



**HAL**  
open science

## Les acides gras $\omega$ 3 a longue chaîne réduisent la lipotoxicité induite par le palmitate en modifiant son métabolisme et son stockage dans la cellule musculaire c2c12

Alexandre A. Pinel, Jean-Paul Rigaudière, Brigitte Laillet, Corinne Pouyet, Estelle Pujos-Guillot, Corinne Malpuech Brugere, V Lenoir, C Prip-Buus, Béatrice Morio, Frédéric Capel

### ► To cite this version:

Alexandre A. Pinel, Jean-Paul Rigaudière, Brigitte Laillet, Corinne Pouyet, Estelle Pujos-Guillot, et al.. Les acides gras  $\omega$  3 a longue chaîne réduisent la lipotoxicité induite par le palmitate en modifiant son métabolisme et son stockage dans la cellule musculaire c2c12. Journées scientifiques de l'Institut Multidisciplinaire de Biochimie des Lipides, Institut Multidisciplinaire de Biochimie des Lipides (IMBL). Villeurbanne, FRA., Jun 2014, Lyon, France. hal-02743753

**HAL Id: hal-02743753**

**<https://hal.inrae.fr/hal-02743753>**

Submitted on 3 Jun 2020

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



**Journées scientifiques de l' Institut Multidisciplinaire de Biochimie des Lipides, 2014**

# **LES ACIDES GRAS $\omega$ 3 A LONGUE CHAÎNE REDUISENT LA LIPOTOXICITE INDUITE PAR LE PALMITATE EN MODIFIANT SON METABOLISME ET SON STOCKAGE DANS LA CELLULE MUSCULAIRE C2C12.**

**A. Pinel<sup>1,2</sup>, J-P. Rigaudière<sup>1,2</sup>, B. Laillet<sup>1,2</sup>, C. Pouyet<sup>1,3</sup>, E. Pujos<sup>1,3</sup>, C. Malpuech-Brugère<sup>1,2</sup>, V. Lenoir<sup>4</sup>, C. Prip-Buus<sup>4</sup>, B. Morio<sup>1,2</sup>, F. Capel<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Institut National de la Recherche Agronomique, centre de Clermont-Ferrand Theix Lyon, Unité de Nutrition Humaine UMR1019.

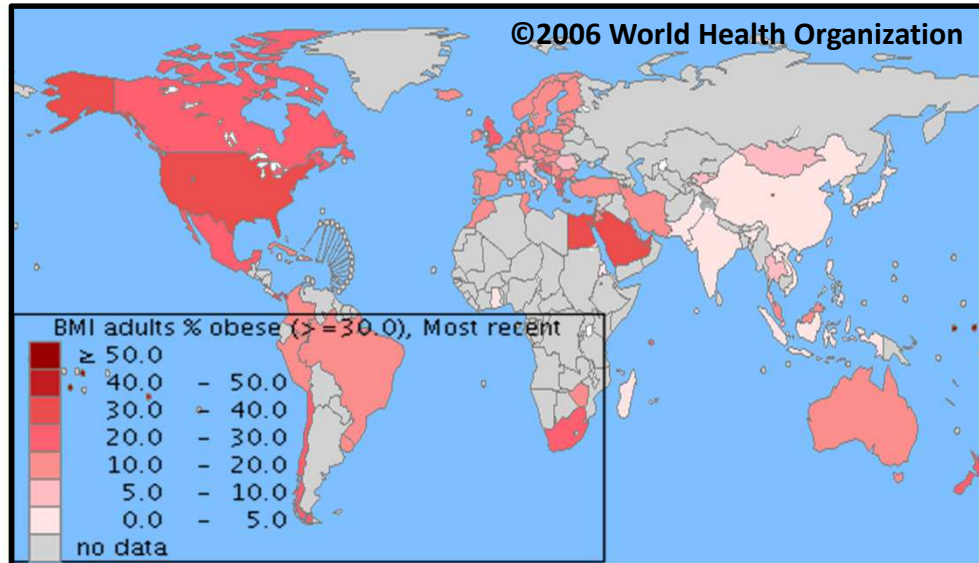
<sup>2</sup>Laboratoire de Nutrition Humaine, Equipe CHLEO (Contrôle de l'Homéostasie Lipido-énergétique et Obésité), 63009 Clermont Ferrand Cedex 1.

<sup>3</sup>Plateforme d'Exploration du Métabolisme, 63122 St Genès Champanelle.

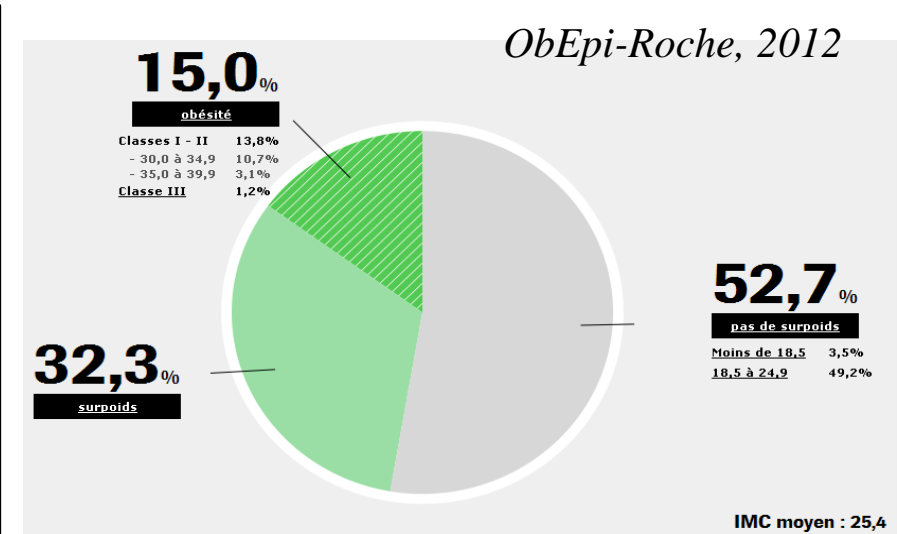
<sup>4</sup>Institut Cochin, Unité INSERM 1016. Equipe Mitochondrie, Bioénergétique, Métabolisme et Signaling, 75014 Paris.

# Contexte

## L'obésité dans le monde



## Prévalence de l'obésité en France



## Les causes

- ✔ Baisse activité Physique
- ✔ Excès d'apport calorique par l'alimentation riche en sucres simples et en lipides [notamment **acide gras saturés (AGS)**]
- ✔ Faible consommation d'AG polyinsaturés dont les **oméga-3**

# Insulino-résistance lors d'un régime riche en graisses et en sucres

**Production de glucose** *Samuel et al. 2004*

**(glycogénolyse / néoglucogénèse)**

**Contenu en lipides (stéatose),**

**DG, céramides** *Cahova et al. 2012*

FOIE

TG (VLDL)  
Glucose

Sang

AGI, TG, glucose

AG libres

Captation via LPL et  
transporteurs d'acides  
gras (FABPs, FATPs)

AG libres  
Relargage grâce aux  
lipases ATGL et LHS

**Lipolyse**

*Gallagher et al. 2010*

TISSU ADIPEUX

MUSCLE SQUELETTIQUE

# Obésité et insulino-résistance musculaire

## En condition physiologique

- ✓ Le muscle capte 80% du glucose en réponse à la sécrétion d'insuline après un repas.

## En cas d'insulino-résistance

- ✓ Diminution de la captation du glucose et de l'oxydation des lipides.

*Zhang et al. 2010*

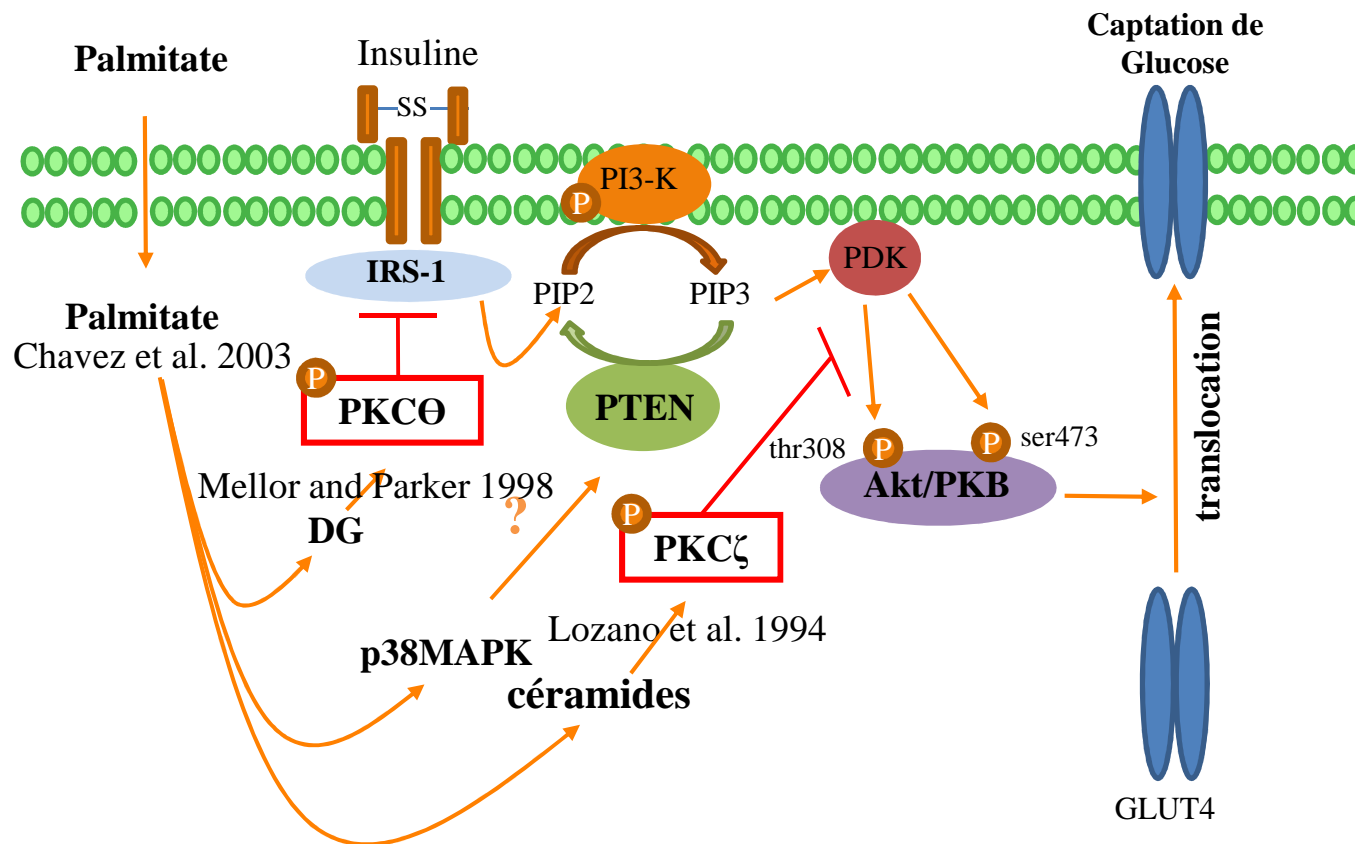
- ✓ Augmentation du contenu musculaire en triglycérides (TG), diglycérides (DG) et céramides. → **lipotoxicité**

*Feng et al. 2012*

- ✓ L'excès de **palmitate** participe à l'accumulation de lipides (DG, céramides) et à l'insulino-résistance.

*Chavez et al. 2003*

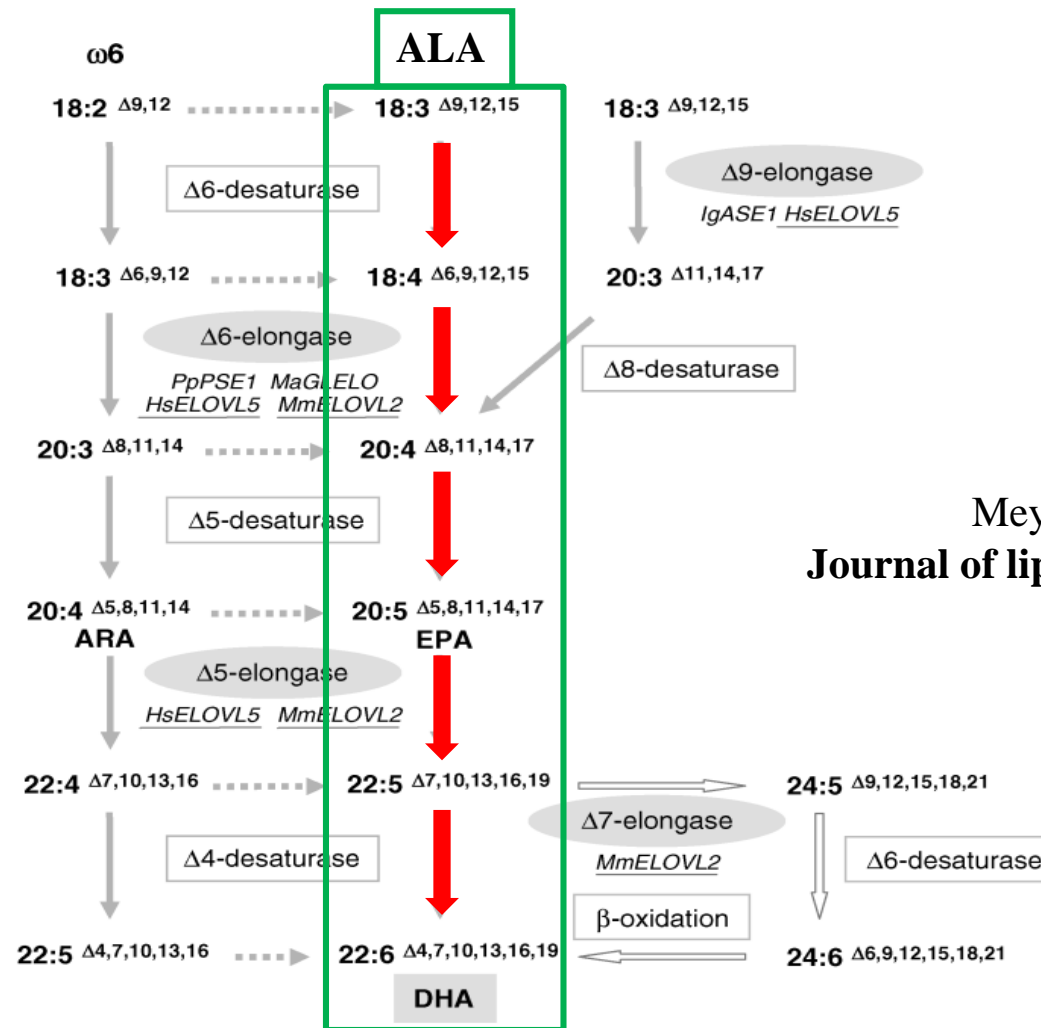
# Obésité, palmitate et insulino-résistance musculaire



## Schéma général de la voie de signalisation de l'insuline

**DG** : diglycerides, **GLUT4** : glucose transporter 4, **IRS-1**: insulin receptor substrate-1, **PI3-K** : phosphoinositide 3-kinase, **PDK** : phosphoinositide-dependent kinase, **Akt** : protein kinase B, **PKC** : protein kinase C, **PTEN** : phosphatase and tensin homolog.

# Oméga-3 : précurseur et dérivés

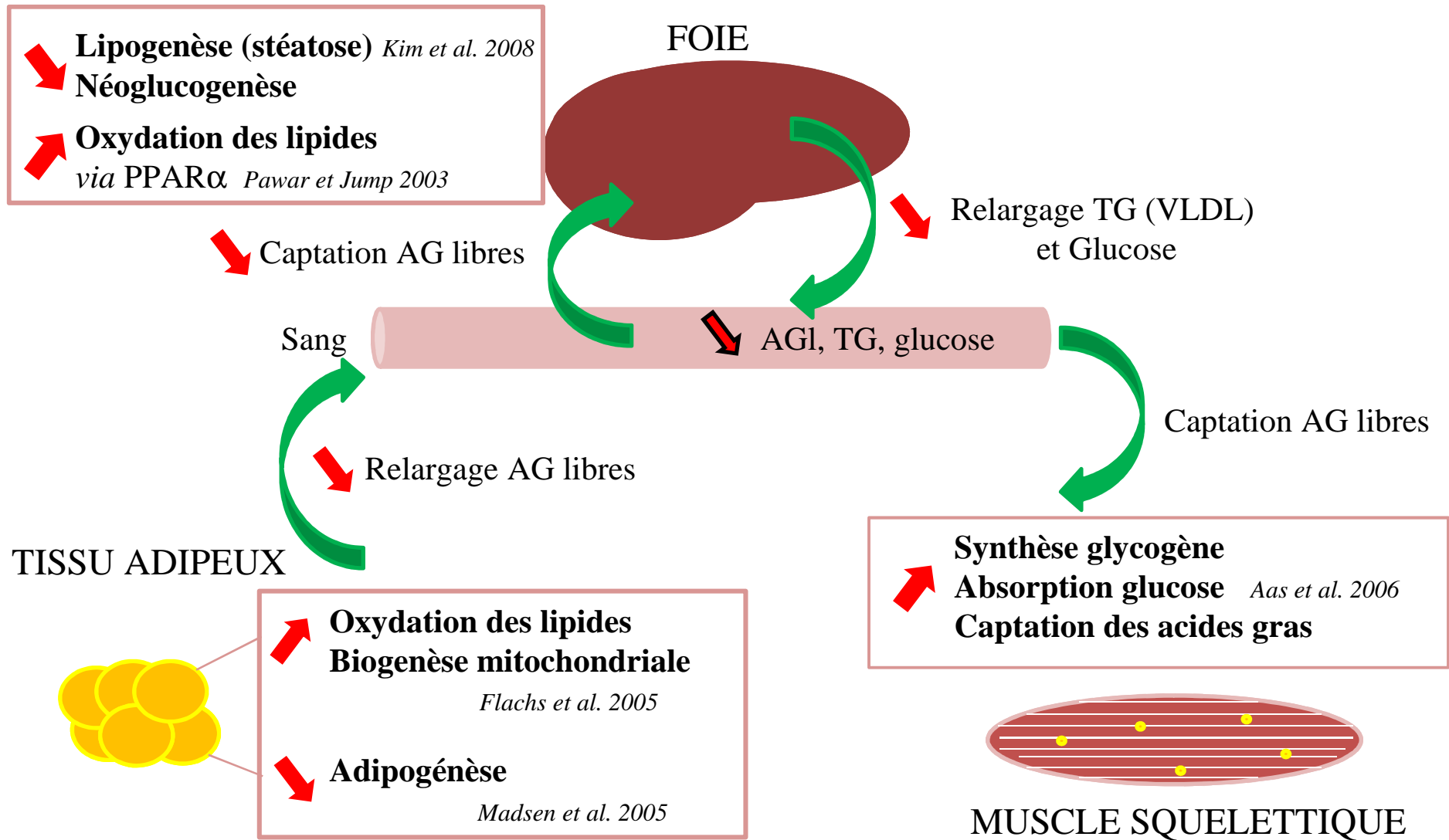


Meyer et al.,  
Journal of lipid research 2004

## Elongation et désaturation des acides gras oméga-3.

**ALA** : acide alpha-linolénique, **DHA** : acide docosahexaénoïque, **EPA** : acide éicosapentaénoïque.

# Les oméga-3 et leurs bénéfices dans l'insulino-résistance





# Objectifs

---

**Dans un contexte de lipotoxicité musculaire induite par un AGS, le palmitate**

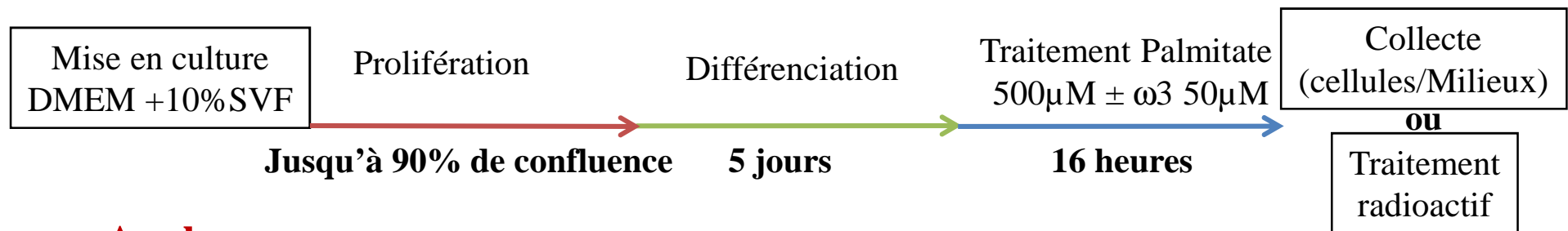
- 1** Identifier **les effets propres de chaque  $\omega 3$**  (ALA, EPA et DHA) à dose équivalente et physiologique sur la réponse à l'insuline.
- 2** Suivre **l'orientation intracellulaire du [1- $^{14}\text{C}$ ]-palmitate** en présence de chaque  $\omega 3$  et définir les classes de lipides altérées.
- 3** Rechercher **les voies de signalisation et mécanismes** impliqués dans la modulation de la réponse à l'insuline.

# Matériels & Méthodes : modèle et protocole

## Modèle in vitro

- Cellules musculaires C2C12

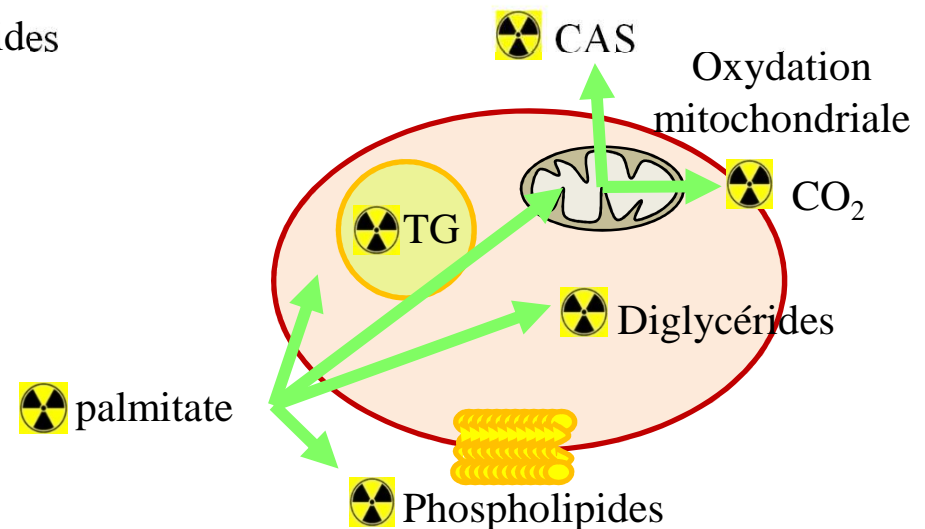
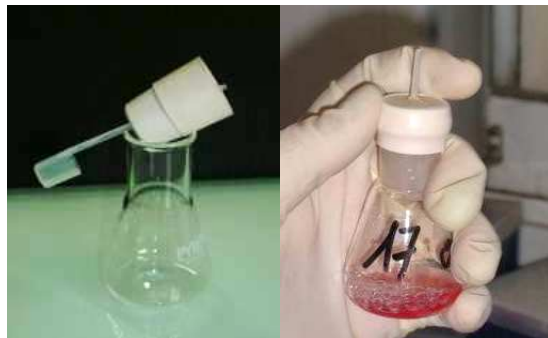
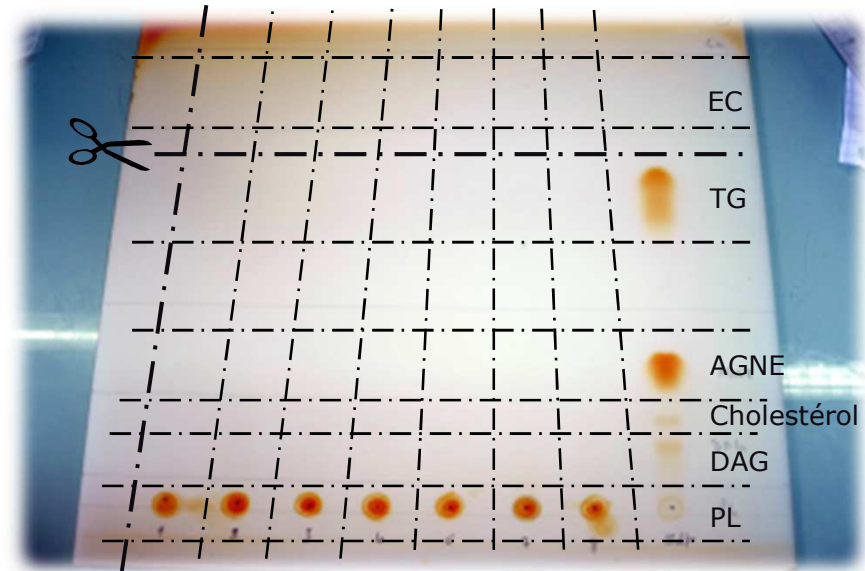
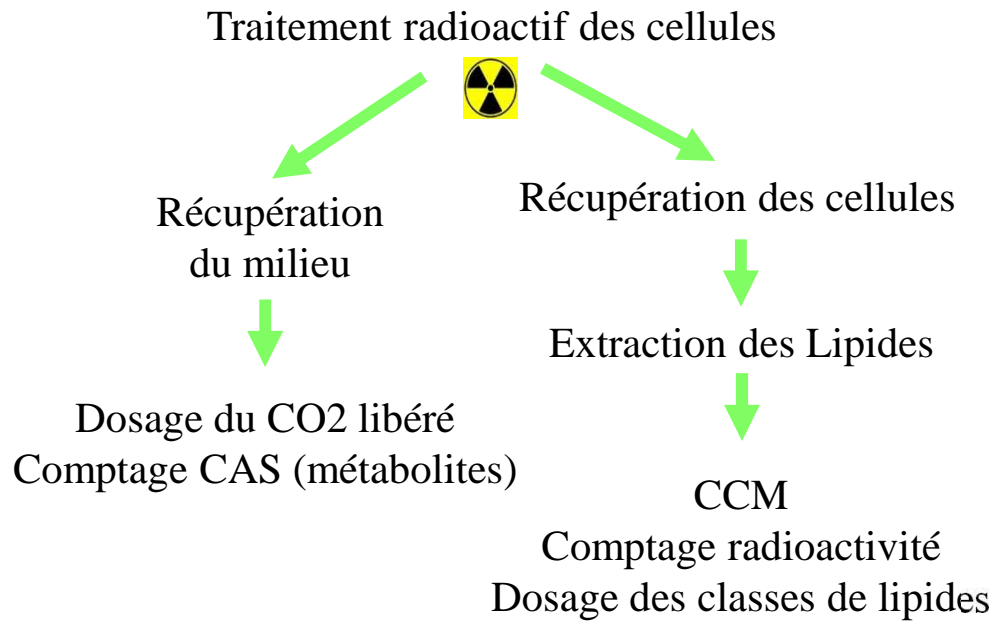
## Protocole expérimentale



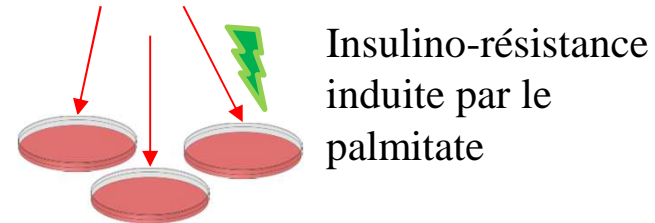
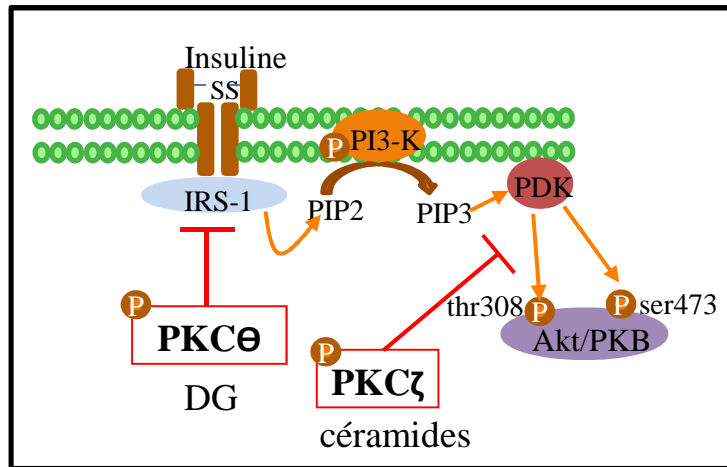
## Analyses

- Western Blot : activations des kinases Akt, PKCs et MAPKs
- Anisotropie : fluidité membranaire
- LC-MS : dosage des céramides
- Flux intracellulaire de palmitate marqué ([1-<sup>14</sup>C]-palmitate)

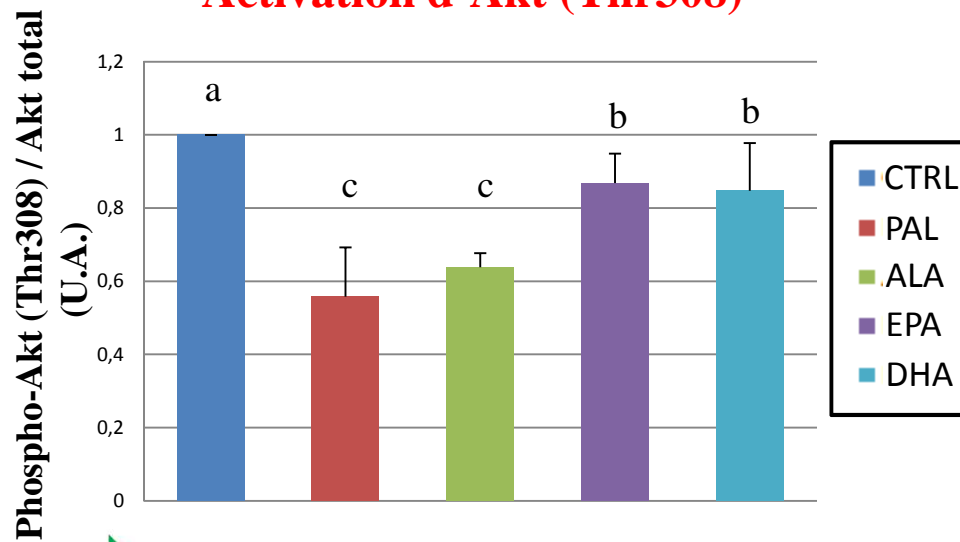
# Matériels & Méthodes : flux intracellulaire de palmitate marqué



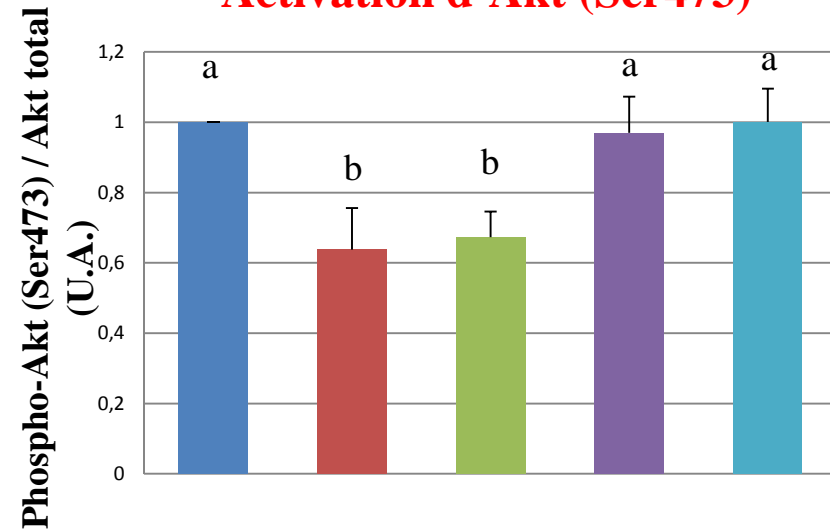
# Résultats : Sensibilité à l'insuline



### Activation d'Akt (Thr308)



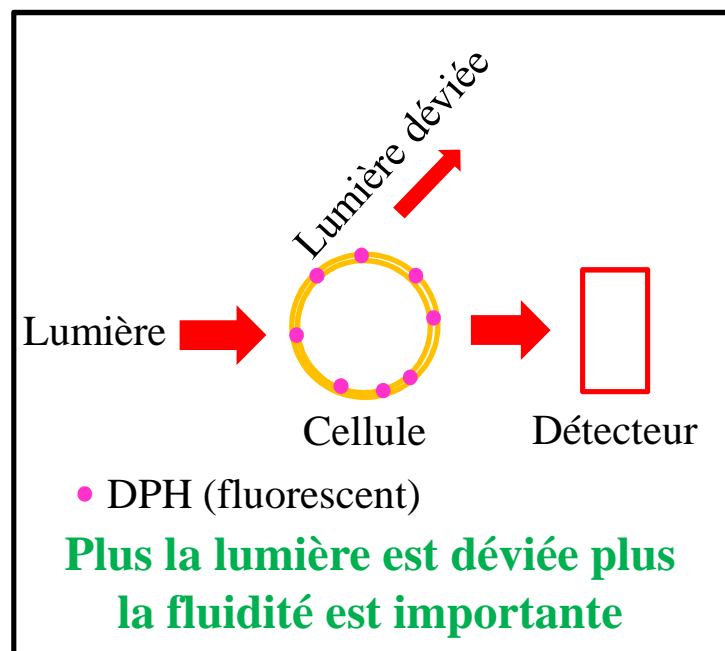
### Activation d'Akt (Ser473)



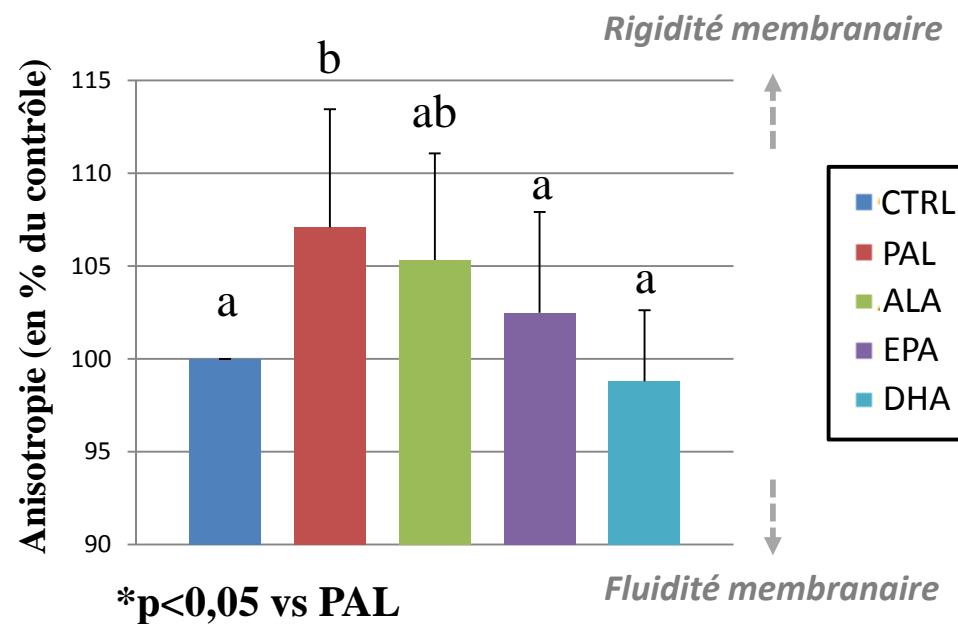
L'EPA et le DHA **améliorent l'activation d'Akt** comparativement au palmitate seul.

# Résultats : Fluidité membranaire

## Principe de l'anisotropie



## Mesure de fluidité membranaire



L'EPA et le DHA **favoriseraient la fluidité des membranes** pouvant jouer un rôle dans le bon fonctionnement de la cascade de signalisation de l'insuline.

# Résultats : Oxydation du palmitate marqué

☢ Après 3 heures d'incubation avec du palmitate marqué : ☢

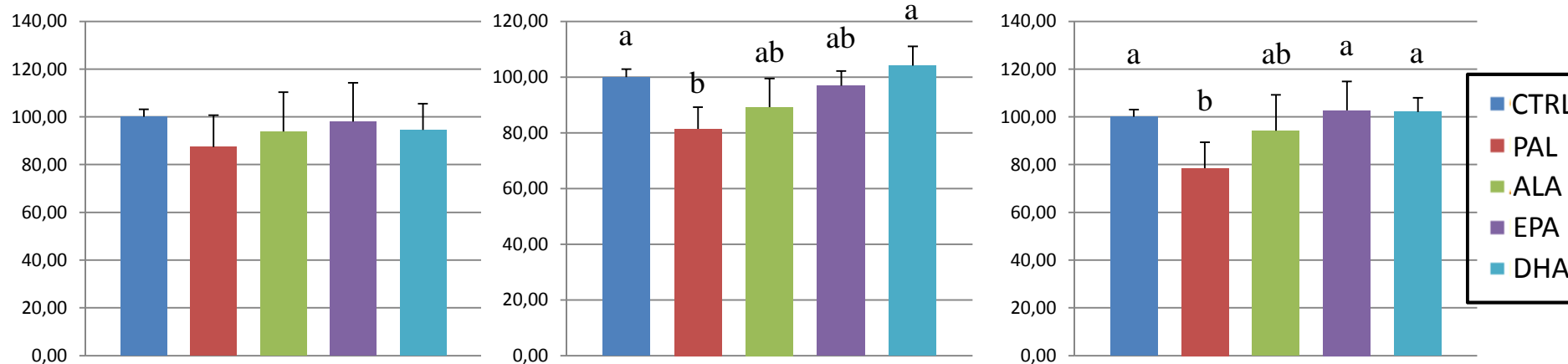
Oxydation totale  
(En % du contrôle)



Oxydation partielle  
(En % du contrôle)



Somme  
(En % du contrôle)

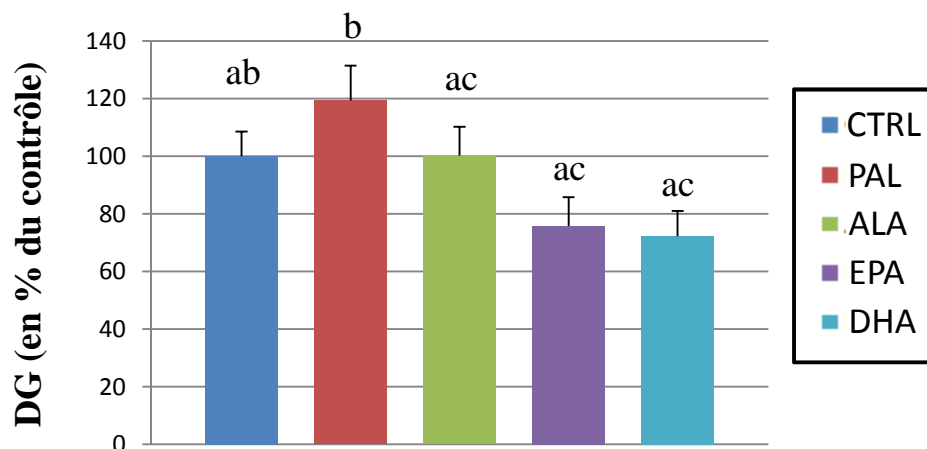


L'EPA et le DHA restaurent l'oxydation du palmitate qu'elle soit partielle ou totale. L'ALA n'a pas d'effet significatif sur ce paramètre.

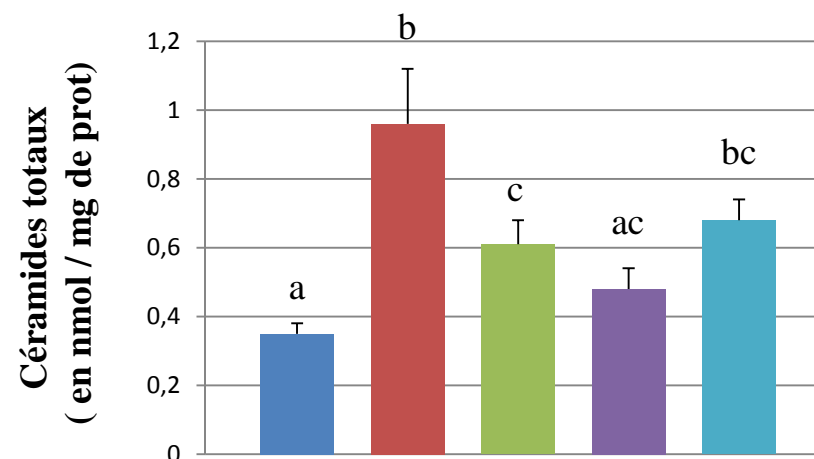
# Résultats : Accumulation de composés lipotoxiques



## Accumulation de palmitate marqué dans les diglycérides

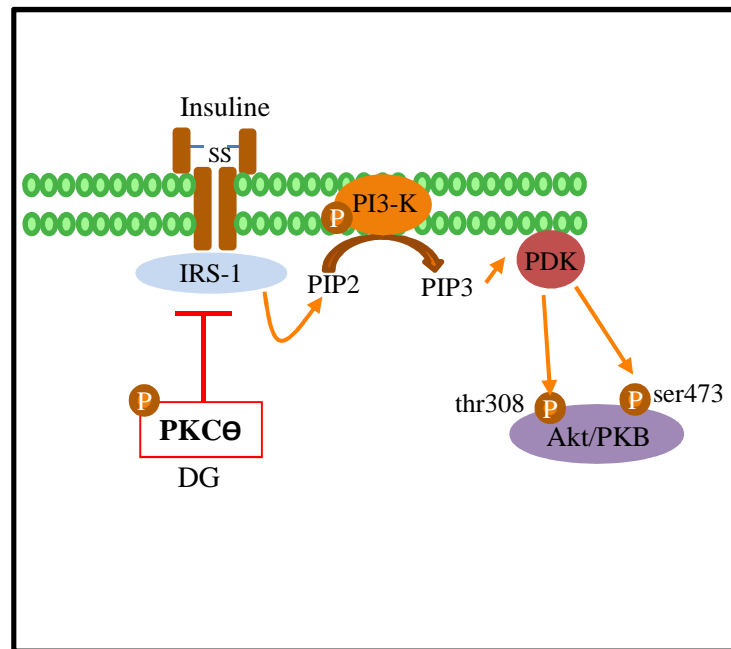


## Accumulation de céramides intracellulaires

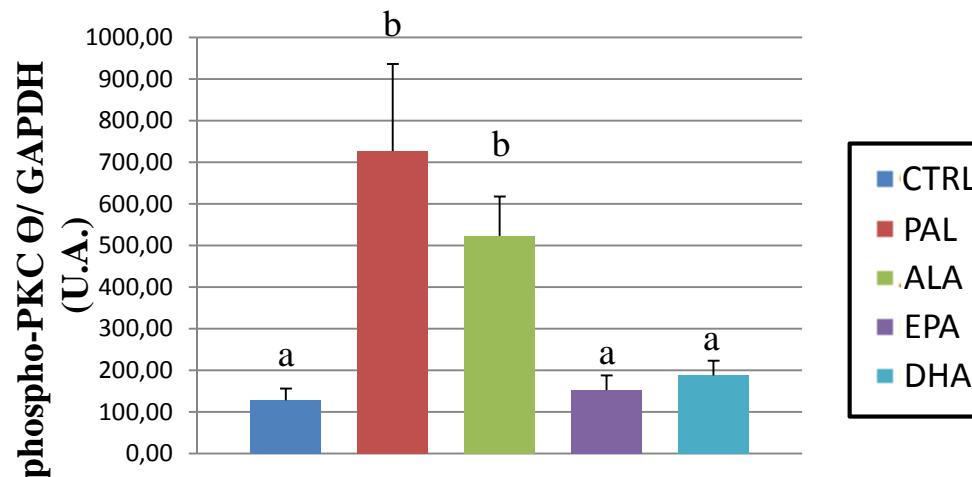


Réduction de la quantité de DG et de céramides par les trois supplémentations en oméga-3 vs palmitate. **Effet plus marqué de l'EPA sur la réduction des céramides.**

# Résultats : Inhibition de la voie de l'insuline par la PKC theta



## Activation de la PKCθ par les diglycérides

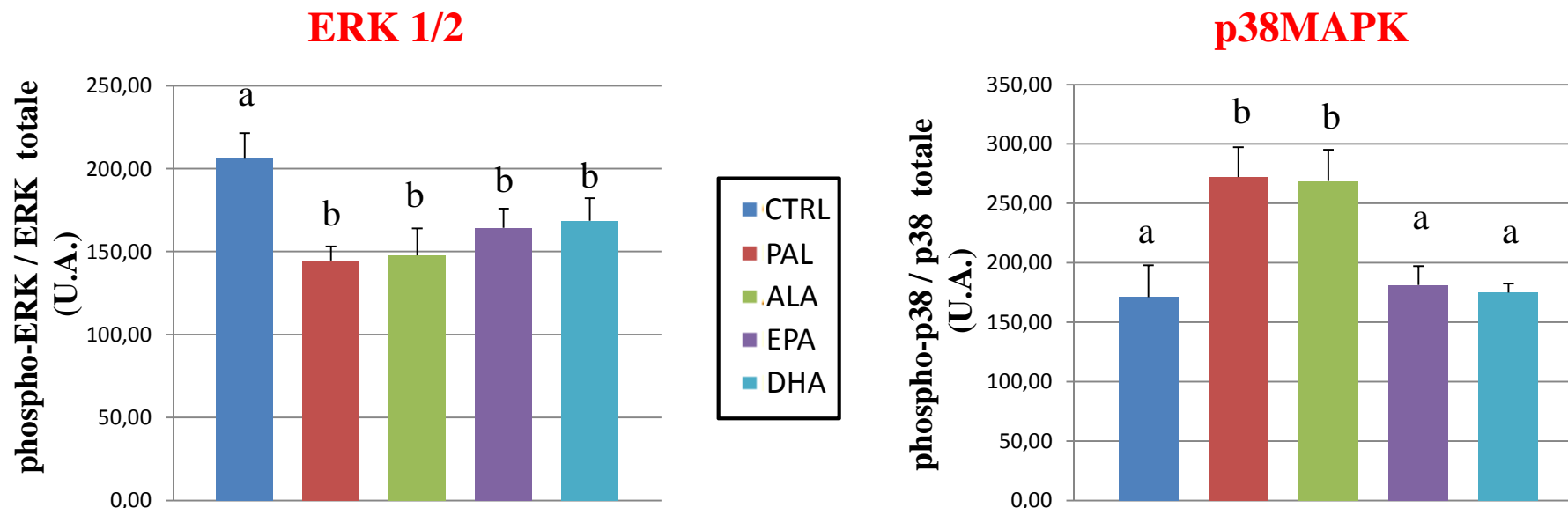


➔ L'EPA et le DHA inhibent l'activation de la PKCθ par le palmitate. **Pas** d'effet significatif de l'ALA vs palmitate.



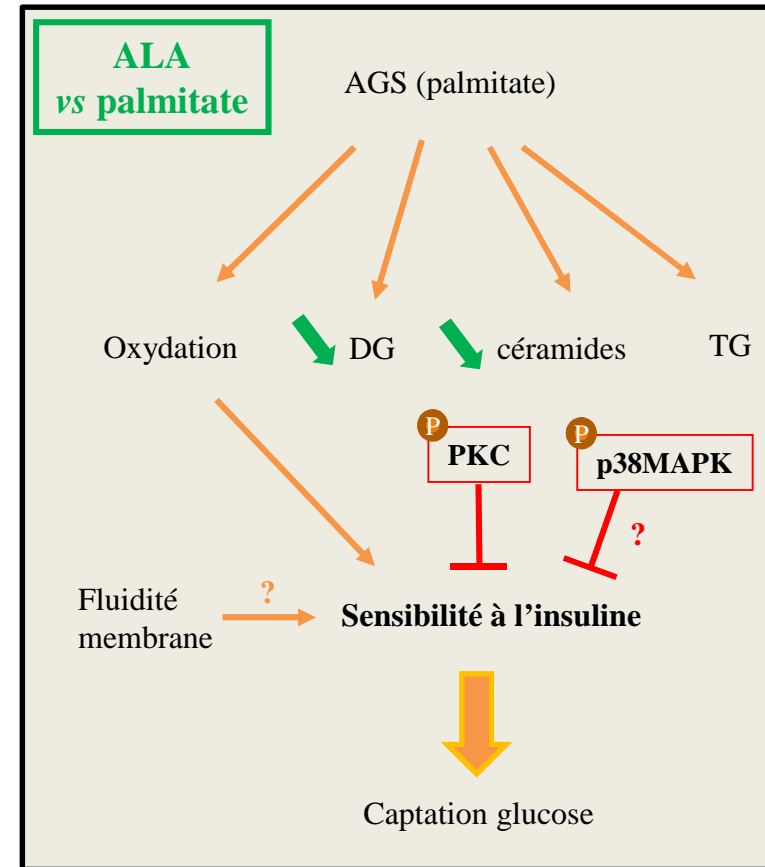
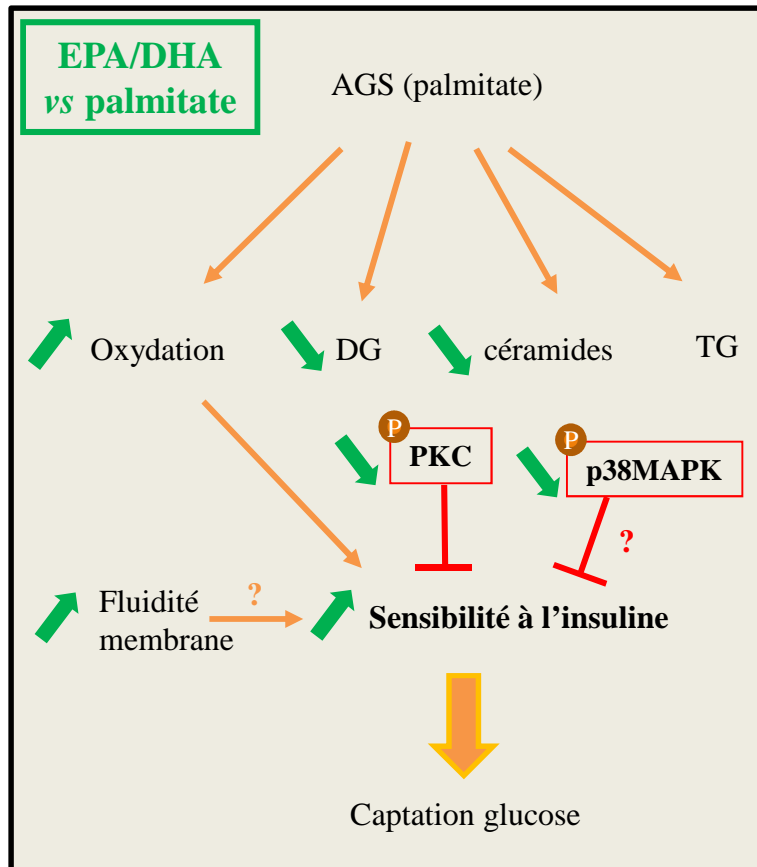
# Résultats : Exploration de la signalisation

## Activation des mitogen-activated protein kinase (MAPK)



L'EPA et le DHA inhibent l'activation de la p38MAPK par le palmitate.  
Pas d'effet de l'ALA vs palmitate.

# Conclusion et perspectives (1)



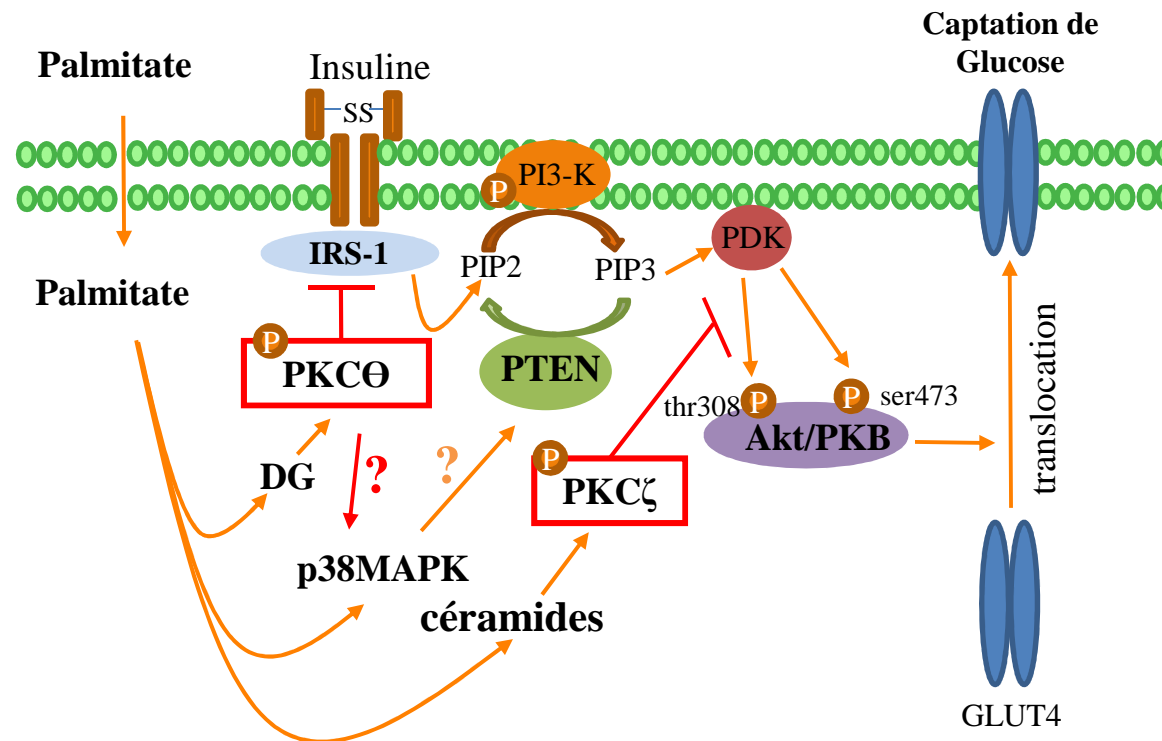
Evaluation de la captation du glucose :

➡ Modèle C2C12 pas idéal, mais développement en cours

Rôle de la p38MAPK dans l'insulino-résistance ?

➡ Evaluer la sensibilité à l'insuline **en présence d'un inhibiteur** de la p38MAPK

## Conclusion et perspectives (2)



- ✔ Le **palmitate induit** l'activation de la **p38MAPK** dans des hépatocytes murins.  
*Collins et al., Journal of Biological Chemistry 2006*
- ✔ La **PKCδ induit** l'activation de la **p38MAPK** dans des fibroblastes cardiaques.  
*Feng et al., British Journal of Pharmacology 2010*
- ✔ La **p38MAPK active** la kinase **PTEN** dans des cellules endothéliales humaines.  
*Shen et al., Journal of Biological Chemistry 2006*



## Remerciements

### Encadrants de thèse:

F. Capel  
B. Morio

### Financements et suivi scientifique :

- *Sofiprotéol/Lesieur*  
A. Dhaussy  
A. Huertas

### Membres du comité de thèse:

J. Bellenger  
P. Guesnet

### Equipe CHLEO:

C. Jouve  
B. Laillet  
C. Malpuech-Brugère  
E. Pitois  
J-P. Rigaudière  
J-L. Sébédio

### Collaborations :

- *Institut Cochin, INSERM U1016*  
C. Esnous  
V. Lenoir  
C. Prip-Buus  
- *Plateforme Métabolomique (INRA Theix)*  
C. Pouyet  
E. Pujos