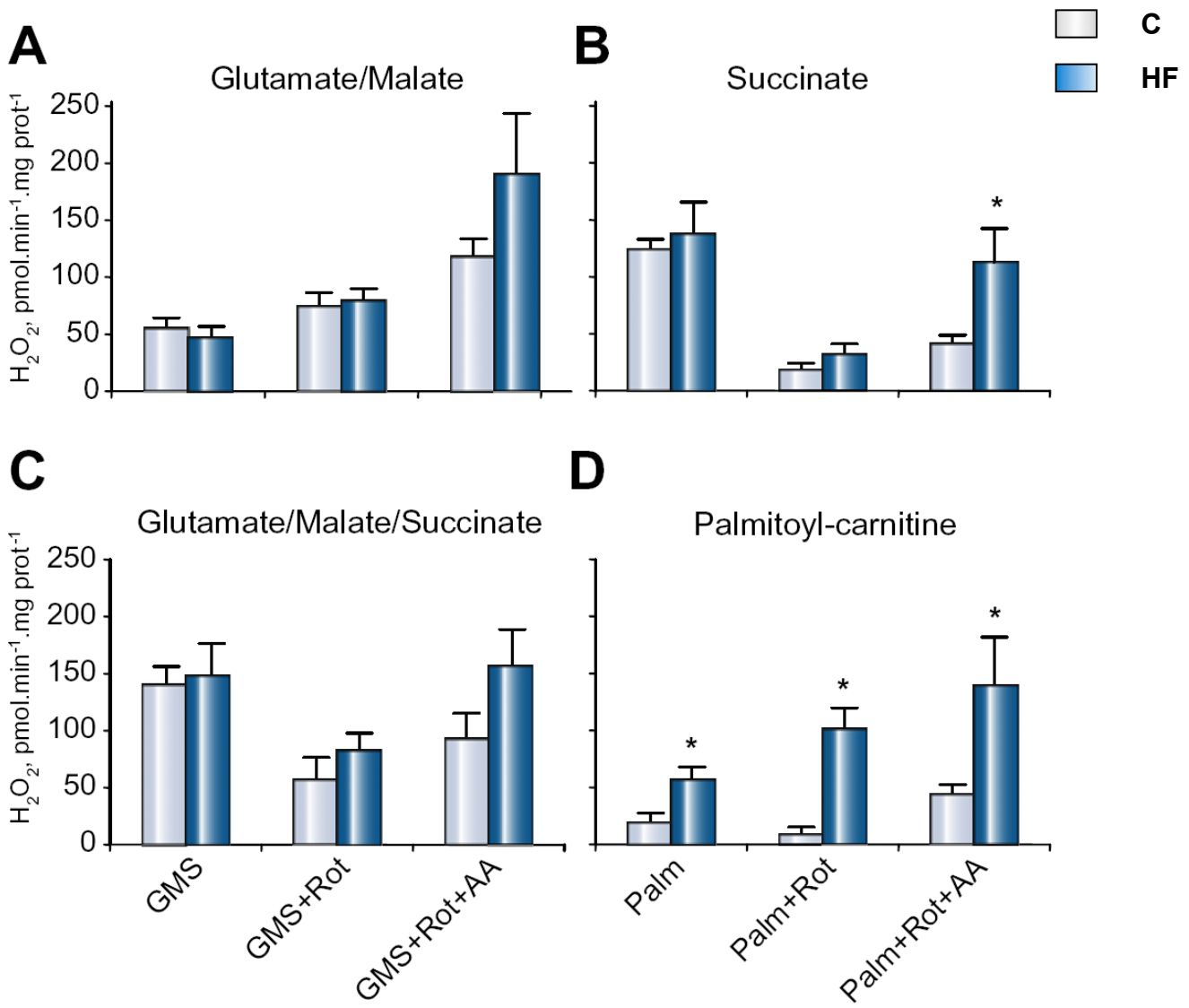
		C		HF
Glut/Mal	State 3	121.0 ± 8.9	↘	110.6 ± 13.5
	State 4	6.4 ± 0.9		12.6 ± 2.8 *
Succinate	State 3	165.8 ± 11.7	↘	91.9 ± 8.1 *
	State 4	13.8 ± 2.0		15.4 ± 3.0
Glut/Mal + Succinate	State 3	159.4 ± 13.4	↘	81.1 ± 9.3 *
	State 4	17.1 ± 1.9		18.4 ± 2.5
Palmitoyl-carnitine	State 3	92.8 ± 4.8	↘	69.7 ± 10.0 *
	State 4	12.5 ± 1.2		13.7 ± 3.5
TMPD/Asc/DNP		174.9 ± 9.1	↘	112.2 ± 20.2 *

-36%

*Significantly different between C and HF (p <0.05).

J Hepatol. 2011 Vial G, Leverve XM.

Effet du régime HFAT sur la production d' H_2O_2



➢ **Le régime HFAT augmente la production mitochondriale d'H_2O_2**

J Hepatol. 2011 Vial G, Leverve XM.

Effet du régime HFAT sur le métabolisme hépatocytaire

J Hepatol. 2011 Vial G, Leverve XM.

La périfusion

Glycérol

Octanoate

Consommation d'oxygène

500

Hépatocytes isolés

95% O_2

5% CO_2

- Glucose
- Lactate
- Pyruvate
- Corps cétoniques

Flux permanent de liquide de périfusion

→ Concentrations stables des substrats

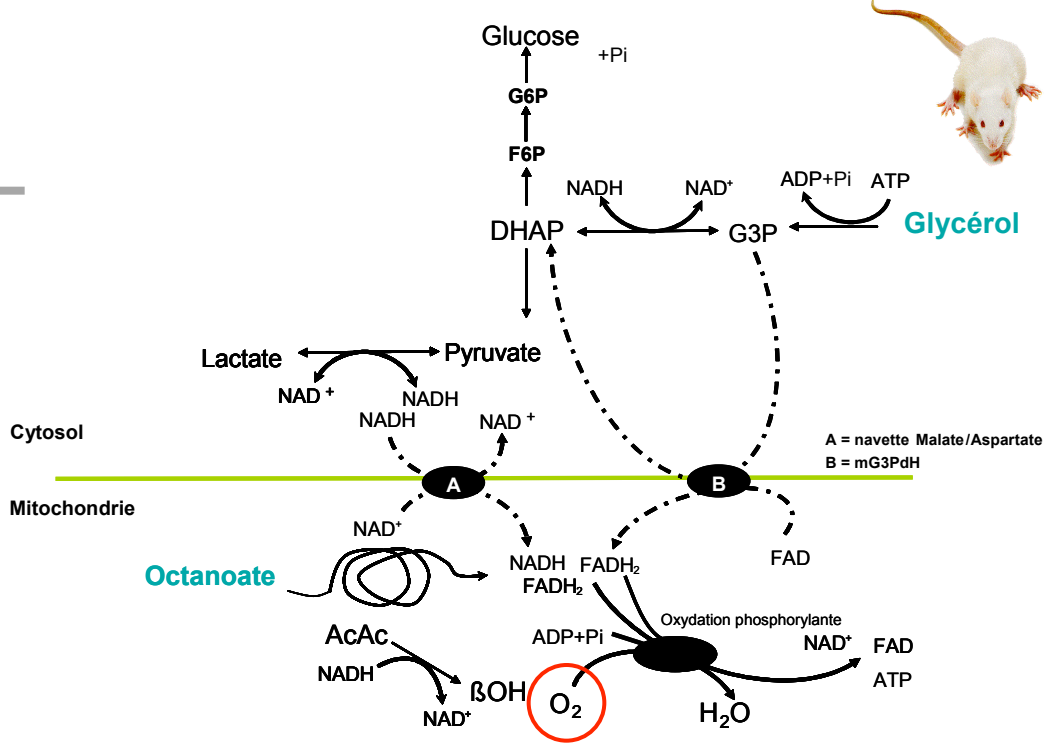
→ Pas d'accumulation des produits

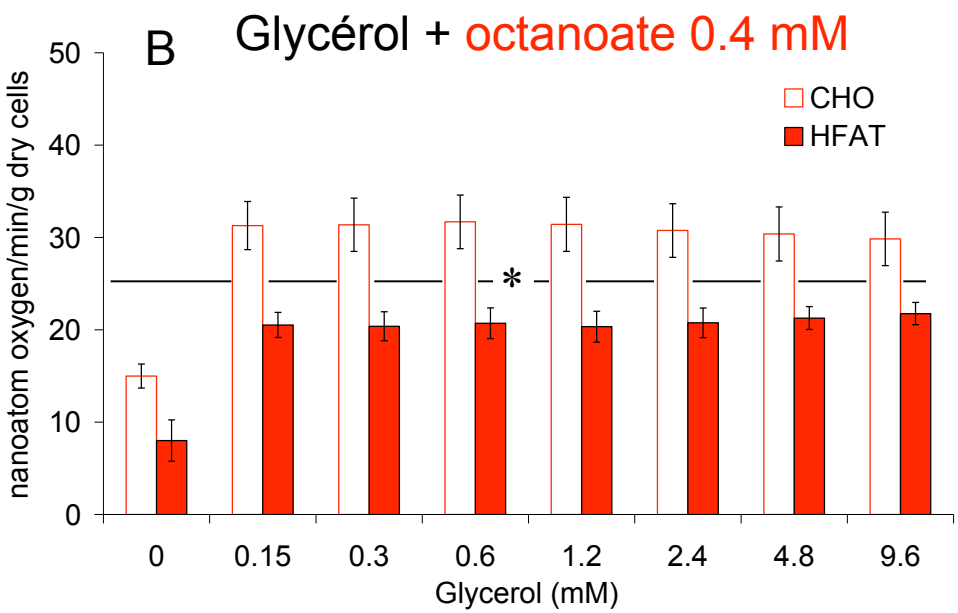
→ État stationnaire métabolique

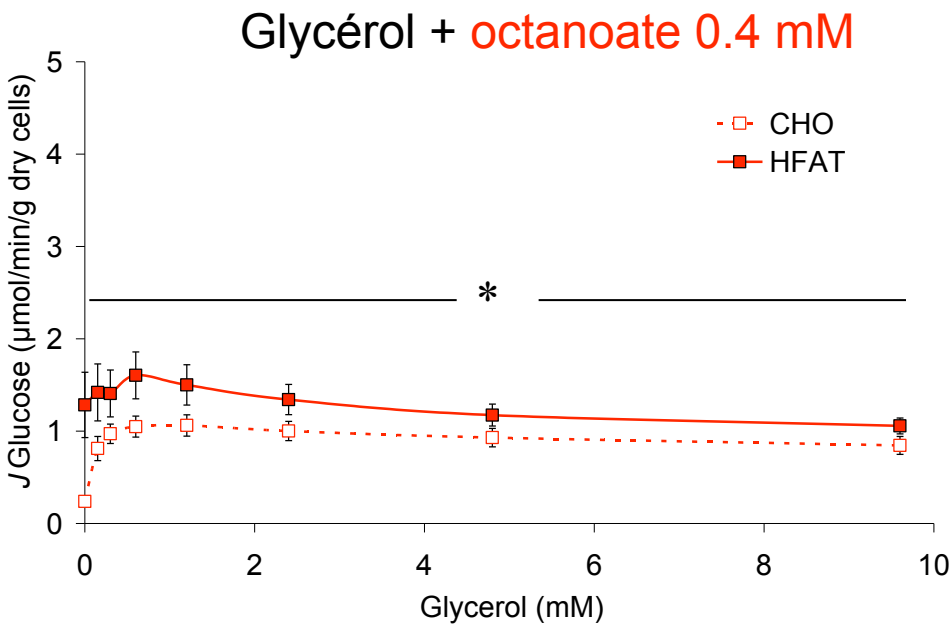
Effet du régime HFAT sur la respiration hépatocytaire

J Hepatol. 2011 Vial G, Leverve XM.

➢ **Le régime HFAT inhibe la respiration cellulaire et augmente la production hépatique de glucose**

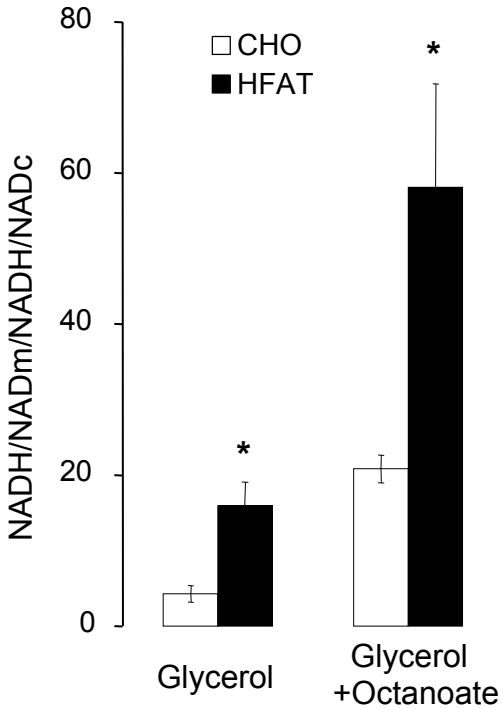




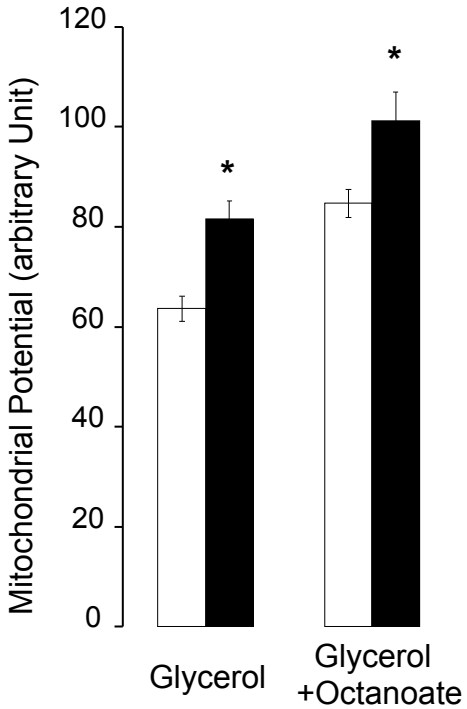


Le potentiel membranaire mitochondrial : point de contrôle du système

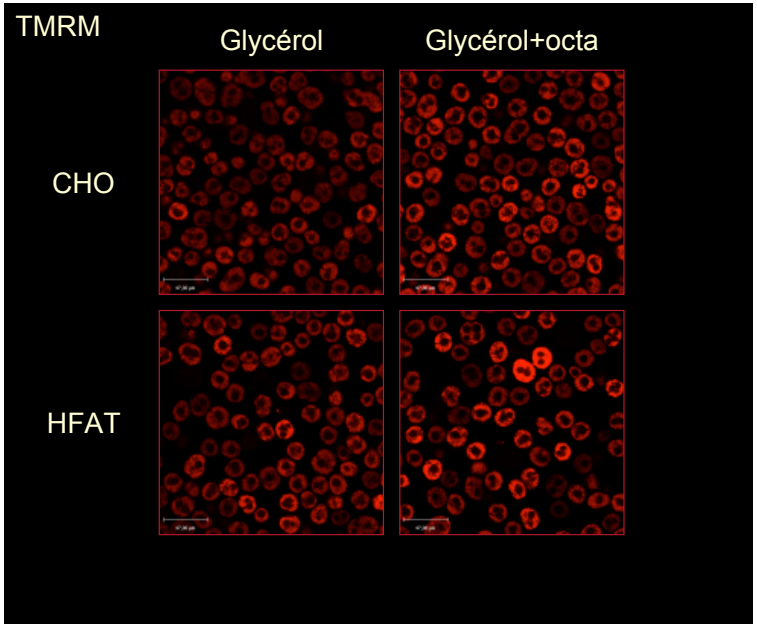
Périfusion



Cytométrie en flux



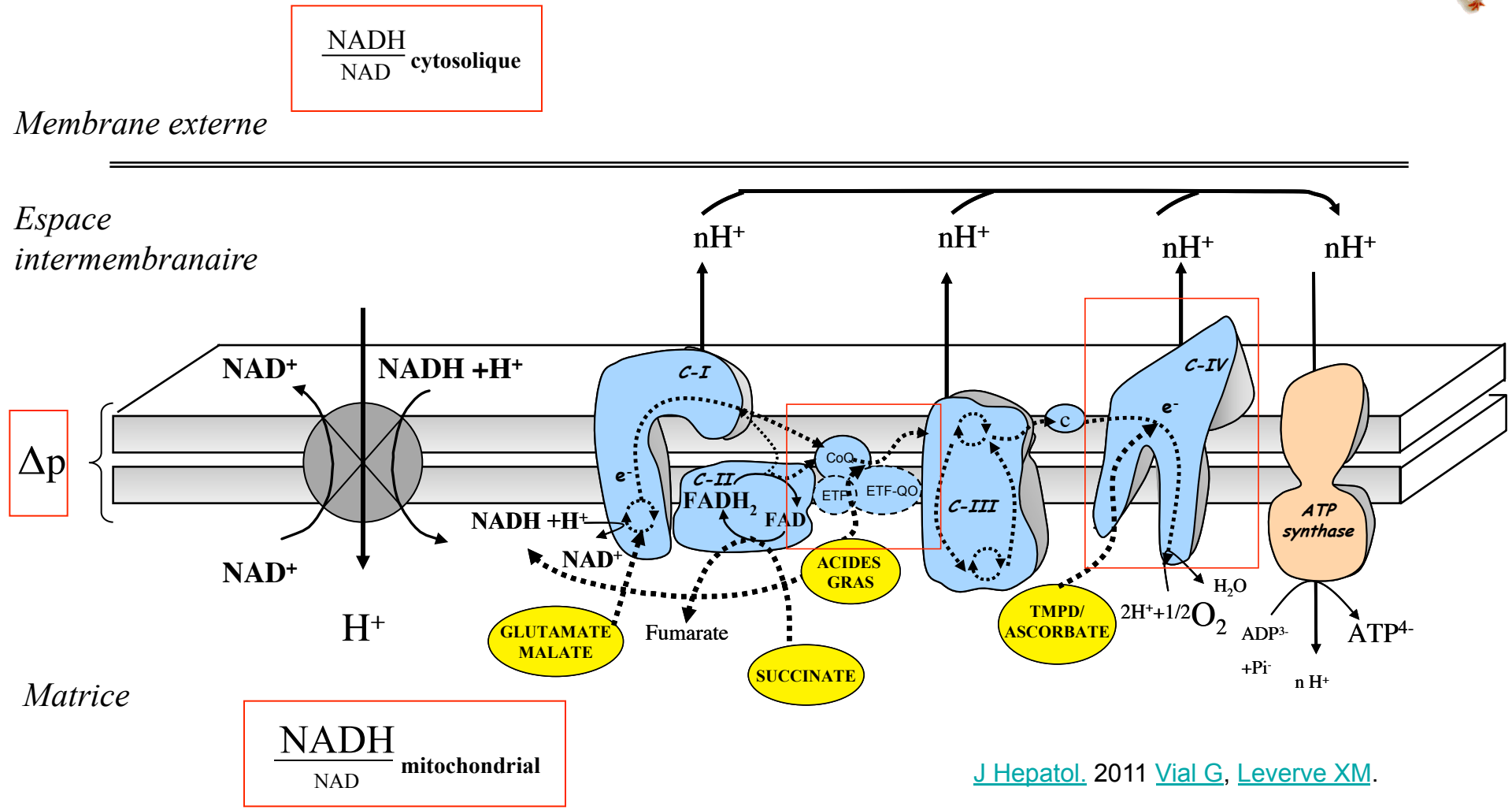
Microscopie confocale



J Hepatol. 2011 Vial G, Leverve XM.

➢ Le régime HFAT induit une augmentation du potentiel membranaire mitochondrial

Conclusion : effets du régime HFAT sur la mitochondrie



J Hepatol. 2011 Vial G, Leverve XM.

Conclusion : effets du régime HFAT sur les flux métaboliques

Altération de la fonction mitochondriale

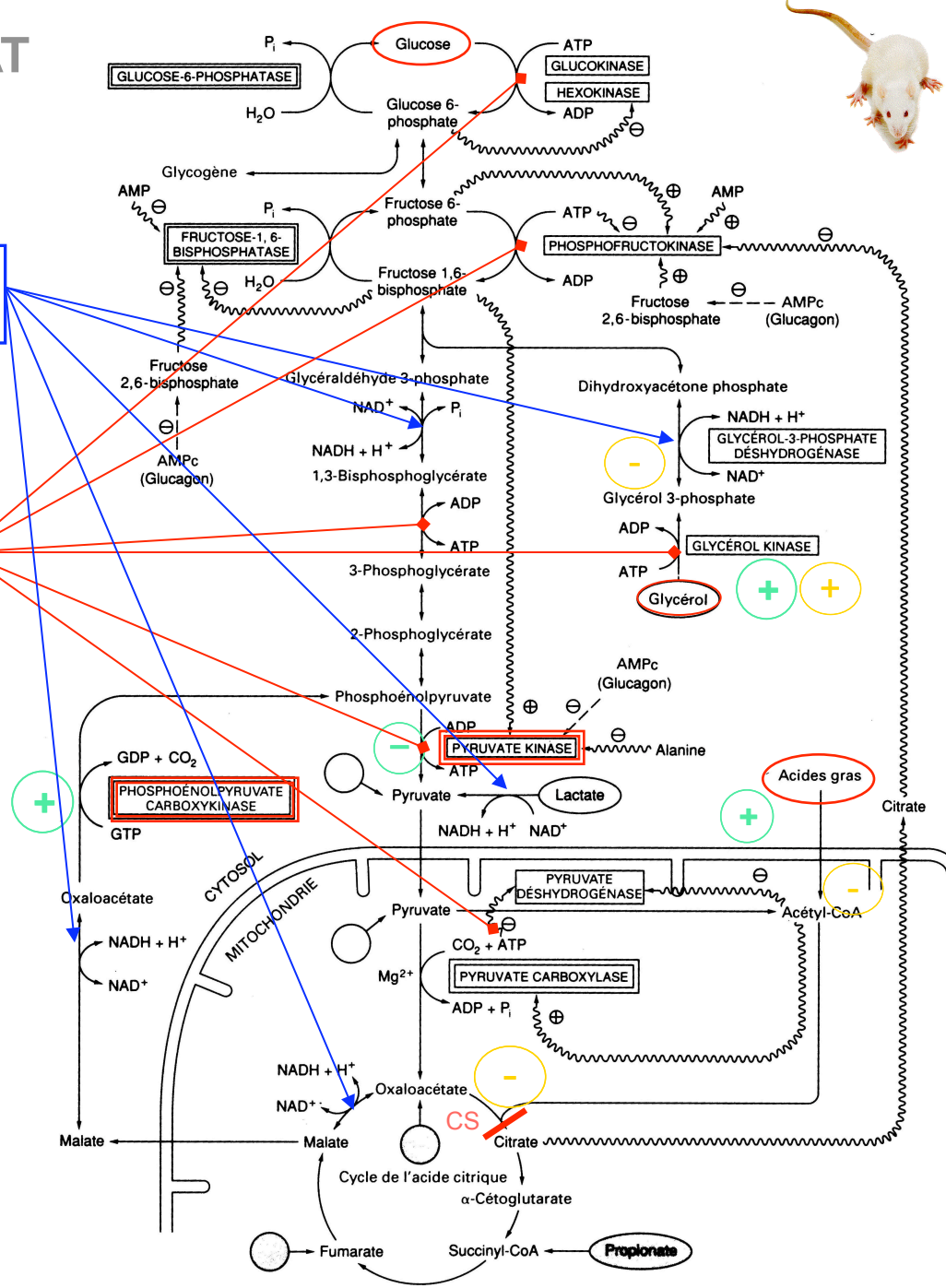
Changement de potentiel

Diminution de la production d'ATP

ROS ?

Modifications d'activité enzymatiques

Effets génomiques



Conclusion :

Les effets nutritionnels induits par le régime HFAT sont complexes et agissent à tous les niveaux de régulation.

Régime HFAT

Apports	- Troubles hépatiques associés à une altération de fonction mitochondriale hépatique et musculaire caractérisées par des altérations structurelles, des modifications de potentiels rédox responsables de réorientation des flux métaboliques. - Présence de ER stress.
Intérêts Avantages	-Bon modèle nutritionnel correspondant assez bien à la pathologie humaine. - Peu de prise de poids malgré une augmentation de la masse grasse.
Inconvénients	-Modèle peu standardisé à caractériser systématiquement. -Chronophage -Echappement de 20-30% des animaux.

Conclusions

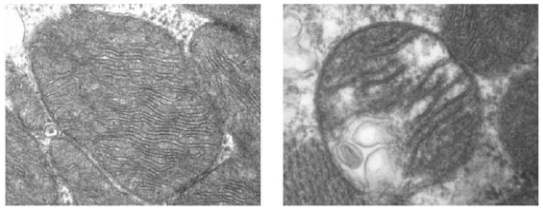
Les modèles animaux d'obésité et diabète de type 2 se sont fortement adaptés à la pathologie aux cours des années. Ils ont permis des avancées considérables dans le domaine.

- Découverte des régulations et des interactions fines des voies de signalisation de l'insuline et de la leptine en particulier.

- Importance des mitochondries dans la pathologie.

- Existence du stress du RE et de l'autophagie.

- Identification de gènes de susceptibilité.



Quel modèle choisir ? **Quel est l'organe ciblé ?** **Peut-on le caractériser ?**

Laboratoire de Recherche en
Cardiovasculaire, Métabolisme, Diabétologie et Nutrition

Institut national
de la santé et de la recherche médicale

CarMeN - Unité INSERM U1060/ INRA 1235/ Université-Lyon1/ INSA-Lyon

Hubert Vidal

Equipe 3 :
« Glucolipotoxicité, stress métaboliques et diabètes »
dirigée par **Jennifer Rieusset et Charles Thivolet**

FONDATION
RECHERCHE
MÉDICALE

Fresenius
Kabi

Pr. Xavier Leverve