

N° d'ordre : 15/2016 – D/S.B

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE DES SCIENCES ET DE LA TECHNOLOGIE
« HOUARI BOUMEDIENNE »**

FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES



Thèse

Présentée pour l'obtention du grade de DOCTORAT EN SCIENCES

EN SCIENCES BIOLOGIQUES

Spécialité : Biologie et Physiologie Animale

Par : M SAHRAOUI Abdelhamid

Sujet

**Analyse des marqueurs plasmatiques et cellulaires du cycle contraction-
relaxation suite à l'ischémie cardiaque induite chez *Psammomys obesus*
soumis à un régime athérogène.**

Soutenue publiquement, le **04 / 06 / 2016**, devant le jury composé de :

M^{me} Y. BENAZZOUG , Professeur à l'USTHB.....	Présidente
M^{me} S. AOUICHAT BOUGUERRA , Professeur à l'USTHB.	Directrice de thèse
M^{me} L. DEWACHTER , PhD, (ULB) – Bruxelles	Examinatrice
M R. NAEIJE , Professeur à (ULB)- Bruxelles	Examinateur
M^{me} F. KHAMMAR , Professeur à l'USTHB.....	Examinatrice
M^{me} Z. HAMOULI , Professeur à l'USTHB.....	Examinatrice
M L. GRIENE , Professeur au CPMC.....	Examinateur

Remerciements

L'écriture des remerciements est un moment particulier dans la rédaction de la thèse puisqu'elle permet de coucher sur le papier toute sa gratitude envers les personnes qui ont contribué au succès du travail réalisé. Mes remerciements vont en particulier à :

Monsieur le Professeur Robert NAEIJE, cardiologue et directeur du laboratoire de Physiologie et Physiopathologie, ULB, Bruxelles. Vous m'avez donné l'opportunité de travailler au sein de votre laboratoire et vous avez suivi avec attention ce travail en m'accordant de votre temps précieux pour l'enrichir, veuillez trouver ici l'expression de mes plus sincères remerciements.

Mme le professeur S. AOUICHAT BOUGUERRA directrice de ma thèse, pour avoir accepté de m'encadrer, elle a su me donner une grande liberté d'initiative tout en restant toujours présente pour discuter des problèmes rencontrés, des résultats obtenus et des orientations à suivre. Votre rigueur scientifique, votre enthousiasme et vos précieux conseils m'ont permis de travailler dans les meilleures conditions. Soyez assurée, Madame, de toute mon estime et de mon profond respect

Madame Laurence DEWACHTER, codirectrice de ma thèse, Docteur en Pharmacie et chercheur au sein du laboratoire de physiologie et pharmacologie, ULB, Bruxelles. je vous remercie d'avoir accepté de codiriger ce travail. Je vous suis très reconnaissant pour l'aide que vous m'avez apportée tout au long de cette thèse ainsi que pour les discussions scientifiques que nous avons pu avoir à propos de ce travail et des protocoles qui s'y rattachent. Votre grande disponibilité, votre rigueur scientifique, votre enthousiasme et vos précieux conseils m'ont permis de travailler dans les meilleures conditions. Je vous suis également très reconnaissant d'avoir attaché tant d'importance à la relecture de cette thèse ainsi qu'à la préparation de la soutenance. Veuillez trouver ici l'expression de toute ma reconnaissance.

Mes encadrateurs

Aussi un grand merci, pour votre grande générosité, votre ouverture d'esprit et la patience dont vous avez témoigné lors de la correction et l'élaboration de mon article et de cette thèse. Ce travail est aussi le vôtre, je suis heureux de pouvoir partager avec vous ce moment, comme nous avons partagé ces années de travail. Merci de votre confiance et de votre patience! Merci beaucoup !

Remerciements

Aux Rapporteurs

Je remercie très respectueusement Mme le professeur Y.BENAZZOUG qui m'a fait l'honneur de présider le jury de cette thèse. Son esprit, son extrême rigueur et ses qualités humaines m'ont été précieux, je vous renouvelle ici ma vive gratitude.

Je voudrai également remercier vivement Mme le professeur F. KHAMMAR pour avoir accepté d'examiner ce travail et pour l'honneur qu'elle me fait de participer à ce jury. J'ai toujours apprécié ses conseils, ses encouragements et son expérience. Qu'elle trouve en ces quelques mots l'expression de ma profonde considération.

Il m'est également agréable de remercier Mme le professeur Z. HAMOULI qui a voulu m'accorder une partie de son temps pour examiner et juger ce travail ; ses recherches et son expérience m'ont fait souhaiter sa présence dans ce jury. Je vous exprime en vous dédiant ce travail, toute ma gratitude

Que Monsieur L. GRIENE, professeur à la Faculté de Médecine d'Alger et chef de Service du Laboratoire de Chimie Hormonale au C.P.M.C, soit particulièrement remercié pour avoir accepté d'examiner ce travail et de participer à ce jury. Qu'il trouve ici l'expression de mon profond respect.

Aux membres du Labo

Une grande partie de cette thèse été menée au sein du « Laboratoire de Physiologie et Pharmacologie » de l'Université Libre de Bruxelles (ULB). Au sein de cette équipe je tiens à remercier la directrice, Mme le professeur Kathleen Mc ENTÉE et tous les membres pour leurs sympathiques encouragements et leurs gestes d'attention, je pense à Céline DEWACHTER, Ielham HADAD, Pascale JESPERS, Amira KHOULED, Ismail Ben Soussia, Martine MAKANGA.

Un grand merci à Geoffrey de Medina pour le support technique, ainsi que votre disponibilité et votre gentillesse !

Cette thèse n'aurait pas pu aboutir sans le soutien actif et la bonne humeur de l'ensemble de l'équipe de physiopathologie cellulaire et moléculaire de BEZ. Je remercie chaleureusement Melle NEGGAZI Samia, Mme HAMLAT Nadjiba, M. KACI Soufiane, Mme SMAIL Leila,

Remerciements

Melle BERDJA Sihem, Mme BOUMAZA Saliha, Mme REZKALLAH Nabila, Mme ASLI AMALOU Isma, Mme BOUDJELIDA Amina, Melle DRAOUI Assia, Melle BOUSSA Katia et Melle OUSMANE Amina.

Aux collègues

Mes plus vifs remerciements vont à tous mes collègues et amis(e) qui m'ont aidé et encouragé. Je remercie Mr MENAD Rafik, Mr CHAOUAD Billel, Melle Hassiba BENBAIBECHE, Mme MAOUCHE Naima, Mme BENKHROUF Amina pour m'avoir permis de vivre de très bons moments en leur compagnie et pour leur soutien moral.

Enfin, une pensée plus particulière et très chaleureuse pour mes parents, mon épouse, mes frères et mes sœurs qui m'ont toujours soutenu tout au long de mon parcours. Sans leur soutien permanent, cette thèse n'aurait pas pu voir le jour. Je pense à vous chaque jour. Ce sont votre amour et votre sacrifice qui m'ont poussé à réaliser un de mes rêves qui fût l'un des vôtres. Avec toute mon estime et mon amour, je vous dédie ce travail, il est le fruit de vos encouragements.

Résumé

Plusieurs études expérimentales ont montré qu'une alimentation riche en graisses altère la fonction contractile du myocarde conduisant à une insuffisance cardiaque. A cet effet, nous nous sommes proposé d'étudier les effets d'un régime hypergras sur la fonction contractile du myocarde chez *Psammomys obesus*. Pour cela, nous avons soumis des rats des sables « *Psammomys obesus* » à un régime hyperlipidique pendant 16 semaines. A la fin de l'expérimentation, l'analyse du profil plasmatique a montré une perturbation du bilan lipidique marqué par une augmentation des triglycérides, de cholestérol total, du LDL-cholestérol, du HDL-cholestérol ainsi que du rapport d'athérogénosité LDL/HDL. De plus, l'analyse cellulaire et tissulaire du myocarde a montré un changement de son architecture au profit d'une augmentation de la taille des cardiomyocytes et l'installation d'une fibrose interstitielle et périvasculaire caractéristique d'une hypertrophie pathologique.

Nous avons enregistré par ailleurs sur le plan moléculaire, des modifications de l'expression des gènes du cycle contraction-relaxation notamment Serca2a, RyR2, α MHC et CaMPK, à l'origine de l'altération de l'homéostasie du calcium et du développement d'un dysfonctionnement diastolique. Ces altérations sont compliquées par l'installation d'une réaction inflammatoire et d'un processus apoptotique marqués par l'augmentation de l'expression du TNF α , de l'Il-1, des CAMs notamment VCAM et ICAM, et les marqueurs d'apoptose Bax et Bcl-2.

En définitive, l'administration d'un régime hyperlipidique à des rats a provoqué des altérations structurelles du myocarde, l'activation des processus d'inflammation, d'hypertrophie et d'apoptose ainsi que l'altération de l'expression des protéines du cycle contraction- relaxation caractéristiques d'une cardiomyopathie contractile.

Sommaire

Sommaire

Introduction.....	1
Rappel bibliographique.....	3
Chapitre I : métabolisme énergétique du cœur	3
A. Métabolisme des acides gras dans le myocyte cardiaque.....	3
A.1. Source des acides gras.....	3
A.2. Lipoprotéines lipase.....	4
A.3. La captation myocardique des acides gras.....	5
A.4. Contrôle cytoplasmique des acides gras.....	6
A.5. La captation mitochondriale des acides gras.....	6
A.6. La β - oxydation des acides gras.....	7
B. Métabolisme du glucose dans le myocyte cardiaque.....	8
C. La voie de la signalisation de l'insuline dans les cardiomyocytes	9
D. Interaction entre le métabolisme des acides gras et le glucose	10
E. L'altération du métabolisme cardiaque au cours de l'obésité et du diabète.....	12
E.1. Le flux d'acide gras	12
E.2. La captation des acides gras et le stockage endogène des TAG.....	12
E.3. La β -oxydation et son contrôle.....	13
F. Les principales sources des espèces réactives à l'oxygène (ROS) et leurs effets dans les cardiomyocytes.....	14
G. Le métabolisme cardiaque dans les conditions pathologiques : l'hypertrophie pathologique et l'insuffisance cardiaque	16
Chapitre II : homéostasie du calcium du myocyte cardiaque	18
A. Cycle excitation- contraction- relaxation et protéines régulatrices	18
B. Les protéines du cycle contraction-relaxation.....	19
B.1. Les canaux calciques de type L (LTCCs) ou DHPR.....	19
B.1.1. La modulation des LTCCs par le cholestérol membranaire et les lipides.....	20
B.1.2. L'altération de la fonction des LTCC dans les maladies cardiaques.....	20
B.2. Le récepteur à la ryanodine (RyR)	21
B.2.1. Structure	21
B.2.2. Rôle des RyR dans le cycle de contraction.....	22
B.2.3. Les principales protéines régulatrices du RyR.....	23
B.2.3.1. Les protéines régulatrices cytoplasmiques	23
B.2.3.1.1. La calstaine 2 (FKBP12.6)	23
B.2.3.1. 2. La calmoduline.....	23
B.2.3.1.3. La protéine kinase A (PKA), la Ca^{2+} /calmoduline protéine Kinase- dépendante (CaMKII) et les phosphatases de type 1 et 2A (PP2A).....	24
B.2.3.2. Les protéines régulatrices luminales de la RyR	25
B.2.3.2.1. La Calsequestrine (CSQ2).....	24
B.2.3.2.2. La Triadine et la Junctine.....	25
B.2.3.2.3. La protéine liant le calcium dite riche en Histidine (HRC).....	26
B.3. La Ca^{2+} ATPase du réticulum sarcoplasmique (SERCA2a)	27
B.3.1. Les protéines régulatrices de SERCA2a.....	28
B.3.1.1. Le phospholamban et la sarcolipine : similitudes structurelles.....	29
B.3.1.2. La Sarcolipine diffère fonctionnellement de PLN.....	30
B.3.1.3. La protéine HRC (HRC).....	31
B.3.1.4. Inhibiteur-1/Protéine Phosphatase 1 (PP1).....	32
B.3.1.5. La HAX-1 (HS-1 associated protein X-1) et sa régulation par le complexe PLN/SERCA.....	34

B.3.1.6. La protéine de choc thermique 20.....	35
B.4. L'échangeur $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$	35
B.4.1. La régulation de $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$	36
B.4.1.1. Régulation dépendante du Ca^{2+} intracytosolique.....	36
B.4.1.2. Phosphorylation.....	37
Chapitre III : homéostasie du calcium et cardiomyopathies	38
A. SERCA2a et l'altération de la contractilité : le dysfonctionnement diastolique....	39
B. l'inflammation et l'altération de la contractilité.....	39
Matériels et méthodes	41
A. Matériel biologique.....	41
A.1. Présentation du modèle.....	41
A.2. La capture.....	41
B. L'animal	43
B.1. <i>Psammomys obesus</i>	43
B.2. Le régime.....	43
B.2.1. Le régime naturel.....	43
B.2.2. Régime naturel additionné de régime hyperlipidique (RNL).....	44
C. Techniques opératoires et analytiques.....	44
C.1. Poids des animaux, sacrifice et prélèvement des organes.....	44
C.2. Dosage des différents paramètres plasmatiques.....	45
C.3. Méthodes histologiques et immunohistologique.....	45
C.3.1. Coloration Hématoxyline/éosine.....	45
C.3.2. Coloration au trichrome de Masson (TM).....	45
C.3.3. L'immunohistochimie.....	46
C.3.3.1. Méthode de quantification.....	46
D. Mesure de l'expression génique (ARNm).....	46
D.1. Extractions tissulaires et cellulaires des ARN totaux.....	47
D.1.1. Broyage des échantillons et homogénéisation par méthode au TRIzol.....	47
D.1.2. Centrifugation et récupération du surnageant- ajout de chloroforme.....	47
D.2. Evaluation de la concentration en ARN total.....	47
D.3. Vérification de l'intégrité de l'ARN.....	48
D.3.1. Principe.....	48
D.3.2. Méthodes.....	48
D.4. Transcription inverse	49
D.4.1. Principe	49
D.4.2. Matériels	49
D.4.3. Méthode.....	49
D.5. PCR-quantitative en temps réel	50
D.5.1. Principe	50
D.5.2. Matériels	51
D.5.3. Méthode : Validation des primers.....	53
D.5.4. Protocole de PCR en temps réel	53
D.6. Analyse des données PCR : normalisation par rapport à l'expression du gène de référence = quantification comparative.....	54
D.6.1. Principe.....	54
D.6.2. Le choix du gène de référence.....	55
D.7. Méthodes de calcul : méthode comparative des Ct.....	55
E. Western-Blot	56

E.1. Principe	56
E.2. Méthode.....	56
E.3. Analyse des résultats.....	57
E.3.1. Normalisation par les protéines de référence ou contrôle interne.....	57
E.3.2. Quantification des protéines.....	57
Résultats	58
Chapitre I : poids corporel et paramètres biochimiques sériques	58
1. Poids corporel.....	58
2. Profil sérique.....	58
Chapitre II : Régime athérogène et altération de la contractilité.....	60
A. Profil morphologique	60
B. Profil de l'expression des gènes impliqués dans les cycles contraction- relaxation et dans la fibrose.....	62
C. Profil d'expression des protéines impliquées dans la contraction myocardique dépendante du calcium.....	64
Chapitre III : Régime athérogène et l'inflammation.....	66
A. Profil morphologique et immunohistochimie.....	66
B. Profil de l'expression des gènes impliqués dans l'inflammation.....	68
Chapitre IV : Régime hyperlipidique, hypertrophie et apoptose.....	70
A. Profil morphologique et morphométrique.....	70
Discussion	73
Chapitre I : Poids corporel et profil plasmatique.....	73
Chapitre II : Régime hyperlipidique et morphologie cardiaque.....	74
Chapitre III. Régime hyperlipidique et cycle de contraction-relaxation.....	75
Chapitre IV. Régime hyperlipidique, inflammation, stress oxydatif, apoptose et hypertrophie	78
Conclusion et perspectives	81
Références bibliographiques	82
Index des Tableaux et Figures	105

ABREVIATIONS

AGL	Acide gras libre
AMPK	AMP-activated protein kinase
Apo E	Apolipoprotéine E
Bax	Bcl-2-associated X protein
Bcl-2	B-cell lymphoma 2
CaM	Calmoduline
CAM	cell adhesion molecules
CaMKII	Ca ²⁺ calmoduline protéine kinase dépendante
CICR	Calcium induced calcium release
Col1A1	Collagène de type 1A
CPT	Carnitine Palmitoyl-Transférase
CSQ2	Calséquestrin
CT	Acyl-Carnitine -Translocase
DAG	Di-Acyl-Glycérol
DHPR	Dihydropyridine receptor
DIO	Diète induite obésité
ECC	Excitation-contraction coupling
EPA	eicosapentaenoic acid
FACS	Acyl-CoA- Synthétase
FAT / CD36	fatty acid translocase/ cluster of differentiation 36
FATP	Fatty acid transfert protein
FKBP	calstabin-2
Glut1	Transporteurs 1 de glucose
Glut4	transporteurs 4 de glucose
HAX-1	HS-1 associated protein X-1
HDL	High density lipoprotein
HFD	High fat diet
HIF-1	Hypoxia- inducible factor-1
HRC	Histidine rich calcium
HSPG	Heparan sulfate proteoglycans
HSPs	Heat-shock protein
ICAM-1	Intercellular Adhesion Molecule 1
IGF-1	Insulin-like growth factor I
IGFR	Insulin-like growth factor receptor
Il-1	Interleukine-1
IRS-1	Insuline Receptor Substrat
LDL	Low density lipoprotein
LPL	Lipoprotéine lipase
LTCCs	L- type Ca ²⁺ channels
MAPK	Mitogen-activated protein kinase
αMHC	Myosin heavy chain, α isoform
MPO	Myéloperoxydase
NADPH	Nicotinamide adenine dinucléotide phosphate
NCX	Sodium-calcium exchanger
NFAT	Nuclear factor of activated T-cells
NOS	Nitric oxide synthase
PA	Potentiel d'action
PDH	Pyruvate déshydrogénase
PDHK	Pyruvate déshydrogénase kinase
PFK	Phosphofructo-kinase

ABREVIATIONS

PGC-1 α	Receptor- gamma coactivator 1 alpha
PI3K	phosphatidylinositol-3, 4, 5- triphosphate
PIP2	Phosphatidyl-inositol- diphosphate
PKA	Protéine Kinase A
PKB	Proteine kinase-B
PLN	Phospholamban
PP1	Protéines Phosphatases-1
PP2A	Proteine phosphatase de type 2A
PPAR α	Peroxisome Proliferator Activated Receptor-alpha
RE	Réticulum endoplasmique
RHL	Régime hyperlipidique
ROS	Reactive oxygen species
RS	Réticulum Sarcoplasmique
RyR2	Ryanodin Receptor isoforme-2
SERCA2a	sarcoplasmic-endoplasmic reticulum Ca ²⁺ ATPase, isoforme 2a
SLN	Sacrolipine
SUMO-1	small ubiquitin-like modifier 1
TAG	Tri-Acyl-Glycérols
TNFR1	Tumor necrosis factor receptor-1
TNF α	Tumor necrosis factor
VCAM-1	vascular cell adhesion molecule 1
VLDL	Very low density Lipoprotein
VLDL	Very Low Density lipoprotein

Introduction

Introduction

Notre étude s'inscrit dans le cadre de travaux menés au sein de notre équipe de Physiopathologie Cellulaire et Moléculaire, qui concernent l'implication de certains facteurs de risque (dyslipidémie, obésité, DT2...) dans la genèse et le développement des complications cardiovasculaires (Aouichat-Bouguerra et *al*, 2001 ; Hamlat et *al.*, 2010)

Ces dernières années, l'hygiène de vie alimentaire que connaissent aussi bien les pays développés que en voie de développement a subi un changement très important au profit d'une alimentation déséquilibrée et hypercalorique, à l'origine de l'installation de l'obésité. Cette dernière est devenue un problème clinique majeur et un véritable fardeau pour la santé publique. Les données épidémiologiques et expérimentales indiquent en effet que ce nouveau mode de vie alimentaire est à l'origine de l'apparition de la plupart des maladies cardiovasculaires dont principalement l'altération de la contractilité qui conduit à l'insuffisance cardiaque.

Dans les conditions physiologiques, le cœur utilise la β -oxydation des acides gras à longue chaîne comme source principale d'énergie (60-70% de l'ATP généré), nécessaire pour assurer les fonctions du myocarde, notamment la contraction (Neely et *al.*, 1972). La disponibilité des substrats est en rapport avec la demande d'énergie du cœur car les cardiomyocytes ont peu de capacité de synthèse de novo et de stockage des acides gras (Van der Vusse et *al.*, 2000). De ce fait, l'alimentation riche en graisses entraîne une augmentation de l'absorption, du stockage et de l'oxydation des acides gras libres (Rider et *al.*, 2013) ; ceci est associé à une augmentation du risque d'insuffisance cardiaque (Kenchiah et *al.*, 2002, Mandavia et *al.*, 2012). En effet, malgré l'augmentation de l'oxydation des acides gras par le myocarde, la disponibilité excessive de ces derniers conduit à un déséquilibre entre leur absorption et leur oxydation, conduisant à un dépôt accru de lipides potentiellement toxiques pour le cœur (Chiu et *al.*, 2005 ; Lopaschuk et *al.*, 2007). Cette accumulation de lipides myocardiques est impliquée dans la détérioration de la fonction cardiaque, (Finck et Kelly, 2002 ; Cole et *al.*, 2011) et dans le développement d'une cardiomyopathie via différents processus (Zhou et *al.*, 2000 ; Tsuji et *al.*, 2001 ; Leopoldo et *al.*, 2010). La régulation à la hausse de l'oxydation des acides gras entraîne des troubles du métabolisme du myocarde qui conduit à une augmentation du stress du Sarcoplasme, causant une perturbation de l'homéostasie du Ca^{2+} .

Introduction

Beaucoup d'attention a été accordée aux effets cliniques de régimes hyperlipidiques sur l'incidence et les mécanismes sous-jacents de l'athérosclérose et de la maladie coronarienne responsables du développement et de la progression de l'insuffisance cardiaque.

Notre objectif est d'aborder le processus sus-cité par le cycle contraction – relaxation après instauration d'une obésité provoquée par un régime hyperlipidique chez un modèle très sensible au stress nutritionnel, *Psammomys obesus*.

A cet effet, nous avons réalisé notre étude sur une période de 4 mois au terme de laquelle nous avons analysé :

- Le profil plasmatique par le dosage des différents paramètres sériques, tel que glucose, triglycérides, cholestérol total, LDL-cholestérol et HDL-cholestérol
- Le profil tissulaire par une étude histomorphométrique et immunohistochimie.
- Le profil génomique par la caractérisation de l'ARNm codant pour :
 - i) Les protéines du cycle contraction-relaxation du réticulum endoplasmique (Serca2a, RyR2, α MHC),
 - ii) les collagènes I et III marqueurs de la matrice extracellulaire
 - iii) les molécules proinflammatoires, notamment certaines cytokines (TNF- α , IL-1 et IL-6) ainsi que certaines molécules d'adhésion notamment VCAM et ICAM
 - iv) Certains marqueurs de l'apoptose (Bax et Bcl2) et de l'hypoxie (HIF-1 α)
 - v) Certaines molécules de l'hypertrophie (IGF-1, IGFR et NFAT)
- Le profil protéomique par la caractérisation de protéines clés impliquées dans la régulation de Serca2a, PLN et PKA(c- α).

Rappel bibliographique

Chapitre I : métabolisme énergétique du cœur

A. Métabolisme des acides gras dans le myocyte cardiaque

La demande énergétique du cœur est très élevée. Cette énergie est assurée entièrement par l'oxydation mitochondriale des acides gras et des glucides (glucose et lactate). Le cœur utilise préférentiellement les acides gras comme principal combustible (Mc Garry *et al.*, 1980 ; Mc Garry et Foster, 1989). Cela permet une production considérable d'énergie (plus de 60% de la production cardiaque d'ATP sur 24 heures) (Grynberg *et al.*, 2002). L'utilisation des acides gras par le cœur est liée à la source, la concentration et le type d'acides gras livré au cœur, ainsi que la présence de substrats énergétiques concurrents. La régulation de la β -oxydation des acides gras est contrôlée à plusieurs niveaux notamment au niveau de la lipoprotéine lipase (LPL), la captation d'acide gras par les myocytes cardiaques, leur estérification en acyl CoA, la captation mitochondriale et la β -oxydation.

A.1. Source des acides gras

Les acides gras fournis au cœur sont soit des acides gras libres liés à l'albumine (AGL) ou des acides gras libérés de tri-acylglycérols (TAG) contenus dans les chylomicrons ou les lipoprotéines de très faible densité (VLDL) (Eaton, 1971 ; Van der Vusse *et al.*, 2000). Les deux sources contribuent de manière significative à l'approvisionnement d'acides gras au myocyte cardiaque. En fait, les concentrations circulantes normales des acides gras libres (AGL) sont comprises entre 0,2 et 0,3 mmol (Stanley *et al.*, 2005). Cependant, ces niveaux peuvent varier considérablement, de concentrations très faibles dans la circulation fœtale (Girard *et al.*, 1992) à des concentrations plus élevées de 2 mmol/L au cours des contraintes sévères telle, l'infarctus, l'ischémie et le diabète (Kurien *et al.*, 1969 ; Kurien et Oliver, 1971 ; Lopaschuk *et al.*, 1994). De même, l'activation du système nerveux sympathique pourrait aussi majorer les concentrations circulantes des AGL et ceci par l'augmentation principalement de la sensibilité des récepteurs adrénergiques qui stimulent l'activité de la protéine lipase au niveau du tissu adipeux (Kurien et Oliver, 1971). Cette activité se trouve accentuée surtout pendant et après un accident ischémique myocardique (Kurien et Oliver, 1971 ; Mueller et Ayres, 1980 ; Oliver, 2006) ou d'insuffisance cardiaque chronique (Stanley *et al.*, 2005). L'augmentation chronique ou aiguë des AGL a un impact majeur sur le taux de la captation cellulaire et la β -oxydation des AG (Bing, 1954 ; Lassers *et al.*, 1972 ; Wisneski *et al.*, 1987). En outre, les TAG des Chylomicrons sont également une source efficace d'acides gras qui peuvent rivaliser avec les AGL (Hauton *et al.*, 2001 ; Augustus *et al.*, 2002 ;

Niu et *al.*, 2006). De même, les acides gras contenus dans les TAG des VLDL (Hauton et *al.*, 2001 ; Niu et *al.*, 2006). L'activité de la lipoprotéine lipase (LPL) est responsable de la majoration des AGL dérivés de chylomicrons et des VLDL qui sont acheminés principalement vers la β -oxydation (Niu et *al.*, 2006). De plus, Tiebel et *al.* (1999) ; Takahashi et *al.* (2004) ont montré l'expression des récepteurs VLDL/ Apolipoprotéines (Apo E) dans le cœur et l'absorption des VLDL par cette voie a été proposée pour être une source possible d'acides gras myocardiques (Kamataki et *al.*, 2002 ; Niu et *al.*, 2006). Cette partie importante d'acides gras dérivés des TAG des VLDL médiée par le récepteur VLDL / Apo E est répartie de manière égale entre la β -oxydation et les dépôts des lipides intramyocardiques (Niu et *al.*, 2006 ; Pillutla et *al.*, 2005), et ce qui pourrait conduire à des répercussions potentiellement importantes dans le développement de la lipotoxicité cardiaque (Pillutla et *al.*, 2005).

A.2. Lipoprotéines lipase

Puisque la majorité des AGL circulants sont présents sous forme TAG dans les lipoprotéines, l'hydrolyse de ces TAG par la LPL est un déterminant important de la captation globale des acides gras et leur β -oxydation dans cœur (Pulinilkunnil et Rodrigues, 2006 ; Lee et Golberg, 2007). La LPL, fonctionnelle, est présente à la surface de la cellule endothéliale des capillaires et initialement synthétisée en tant que pro-enzyme inactive formée d'un monomère dans le réticulum endoplasmique (RE) du myocyte cardiaque lui-même (Pulinilkunnil et Rodrigues, 2006). Par la suite, la pro-enzyme est activée entre le RE et l'appareil de Golgi avant d'être sécrétée comme un homodimère actif qui se lie à la surface cellulaire de myocytes cardiaques au niveau des protéoglycanes à sulfate d'héparane (HSPG) (Pulinilkunnil et Rodrigues, 2006). La LPL est par la suite transférée sur la face luminale des cellules endothéliales au niveau des sites à HSPG formant un complexe LPL-HSPG, internalisé puis exposé du côté luminal de la cellule endothéliale (Pulinilkunnil et Rodrigues, 2006). Les modifications de la synthèse, de l'activation, de la sécrétion et de la dégradation de la LPL pourraient avoir un impact significatif sur l'approvisionnement des acides gras au myocarde, de leur captation et de leur dégradation par β -oxydation. En général, les situations de l'augmentation de l'activité LPL sont associées à une augmentation de la β -oxydation des acides gras (An et *al.*, 2005). Bien que les données soient variables, le diabète et la résistance à l'insuline sont également associés à une augmentation de la quantité de LPL cardiaque présente sur la surface luminale des cellules endothéliales (Pulinilkunnil et Rodrigues, 2006). La surexpression de la LPL cardiaque chez la souris est associée à des adaptations similaires

au diabète notamment l'augmentation de la captation d'acide gras et par conséquent l'apparition de cardiomyopathies (Yagyu et *al.*, 2003).

A.3. La captation myocardique des acides gras

Le cœur a une capacité limitée quant à la synthèse de novo d'acides gras (AG). Ainsi, son métabolisme repose principalement sur l'apport exogène des AG provenant de la circulation dont principalement les AGL liés à l'albumine et ceux des lipoprotéines riche en TAG (Van der Vusse et *al.*, 2000). Le taux de captation des AG par le cœur n'est pas principalement sous contrôle hormonal mais il est largement déterminé par la concentration artérielle en AG qui peuvent varier, de niveau, très faible dans la circulation fœtale, à des taux plus élevés (supérieurs à 2 mmol/L) chez un adulte avec un diabète non contrôlé et un syndrome métabolique (Lopaschuk et *al.*, 2010).

Bien que le passage des AGL liés à l'albumine dans les cardiomyocytes à travers la membrane plasmique soit assuré par la diffusion passive, ce mécanisme a une cinétique lente et est inhibé par les protéases (Goldberg et *al.*, 2009). Pour faciliter la captation des AG, le cœur est doté d'un système de transporteurs d'AG que sont les translocases (FAT) / CD36 et les protéines de transfert (FATP) (An et Rodrigues, 2006). Parmi ces transporteurs potentiels, le CD36 joue un rôle majeur dans le sarcolemme des myocytes cardiaques (Harmon et Abumrad, 1993). En effet, des études portant sur des souris à CD36 invalidé ont montré que le transport à travers les CD36 est responsable jusqu'à 70 % de la captation des AG dans les cardiomyocytes (Habets et *al.*, 2007). Des études de Luiken et *al.*, 2004 impliquant soit l'inhibition, soit la suppression de FAT/CD36 ont montré que 50 à 60 % de la captation des acides gras et leur oxydation par le cœur se produit via ces transporteurs (Kuang et *al.*, 2004). Les patients présentant un déficit en CD36 ont un taux faible de captation des acides gras (Fukuchi et *al.*, 1999 ; Nozaki et *al.*, 1999) confirmant le rôle clé de CD36 dans la régulation du métabolisme des acides gras cardiaque *in vivo*. De plus, il a été démontré que l'insuline et la contraction peuvent stimuler la translocation de FAT/CD36 vers la membrane sarcolemmale, via l'activation de l'AMP-activated protein kinase (AMPK), ce qui facilite l'absorption des acides gras (Luiken et *al.*, 2004).

A.4. Contrôle cytoplasmique des acides gras

Une fois dans le cytoplasme, les acides gras sont convertis en esters acyl-CoA à longue chaîne par l'acyl-CoA synthétase (FACS) (Figure 1). Ils peuvent être ensuite utilisés pour la synthèse d'un certain nombre de composés intermédiaires de lipides intracellulaires ou être transférés dans les mitochondries par la carnitine. La conversion des acides gras en lipides complexes tels que TAG, diacylglycérol (DAG) et céramides a récemment reçu un intérêt considérable car l'accumulation de ces intermédiaires a été impliquée dans le développement de la résistance à l'insuline et de l'insuffisance cardiaque (Petersen et Shulman, 2006 ; Muoio et Newgard, 2008).

Par ailleurs, une alimentation riche en acides gras et une production accrue des acyl-CoA à longue chaîne peut influencer le niveau de ces intermédiaires qui sont potentiellement nocifs. En effet, la surexpression cardiaque des FACS (Lee *et al.*, 2004) ou des FATP1 chez des souris (Chiu *et al.*, 2005) augmente la captation cardiaque d'acide gras et la conversion en acyl CoA à longue chaîne. Cela conduit à l'accumulation cytoplasmique de lipides, à une désorganisation myofibrillaire et au développement d'une grave cardiomyopathie dilatée. (Lionetti *et al.*, 2005 ; Dyck *et al.*, 2006 ; Okere *et al.*, 2007).

A.5. La captation mitochondriale des acides gras

La carnitine palmitoyltransférase (CPT) 1 est une enzyme clé dans les mitochondries, elle catalyse la conversion de l'acyl-CoA à longue chaîne en acyl-carnitine à longue chaîne. Ce dernier est transporté à travers la membrane mitochondriale interne par une carnitine, l'acylcarnitine translocase (CT) qui présente une large spécificité pour le transport d'ester carnitine à travers la membrane mitochondriale notamment l'acétyl-carnitine (Longo *et al.*, 2006 ; Schulz, 2007). Une fois dans la matrice, l'acyl-carnitine est reconverti en acyl-CoA à longue chaîne par le CPT2 situé au niveau de la membrane interne mitochondriale du côté de la matrice (Schulz, 2007). Enfin, l'acyl-CoA à longue chaîne produit par CPT2 intègre la voie de la β -oxydation des acides gras (Mc Garry et Foster, 1980; Weis *et al.*, 1994).

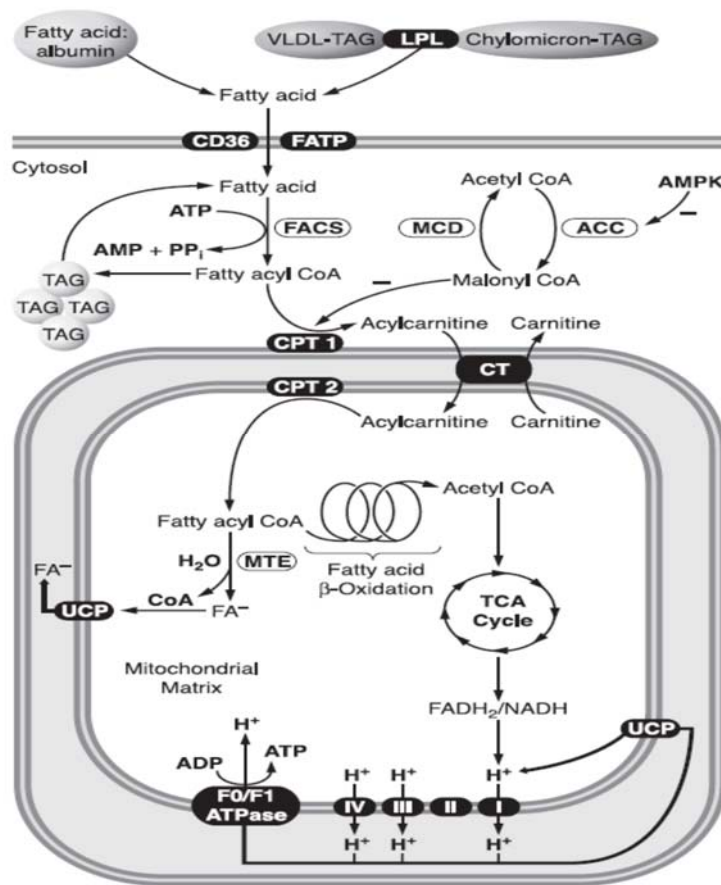


Figure 1. Métabolisme des acides gras dans le cœur (Lopaschuk et *al.*, 2010).

Les acides gras utilisés par le cœur proviennent principalement des acides gras liés à l'albumine ou à partir des acides gras contenus dans les chylomicrons ou les triglycérides (TAG) des lipoprotéines de très faible densité (VLDL). Ces acides gras sont captés par le cœur, soit par la diffusion ou par l'intermédiaire de transporteur CD36/FATP. Une fois à l'intérieur du compartiment cytosolique du myocyte cardiaque, ces acides gras (liés à des protéines de liaison d'acides gras) sont estérifiés en acyl-CoA par acyl-CoA synthétase (FACS). L'acyl-CoA peut être ensuite estérifié en lipides complexes tels que TAG où le groupe acyl est transféré à la carnitine par la carnitine palmitoyltransférase (CPT) 1. L'acylcarnitine est alors la navette dans les mitochondries où elle est reconvertie en acyl-CoA par la CPT 2. La majorité de ces acyl-CoA pénètrent ensuite dans le cycle β -oxydation de l'acide gras et produit l'acétyl CoA, les NADH et FADH₂. Sous certaines conditions, la thioestérase mitochondriale (MTE) peut cliver la longue chaîne acyl CoA en anions d'acides gras (FA⁻) lesquels peuvent traverser la matrice mitochondriale via les protéines de découplage.

A.6. La β - oxydation des acides gras

La β -oxydation dégrade l'acyl CoA en acétyl CoA qui entre dans le cycle des acides tricarboxylique (ou cycle de Krebs). Le cycle produit les équivalents réduits (NADH et FADH₂) qui permettent via la chaîne respiratoire de la membrane mitochondriale, la phosphorylation oxydative en produisant l'ATP à partir de l'ADP, du phosphate et de l'oxygène (Grynberg, 2001). Les enzymes de la β -oxydation des acides gras sont sous le contrôle de la transcription et des conditions d'accélération de la β -oxydation des acides gras, en relation avec l'augmentation de l'expression d'un certain nombre d'enzymes de la β -

oxydation (Lopaschuk et *al.*, 2007). Ces changements transcriptionnels sont dus dans une large mesure au PPAR α (Peroxisome proliferator activated receptor) et au PGC-1- α (Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha) (Huss et Kelly, 2004 ; Madrazo et Kelly, 2008 ; Desvergn et *al.*, 2006).

B. Métabolisme du glucose dans le myocyte cardiaque

Dans les conditions normales, le glucose est l'un des substrats majeurs utilisés par le cœur. Le métabolisme du glucose est régulé à plusieurs niveaux en particulier la captation, la glycolyse et la décarboxylation du pyruvate. La captation du glucose cardiaque dépend du gradient transmembranaire du glucose et le contenu sarcolemmal en transporteurs de glucose (Glut1 et Glut4) (Pessin et Bell, 1992 ; Kraegen et *al.*, 1993 ; Luiken et *al.*, 2004). Glut1 a une localisation sarcolemmale et représente la fixation cardiaque basale. En comparaison avec Glut1, Glut4 est le transporteur dominant dans le cœur adulte. Dans les conditions basales, une majorité des Glut4 est située dans un pool intracellulaire et leur translocation à partir du compartiment intracellulaire à la membrane sarcolemmale nécessite de l'insuline (Luiken et *al.*, 2004). Autre que le recrutement des Glut4 à la membrane sarcolemmale, l'insuline contrôle également le transport du glucose à travers la régulation de l'expression du gène des Glut (Olson et Pessin, 1995 ; Laybutt et *al.*, 1997). Il faut noter que la captation du glucose initiée par Glut pourrait également être stimulée par des mécanismes indépendants de l'insuline. Des études récentes ont montré que l'AMPK favorise aussi la redistribution des Glut4 vers la membrane du sarcolemme (Li et *al.*, 2004 ; Yang et Holman, 2005). Une fois à l'intérieur du cardiomyocyte, le glucose subit la glycolyse laquelle contribue à la production de 10% de l'ATP total généré. Le pyruvate généré a trois destinations : la carboxylation en oxaloacétate ou malate, la réduction en lactate et surtout la décarboxylation en acétyl-CoA. A l'oxydation, le pyruvate est transporté dans la mitochondrie et décarboxylé en acétyl-CoA par le pyruvate déshydrogénase (PDH) (Wu et *al.*, 1998 ; Huang et *al.*, 2003). L'Acétyl- CoA pénètre ensuite dans le cycle de l'acide tricarboxylique où il est finalement décomposé en H₂O et CO₂ pour la production d'ATP. D'autres hydrates de carbone comme le lactate jouent un rôle important dans la production de l'énergie cardiaque (Chatham, 2002).

C. La voie de la signalisation de l'insuline dans les cardiomyocytes

La liaison de l'insuline à son récepteur sur la surface cellulaire stimule son activité tyrosine kinase intracellulaire qui catalyse la phosphorylation des résidus de tyrosine du substrat du récepteur de l'insuline 1 (IRS-1). Ce dernier joue un rôle clé dans la transmission de la signalisation de l'insuline dans les myocytes cardiaques en activant deux voies principales, la voie de la phosphatidylinositol 3 -kinase (PI3K) et la voie de la mitogen-activated protein kinase (MAPK) (Coort et al., 2007). La PI3K est largement impliquée dans la signalisation métabolique en contrôlant l'utilisation des substrats dans le cœur. Précisément, la PI3K catalyse la conversion du phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate (PIP2) en phosphatidylinositol-3, 4, 5- triphosphate (PIP3) qui initie une cascade de kinases activant la voie de la signalisation protéine sérine / thréonine kinase B (PKB) ou Akt. L'activation de cette voie conduit à la translocation des Glut 4 du compartiment intracellulaire vers le sarcolemme, ce qui augmente le taux de captation du glucose. La PI3K favorise également la translocation FAT/CD36 des compartiments de stockage intracellulaires au sarcolemme dans les cardiomyocytes de rats adultes (Luiken et al., 2002) (Figure 2)

En conséquence, l'insuline augmente les capacités de la captation des acides gras mais au lieu d'être oxydés, ils sont stockés dans le pool intracellulaire (Dyck et al., 2001). Dans les conditions physiologiques, l'utilisation du glucose est réduite par l'augmentation de l'oxydation des acides gras via le cycle de Randle. Cependant, après un régime riche en glucides, le substrat énergétique cardiaque préférentiel bascule vers l'utilisation du glucose (60-70 %), facilité par les taux élevés d'insuline. Chez les rats Zucker obèses, l'altération de la captation des acides gras dans le cœur semble se produire plus tôt que la dérégulation de la captation du glucose (Kolter et al., 1997). Cela pourrait s'expliquer par l'accumulation très nocive des lipides intracellulaires (Zhou et al., 2000 ; Atkinson et al., 2003). En effet, l'accumulation de lipides intracellulaires dans le cœur est la conséquence de l'augmentation de l'expression des enzymes de la lipogenèse, couplée à une diminution d'expression des enzymes de l'oxydation des acides gras.

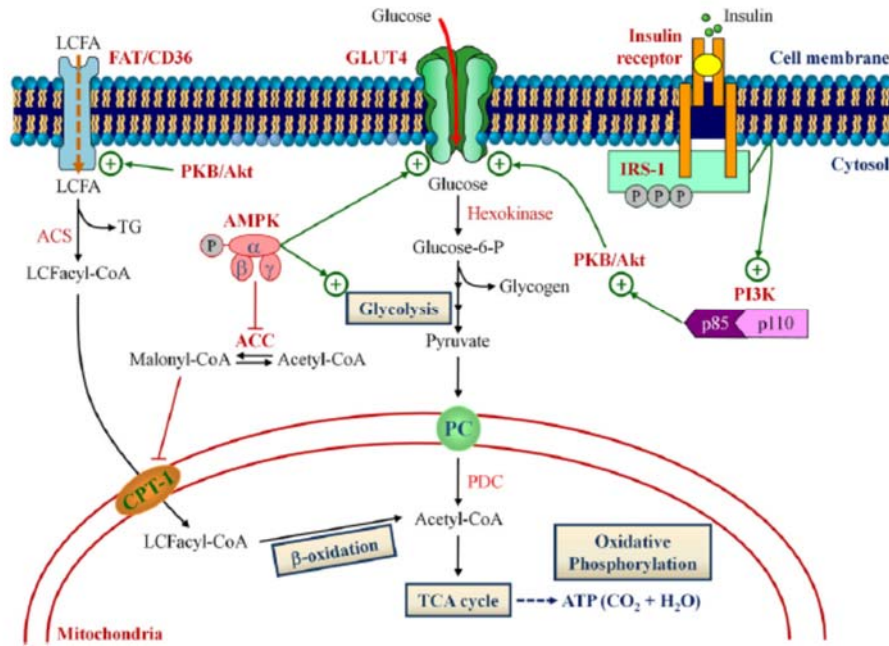


Figure 2. La régulation de métabolisme dans le cœur normal par l'insuline et l'AMPK (Palomar et al., 2013).

Lors de la captation par Glut4, le glucose est phosphorylé par l'hexokinase en glucose -6-phosphate lequel est stocké sous forme de glycogène et/ ou converti en pyruvate. Ce dernier passe dans la mitochondrie via un support spécifique (PC) où il subit une décarboxylation oxydative par le complexe pyruvate-déshydrogénase (PDC). La liaison de l'insuline à son récepteur, active la phosphorylation des résidus tyrosine au niveau de IRS-1 activant à son tour la PI3K qui initie une cascade de kinases notamment la protéine kinase B (PKB) / Akt, responsable de la translocation de Glut4 vers la membrane cellulaire des cellules cardiaques en augmentant ainsi la vitesse d'absorption du glucose. La PI3K favorise également la translocation de FAT/CD36 au sarcolemme des cardiomyocytes. L'activation de l'AMPK par la phosphorylation de son résidu Thr-172 induit l'inhibition de l'acétyl-CoA carboxylase (ACC). Cela entraîne la diminution des niveaux de malonyl-CoA réductase, un inhibiteur de la CPT-1. Par ailleurs, l'AMPK favorise l'expression myocardique du Glut4 et sa translocation à la membrane plasmique ce qui stimule les enzymes de la glycolyse.

D. Interaction entre le métabolisme des acides gras et du glucose

Dans le cœur perfusé, 50 à 70 % de l'acétyl-CoA provient de la β -Oxydation des acides gras et 30 à 50% du pyruvate (Wisneski et al., 1990 ; Stanley et al., 1997). Ce dernier a trois destinées principales : conversion en lactate, décarboxylation en acétyl-CoA, ou carboxylation en malate ou en oxaloacétate (Figure 3). La décarboxylation du pyruvate par le pyruvate déshydrogénase (PDH) est l'étape irréversible clé de l'oxydation des glucides (Patel et Korotchkina, 2006). Cette enzyme est un complexe multi-enzymatique situé dans la matrice mitochondriale ; elle est sous le contrôle d'une régulation allostérique. En effet, la PDH est inactivée par une phosphorylation via une PDHK spécifique et activée par une déphosphorylation via une phosphatase spécifique, la PDHP (Patel et Korotchkina, 2006) (Figure 3). La PDHK est inhibée par le pyruvate et par la diminution du rapport de l'acétyl-CoA / CoA et NADH/NAD⁺ (Patel et Korotchkina, 2006). Il existe quatre isoformes de

© 2006 The Authors
Journal compilation © 2006 Blackwell Publishing Ltd

E. L'altération du métabolisme cardiaque au cours de l'obésité et du diabète

E.1. Le flux d'acide gras

Dans les conditions physiologiques, la libération des acides gras libres à partir du tissu adipeux est bien régulée de telle sorte que des quantités appropriées d'AGL soient libérés en réponse aux besoins énergétiques des tissus, y compris le cœur. Lorsque l'équilibre entre les apports et les dépenses énergétique est perturbé suite à une consommation excessive des lipides, le tissu adipeux stocke l'excès, les adipocytes s'hypertrophient considérablement et libèrent des taux élevés d'AGL circulants et de TAG (Kashyap et *al.*, 2003 ; Koutsari et Jensen, 2006 ; Boden, 2008). Ces niveaux élevés des AGL peuvent également accélérer la synthèse des TAG des VLDL dans le foie, ce qui contribue à l'installation d'une hyperlipidémie (Lewis et *al.*, 1995). Des études sur l'homme et sur des modèles d'animaux ont montré qu'un changement métabolique fréquent au cours de l'obésité implique une élévation dans la circulation des AGL et des TAG (Buchanan et *al.*, 2005 ; Koutsari et Jensen, 2006). De plus, l'augmentation des AGL ainsi que le contenu de TAG intramyocardique semble augmenter progressivement avec l'indice de masse corporelle (Szczepaniak et *al.*, 2003). Il a été noté que l'accumulation d'AGL et de TAG dans le myocarde contribue au développement du dysfonctionnement cardiaque tel l'insuffisance cardiaque (Sharma et *al.*, 2004 ; Chiu et *al.*, 2005). L'augmentation de l'apport d'acides gras au cœur augmente leur captation et leur dégradation par la β -oxydation (Buchanan et *al.*, 2005).

E.2. La captation des acides gras et le stockage endogène des TAG

La captation accrue d'acides gras observée au cours de l'obésité et du diabète dépend aussi d'une plus grande expression des transporteurs de ces acides gras ainsi que de leur disponibilité sarcolemmale. La captation des acides gras est élevée au cours de l'insulino-résistance chez les rats Zucker et ce, associée à une plus grande disponibilité de FAT/CD36 ainsi que la FABP dans la région sarcolemmale (Luiken et *al.*, 2001 ; Coort et *al.*, 2004). Il a été aussi montré que l'hyperinsulinémie associée à la résistance à l'insuline au cours de l'obésité conduit à la stimulation de la translocation de CD36/FAT au sarcolemme dans les myocytes cardiaques de rat (Luiken et *al.*, 2004 ; Koonen et *al.*, 2005). Par ailleurs, une autre étude rapporte que l'augmentation de l'expression de FAT/CD36 contribue à la résistance à l'insuline par le fait qu'il existe une corrélation positive entre le contenu sarcolemmal de FAT/CD36 et de TAG cellulaire dans le muscle chez des patients obèses et atteints du diabète

de type 2 (Sampson et *al.*, 2003 ; Bonen et *al.*, 2004). En outre, les stocks intramyocardiques de TAG sont très faibles et augmentent rapidement avec le jeun à court terme ou la restriction alimentaire chez l'homme (Hammer et *al.*, 2008) et chez les rongeurs (Opie et *al.*, 1963) et cela en raison de la grande disponibilité des AGL et des corps cétoniques. De même, l'obésité et le diabète augmentent aussi ces stocks de TAG intramyocardiques (Atkinson et *al.*, 2003).

E.3. La β -oxydation et son contrôle

Des études ont montré que les souris obèses soumises à une diète induit une obésité (DIO) utilisant la β - oxydation des acides gras comme principale source d'énergie pour le cœur. De plus, Aasum et ses collaborateurs, (2003) ont également montré que les taux de la β -oxydation sont élevés dans les cœurs des souris db / db. Cependant, les acides gras et leurs dérivés peuvent également modifier directement l'expression des enzymes du métabolisme, notamment les récepteurs nucléaires de la famille PPAR et leur Co-activateur PGC-1 (Gilde et *al.*, 2003 ; Francis et *al.*, 2003 ; Buchanan et *al.*, 2005). En effet, l'activation de ces récepteurs nucléaires exacerbe la capacité de la β oxydation et son alimentation dans le cœur (Carley et Severson, 2005). Il apparaît donc que les troubles métaboliques précoces de l'obésité et de diabète se produisent indépendamment des variations de PPAR α / PGC-1 et de leurs cibles de transcription en aval (An et Rodrigues, 2006 ; Abel et *al.*, 2008). Cependant, la suralimentation chronique et l'obésité semblent activer la voie de signalisation PPAR α / PGC-1 résultant d'une augmentation des ARNm des protéines qui contrôlent la β -oxydation des acides gras dont la CPT1, FATP1, FACS1 et CD36 (Finck et *al.*, 2002 ; Abel et *al.*, 2008). La surexpression des PPAR α chez la souris accélère la β - oxydation des acides gras et altère la capacité d'utiliser le glucose avec un phénotype similaire au cœur diabétique (Finck et *al.*, 2002 ; Duncan et *al.*, 2007). En outre, les souris surexprimant les PPAR α ont une réduction significative dans l'expression de l'ARNm des Glut4 (Finck et *al.*, 2002). Par ailleurs, les PPAR α activent aussi la transcription de PDHK4 qui phosphoryle et inhibe le complexe PDH et par conséquent induisent l'altération de l'oxydation du glucose. En effet, les souris surexprimant des PPAR α ont une expression accrue de PDK4 associé à une diminution des taux d'oxydation du glucose dans le cœur (Hopkins et *al.*, 2003)(Figure 4).

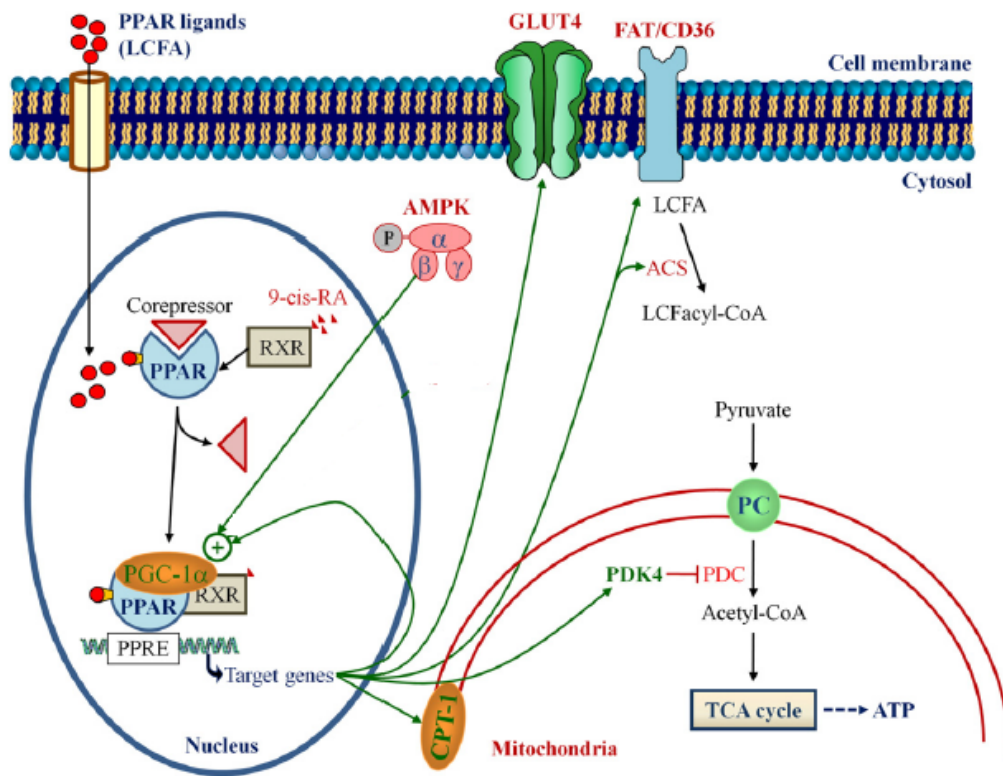


Figure 4. Le contrôle du métabolisme énergétique dans le cœur par l'axe PPAR/PGC-1α (Palomer et al., 2013).

Après la liaison des acides gras à longue chaîne (LCFA) et leurs produits eicosanoïdes à leurs ligand, les PPAR s'hétérodimérisent avec le récepteur acide rétinoïque 9-cis (RXR). Cette étape est suivie par le recrutement de co-activateur (PGC-1α) et sa liaison à l'éléments de réponse PPARE (PPRE), situé dans la région promoteur de gènes cibles de PPAR (ACS, CPT-1, FAT/CD36, GLUT4, PDK4, etc), impliqués dans la chaîne de transport d'électrons, la biogenèse mitochondriale, la β -oxydation des acides gras et le métabolisme oxydatif du glucose.

F. Les principales sources des espèces réactives à l'oxygène (ROS) et leurs effets dans les cardiomyocytes

Le cœur est une pompe contractile à forte consommation d'O₂ comparativement à tous les autres organes et qui pourra augmenter huit fois ou plus, dans des conditions de charge du travail maximal. Des mécanismes complexes sont impliqués pour faciliter le maintien d'un équilibre entre l'approvisionnement en O₂ du myocarde et sa consommation pendant les fluctuations physiologiques de la fonction contractile et la charge du travail. Sous les contraintes pathologiques telles que l'hypoxie et l'ischémie, des changements dans la structure et / ou dans la fonction des cardiomyocytes apparaissent et sont coordonnés par des modifications dans l'expression génique et protéique et / ou dans l'activité de diverses

Rappel Bibliographique

protéines. Les mécanismes redox sont souvent pointés du doigt en impliquant des voies de signalisation diverses (Brutsaert, 2003). En effet, dans les cardiomyocytes, les ROS sont générés par diverses sources, notamment les mitochondries, les NADPH oxydases de la famille de Nox et le monoxyde d'azote synthase (NOS). (Augusto, et *al.*, 2002 ; Winterbourn, 2008) conduisant généralement à des modifications post-traductionnelles des protéines redox. L'implication de ce stress dans le développement de certaines pathologies notamment l'insuffisance cardiaque, a été bien établie et serait en relation avec l'activation en cascade de signalisations maladaptative qui conduisent à une altération de l'homéostasie du calcium (Ca^{2+}), caractéristique fondamentale de la plupart des formes d'atteintes cardiaques (Rajasekaran et *al.*, 2007) (Figure5).

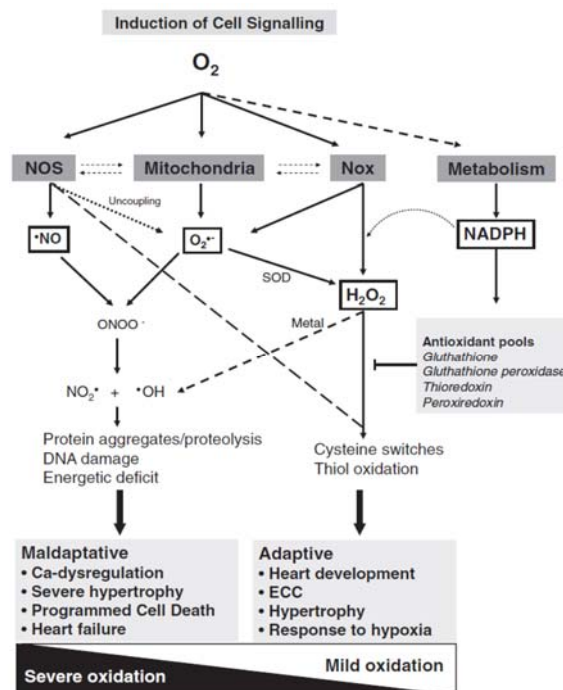


Figure 5. Les sources principales des ROS et leurs effets sur le cardiomyocyte (Celio et *al.*, 2011)

Une variété de signaux peut initier la signalisation redox, par exemple, des contraintes telles que l'hypoxie. Cela entraîne l'induction et / ou des changements dans la production des ROS par des sources impliquant la NO synthase (NOS), NADPH oxydases (NOX) et les mitochondries. Les principales espèces générées dans un premier temps sont NO , $\text{O}_2^{\bullet -}$ ou H_2O_2 . Ceux-ci agissent souvent au niveau moléculaire et participent par des voies différentes aux modifications post-traductionnelles des protéines. En général, la production de bas niveau des ROS peut être impliquée dans les processus potentiellement adaptatifs tels que l'adaptation à l'hypoxie et à la modulation de couplage excitation-contraction (ECC). D'autre part, la génération de niveaux plus élevés de ROS et / ou oxydants plus puissants tels que $\text{OH}^\bullet$ peut entraîner une pathologie importante à la suite de dommages macromoléculaires.

G. Le métabolisme cardiaque dans les conditions pathologiques : l'hypertrophie pathologique et l'insuffisance cardiaque

Il est bien établi que le métabolisme cardiaque subit une reprogrammation en réponse à une atteinte cardiaque, caractérisée par le recours accru au métabolisme du glucose et la diminution de l'oxydation des acides gras (Young et *al.*, 2001 ; Akki et *al.*, 2008). Cela a été constaté dans le cœur hypertrophié qui est caractérisé principalement par une régulation importante de la captation du glucose et la glycolyse (Allard et *al.*, 1994; Nascimben et *al.*, 2004). Ces modifications souvent associées à une baisse de l'oxydation des acides gras et qui représentée probablement par une capacité réduite par le métabolisme oxydatif mitochondrial. Selon Lehman et Kelly, 2002, dans les modèles d'animaux de petite taille, le changement de substrat est associé à la régulation négative des mécanismes de la transcription de l'oxydation des acides gras et de la biogenèse mitochondriale via PPAR α et PGC1 α . Le passage de l'utilisation de l'oxydation du glucose au profit des acides gras améliore l'efficacité de l'oxygène disponible pour la synthèse de l'ATP (Burkhoff et *al.*, 1991; Korvald et *al.*, 2000). Cela devient particulièrement important au cours de l'insuffisance cardiaque causée par une cardiomyopathie ischémique chronique où l'approvisionnement en oxygène est limité (Davidoff et *al.*, 2004 ; Suarez et *al.*, 2008). D'autres études ont montré que le basculement métabolique dans le cœur hypertrophié est associé à une diminution de la synthèse globale d'ATP (Allard et *al.*, 1994) et cela par le fait que la glycolyse et sa contribution à la synthèse d'ATP totale est limitée et présente une quantité <5% de l'énergie totale utilisée par le cœur (Allard et *al.*, 1994). En outre, l'entrée de glucose dans le cœur adulte est commandée par l'insuline, dont le défaut d'utilisation serait responsable de limiter la disponibilité de glucose et donc de compromettre les capacités de synthèse de l'ATP (Swan et *al.*, 1997 ; Nikolaidis et *al.*, 2004) (Figure 6).

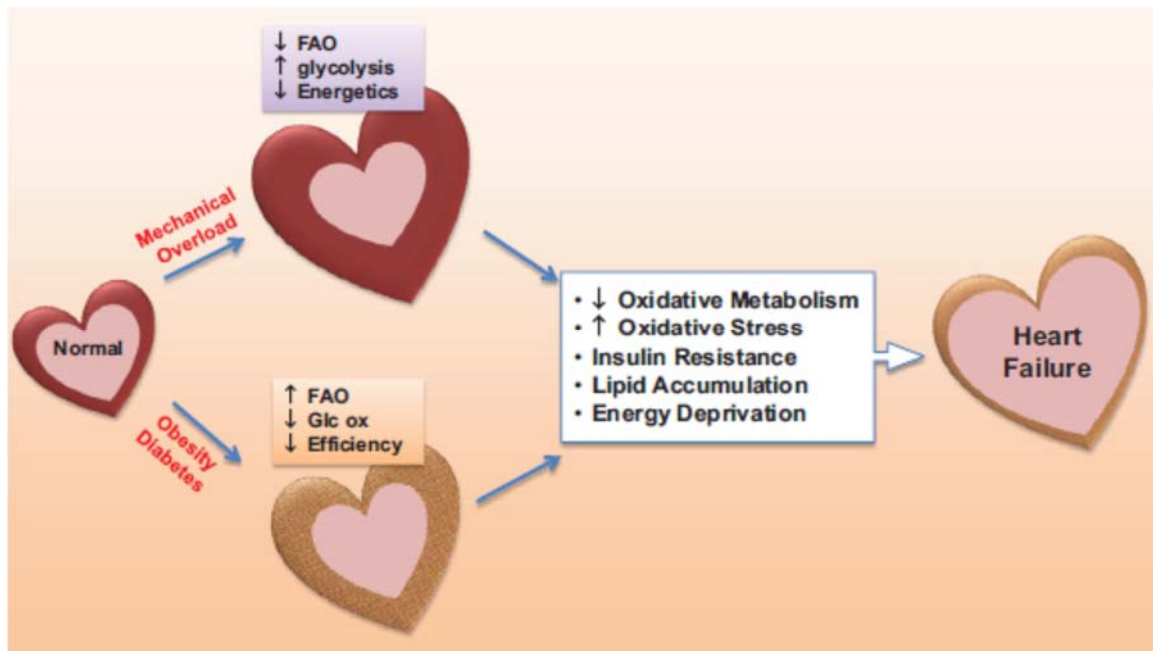


Figure 6. Le remodelage métabolique et le développement de l'insuffisance cardiaque. (Kolwicz et al., 2013).

Au cours de l'hypertrophie pathologique et en réponse à une surcharge mécanique, par exemple une hypertension ou un post-infarctus du myocarde, cela est accompagnée par un remodelage métabolique caractérisé par une diminution de l'oxydation des acides gras (FAO) et l'augmentation de la glycolyse. A l'inverse, l'apport élevé et continu de substrats dans le cœur des personnes obèses et diabétiques conduit à une augmentation de la FAO avec une diminution de l'oxydation du glucose (Glc ox). Cette condition de surcharge lipidique compromet l'efficacité cardiaque. Quelle que soit le facteur déclenchant, la persistance des perturbations métaboliques conduit à la progression de l'insuffisance cardiaque.

Chapitre II : Homéostasie du calcium du myocyte cardiaque

A. Cycle excitation- contraction- relaxation et protéines régulatrices

Le réticulum sarcoplasmique (RS) est le système membranaire des cellules cardiaques qui joue un rôle prédominant dans le couplage excitation-contraction cardiaque (Konrad et *al.*, 2003). Pendant la systole (la contraction) et lorsque un potentiel d'action arrive à la cellule, le calcium Ca^{2+} entre dans les cardiomyocytes par les canaux calciques voltage-dépendants (canaux calciques membranaire de type L). Ce calcium se lie et active le récepteur ryanodine (RyR2) situé sur la membrane du RS qui déclenche la libération de Ca^{2+} . Ce processus est appelé le calcium qui induit la libération du calcium ou CICR (Fabiato et Fabiato, 1997) et qui amplifie et coordonne le signal Ca^{2+} en interagissant avec des protéines de myofilaments et en produisant la contraction. Lors de la diastole (relaxation), le Ca^{2+} cytosolique doit être diminué rapidement et ceci est accompli par la pompe Ca^{2+} ATPase du RS (SERCA) qui assure la captation de Ca^{2+} dans le RS et dans une moindre proportion par l'échangeur sodium/calcium ($\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ ou NCX) qui expulse le Ca^{2+} dans l'espace extracellulaire (Bers, 2001) (Figure7).

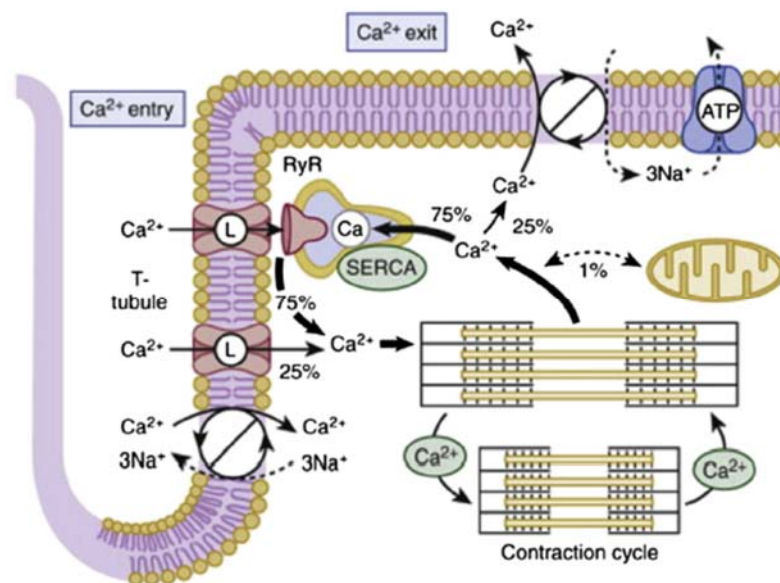


Figure 7. Le cycle contraction-relaxation dans les cardiomyocyte (Braunwald, 2013)

Les ions calcium (Ca^{2+}) entrent dans la cellule par des canaux calcique de type L et déclenchent la libération de Ca^{2+} du réticulum sarcoplasmique via RyR : récepteur de la ryanodine pour initier la contraction ; le Ca^{2+} quitte ensuite les myocytes via l'échangeur $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ et SERCA2a : pompe Ca^{2+} ATPase du réticulum sarcoplasmique qui repompe le Ca^{2+} vers le réticulum sarcoplasmique (RS).

B. Les protéines du cycle contraction-relaxation

B.1. Les canaux calciques de type L (LTCCs) ou DHPR (DiHydroPyridine Receptors)

Les LTCCs sont des complexes multimériques constitués par un pore formé par la sous-unité α_1 et ses combinaisons β , $\alpha_2\delta$ et la sous-unité γ (Catterall, 2000). La sous-unité α_1 sert de composant fonctionnel principal du complexe de canal et se compose de quatre domaines homologues (I à IV) contenant chacun six segments transmembranaires (S1-S6) (Zhang et al., 2011). Des études ont estimé que près de 75 % de LTCCs résident au niveau des jonctions de la dyade dans les myocytes cardiaques (Scriven et al., 2000). Dans des cardiomyocytes ventriculaires de mammifères, les couplages dyadiques se produisent principalement dans la direction transversale au réseau de tubules (T) qui représente un système complexe des structures membranaires continues et interconnectées avec l'espace extracellulaire (Bers, 2002). Les tubules T s'étendent en profondeur dans le myocyte au niveau de chaque ligne Z myofibrillaire, amenant la membrane plasmique à proximité immédiate de la jonction du RS à travers la largeur de la cellule, ce qui permet une libération synchronisée de Ca^{2+} dans toute la cellule pour chaque dépolarisation (Bers, 2002 ; Orchard et al., 2009). Des études ont été faites et au cours desquelles le système tubulaire T a été isolé en utilisant un choc osmotique. Cela a conduit à une diminution de 75-80 % des LTCCs. De plus, les LTCCs dyadiques sont la cible de nombreuses voies de signalisations neurohormonales dont principalement celle de la voie β -adrénergique/PKA, ce qui permet l'augmentation de la contractilité en partie par l'amélioration de LTCC (Kamp et Hell, 2000) (Figure 8).

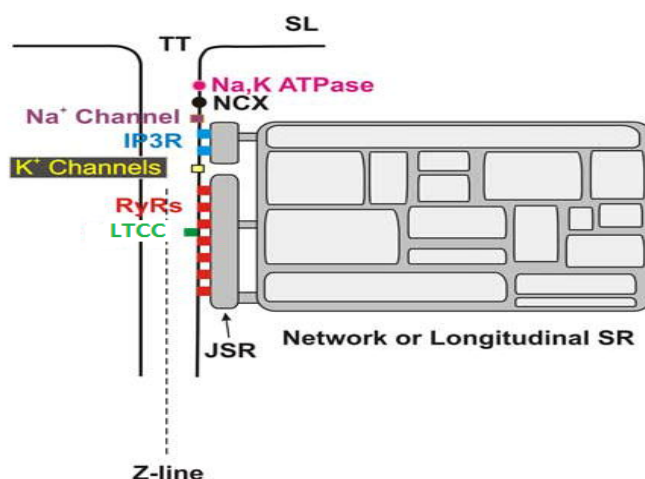


Figure 8. Représentation des tubules transverses, des canaux ioniques, des transporteurs protéines clés et le réticulum sarcoplasmique (modifié d'après Song et al., 2005). TT : Les tubules transversales ; IP_3 : Les récepteurs IP_3 ; JSR : réticulum endoplasmique jonctionnel ; SL : sarcolemme

B.1.1. La modulation des LTCCs par le cholestérol membranaire et les lipides

Il a été démontré que les radeaux lipidiques et les cavéoles enrichis en sphingolipides, en cholestérol et en phosphoinositides modulent les propriétés fonctionnelles d'un certain nombre de canaux ioniques (Dart, 2010 ; Maguy et *al.*, 2010). Les approches expérimentales montrant que le rôle du cholestérol ou des lipides dans la fonction des canaux ioniques sont souvent compliquées en raison de l'intervention d'un grand nombre de molécules de signalisation qui régulent l'activité des canaux ioniques. Cependant, il existe une certaine évidence que le cholestérol module directement les LTCC. L'exposition des cellules musculaires lisses à des liposomes enrichis en cholestérol ont conduit à une augmentation progressive des LTCC (Sen et *al.*, 1992). Les stratégies thérapeutiques de modification lipidique telles que les statines ou la supplémentation alimentaire en acides gras polyinsaturés n-3 ont montré leurs effets comme traitement anti-arythmique. Ces substances exercent leurs effets via plusieurs mécanismes notamment la modulation de l'expression des canaux ioniques et leur fonction (Xiao et *al.*, 2005 ; Sandesara et *al.*, 2008). L'action anti-arythmique des acides gras polyinsaturés tels que l'acide eicosapentaénoïque (EPA) a été partiellement attribuée à une diminution des LTCC (Xiao et *al.*, 1997 ; Xiao et *al.*, 2005). De même, la simvastatine est responsable de la suppression des LTCC dans les myocytes ventriculaires de souris (Vaquero et *al.*, 2007).

B.1.2. L'altération de la fonction des LTCC dans les maladies cardiaques

Le dérèglement de LTCCs est impliqué dans la physiopathologie de nombreuses maladies cardiaques, en particulier l'insuffisance cardiaque et la fibrillation auriculaire (Van Wagoner et *al.*, 1999 ; Antzelevitch et *al.*, 2007). Plusieurs études ont suggéré que la géométrie et la composition en protéines des compartiments sub-cellulaires associés à l'activité des LTCC sont modifiées dans certaines maladies cardiaques (Gómez et *al.*, 1997 ; Heinzl et *al.*, 2011). Ces changements pourraient avoir un impact direct sur la fonction et la régulation de LTCCs et pourraient contribuer à des défauts de signalisation du Ca^{2+} , du couplage EC et de l'instabilité électrique (Soeller et Cannell, 1997). D'autres études ont montré qu'il y aurait un remodelage du système tubulaire T au cours de l'insuffisance cardiaque et qui contribuerait à un couplage EC inefficace (He et *al.*, 2001 ; Balijepalli et *al.*, 2003 ; Lyon et *al.*, 2009). Ce remodelage structurel est associé à une diminution importante de (~ 50 %) de la densité de LTCCs (He et *al.*, 2001 ; Horiuchi-Hirose et *al.*, 2011). Il a été également suggéré que le remodelage des tubules T pourrait modifier la géométrie des micro-

domaines de la fente dyadique (Gómez et *al.*, 1997 ; Heinzel et *al.*, 2011 ; Heinzel et *al.*, 2008). Ces changements dans l'architecture et la composition des tubules T pourraient perturber les complexes signaux macromoléculaires conduisant à une dérégulation des LTCCs (He et *al.*, 2001 ; He et *al.*, 2005).

B.2. Le récepteur à la ryanodine (RyR)

B.2.1. Structure

Les RyRs sont les plus grands canaux ioniques. Chaque monomère est constitué de 5000 acides aminés et a une masse moléculaire de 565 kDa. Il y a trois isoformes de RyR chez les mammifères. L'isoforme1 (RyR1) est prédominante dans le muscle squelettique (Marks et *al.*, 1989; Takeshima et *al.*, 1989) tandis que l'isoforme2 (RyR2) est prédominante dans le muscle cardiaque (Otsu et *al.*, 1990). L'isoforme3 (RyR3) est largement distribuée (Hakamata et *al.*, 1992). Les RyR portent trois grandes régions différentes non homologues ou DR : DR1, DR2 et DR3 (Sorrentino et Volpe, 1993). Les chercheurs ont corrélé les caractéristiques structurales des isoformes aux caractéristiques fonctionnelles dans une tentative d'identifier les différents domaines concernés par la régulation de la RyR (Ottini et *al.*, 1996). La région N-terminale comprend environ 90 % de la chaîne polypeptidique du RyR, elle forme le domaine cytoplasmique qui sert d'un échafaudage et qui pourrait même moduler la fonction du canal (Marks et *al.*, 2002). Cette partie cytoplasmique volumineuse du RyR est dénommée le « pied » (Franzini et Jorgense, 1994). Le reste de la séquence de RyR (10 %) correspond à la région C- terminale qui forme la partie transmembranaire (4-10 hélices) et les régions de pores du canal (Marks et *al.*, 1989 ; Zorzato et *al.*, 1990 ; Du et *al.*, 2002)(Figure 9).

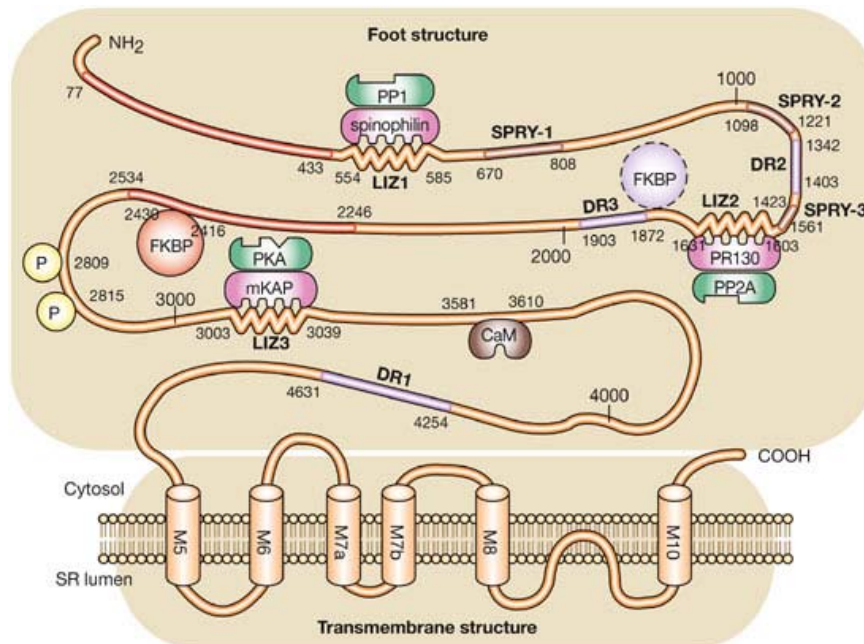


Figure 9. La structure primaire d'un récepteur du ryanodine (RyR) cardiaque et les domaines de liaison des protéines phosphatases 1 et 2A, de la protéine kinase A et de la calmoduline ainsi que de la calstabin-2 ou FKBP12.6 (Orabi et al., 2014).

Les protéines phosphatases 1 et 2A et la protéine kinase A se lient au récepteur du ryanodine cardiaque par l'intermédiaire de leurs protéines adaptatrices spécifiques. Trois grandes régions différentes (non homologues) sont également indiquées et six segments transmembranaires sont représentés.

Cam, calmoduline ; DR, région divergente ; FKBP, calstabin-2 ; LIZ, leucine-isoleucine zipper ; PKA, la protéine kinase A ; PP, protéine phosphatase ; SR, réticulum sarcoplasmique

B.2. 2. Rôle des RyR dans le cycle de contraction

L'entrée ou la libération du calcium durant le cycle de chaque battement cardiaque est initiée par un potentiel d'action (PA) ; c'est un signal électrique qui dépolarise la membrane plasmique et l'invagination spécialisée appelé les tubules transverses (tubule T) (Steven et Andrew, 2013). Les canaux calciques voltage-dépendants appelés aussi récepteurs des dihydropyridines (DHPR) sont activés au niveau de ces tubules T par une dépolarisation qui laisse entrer une petite quantité de Ca^{2+} dans la cellule (Steven et Andrew, 2013). La quantité de Ca^{2+} qui en résulte est insuffisante pour déclencher la contraction, mais suffisante pour activer l'ouverture du canal calcique du réticulum sarcoplasmique ou récepteur de ryanodine (Lacampagne et al., 2008). Le calcium ainsi libéré du RS via RyR2 élèverait la concentration cytosolique du Ca^{2+} , environ dix fois pour atteindre environ 1 μM . Ce processus est le CICR

(Steven et Andrew, 2013). L'ouverture d'un seul DHPR est suffisante pour déclencher une libération élémentaire de Ca^{2+} (Ca^{2+} -spark) générée par un petit groupe de RyR2. La sommation de milliers de sparks associés au courant calcique de type L (CCTL) permet une augmentation massive et transitoire de Ca^{2+} cytosolique déclenchant la contraction (Lacampagne et *al.*, 2008). A la fin de la contraction, le calcium est alors repompé dans le RS par le SERCA2a et à travers la membrane plasmique par l'échangeur $\text{Na}^+ / \text{Ca}^{2+}$ (NCX), entraînant la diminution de la concentration cytosolique du Ca^{2+} [Ca^{2+}] à des niveaux de base de ~ 100 nM, ce qui provoque la relaxation (Steven et Andrew, 2013).

B. 2.3. Les principales protéines régulatrices du RyR

B. 2.3.1. Les protéines régulatrices cytoplasmiques

B. 2.3.1.1. La calstabile 2 (FKBP12.6)

C'est une enzyme à activité peptidyl-propyl-*cis-trans*-isomérase de 12,6 kDa qui se fixe avec une forte affinité sur chaque monomère du RyR2 du côté externe du domaine cytoplasmique. Dans le myocyte cardiaque, la concentration tissulaire de calstabin1 est supérieure à celle de calstabin2 mais l'affinité de RyR2 à cette dernière est plus élevée par rapport à celle de calstabin1 (Timerman et *al.*, 1996). Les mesures électrophysiologiques de l'activité des RyR2 montrent que l'interaction de la calstabile 2 avec le RyR2 stabilise l'état fermé du canal pendant la phase diastolique en réduisant la libération de Ca^{2+} du RS (Prestle et *al.*, 2001) ; sa dissociation augmente la probabilité d'ouverture (P_o) et induit des états de sous-conductance (Prestle et *al.*, 2001). La calstabile 2 est certainement la protéine régulatrice qui a suscité à ce jour le plus grand intérêt en raison de son rôle important en physiopathologie

B.2.3.1.2. La calmoduline

La Calmoduline (CaM) est une petite protéine cytoplasmique fixatrice du calcium et régulatrice de nombreuses fonctions cellulaires (Tadross et *al.*, 2008). Dans le muscle cardiaque, la CaM module directement ou indirectement l'activité des protéines qui jouent un rôle clé dans le couplage ECC et en particulier, celles qui sont responsables de la libération et de la séquestration du Ca^{2+} cytosolique du RS dont principalement la RyR (Yamaguchi et *al.*, 2003 ; Yang et *al.*, 2014). Il a été montré que la CaM inhibe l'ouverture du canal de la RyR en présence de concentration intracellulaire du Ca^{2+} importante (Yang et *al.*, 2014). Sous sa forme libre en présence de concentration intracellulaire de calcium faible, la calmoduline

favorise au contraire leur ouverture (Tripathy et *al.*, 1995). Par ailleurs, une défaillance de la liaison CaM-RyR lèverait l'effet d'inhibition de la CaM sur la fonction de la RyR a été largement impliqué dans la pathologie cardiaque. De plus, il a été démontré dans des modèles d'animaux que la diminution ou la suppression de la liaison de la CaM à la RyR est associée à un déficit de la libération du Ca^{2+} du RS et conduirait à une hypertrophie cardiaque et à un décès prématuré (Yamaguchi et *al.*, 2007).

B.2.3.1.3. La protéine kinase A (PKA), la Ca^{2+} /calmoduline protéine Kinase-dépendante (CaMKII) et la phosphatases de type 1 et 2A (PP2A).

La PKA et la CaMKII sont des kinases permettant la régulation de la phosphorylation locale du RyR2. Pendant la stimulation β -adrénergique, les RyR2s subissent une phosphorylation par la PKA et la CaMKII (Li et *al.*, 2002 ; Capes et *al.*, 2011). En effet, le RyR2 contient différents sites de phosphorylation qui ont été mis en évidence : le site Ser2808 lequel est phosphorylé à la fois par la PKA et la CaMKII (Witcher et *al.*, 1991 ; Wehrens et *al.*, 2006 ; Benkusky *al.*, 2007), le site Ser2814 qui est phosphorylé par CaMKII (Pereira et *al.*, 2013) et celui de Ser2030 qui est phosphorylé uniquement par PKA (Xiao et *al.*, 2006). Des données ont révélé que la phosphorylation du site Ser2814 augmente la fuite du Ca^{2+} des RyR menant à des états d'arythmies et pouvant exacerber certaines formes de l'insuffisance cardiaque (Valdivia, 2012). Sous la stimulation β -adrénergique, la phosphorylation dépendante de CaMKII au niveau de site Ser 2814 conduit à l'augmentation de l'activité des RyR2 par la participation de l'Epac (protéine d'échange activée par l'AMPc) en particulier l'isoforme Epac 2 qui augmente la fuite du calcium via les RyR2, réduisant la charge du Ca^{2+} au niveau du RS (Pereira et *al.*, 2007 ; Pereira et *al.*, 2013). De plus, il a été proposé aussi que lorsque le RyR est phosphorylé par la PKA sur la Ser 2808, il induit la dissociation FKBP12.6- RyR en augmentant la sensibilité des RyR au Ca^{2+} et sa probabilité d'ouverture et de son activation (Marx et *al.*, 2000 ; Jiang et *al.*, 2002) c'est un effet adaptatif bénéfique en réponse à un stress. Cependant, une hyperphosphorylation chronique du RyR2 par la PKA a un effet délétère qui maintient le canal dans un état de sous-conductance permanent (Jiang et *al.*, 2002). Les PP2A sont également liées au RyR2 par leurs protéines d'ancrage respectives, la spinophiline et la PR130. Les phosphatases et les phosphodiésthérases permettent respectivement de déphosphoryler le canal et de réduire localement la concentration en AMPc.

B.2.3.2. Les protéines régulatrices luminales de la RyR

B.2.3.2.1. La Calsequestrine (CSQ2)

La CSQ est une protéine clé dans le RS jouant un rôle de séquestration du calcium. La CSQ1 est exprimée principalement dans le muscle squelettique à contraction rapide tandis que la CSQ2 est exprimée en abondance dans le muscle squelettique à contraction lente et les muscles cardiaques. Les CSQ sont des glycoprotéines qui constituent 27 % du contenu de protéines jonctionnelles du RS à la différence de la RyR qui ne représente que 5%. La grande capacité de la CSQ pour le Ca^{2+} fait que le calcium libre dans le SR soit maintenu au moins à un 1 mM quelque soit les variabilités durant le cycle de libération du calcium (Beard et *al.*, 2004). La CSQ ne séquestre pas seulement le calcium mais régularise aussi sa libération du RS en communiquant avec le RyR par deux autres protéines clés, la Triadine et la Junctine. Il a été montré que la CSQ peut se lier directement à la RyR et régule son activité en absence de triadine et junctin (Herzog et *al.*, 2000). Dans le muscle, le complexe CSQ- RyR est essentiel pour la signalisation normale du calcium puisque des mutations dans la CSQ peuvent entraîner des arythmies et une mort cardiaque subite (Lahat et *al.*, 2001 ; Viatchenko et *al.*, 2004 ; Terentyev et *al.*, 2006). La CSQ inhibe à la fois les canaux RyR des cellules cardiaques et squelettiques et modifie sensiblement la réponse du canal aux changements de concentrations luminales du calcium (Beard et *al.*, 2002 ; Terentyev et *al.*, 2003; Beard et *al.*, 2005). Par ailleurs, une réduction importante de la concentration de calcium dans le RS conduit à la fermeture des RyR2 à une période réfractaire qui se maintient jusqu'à la reconstitution des stocks calciques du RS par la SERCA. Ces interactions entre la CSQ et la RyR sont médiées par la triadine et junctin (Beard et *al.*, 2002) (Figure 10). Terentyev et *al.*, (2003) ont montré que la CSQ2 détermine la capacité de stockage du calcium du RS cardiaque ainsi que la régulation de la quantité de calcium libéré du SR au cours de couplage excitation-contraction.

B.2.3.2.2. La Triadine et la Junctine

La Triadin et la Junctin se trouvent dans de nombreux tissus ; en se liant à RyR et CSQ, elles forment un complexe qui joue un rôle dans la signalisation du Ca^{2+} (Jones et *al.*, 1995 ; Tijssens et *al.*, 2003). Des études ont montré que les changements dans les niveaux d'expression à la fois de la Triadine et de la Junctine ont provoqué des changements considérables dans la signalisation du Ca^{2+} dans les myocytes cardiaques. En effet, la surexpression de la triadine dans les myocytes cardiaques augmente la prédisposition à une

arythmie (Terentyev et *al.*, 2005) tandis que la surexpression de la Junctine réduit la charge du Ca^{2+} dans le RS (Kirchhefer et *al.*, 2006). Ainsi, la Junctine et la triadine sont impliquées dans le développement structurel, l'organisation et le maintien des unités de la libération de calcium dans le muscle cardiaque. Les sites d'interaction entre la CSQ2, la Triadine, la Junctine et le RyR2 dans le complexe quaternaire sont des sites thérapeutiques potentiels pour modifier la signalisation du Ca^{2+} .

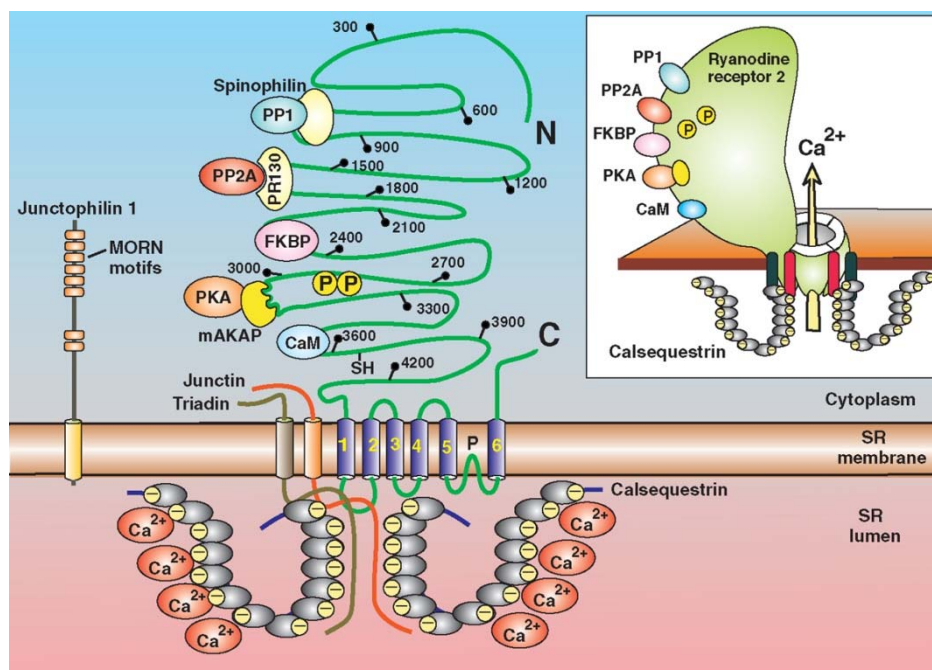


Figure 10. Représentation schématique du complexe macromoléculaire formé par le récepteur de la ryanodine et ses protéines associées (Berridge, 2012).

CaM : calmoduline ; CSQ : calsequestrine ; FKBP : calstabilité

B.2.3.2.3. La protéine HRC (Histidine Rich Ca^{2+} -binding protein)

Dans le muscle squelettique et cardiaque, la HRC est associée indirectement à la RyRs via la triadine (Lee et *al.*, 2001; Sacchetto et *al.*, 2001 ; Arvanitis et *al.*, 2007). Cette interaction HRC- triadine est dépendante de la concentration du Ca^{2+} et varie selon les tissus. Dans le muscle squelettique et à forte concentration du Ca^{2+} , la liaison HRC- triadine se trouve inhibée (Lee et *al.*, 2001) tandis que dans le muscle cardiaque, elle est fortement renforcée (Arvanitis et *al.*, 2007).

Des études ont proposé que la région C-terminale correspondant aux résidus 600- 699 de HRC est critique dans l'interaction avec la triadine (Sacchetto et *al.*, 2001 ; Arvanitis et *al.*,

2007) et cette région a également été identifiée comme le domaine de liaison pour le Ca^{2+} dans le muscle cardiaque. Une autre région de HRC, comprenant les résidus 320- 460, interagit aussi avec le SERCA2a (Arvanitis et *al.*, 2007). Par conséquent, la double interaction HRC-triadine et SERCA2a, est un mécanisme de régulation unique dans le muscle cardiaque (Arvanitis et *al.*, 2007)

B.3. La pompe SERCA du réticulum sarcoplasmique

Les SERCAs (Sarco/endoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase) sont des protéines membranaires du réticulum sarcoplasmique (RS) de 110 kDa, ATP dépendantes qui transportent les ions Ca^{2+} du cytosol vers la lumière du SR (Asahi et *al.*, 2003). La protéine SERCA est exprimée principalement en trois isoformes, SERCA1, 2, et 3. En outre, SERCA1 lui-même est exprimé en deux sous isoformes, SERCA1a et 1b. SERCA1a se trouve dans les muscles squelettiques à contraction rapide chez l'adulte, tandis que SERCA1b se trouve dans le muscle squelettique à contraction rapide au cours de la vie fœtale et chez le nouveau-né (Brandl et *al.*, 1987). SERCA2 est la protéine du groupe de SERCA la plus largement distribué et qui possède aussi trois isoformes, 2a, 2b, et 2c (Vangheluwe et *al.*, 2005). SERCA2a est exprimé dans les muscles squelettiques à contraction lente et dans les myocytes cardiaques, SERCA2b a été détecté dans divers tissus (Wuytack et *al.*, 1998) et l'expression du SERCA2c a été détectée dans l'épithélium, l'endothélium ainsi que dans les cardiomyocytes (Gelebart et *al.*, 2003). L'expression des isoformes du SERCA dans le myocarde pathologique a été récemment montrée (Dally et *al.*, 2010). Plusieurs protéines régulatrices modulent l'activité de la pompe SERCA2 dont principalement le phospholamban (PLN) et la sarcolipine (SLN). Le PLN est une protéine membranaire fortement exprimée dans le muscle ventriculaire du cœur, il inhibe la fonction de la protéine SERCA (Simmerman et Jones, 1998) tandis que la SLN, localisée principalement dans l'atrium, inhibe aussi la protéine SERCA (Odermatt et *al.*, 1998 ; Asahi et *al.*, 2003).

B.3.1. Les protéines régulatrices de SERCA2a

De nombreuses données expérimentales ont montré que les protéines impliquées dans la libération du Ca^{2+} de RS sont des complexes macromoléculaires tels que le récepteur de la ryanodine. L'existence d'un autre complexe de protéines impliqué dans la régulation de la captation du Ca^{2+} de RS a été récemment montrée principalement SERCA2a et ses protéines associées. De plus, il a été noté que SERCA2a pourrait interagir aussi bien avec des protéines situées du côté luminal de RS telles que HRC (Arvanitis et *al.*, 2007), la calreticuline, (Ihara et *al.*, 2005) et du côté cytosolique. En outre, le PLN et la sarcolipine peuvent aussi se lier au domaine cytosolique et /ou transmembranaires de SERCA2a et conduire à une inhibition de l'affinité de la pompe pour le Ca^{2+} (Asahi et *al.*, 2003 ; Bhupathy et *al.*, 2007) (Figure 11). Le PLN s'est révélée à ce jour être un régulateur majeur de l'activité de SERCA2a, elle est la seule protéine qui est associée directement au SERCA2a et qui est impliquée dans le développement de certaines maladies cardiaques, telle que l'insuffisance cardiaque.

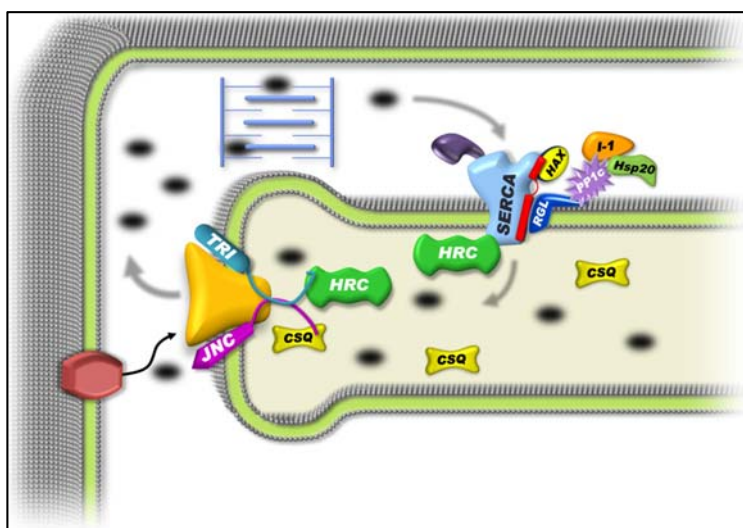


Figure 11. La représentation schématique de complexe PLN/ SERCA2a (Haghighi et *al.*, 2014)

Dans le couplage EC, la dépolarisation de la membrane sarcoplasmique active les DHPR, provoquant un afflux du calcium qui active le complexe RyR, libérant le calcium du RS. Ce calcium déclenche la contraction des myofilaments et est ensuite transporté dans le RS par le SERCA2a, qui est régulée par son partenaire de liaison, le phospholamban (PLN). A cela s'ajoute de nouveaux partenaires formant un complexe dans lequel la HAX-1 (HS-1 associated protein X-1) se lie au PLN et stabilise son action inhibitrice sur SERCA2a. Le PLN interagit également avec la sous-unité régulatrice de la protéine phosphatase 1 qui est elle-même se trouve moduler par ses régulateurs ; inhibiteur-1 (I-1) et HSP20, modulant ainsi la fonction du SERCA2a à travers la phosphorylation du PLN. Le SERCA2a est également régulé post-transcriptionnellement par le petit modificateur liée à l'ubiquitine (SUMO-1), ce qui améliore la stabilité et l'activité de la fonction de la protéine SERCA2a. La protéine HRC (Histidine Rich Ca^{2+} -binding protein) ; est une protéine multi-fonctionnel qui se lie et inhibe SERCA2a, en modulant ainsi la fonction de la RyR par son interaction avec la triadine (TRI). Le complexe de la libération du calcium du RS est composé de RyR, TRI, la junctine (JNC) et la calséquestrine (CSQ).

B.3.1.1. Le phospholamban et la sarcolipine : similitudes structurelles

Les similitudes structurelles entre le gène de PLN et celui de SLN ainsi que l'homologie entre leurs séquences de protéines, suggèrent que les deux molécules appartiennent à la même famille de protéines (Odermatt et *al.*, 1997 ; MacLennan et *al.*, 2003). Les 52 acides aminés de PLN sont organisés en trois domaines. Le domaine cytoplasmique (IA), constitué de 1 à 20 résidus dont les premiers sont susceptibles d'avoir une conformation α – hélicoïdale, le domaine (IB) ayant 21 à 30 résidus et le domaine (II) de 31 à 52 résidus, c'est le domaine transmembranaire (Tada et Toyofuku, 1998 ; MacLennan et *al.*, 2003 ; Paterlini et Thomas, 2005).

D'autre part, la SLN est une protéine de la membrane de RS de 31 acides aminés (Odermatt et *al.*, 1997 ; Babu et *al.*, 2005). De même que pour le PLN, les acides aminés de la SLN sont organisés également en trois domaines. Le domaine cytoplasmique, transmembranaires et luminal. Les premiers acides aminés (Hobai et Rourke, 2001) de la SLN sont hydrophiles et sont cytoplasmiques, les acides aminés suivants (Buffy et *al.*, 2006) sont hydrophobes et forment une seule hélice- α transmembranaire et les derniers acides aminés (Arai et *al.*, 1994) sont luminaux et hydrophiles (Odermatt et *al.*, 1997 ; Mascioni et *al.*, 2005)(Figure 12).

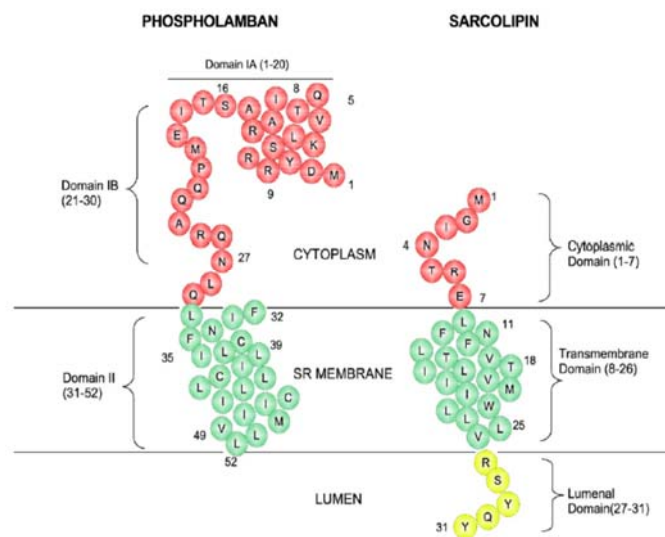


Figure 12. Représentation schématique de la séquence d'homologie entre la protéine PLN et la SLN (Bhupathy et *al.*, 2007).

B.3.1.2. La Sarcolipine diffère fonctionnellement de PLN

Les données disponibles suggèrent que la SLN et le PLN régulent indépendamment l'activité de SERCA2a (Asahi et al., 2004 ; Babu et al., 2005 ; Gramolini et al., 2006). Les deux protéines, PLN et SLN inhibent l'activité de SERCA cardiaque en diminuant l'affinité de la pompe pour le calcium (Asahi et al., 2004 ; Kadambi et al., 1996 ; Babu et al., 2006). L'effet inhibiteur de SLN et PLN est levé par la stimulation β -adrénergique (MacLennan et al., 2003 ; Asahi et al., 2004 ; Gramolini et al., 2006). Bien que le PLN et la SLN inhibent l'activité de SERCA2a, il peut y avoir des différences importantes dans leur mécanisme de régulation. Ainsi, l'effet inhibiteur de PLN sur SERCA2a est levé lors de l'augmentation des concentrations de calcium (Kadambi et al., 1996 ; Asahi et al., 2000) alors que l'effet inhibiteur de SLN sur SERCA2a persiste même à des teneurs élevées en calcium (Asahi et al., 2004 ; Babu et al., 2006). Ces différences fonctionnelles peuvent être attribuées aux différences structurales de domaine luminal de ces deux protéines. En effet, bien que le PLN et la SLN soient similaires dans leur domaine transmembranaire, SLN a un domaine luminal supplémentaire dans la région terminale Ct (Odermatt et al., 1997). Les acides aminés de ce domaine sont susceptibles d'interagir avec divers résidus aromatiques du domaine transmembranaire de SERCA2a (MacLennan et al., 2003 ; Asahi et al., 2003 ; Gramolini et al., 2004). Il est bien établi que le PLN interagisse avec SERCA2a en inhibant son activité de manière réversible (Vangheluwe et al., 2006). Cette fonction inhibitrice de PLN sur SERCA2a est modulée par la phosphorylation, la déphosphorylation et par l'augmentation du Ca^{2+} intracellulaire (Chu et Kranias, 2002 ; Asahi et al., 2000) (Figure 13). Le PLN pourrait être phosphorylé sur deux sites distincts ; au niveau de la sérine 16 (Ser16) par la protéine PKA et au niveau de la thréonine 17 (Thr17) par la CaMKII pendant la stimulation β -adrénergiques (Autry et Jones, 1997 ; Chu et Kranias, 2002). La phosphorylation perturbe l'interaction physique de PLN avec SERCA2a et stimule ainsi le transport du Ca^{2+} au niveau du SR en augmentant l'affinité de SERCA2a pour Ca^{2+} (Simmerman et Jones, 1998). Ceci, conduit d'une part, à une augmentation de la vitesse de relaxation et d'autre part, à la charge de Ca^{2+} au niveau du RS laquelle par la suite augmente la libération de Ca^{2+} du RS et déclenche la contractilité myocardique (Simmerman et Jones, 1998 ; Frank et al., 2000). La déphosphorylation de PLN par la phosphatase de type 1 (PP1) conduit à l'inhibition de SERCA (Napolitano et al., 1992).

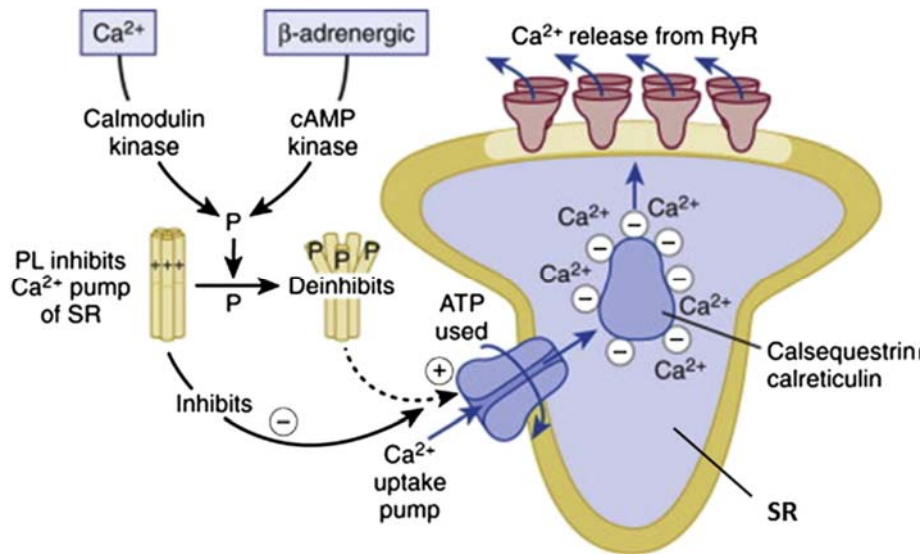


Figure 13. La modulation de la fonction Serca2a par le phospholamban et sarcolipine (Braunwald, 2013).

Dans le SR, le Ca^{2+} est fixé à la calséquestrine. Une augmentation du taux de la captation du Ca^{2+} dans le SR améliore le taux de relaxation (effet lusitrope). Le phospholamban (PL ou PLN), lorsqu'est phosphorylée (P), elle supprime l'inhibition exercée sur la pompe Ca^{2+} ATPase par sa forme déphosphorylée. De ce fait, la captation du Ca^{2+} est augmentée, soit en réponse à une surcharge du Ca^{2+} cytosolique ou en réponse à une stimulation β -adrénergique qui active l'adénosine monophosphate cyclique (AMPC). La calmoduline kinase peut être un deuxième messager du système β -adrénergiques.

B.3.1.3. La protéine HRC

La HRC est un chélateur du calcium qui se trouve du côté luminal du RS et présente une affinité faible mais de grandes capacités de fixation du calcium (Arvanitis *et al.*, 2007). La HRC aurait un rôle complexe dans le cardiomyocyte via son implication dans la captation et la libération du calcium du SR (Arvanitis *et al.*, 2010). C'est un régulateur à la fois de l'activité du SERCA2a à laquelle son interaction est directe et de la fonction de la RyR via sa liaison avec la tiadine (Arvanitis *et al.*, 2007). Le rôle de cette protéine dans la fonction cardiaque a été élucidé par l'utilisation des modèles transgéniques. La surexpression modérée de HRC dans les cardiomyocytes a été associée à une diminution du (CICR) et au taux de concentration du calcium total, ce qui entraîne une dépression de la contractilité cardiaque (Fan *et al.*, 2004). L'augmentation modérée de l'expression de HRC a un effet plus prononcé sur le transfert du calcium et de la contractilité cardiaque qui est 20 fois plus augmentée que lorsque la calséquestrine est surexprimée (Sato *et al.*, 1998). Par conséquent, la surexpression transgénique de HRC dans le cœur déprime le taux de captation du Ca^{2+} du RS, indiquant son rôle inhibiteur sur SERCA2a et sur le cycle du calcium intracellulaire (Gregory *et al.*, 2006). Ces données suggèrent que HRC pourrait être un régulateur important de la fonction de

SERCA2a et de RyR respectivement par un contact direct ou indirect. Cependant, les interactions de HRC avec SERCA2a s'explique par le fait que lors de la relaxation et lorsque les concentrations luminales du Ca^{2+} (RS) diminuent, la HRC pourrait se lier à SERCA2a et de ce fait, contrôler la vitesse de la captation du Ca^{2+} du RS. Quand les concentrations du Ca^{2+} luminales sont rétablies, l'interaction HRC-SERCA2 est atténué, ce qui entraîne la dissociation de SERCA2 et HRC (Lorenz et Kranias, 1997 ; Jaehnig et *al.*, 2006) (Figure14).

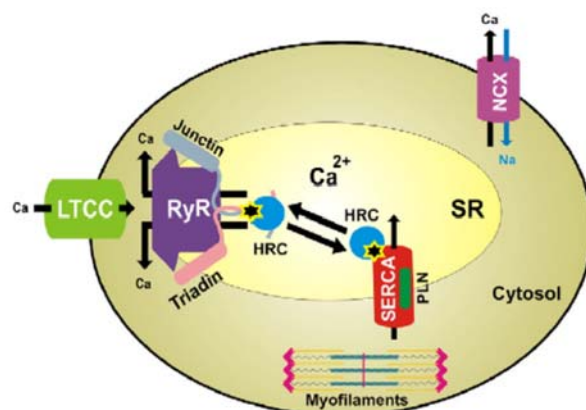


Figure 14. Représentation schématique des interactions de HRC dans le RS. Ces interactions sont indiquées par une étoile (Demetrios et *al.*, 2011).

La HRC pourrait se lier soit directement au SERCA, soit indirectement au complexe quaternaire (RyR) via la Triadine, elle pourrait fonctionner comme un capteur de changements du Ca^{2+} intra-SR en régularisant la captation ou la libération du Ca^{2+} .

B.3.1.4. Inhibiteur-1/Protéine Phosphatase 1 (PP1)

La PP1 est une holoenzyme comprenant un domaine catalytique qui possède l'activité phosphatase (Ceulemans et Bollen, 2004). Au niveau du RS cardiaque, la PP1 est régulée par ses inhibiteurs endogènes ; inhibiteur-1(I-1) et inhibiteur-1(I-2) (Figure15). De nombreuses études ont montré que la principale déphosphorylation de PLN est celle assurée par la phosphatase PP1 (MacDougall et *al.*, 1991 ; Steenaar et *al.*, 1992) et dont l'activité est significativement élevée dans les cœurs défaillants (Neumann et *al.*, 1997). De plus, l'augmentation de PP1 peut être l'un des facteurs de dysfonctionnement et de remodelage cardiaque d'où l'usage de modèles transgéniques exprimant des niveaux élevés de PP1 (Carr et *al.*, 2002). Les cœurs transgéniques ont montré une fonction contractile basale déprimée et une réponse β -adrenergique diminuée induisant une hypertrophie, une insuffisance cardiaque et une mort précoce (Carr et *al.*, 2002). D'autres données concernant le rôle de PP1 ont été fournies par l'étude de ses inhibiteurs endogènes I-1 et I-2. L'expression cardiaque spécifique d'une forme active de I-2 (I-2 *) déprime l'activité de PP1, améliore les paramètres contractiles et augmente la cinétique du transfert du Ca^{2+} (Kirchhefer et *al.*, 2005). Ces effets

sont associés à une augmentation de la phosphorylation du PLN sur Ser16 mais pas sur Thr17, suggérant d'être un site spécifique de préférence pour PLN. Cela indique que la PP1 est un modulateur négatif critique de la fonction cardiaque. Un autre régulateur endogène de la PP1 est I-1 qui active la phosphorylation de PP1 sur Thr35 par la PKA, entraînant une diminution de l'activité de PP1 (Neumann et *al.*, 1991 ; Gupta et *al.*, 1996). En effet, des études *in vivo* utilisant des souris avec gène I-1 invalidé ont montré une fonction cardiaque basale déprimée. En outre, la réponse β -adrénergique est altérée lorsqu'elle est associée à l'augmentation de l'activité de PP1 et à la diminution de la phosphorylation de PLN (Carr et *al.*, 2002). En revanche, la surexpression de I-1 améliore la contractilité et augmente la phosphorylation de PLN par la stimulation de β -adrenergique (El-Armouche et *al.*, 2003). D'autres études ont montré également que la surexpression d'une forme active de (I-1c) diminue l'activité de PP1 et augmente la phosphorylation de PLN à la fois au niveau de Ser16 et Thr14 ainsi que l'augmentation contractile basale et après la stimulation β -adrenergique (Pathak et *al.*, 2005).

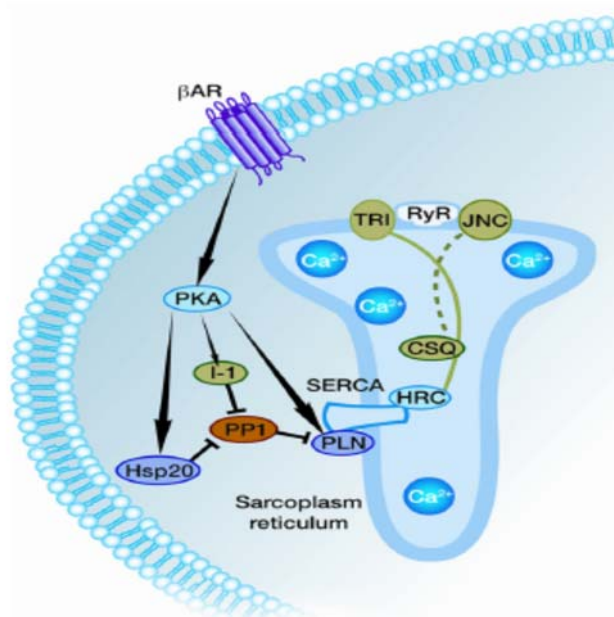


Figure 15. La stimulation des agonistes β -adrénergiques et de la protéine phosphatase 1 dans la régulation de l'activité PLN/SERCA (Evangelia et *al.*, 2012).

L'activation de la PKA conduit à l'augmentation de la phosphorylation de PLN, de l'inhibiteur-1 et de Hsp20 qui amplifient les effets stimulants de la voie β -adrénergique sur le transport du Ca^{2+} (RS) et de la contractilité.

B.3.1.5. La HAX-1 et sa régulation pour le complexe PLN/SERCA

La HAX-1 (HS-1 associated protein X-1) est une protéine avec un poids moléculaire de 35 kDa, elle est exprimée de manière ubiquitaire dans les mitochondries. Elle a été initialement identifiée comme une protéine intracellulaire avec une fonction anti-apoptotique. En effet, la surexpression de HAX-1 protège les cardiomyocytes contre l'apoptose induite par l'hypoxie/réoxygénation (Han et *al.*, 2006). Des études plus récentes ont révélé que HAX-1, également localisé dans le RS est un régulateur important du cycle du calcium. Ces effets sont médiés principalement par l'interaction de HAX-1 avec le PLN et dans une moindre mesure grâce à la modulation directe de SERCA2a. En effet, il a été aussi montré que HAX-1 pourrait interagir directement avec PLN au niveau d'une région comportant une séquence de 16 à 22 d'acides aminés dont les sites de phosphorylation sont Thr17 et Ser16, Ce qui suggère que la liaison HAX-1/PLN peut contrôler l'activité de PLN (Vafiadaki et *al.*, 2007) (Figure16). De la même façon que pour l'interaction SERCA2/PLN, la liaison HAX-1/PLN diminue par la phosphorylation de PLN via PKA et par l'augmentation des concentrations du Ca^{2+} . Cela indique que HAX-1 peut réguler les propriétés fonctionnelles de PLN dans le cœur (Evangelia et *al.*, 2012). En effet, des études « *in vivo* », ont montré que l'interaction de PLN/HAX-1 jouerait un rôle dans la modulation du cycle du Ca^{2+} et de la contractilité cardiaque. En outre, La surexpression cardiaque de HAX-1 diminue l'affinité de SERCA2 pour le Ca^{2+} et déprime la cinétique du calcium dans les myocytes. Par conséquent, la diminution de HAX-1 améliore le cycle du calcium et la contractilité cardiaque (Evangelia et *al.*, 2012).

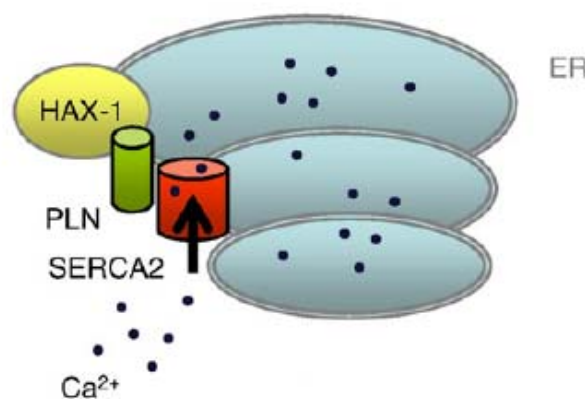


Figure 16. L'association de HAX-1 avec PLN et SERCA2, deux protéines jouant un rôle central dans la modulation de l'homéostasie du Ca^{2+} et dans la fonction cardiaque (Vafiadaki et *al.*, 2009)

B.3.1.6. La protéine de choc thermique 20 (Hsp20)

Les HSPs, protéines de choc thermique dites chaperonnes sont synthétisées en réponse à un stress cellulaire (Tissieres et *al.*, 1974). La Hsp20, également connue sous le nom HspB6, est une protéine de 20 kD. Elle est exprimée à des niveaux élevés dans le muscle cardiaque, vasculaire et squelettique, où elle représente jusqu'à 1% des protéines totales (Fan et *al.*, 2005 ; Dreiza et *al.*, 2010). Plusieurs études ont tenté d'élucider le rôle de Hsp20 dans la contractilité cardiaque et cardioprotection et il a été suggéré que la Hsp20 régule la contraction myocardique via la régulation de l'axe PP1/PLN (Qian et *al.*, 2011). Cela implique la liaison directe de Hsp20 avec PP1 et l'inhibition de son activité, ce qui conduirait par conséquent à l'augmentation de la phosphorylation de PLN et à l'amélioration du cycle de Ca^{2+} au (RS). Des études *in vitro* sur des cardiomyocytes ont montré que la Hsp20 est associée à une augmentation significative de la cinétique du Ca^{2+} (Pipkin et *al.*, 2003 ; Chu et *al.*, 2004). De plus, la surexpression cardiaque de la Hsp20 améliore considérablement les paramètres contractiles (Qian et *al.*, 2011).

B.4. L'échangeur sodium/calcium ($\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ ou NCX)

Le NCX est le mécanisme dominant d'efflux du Ca^{2+} à travers la membrane plasmique afin de rétablir son niveau initial après la contraction (Egger et Niggli, 1999 ; Wang et *al.*, 2005). Dans son mode de transport, le NCX exporte un ion Ca^{2+} pour l'adoption de trois ions Na^+ (Kang et Hilgemann, 2004). Le NCX assure un transport actif secondaire qui fonctionne dans les deux sens. L'extrusion du Ca^{2+} de la cellule (mode direct) ou son entrée à l'intérieur de la cellule (mode inverse) (Abramson et *al.*, 2012 ; Liao et *al.*, 2012) est déterminé par les gradients locaux des ions Na^+ et Ca^{2+} de part et d'autre de la membrane plasmique ainsi que par le potentiel de la membrane (Liao et *al.*, 2012). Ces deux processus constituent la force motrice pour le transport du Ca^{2+} . C'est l'entrée du Na^+ dans la cellule selon un gradient électrochimique favorable qui fournit l'énergie au transport du Ca^{2+} vers l'extérieur de la cellule. L'échangeur $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ de type I (NCX1) représente le mécanisme d'expulsion principal du Ca^{2+} de la cellule cardiaque durant la diastole (Bers, 2002). L'efficacité de l'échangeur $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ dans l'expulsion du Ca^{2+} est due au fait de sa distribution large au niveau du muscle cardiaque (approximativement 250 à 400 échangeurs $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ par μm^2). L'immunolocalisation du NCX a montré sa répartition dans tout le sarcolemme des cellules ventriculaires, sur les disques intercalaires et au niveau des tubules T (Scriven et *al.*, 2005 ; Cavalli et *al.*, 2007 ; Dan et *al.*, 2007). D'après Yang et *al.*, (2002) ; Despa et *al.*, (2003), le

NCX est localisé principalement au niveau de la membrane des tubules T car il peut assurer une mobilisation rapide et synchrone du Ca^{2+} du cytoplasme de la cellule lors de la relaxation (Orchard et Brette, 2008). Le NCX1 est exprimé très tôt pendant la cardiogenèse, avant même l'apparition des premiers battements cardiaques (Koushik et *al.*, 1999). D'autres études portant sur l'inactivation du gène *Ncx1* chez les souris ont révélé que ces dernières décédaient au cours du développement embryonnaire entre le 9^{ème} et le 10^{ème} jour 9 suite à l'absence de battements cardiaques (Koushik et *al.*, 2000 ; Wakimoto et *al.*, 2000). De plus, les cardiomyocytes de ces souris présentaient des signes morphologiques d'apoptose. Ces données indiqueraient donc que la contribution de NCX1 dans le contrôle du Ca^{2+} des cardiomyocytes est d'une grande importance. Des modèles animaux d'hypertrophie ou d'ischémie cardiaque ont montré que l'expression et/ou l'activité de NCX1 était augmentée dans ces états pathologiques (Pogwizd et *al.*, 1999 ; Wang et *al.*, 2001). D'autre part, des altérations de l'activité du NCX1 pourraient contribuer non seulement au dysfonctionnement de la contraction, mais pourraient aussi altérer la configuration du potentiel d'action et favoriser l'apparition d'arythmie cardiaque (Sipido et *al.*, 2000 ; Sipido, 2002).

B.4.1. La régulation de l'échangeur $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$

B.4.1.1. Régulation dépendante du Ca^{2+} intracytosolique

Lorsque les concentrations cytosoliques du Ca^{2+} sont augmentées, les ions Ca^{2+} se fixent à haute affinité sur des sites spécifiques situés dans la boucle cytosolique. Cela entraîne une augmentation de leur rigidité et leur potentiel électrostatique, conduisant à un changement de la conformation de l'échangeur $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$. Ces changements conformationnels constituent probablement un des événements les plus cruciaux dans la régulation de cet échangeur (Saba et *al.*, 2001). Lors de la contraction cardiaque, il est bien connu que l'élévation de la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ (intracytosolique) fait suite à l'ouverture des canaux calciques potentiel-dépendant de type L. Toutefois, la contribution de l'échangeur $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ à l'élévation de la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ est également possible lors de la dépolarisation (Bridge et *al.*, 1990 ; Lederer et *al.*, 1990). Le potentiel d'inversion de l'échangeur $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ est de l'ordre de -40 mV aux concentrations physiologiques de Na^+ et de Ca^{2+} . Au repos, le potentiel de membrane (E_m) est inférieur au potentiel de l'échangeur $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ ($E_{\text{Na/Ca}}$) et donc l'expulsion du Ca^{2+} via l'échangeur est favorisée. Lors de la dépolarisation, lorsque le $E_m > E_{\text{Na/Ca}}$, le Ca^{2+} peut entrer dans la cellule via l'échangeur (mode inverse) et ce jusqu'au moment où le $E_m = E_{\text{Na/Ca}}$ (repolarisation). Au cours de cette dernière, le potentiel de membrane négatif et la $[\text{Ca}^{2+}]_i$

élevée conduisent à une expulsion massive du Ca^{2+} hors de la cellule via l'échangeur (mode normal) (Bers, 2002).

B.4.1.2. Phosphorylation

L'activité de l'échangeur $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ peut être aussi modulée par l'ATP (DiPolo et Beauge, 2002). Différentes études ont montré que l'échangeur $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ est stimulé par l'ATP cytoplasmique bien que celui-ci ne soit pas nécessaire à son fonctionnement (Hilgemann, 1992 ; Hilgemann, 1997). L'ATP régule l'activité de l'échangeur $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ par l'augmentation de l'affinité des sites transporteurs pour les cations (Ca^{2+} et Na^+) (Hilgemann, 1996). Des travaux réalisés sur des cellules cardiaques de rat ont montré que la phosphorylation directe du transporteur par la voie des PKC et PKA était associée à une augmentation de l'activité de l'échangeur (Iwamoto, 1996). Comme les kinases, les phosphatases peuvent interagir aussi avec le NCX auquel deux phosphatases sont associées PP1 et PP2A. PP1 est associée au NCX1 soit directement, soit via mAKAP tandis que la phosphatase PP2A est associée à mAKAP (Marx et *al.*, 2001) (Figure17).

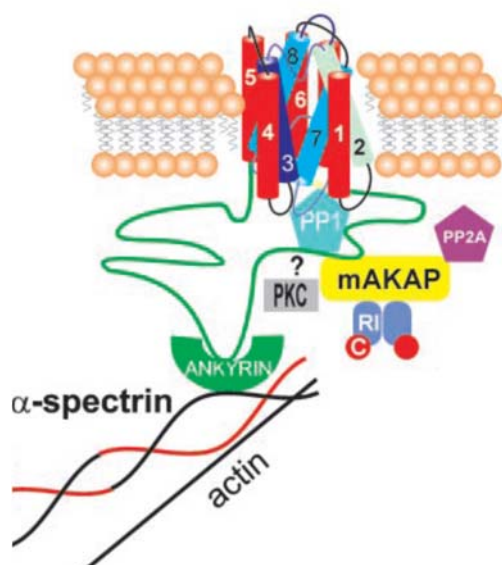


Figure 17. L'organisation du complexe de signalisation macromoléculaire NCX1 (Schulze et *al.*, 2003).

L'organisation possible du complexe macromoléculaire NCX1 comprend PKA et PKC ainsi que mAKAP et phosphatases PP1 et PP2A. Les kinases et phosphatases sont éventuellement liées par des protéines mAKAP. La protéine adaptatrice, l'ankyrine est impliquée à relier le complexe de NCX1 avec le réseau du cytosquelette d'actine-spectrine.

Chapitre III : homéostasie du calcium et cardiomyopathies

A. SERCA2a et l'altération de la contractilité : le dysfonctionnement diastolique

La diminution de recaptage du Ca^{2+} dans le RS est un marqueur important de l'insuffisance cardiaque du fait de la perturbation de l'homéostasie du Ca^{2+} et de la diminution de la relaxation. Par conséquent, SERCA2a et son régulateur PLN sont des cibles thérapeutiques intéressantes, notamment avec la diminution de l'activité de SERCA2a dans les cœurs défaillants (Schmidt et *al.*, 1998). Des travaux antérieurs, utilisant le transfert de gènes d'adénovirus de SERCA2a et PLN dans des régions isolées des myocytes cardiaques ont montré un rôle de SERCA2a dans l'augmentation du taux de transfert du Ca^{2+} vers le RS et donc de la diminution du Ca^{2+} cytosolique. De plus, la phosphorylation de PLN par la PKA sur sérine-16 lèverait son inhibition sur SERCA2a en facilitant le recaptage du Ca^{2+} dans le RS. Plusieurs expériences ont montré que l'altération de la fonction de PLN conduit à l'amélioration de recaptage du Ca^{2+} ainsi que de la fonction diastolique. Le PLN phosphomimétique (S16E) a été utilisée dans plusieurs modèles pour lever l'inhibition de PLN sur SERCA2a notamment dans le modèle de la cardiomyopathie dilatée chez le hamster (Hoshijima et *al.*, 2002). Dans ces études, l'amélioration de la fonction diastolique du ventricule gauche a été trouvée avec PLN (S16E). D'autres travaux ont montré l'atténuation de l'inhibition de SERCA2a et cela par l'inactivation de PLN ou la diminution de son expression (Meyer et *al.*, 2004). La réduction de la quantité de la protéine PLN a été obtenue par injection d'un virus adéno –associé (AAV9) exprimant un petit ARN en épingle à cheveux (shRNA) contre le PLN chez les rats, Ce qui améliore considérablement la fonction diastolique (Suckau et *al.*, 2009). En outre, la PP1 qui déphosphoryle le PLN et diminue ainsi l'activité de SERCA2a, a été étudiée sur un modèle génétique de cardiomyopathie dilatée. Des souris ont été injectées avec AAV9 portant shRNA contre PP1, ont montré une diminution de 25% de l'expression de la protéine PP1. Par rapport aux témoins et après 12 semaines, les animaux injectés par AAV9 - shPP1 ont montré une meilleure fonction diastolique (Miyazaki et *al.*, 2012). Le concept de l'augmentation de SERCA par rapport au PLN pour améliorer l'insuffisance cardiaque a été testé aussi en exprimant SERCA dans différents modèles d'insuffisance cardiaque. Dans un autre modèle de rats dont l'artère coronaire est ligaturée et ayant subi une injection de vecteurs lentivirus hébergeant SERCA2a ont montré deux mois plus tard, une amélioration de la fonction ventriculaire gauche (Niwano et *al.*, 2008).

B. l'inflammation et l'altération de la contractilité

Il a été montré que les cytokines jouent un rôle dans le développement et la progression des anomalies cardiaques. En effet, plusieurs études ont constaté un taux accru de cytokines dans le plasma ou le sérum des patients souffrant d'insuffisance cardiaque, tels que le TNF- α , (Tumor necrosis factor alpha), l'IL-1(Interleukine-1), l'IL-6 ((Interleukine-1). De plus, l'augmentation de ces facteurs inflammatoires n'a pas seulement été détectée dans la circulation sanguine mais aussi dans le myocarde (Devaux et *al.*, 1997 ; Damas et *al.*, 2000). L'augmentation de l'expression myocardique de ces cytokines ainsi que de leurs récepteurs respectifs sur les cardiomyocytes et les leucocytes infiltrant, fait penser à l'existence d'une interaction entre les cytokines et la pathogenèse de ce trouble cardiaque. D'autres études suggèrent que les dommages induits par les radicaux libres d'oxygène (ROS) dont la peroxydation des lipides y sont impliqués (Keith et *al.*, 1998). Chez les sujets sains, les concentrations circulatoires et cardiaques de TNF α sont faibles (Arras et *al.*, 1996 ; Aker et *al.*, 2003). Les souris dont les gènes de TNF α , TNFR1 (récepteur de TNF) et TNFR2 sont invalidés se développent normalement et n'ont pas de défauts cardiaques fonctionnels (Marino et *al.*, 1997 ; Kurrelmeyer et *al.*, 2000) mais des concentrations élevées de TNF α altèrent la fonction myocardique. En effet, *In vivo*, le TNF- α exogène diminue la fonction contractile des cœurs normo-perfusés de rats (Bozkurt et *al.*, 1998 ; Grandel et *al.*, 2000) et de chiens (Murray et Freeman, 1996 ; Dörge et *al.*, 2002). Cet effet exogène est plus prononcé avec des concentrations croissantes du TNF α (Yokoyama et *al.*, 1993) et contribue à la dysfonction contractile (Dörge et *al.*, 2002 ; Li et *al.*, 2009). Par ailleurs, l'homéostasie calcique qui est le centre de la fonction des cardiomyocytes est également altérée par le TNF α . La captation du calcium et sa libération par le RS ainsi que la réactivité des myofilaments sont réduites par le TNF α . Ce dernier, agissant via TNFR diminue également l'activité de la PKA par inhibition de la voie β -adrénergique. Cela réduit la phosphorylation de phospholamban et diminue l'activité de SERCA2a (Leineweber et *al.*, 2006 ; Kumar et *al.* , 2007). De plus, d'autres travaux suggèrent que l'augmentation de la concentration du TNF α altère la fonction contractile par une formation accrue de ROS (Ferdinandy et *al.*, 2000) (Figure 18).

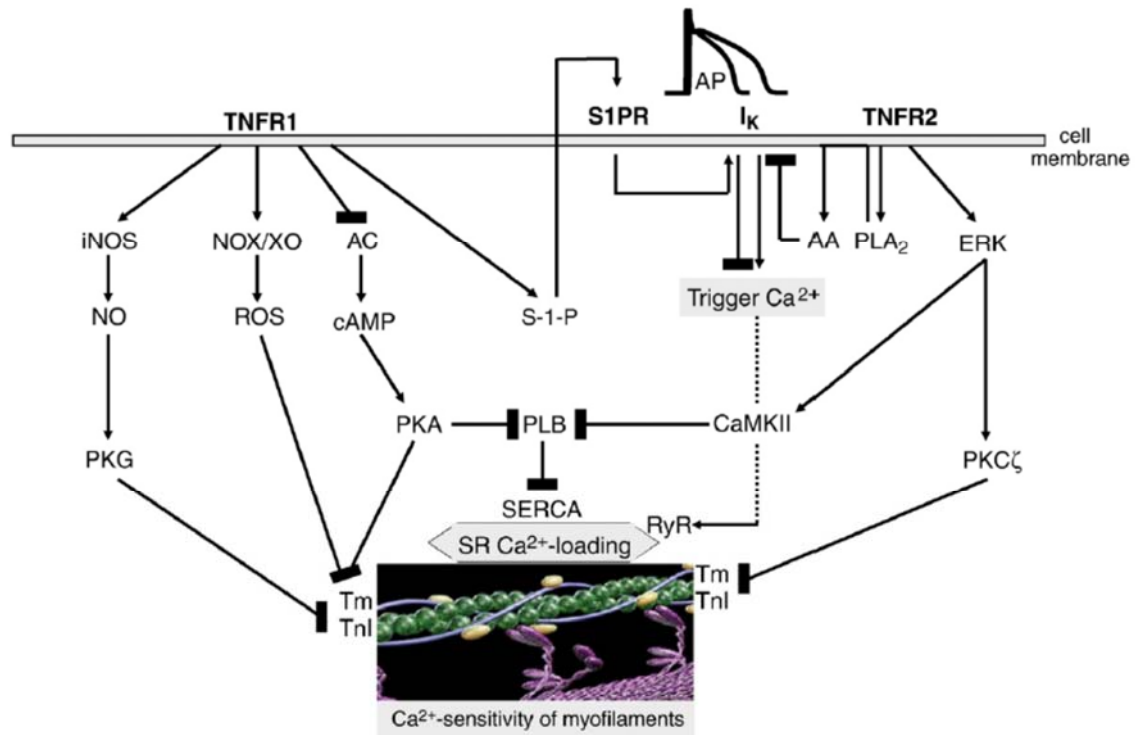


Figure 18. TNFα et la fonction contractile (Kleinbongard et al., 2010)

AA : acide arachidonique ; AC : acétylcholine ; AP : potentiel d'action ; CaMKII : Ca²⁺ calmoduline- protéine kinase II dépendante ; AMPc : adénosine monophosphate cyclique ; ERK : kinase extracellulaire régulée par un signal ; iNOS : monoxyde d'azote synthase inducible, NO : monoxyde d'azote ; NOX : NADPH oxydase ; PKA : protéine kinase A ; PKCζ ,protéine kinase Cζ ; PKG : protéine kinase G ; PLA2 : phospholipase 2 ; PLB : phospholamban ; ROS : espèces réactives de l'oxygène ; RyR : récepteur de la ryanodine ; S-1- P : sphingosine-1- phosphate ; S-1 -PR : récepteur de la sphingosine -1-phosphate ; SERCA : Ca²⁺ATPase du réticulum endoplasmique ; Tm : tropomyosine ; TNFR : récepteur de TNF ; TNI: troponine I ; XO : la xanthine oxydase.

Matériels et méthodes

A. Matériel biologique

A.1. Présentation du modèle

Le rat des sables, *Psammomys obesus* (Cretzschmar, 1828), est un rongeur déserticole. C'est le seul Gerbillidé de mœurs diurnes vivant au Sahara. De la taille d'un petit rat, il est caractérisé par sa couleur fauve-roux, ses petites oreilles et sa queue relativement longue terminée par un pinceau de poils foncés (Petter, 1952). Végétarien strict, il se nourrit exclusivement de feuilles et de tiges de Chénopodiacées, plantes halophiles riches en eau (80%) et en sels minéraux, telles *Atriplex halimus*, *Salsola foetida*, *Traganum nudatum* ou *Sueda mollis* (Daly et Daly, 1973) sous les touffes desquelles, il creuse son terrier. Cet abri lui confère un microclimat caractérisé par un degré d'humidité élevé (60 à 70%) et une température relativement stable d'environ 25°C, lui permettant d'échapper partiellement à la rigueur des conditions climatiques de son environnement désertique (Petter, 1961). Le rat des sables est endémique, sa répartition est inféodée au réseau hydro-végétarien du Sahara (Petter, 1961) (figure 19).

A.2. La capture

Nos animaux proviennent directement du biotope, précisément de la région de Béni-Abbès à 30°7 latitude nord et 2°10 longitude ouest, au nord-ouest du Sahara algérien, au bord de l'oued Saoura à 1240 km au sud-ouest d'Alger. Le climat de cette région est de type désertique chaud. Les écarts de température passent de 16°C en hiver (décembre-janvier) à 43°-45°C (juillet-août). Les périodes de pluies ont lieu au printemps et en automne, la moyenne annuelle des précipitations est relativement faible, de l'ordre de 18-20 mm. Le taux d'humidité passe de 15% en été à 45% en hiver. La photopériode passe de 10 heures d'éclairement en hiver à 14 heures d'éclairement en été. L'animal diurne est capturé au cours de la journée dans un piège de type *live-trap* muni de quelques tiges de plantes fraîches déposées à l'entrée du terrier (figure 19).

**Position systématique :**

Embranchement : Vertébrés

Classe : Mammifères

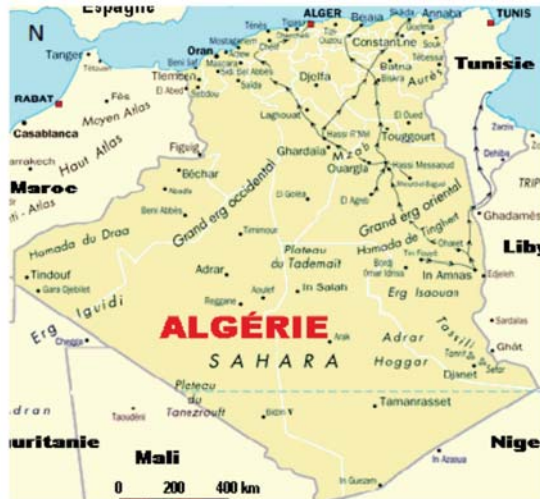
Ordre : Rodentia Super-famille : Muridea

Famille : Gerbillidae

Genre : *Psammomys*

Espèce : *Psammomys obesus*

Cretzschmar, 1828

**Localisation géographique:**

Béni-Abbès : 30°7 latitude Nord 2°10 longitude Ouest Wilaya de Béchar, Algérie.

**Biotope - lieu de capture:**

Zone sableuse avec touffes éparées de Chénopodiacées

**Capture du Rat des sables:**

Animal capturé dans une *live trap* à proximité de son terrier creusé sous les touffes d'*Atriplex halimus*, de *Salsola foetida* ou de *Sueda mollis*.

Figure19. Localisation géographique, biotope et capture du Rat des sables sauvage, *Psammomys obesus*.

B. L'animal

B.1. *Psammomys obesus*

Nous avons reproduit en laboratoire les conditions naturelles de vie de l'animal dans son biotope naturel (Animalerie de l'USTB Houari Boumediene, Alger). Ainsi, les animaux sont répartis dans des cages individuelles, munies d'une litière en sciure, renouvelée tous les deux jours et d'une boîte en bois pourvue de plusieurs ouvertures, pour leur servir de terrier où ils créent des conditions d'humidité proches de celles de leur biotope, en accumulant des plantes salées riches en eau. La température de l'animalerie est maintenue constante, aux environs de 25°C. Dans la journée, l'éclairage est réalisé par la lumière artificielle (de 07h à 19h). A leur arrivée, les animaux continuent de recevoir les plantes salées provenant de leur biotope et ce, pendant quelques jours. Cette nourriture est progressivement complétée puis remplacée par des plantes salées (Salicornes) de la même famille que celle du désert mais poussant en bordure de mer (Anse de Kouali à Tipaza, Alger). Après une période d'adaptation, les animaux sont répartis en lots en fonction du régime alimentaire administré, notre expérimentation a duré quatre mois.

B.2. Le régime

B.2.1. Le régime naturel

Le régime naturel administré est la plante halophile (Chénopodiacees) poussant en bordure de mer caractérisée par une forte teneur en eau (80.79 %) et en sels minéraux (6.86 %).

Tableau I. La composition en pourcentage (%) des nutriments contenus dans le régime naturel est la suivante :

Eau	80.79%
Matières minérales	6.86%
Matières grasse	0.40%
Matières protéiques	3.53%
Hydrates de carbone	8.42%
Les hydrates de carbone se répartissent en	
▪ Sucres totaux	0.18%
▪ Lignine	1.12%
▪ Hemicellulose	2.62%
▪ Cellulose	2.23%
▪ Indéterminée :	2.27

La valeur énergétique peut être estimée à moins de 450 Calories par kilogramme de plantes fraîches. La prise journalière est de 50 g, l'animal reçoit donc 20-22 Calories par jour.

B.2.2. Régime naturel associé de régime hyperlipidique (RNL)

Le régime lipidique est à base de jaune d'œuf cuit. Chaque animal reçoit quotidiennement $\frac{1}{4}$ de jaune d'œuf.

Tableau II. La composition en g pour 100g de jaune d'œuf est la suivante :

Eau	40- 46
Matières sèches	43.5-50
Protéines	13.5-17.5
Lipides	30-34
▪ Saturés	10.5-12
▪ Monosaturés	16.5-19
▪ Polyinsaturés variables	
▪ Cholestérol :	1.2-1.35
Glucides	0.18-0.25
Cendres	1-1.5
Calories	370-400
La composition en vitamines et sels minéraux ($\mu\text{g}/100\text{g}$ d'œuf)	
▪ Vitamine A	1000
▪ Vitamine D	5
▪ Vitamine E	5000
▪ Vitamine K	100
▪ Phosphore	540
▪ Fer	6.5

C. Techniques opératoires et analytiques

C.1. Poids des animaux, sacrifice et prélèvement des organes

Afin de contrôler leur évolution pondérale, les animaux (*Psammomys obesus*) sont régulièrement pesés, chaque début de semaine. L'évolution métabolique est suivie par des prélèvements du sang sur l'animal vigile par des ponctions au niveau du plexus rétro-orbital de l'œil à l'aide d'une pipette pasteur préalablement humidifiée avec de l'EDTA 0.2%. Après centrifugation, le sérum est conservé à -80°C pour le dosage des paramètres biochimiques.

Au terme de l'expérimentation (4 mois), les animaux sont sacrifiés après anesthésie à l'uréthane 22% (0.4ml/100g, *Psammomys obesus*). Les tissus (cœur, aorte) sont prélevés rapidement, des fragments de cœur et d'aorte sont mis directement dans des tubes Ependorff de 2 ml et plongés directement dans l'azote liquide et conservés à -80°C .

Le but de ces prélèvements est de constituer une tissuthèque afin de procéder à des analyses moléculaires. Pour l'étude histologique et immunohistologique, les fragments (cœur et aorte) sont fixés dans le paraformaldéhyde à 4 %.

C.2. Dosage des différents paramètres plasmatiques

Chez l'ensemble des animaux, nous avons effectué le dosage de certains paramètres biochimiques sériques. Il s'agit du glucose, des triglycérides, du cholestérol total, du cholestérol LDL et HDL. Le sang prélevé dans des tubes secs est immédiatement centrifugé à 3000 tours/min pendant 10 minutes. Le sérum récupéré servira aux dosages des différents paramètres selon la techniques spectrophotométriques ou sur automate.

C.3. Méthodes histologiques et immunohistochimie

C.3. 1. Coloration Hématoxyline/éosine

La coloration hématoxyline/éosine est une technique qui permet d'apprécier la structure d'un tissu. Les lames déparaffinées sont placées dans une solution d'hématoxyline de Mayer pendant 12 minutes. Elles sont ensuite rincées sous l'eau de ville pendant 5 minutes pour éliminer l'excès de colorant, les éléments basophiles du tissu prennent une coloration rouge-violette. Ensuite, les lames sont trempées pendant quelques secondes dans l'acide chlorhydrique à 37 % et rincées à l'eau de ville pendant 5 à 10 minutes jusqu'à obtention d'une coloration violette des noyaux (ADN). Les lames sont ensuite placées dans une solution d'éosine pendant 5 minutes pour colorer les éléments acidophiles du tissu. Après rinçage, elles sont progressivement déshydratées par passage dans des bains à degré croissant d'alcool (déshydratation), passées rapidement dans des bains de toluène pendant deux minutes (deux bains) puis scellés avec une lamelle à l'aide du DPX et conservées dans des boîtes à température ambiante jusqu'à analyse sous microscope.

C.3.2. Coloration au trichrome de Masson (TM)

Cette coloration permet de mettre en évidence la fibrose (les collagènes) dans les tissus. Après avoir déparaffiné et hydraté, les lames sont placées dans une solution d'hématoxyline de Mayer pendant 12 minutes puis rincées dans de l'eau de ville pendant 5 minutes pour éliminer l'excès de colorant et lavées à l'alcool chlorhydrique pendant quelques secondes et rincées à l'eau de ville pendant 5 à 10 minutes jusqu'à l'obtention de la coloration violette des noyaux. Elles sont ensuite disposées dans la solution de Ponceau de

xylidine à 1 % pendant 3 minutes, rincées à l'eau distillée et placée 7 minutes dans la solution phosphotungstique à 3 % puis rincées à l'eau distillée et placées dans la solution du vert lumière à 1 % pendant 3 minutes. Enfin, les lames sont rincées à l'eau distillée, déshydratées dans l'alcool à degré croissant, placées dans le toluène et collées avec une lamelle jusqu'à l'analyse microscopique.

C.3. 3. L'immunohistochimie

Les lames sont déparaffinées et réhydratées progressivement. Les antigènes sont démasqués en incubant les coupes dans un tampon citrate (Dako, Glostrup, Danemark) et chauffé dans un bain pendant 20 minutes à 95°C. L'activité des peroxydases endogènes est inhibée avec du peroxyde d'hydrogène (5%) pendant 10 minutes et les sites non spécifiques sont bloqués par incubation avec l'albumine sérique bovine à 3% (BSA) pendant 30 minutes. Les coupes sont incubées pendant une nuit à 4 °C avec l'anticorps monoclonal de souris anti-myéloperoxydase (MPO; 1:100 dilué dans du PBS, R & D Systems, Minneapolis, MN). Les sections sont ensuite incubées avec un anticorps secondaire de type anti-IgG de lapin biotinylé (Dako, Le Perray en Yvelines, France) puis avec la streptavidine – peroxydase (Dako). Le complexe antigène-anticorps primaire-anticorps secondaire est détecté à l'aide de la diaminobenzidine (DAB), kit de substrat (AbCys Biologie, France). L'apparition d'une coloration brune est observée sous microscope optique. Les coupes sont contre-colorées à l'aide de l'hématoxyline (Sigma -Aldrich, St Louis, MO). Les contrôles négatifs sans sont testés et se sont révélés négatifs.

C.3.3.1. Méthode de quantification

Sur un échantillon du tissu cardiaque témoin et expérimenté, dix champs intramyocardique (microscopie optique. Gr x400) sont choisis au hasard. Pour chaque champs, le nombre de neutrophiles extravasculaires (MPO-positif) est évalué. Les cellules inflammatoires intravasculaires sont exclues. La surface de chaque champ a ensuite mesurée en utilisant le logiciel Image J. Le nombre moyen de cellules inflammatoires (neutrophiles) extravasculaires intramyocardiques est calculé par mm².

D. Mesure de l'expression génique (ARNm)

D.1. Extraction tissulaires des ARN totaux

D.1.1. Broyage des échantillons et homogéisation par méthode au TRIzol

L'objectif de cette étape est la réduction des prélèvements tissulaires en petites particules (< 1mm de diamètre) afin de faciliter la lyse cellulaire par le TRIzol. Après avoir broyé le tissu (cœur) dans l'azote liquide et la récupération du broyat, 100 mg de ce broyat est mis dans chaque tube à fond rond avec une bille métallique (facilitant le broyage mécanique) auquel est ajouté un volume de 500 μ L de trizol (permettant la lyse cellulaire en préservant l'intégrité des acides nucléiques). L'ensemble est passé au broyeur tissu. Après, les échantillons sont transférés dans des tubes neufs et les billes sont récupérées.

D.1.2. Centrifugation et récupération du surnageant- ajout de chloroforme.

Les différentes phases sont ensuite séparées avec du chloroforme (25% du volume total) par centrifugation à 15 000g pendant 30 min à 4°C. La phase aqueuse supérieure (contenant l'ARN) est récupérée après centrifugation de 15min à +4°C et à 12000 $\times$ g. L'ARN total est précipité en ajoutant l'isopropanol (50% du volume total), récupéré après centrifugation (15min à 12000 g et à +4°C), lavé avec l'éthanol 75%, agité, centrifugé (+4°C pendant 10 min à 7500 g), séché à température ambiante, dissous dans l'eau et stocké à -80°C.

D.2. Evaluation de la concentration en ARN total

Cette étape, réalisée lors de la mesure de la concentration d'ARN par spectrophotométrie. Elle permet de vérifier les rapports des absorbances A260nm/A280nm, A260nm/A230nm qui révèlent respectivement le degré de contamination de l'échantillon d'ARN par des protéines et par les solvants (phénol). Pour des ARNs de bonne qualité, ces rapports doivent être proches de la valeur de 2 (entre 1.8 et 2.0).

D.3. Vérification de l'intégrité de l'ARN

D.3.1. Principe

L'ARN messager ne représente que 1 à 3 % de la quantité d'ARN total, alors que la majorité est formée par l'ARN ribosomal qui représente plus que 80% de la quantité d'ARN totale chez les mammifères. L'intégrité de l'ARN total est donc évaluée en évaluant l'intégrité de l'ARN ribosomique. La présence de deux bandes uniques d'ARN, correspondantes aux ARN ribosomaux 18S et 28S sur un gel d'électrophorèse avec un rapport approximatif 28S/18S de 2,7/ indique que l'ARN total est intact. La présence d'autres bandes est un indicatif de la dégradation de l'échantillon d'ARN total ou de contamination par de l'ADN génomique.

D.3.2. Méthodes

La vérification de l'intégrité de l'ARN est réalisée par électrophorèse de 500 ng d'ARN total sur un gel d'agarose (1,5% d'agarose dans du TBE 1X + 0,1µl/ml d'agent intercalant ; Gelred, Biotium) pendant 45 min à 100 mV. La présence de deux bandes d'ARN témoigne de l'intégrité de l'ARN (Figure 20).

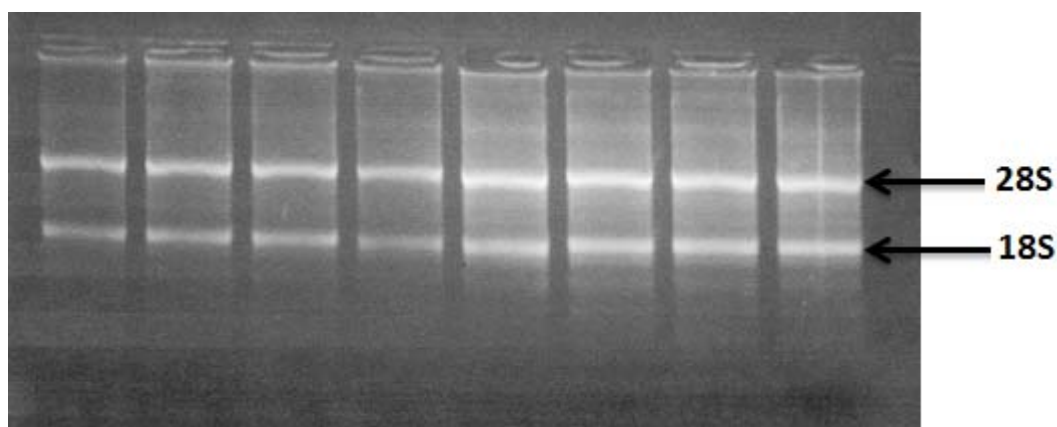


Figure 20. L'électrophorèse de l'ARN total au niveau du myocarde des rats témoins et expérimentés. La présence de deux bandes d'ARN (28s et 18s) témoigne de l'intégrité de l'ARN analysé.

D. 4. Transcription inverse

D.4.1. Principe

La transcription inverse est l'étape permettant la synthèse de l'ADNc à partir de l'ARNm servant de matrice. Cette transcription nécessite une ADN polymérase ARN-dépendante appelée la transcriptase reverse.

D.4.2. Matériels

- Échantillon d'ARN de concentration connue.
- Random primer (Invitrogen) à 3µg/µl (1/100): amorce à partir de laquelle la transcriptase commencera la synthèse de l'ADNc.
- Les dNTPs (Invitrogen) à 10 mM (dilués à 1/10): les 4 acides désoxyribonucléiques (dGTP, dCTP, dATP, dTTP) qui serviront pour la fabrication de l'ADNc.
- L'RNase out (Invitrogen) à 40U/µl: protection de l'échantillon d'ARN des RNases A, B et C.
- Le DTT (DL-Dithiothreitol) à 0,1 Molaire (Invitrogen) : nécessaire pour la stabilisation et le bon fonctionnement de l'enzyme de transcription.
- Le buffer (5X) (Invitrogen) : sert comme soluté et permet un fonctionnement optimal de transcription.
- Superscript (Invitrogen) à 200U/µl : c'est la transcriptase inverse, enzyme de transcription inverse.
- H₂O sans RNases.
- Appareil : Master cycler qui permet les variations de températures nécessaires pour le déroulement de la transcription inverse.

D.4.3. Méthode

Un µg d'ARN total est utilisé pour la transcription inverse en présence de 1µl de dNTP, 1µl de random primer, 5µl de H₂O, 1µl de RNase out, 2µl de DTT, 4µl de buffer et 1µl de transcriptase reverse. L'ensemble est incubé dans le master cycler pour le déroulement de la transcription inverse, consistant à 3 étapes de changement de la température: 10 min à

25°C (homogénéisation), 50 min à 42°C (déroulement de la RT) et enfin 15 min à 70°C pour l'arrêt de la réaction.

Un µg d'ADNc est obtenu à partir de 1 µg d'ARN, dilué à 5ng/ml et stocké à -20°C.

D.5. PCR-quantitative en temps réel

D.5.1. Principe

Le principe de cette technique consiste en l'amplification d'un fragment d'ADN correspondant au gène étudié et présent dans un échantillon d'ADN copie résultant d'une transcription reverse de l'ARN total. La PCR-quantitative en temps réel donne la possibilité de suivre, en temps réel, l'évolution de la quantité d'ADN grâce à la fluorescence. L'analyse quantitative se base sur le phénomène d'amplification de la molécule d'ADN matrice (correspondant à l'ARNm), où à chaque cycle d'élongation s'incorpore un fluorochrome (SYBR-Green). Lors de cette amplification par PCR, le fluorochrome libre en solution exhibe peu de fluorescence. Durant l'étape d'élongation, une augmentation de la fluorescence est associée à la quantité de fluorochrome se fixant à l'ADN double brin naissant. Suivi en temps réel, l'augmentation du signal de fluorescence est observée pendant l'étape de polymérisation et l'émission fluorescente décroît complètement lorsque l'ADN est dénaturé à l'étape suivante. Conséquemment, l'émission de fluorescence est mesurée à la fin de chaque étape d'élongation pour chacun des cycles par un système de lecture intégré à l'appareil de PCR en temps réel qui permet de suivre l'augmentation de la quantité d'ADN amplifié durant la réaction (Bustin, 2000)

La courbe de l'évolution de la quantité d'ADN au cours du temps montre 3 phases distinctes:

- Phase de bruit de fond, dans laquelle la quantité d'ADN est inférieure au seuil de détection par la machine
- Phase exponentielle, dans laquelle la quantité d'ADN montre une croissance exponentielle; la quantité d'ADN double à chaque cycle.
- Phase de plateau, qui représente la fin de l'amplification du fait que les composants de la réaction d'amplification deviennent limitant.

Plus l'échantillon est concentré en ADN copie du gène étudié moins il faudra de cycles pour atteindre un seuil de détection, le Ct (cycle threshold), pour lequel le signal fluorescent est

significativement supérieur au bruit de fond. Le Ct représente, du fait de sa précision et de sa reproductibilité, la base de quantification de l'expression des gènes par cette technique.

D.5.2. Matériels

- Échantillons d'ADN copie obtenus après extraction d'ARN et transcription inverse.
- Primers (forwards et reverses) ou amorces (sens et anti-sens) (Eurogentec).

Gènes	Séquences des amorces
Sarco(endo)plasmic reticulum calcium ATPase 2 (SERCA2)	
Sense	5'- GCAGGTCAAGAAGCTCAAGG -3'
Antisense	5'- CTCGATCACAAGTTCCAGCA -3'
Type 2 ryanodine receptor (RYR2)	
Sense	5'- GGAAGTACGAGGAGGAAAGTG -3'
Antisense	5'- GAGACCAGCATTTGGGTTGT -3'
Myosin heavy chain isoform 6 (MYH6 or α-MHC)	
Sense	5'-TCTCTTCCAGCCCTCTTTCA -3'
Antisense	5'- TGTTGGCGTACAGGTCTTTG-3'
AMP-activated kinase (AMPK)	
Sense	5'-GACGCCCAGATGAATGCTA -3'
Antisense	5'- ATAATTTGGCGATCCACAGC-3'
Insulin-like growth factor 1 (IGF1)	
Sense	5'-AAGCGATGGGGAAAATCAG-3'
Antisense	5'-AGCAGAGTGCCAGGTAGAAGA-3'
IGF type 1 receptor (IGFR)	
Sense	5'-GGATTGAGAAAAACGCTGACC-3'
Antisense	5'- ATTCCTTTGGGGGCTTGTT-3'
Bcl2	
Sense	5'-GTGGACAACATCGCTCTGTG-3'
Antisense	5'-CATGCTGGGGCCATATAGTT-3'
Bax	
Sense	5'-CGTGGTTGCCCTCTTCTACT-3'
Antisense	5'-TCACGGAGGAAGTCCAGTGT-3'
Interleukin-1β (IL-1β)	
Sense	5'-AAAAATGCCTCGTGCTGTCT-3'
Antisense	5'-TCGTTGCTTGCTCTCCTTG-3'
Interleukin-6 (IL-6)	

Sense 5'-CCACCAGGAACGAAAGTCA-3'
Antisense 5'-TCAGTCCCAAGAAGGCAACT-3'

Tumor necrosis factor- α (TNF- α)

Sense 5'-ATGGGCTCCCTCTCATCAGT-3'
Antisense 5'-GCTTGGTGGTTTGCTACGAC-3'

Intercellular adhesion molecule 1 (ICAM1)

Sense 5'-ACGACGCTTCTTTTGCTCTG-3'
Antisense 5'-GCAGTCCTTCTTGTCAGGT-3'

Vascular cell adhesion molecule 1 (VCAM1)

Sense 5'-GCCCAAAATGAAGATGAACC-3'
Antisense 5'-GACGCTCCCAAAAGAAAAGA-3'

Hypoxia-inducible factor- α (HIF-1 α)

Sense 5'-CAGAGGAAGCGAAAAATGGA-3'
Antisense 5'-ACATAGTAGGGGCACGGTCA-3'

Pro- α 1 collagen type 1 (Col1A1)

Sense 5'-GGTTTCAGTGGTTTGGATGG-3'
Antisense 5'-AGCTCCATTTTCACCAGGAC-3'

Pro- α 1 collagen type 3 (Col3A1)

Sense 5'-AGGACAAAGAGGGGAACCTG-3'
Antisense 5'-CCACCAGGACTGCCATTATT-3'

Calcium/calmodulin-dependent protein kinase 2 delta (CaMK2D)

Sense 5'-ATCCACAACCCTGATGGAAA-3'
Antisense 5'-GCTTTCGTGCTTTCACGTCT-3'

Hypoxanthine phosphoribosyltransferase 1 (HPRT1)

Sense 5'-ACAGGCCAGACTTTGTTGGA-3'
Antisense 5'-TCCACTTTCGCTGATGACCAC-3'

- Supermix(Quanta), contenant : l'ADN polymérase, les dNTP, le buffer et l'agent intercalant fluorescent (sybergreen)

- Plaque de PCR de 96 puits.

- Film adhésif.

- Machine de PCR Icyler (Bio-rad).

D.5. 3. Méthode : validation des primers

Avant de commencer notre étude, les primers choisis doivent être validés en faisant une PCR sur une série de dilutions d'un échantillon d'ADNc exprimant le gène d'intérêt. Ces dilutions permettront la constitution d'une courbe d'étalonnage de la relation linéaire inverse entre les valeurs de Ct et les logarithmes des concentrations de l'ADNc.

La pente de cette courbe permettra de déterminer l'efficacité de l'amplification selon les formules suivantes:

$$\text{Pourcentage d'Efficacité(\%)} = [10^{-(1/\text{pente})} - 1] \times 100$$

$$\text{Avec Efficacité} = 10^{-(1/\text{pente})}$$

Un bon primer doit avoir une efficacité comprise entre 95% et 105%.

D.5.4. Protocole de PCR en temps réel

Le protocole consiste à amplifier 8,5µl d'échantillon d'ADNc en présence de 12,5µl de supermix (contenant le SybrGreen ; Quanta), 2µl de primer sense (5nM) et 2µl de primer antisense (5nM) pour chaque puits. L'amplification se déroule dans la machine "Icycler (Biorad)" pendant environ 2 heures et chaque échantillon est amplifié en triplicat. La PCR est basée sur un cycle de dénaturation-hybridation-élongation, chacune de ces étapes étant pilotée par une température différente. Le protocole de la PCR en temps réel, comprend plusieurs cycles, chaque cycle est constitué d'une ou plusieurs étapes :

Cycle 1 : Dénaturation initiale 95°C pendant 3 min

- séparation des doubles brins d'ADN,
- homogénéisation du milieu réactionnel par agitation thermique et activation des ADN polymérases.

Cycle 2 : Amplification x 40 95°C pendant 10 sec

- Dénaturation

60°C pendant 45 sec

- Hybridation des amorces

Cycle 3

95°C pendant 1 min

- Remettre la fluorescence de l'appareil à 0

Cycle 4 :

55°C pendant 1 min

Cycle 5 x 80

55°C pendant 10 sec

- Le système chauffe les échantillons de 55°C à 95°C par palier de 0,5°C et à chaque étape il s'arrête 10 sec pour recueillir les résultats. Cette étape permet d'obtenir la courbe de fusion, afin d'assurer l'absence de toute hybridation non spécifique du produit PCR.

D.6. Analyse des données PCR : normalisation par rapport à l'expression du gène de référence = quantification comparative

D.6.1. Principe

C'est probablement la méthode la plus utilisée de nos jours pour étudier les changements de l'expression d'un gène d'un échantillon à l'autre (Murase et *al.*, 2012). En effet, elle est basée sur la comparaison de l'expression d'un gène dans un échantillon inconnu à un gène de référence et à un calibrateur (Livak et Schmittgen, 2001). Le gène de référence ou bien le normalisateur doit être présent dans la même plaque, que ce soit dans le même puits ou non. En effet, la RT-PCR peut être associée à des variations significatives entre les échantillons que ce soit au niveau de l'extraction de l'ARN total, de la fraction de l'ARNm dans l'ARN total, de la qualité de l'ARNm utilisé dans la transcription inverse en ADN complémentaire, ou encore de l'efficacité de la Reverse Transcriptase, de l'efficacité de l'amplification en temps réel et des variations expérimentales de pipetage, entre autres (Vandesompele et *al.*, 2009). Tous ces facteurs peuvent influencer les résultats finaux de la RT-PCR. Ceci peut amener l'expérimentateur à sur- ou sous-estimer les quantités de départ du gène cible dans les échantillons à tester. Les investigateurs ont conclu que la meilleure normalisation des données de qPCR serait l'approche de l'utilisation des gènes de référence considérés comme contrôles internes (Vandesompele et *al.*, 2009). En effet, ces derniers sont

présents dans les cellules et leurs ARNm des contrôles internes subissent les mêmes procédures d'extraction, de transcription inverse et de présence d'inhibiteurs d'enzymes que les ARNm des gènes cibles. Dans la méthode de quantification comparative, nous comparons les quantités des échantillons inconnus pour un gène cible aux quantités d'un gène normalisateur dans le but de corriger le plus possible pour les facteurs de variations cités plus haut.

D.6.2. Le choix du gène de référence

Le choix de gènes de référence optimaux peut changer d'une étude à l'autre, chaque chercheur doit valider son choix pour la normalisation des expériences de RT-qPCR. Plusieurs gènes revenaient couramment dans la littérature comme étant stables dans plusieurs études expérimentales. Généralement, le choix de la liste des gènes de normalisation se fait parmi ceux qui sont "célèbres" ou couramment utilisés dans des protocoles similaires ou encore bien proches de nos études. Pour notre étude, nous avons opté pour l'hypoxanthine phosphoribosyltransférase. C'est une transférase qui catalyse la conversion de l'hypoxanthine en inosine monophosphate et la guanine en guanine monophosphate en transférant le groupe 5-phosphoribosyl de la 5-phosphoribosyl 1- pyrophosphate à la purine. Cette enzyme est impliquée dans la formation des nouveaux nucléotides à partir des produits de dégradation des anciens nucléotides (salvage pathway). Ainsi elle est utilisée comme gène contrôle dans beaucoup d'études de RT-qPCR (Hori et *al.*, 2009).

D.7. Méthodes de calcul : méthode comparative des Ct

C'est une méthode de quantification relative qui permet de calculer à partir d'une formule mathématique le nombre de copies du gène ou de messenger contenues dans un tissu donné. Elle consiste, après coamplification du gène cible avec un gène endogène de référence à comparer les Ct calculés à partir du tissu analysé et du calibrant.

Le calibrant est ici une solution d'acides nucléiques obtenue à partir d'un tissu sain ou tissu contrôle. Le nombre de molécules de gène ou de transcrit initialement présents dans le tissu analysé, normalisé par rapport au gène de référence et relatif au calibrant est alors donné par la relation mathématique suivante : $2^{-\Delta\Delta Ct}$

dans laquelle : $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct (\text{tissu analysé}) - \Delta Ct (\text{calibrant})$,

avec : $\Delta Ct = Ct (\text{gène cible}) - Ct (\text{gène endogène})$.

Si $2^{-\Delta\Delta Ct} > 1$, gène surexprimé dans la condition expérimentale par rapport à la condition contrôle

Si $2^{-\Delta\Delta Ct} < 1$, gène sous-exprimé dans la condition expérimentale par rapport à la condition contrôle.

Ct: cycle seuil du gène étudié

E. Western-Blot

E.1. Principe

Le principe de cette technique consiste à séparer des protéines en fonction de leur poids moléculaire par SDS PAGE. Les protéines sont ensuite transférées sur une membrane de nitrocellulose par électroblotting. La révélation de la protéine recherchée se fait grâce à l'utilisation d'un anticorps primaire reconnaissant l'antigène de cette protéine puis d'un anticorps secondaire (couplé à la peroxydase) dirigé contre l'espèce de l'anticorps primaire utilisé. Les résultats sont ensuite visualisés par chimiluminescence et impression d'un film photographique.

E.2. Méthode

Les protéines sont obtenues par lyse du tissu cardiaque dans une solution de lyse [Tris-HCl pH 7.4, NaCl, NaF, sodium pyrophosphate respectivement à 25 mM, sodium vanadate (1 mM), EDTA, EGTA respectivement à 2.5 mM, phenylmethylsulfonyl fluoride (1 mM), aprotinine, leupeptine respectivement à $5 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, SDS, deoxycholate and NP-40 respectivement à 0.50% (contenant des anti-protéases). Les homogénats de protéines totales à raison de $50 \mu\text{g}$ /échantillon migrent sur gel à gradient de type 4-12% SDS PAGE. Elles sont transférées sur une membrane de nitrocellulose sous l'effet d'un courant électrique de 15 V pendant 30 min/membrane dont les sites non spécifiques de fixation des anticorps sont saturés avec du lait à 5% dans le TBS (en mmol/l: TRIS-HCl: 50, CaCl_2 : 2, NaCl: 80), pendant 1h. Des anticorps primaires anti-PLN total, anti-phospho- phospholamban (Ser16 et Thr17), anti-serca2a et B-actine (1/1000) et un anticorps secondaire couplé à la peroxydase de horeseradish (HRP) (Millipore, Temecula, CA, USA), sont utilisés pour marquer nos

protéines cibles. La visualisation des bandes est assurée avec le substrat ECL, permettant d'amplifier le signal luminescent émis par l'activité peroxydase (par clivage du substrat par les peroxydases). Cette lumière sert à impressionner un film photographique, ou plus récemment, par des caméras qui restituent une image numérique du transfert de western.

E.3. Analyse des résultats

E.3.1. Normalisation par les protéines de référence ou contrôle interne:

Les contrôles interne sont essentiels pour les mesures précises de l'expression quantitative de la protéine cible du Western blot. Ces contrôles sont utilisés pour corriger des erreurs présentées dans la quantité de l'échantillon déposé dans les puits, dans le transfert inégal de la protéine à travers la membrane. Les contrôles internes sont typiquement des protéines omniprésentes exprimées à des niveaux élevés. Le niveau d'expression de ces contrôles doit rester le même quel que soit le type de tissu ou de cellule et quelles que soient les conditions expérimentales. Les actines font partie des protéines les mieux conservées dans l'évolution et qui comportent trois principaux groupes isoformes : alpha, bêta, et gamma. On retrouve les actines alpha dans le tissu musculaire. Elles représentent une composante majeure de l'appareil contractile. L'actine bêta et gamma sont présents dans la plupart des différents types de cellules en tant que constituantes du cytosquelette, et sont des médiateurs du trafic, de l'intégrité structurale et de la motilité cellulaire. Pour notre étude, nous avons utilisé l'actine beta.

E.3.2. Quantification des protéines

La quantification des protéines révélées par immuno-détection, se fait en mesurant la densité optique des bandes par densitométrie Bio 1D software (Vilber. Lourmat, France). Les valeurs sont normalisées par rapport à la protéine de référence (β -actine). Chaque valeur est divisée par sa correspondance, celle de β -actine

Résultats

Chapitre I : poids corporel et paramètres biochimiques sériques

A. Le poids corporel.

Comme montre le tableau III, aucune différence n'est observée, au début de l'expérimentation, entre les deux groupes de *Psammomys* (contrôle et expérimentés) en terme de poids corporel. Cette variable est demeurée stationnaire et non significative durant toute l'expérimentation chez les animaux nourris au régime naturel. En revanche, nous avons enregistré en fin d'expérimentation une augmentation nette du poids corporel chez le groupe soumis au régime athérogène par rapport au contrôle. Cette augmentation est de l'ordre de 22% et l'étude statistique s'est montrée significative.

B. Le profil sérique

En début d'expérimentation, concernant les différents paramètres biochimiques sériques dont le glucose, les triglycérides, le cholestérol LDL et HDL, nos résultats ne montrent pas de différence statistique entre les deux groupes (expérimenté et contrôle). Au terme de l'expérimentation, nous enregistrons une élévation mais non significative de la glycémie chez le groupe expérimenté. Cette glycémie est de 0.78 ± 0.10 g/L par rapport à celle de début de l'étude (0.6 ± 0.04 g/L). De plus, nos résultats ont montré des perturbations des paramètres lipidiques notamment les triglycérides, le cholestérol total, le cholestérol-LDL et le cholestérol-HDL. Concernant les triglycérides, le régime hyperlipidique administré aux rats pendant 16 semaines a eu un impact puisqu'en fin d'expérimentation (4 mois), nous avons enregistré une augmentation significative (* $p < 0.05$) de la triglycéridémie (1.04 ± 0.31 g/L) chez les rats nourris au régime hyperlipidique par rapport aux rats nourris au régime naturel (0.6 ± 0.06 g/L). De plus, les taux de cholestérol total, cholestérol - LDL et HDL sont augmentés dans le groupe expérimenté par rapport au contrôle et l'étude statistique s'est montrée respectivement significative (* $p < 0.05$) et très significative (** $p < 0.001$). En outre, afin d'évaluer le degré de dangerosité du régime athérogène, le rapport LDL-c/ HDL-c a été calculé et nos résultats ont montré que ce rapport est quatre fois supérieur chez les rats nourris pendant 16 semaines de régime enrichi en lipides par rapport au groupe contrôle (3,64 contre 0,33; ** $p < 0,001$).

Résultats

Tableau III. Evaluation du poids corporel, de la glycémie et des paramètres lipidiques chez *Psammomys obesus* soumis à un régime athérogène (régime naturel additionné de jaune d'œuf cuit) pendant 4 mois.

Période	Début de l'expérimentation (mois 0)		Après 16 semaines d'expérimentation (4 ^{ème} mois)			
Régime	Régime naturel (n=10)	Régime hyperlipidique (n=10)	P	Diète naturel (n=10)	Diète hyperlipidique (n=10)	P
Poids corporel, g	93 ± 6	96 ± 2	NS	99 ± 8	123 ± 3	**
Glucose, g/L	0.62 ± 0.06	0.6 ± 0.04	NS	0.55 ± 0.08	0.78 ± 0.10	NS
Triglycerides, g/L	0.51 ± 0.06	0.80 ± 0.08	NS	0.60 ± 0.06	1.04 ± 0.31	*
Cholestérol total, g/L	0.58 ± 0.09	0.60 ± 0.04	NS	0.82 ± 0.07	5.50 ± 1.49	*
HDL-c, g/dL	0.38 ± 0.07	0.37 ± 0.02	NS	0.46 ± 0.08	1.15 ± 0.14	**
LDL-c, g/L	0.12 ± 0.03	0.12 ± 0.01	NS	0.15 ± 0.05	4.19 ± 1.38	*

Les valeurs sont exprimées en moyenne ± SEM.

** p<0,01 ; diète lipidique *versus* diète normale pour le poids corporel et HDLc.

*p <0,05 ; régime enrichi en lipides *versus* régime naturel au début et après 16 semaines pour les triglycérides, le cholestérol total et LDLc

NS : non significatif.

Chapitre II : régime athérogène et altération de la contractilité

A. Profil morphologique

Chez les animaux nourris au régime naturel, l'architecture du myocarde montre un aspect normal avec des myofibrilles et des faisceaux musculaires bien agencés (figure 21A). Après 16 semaines d'un régime enrichi en lipides, nous observons des modifications au niveau des sections du myocarde, colorées à l'hématoxyline-éosine ; elles sont marquées par une désorganisation de l'agencement cellulaire donnant un aspect ondulé aux cellules avec la présence d'un œdème interstitiel reflétant l'altération de l'intégrité tissulaire (figure 21B).

Par ailleurs, la coloration au trichrome de Masson des coupes de myocarde des animaux soumis au régime enrichi en lipides pendant 16 semaines a mis en exergue une fibrose cardiaque interstitielle (figure 21D) et périvasculaire (figure 21E et 21F), remarquablement augmentée par rapport aux rats témoins correspondants (figure 21C). Toutes ces altérations suggèrent l'installation de zones ischémiques marquant une cardiomyopathie.

Dans ces conditions expérimentales, les deux colorations indiquent également la présence de thrombose accompagnée de cellules inflammatoires et de vaisseaux néoformés, indicateurs d'angiogenèse et marquant un état d'hypoxie (figure 21F). Dans ce cadre et afin de déterminer le degré de l'exposition hypoxique locale du tissu myocardique dans ce modèle expérimental de syndrome métabolique, nous avons jugé intéressant d'analyser l'expression du gène HIF-1 α . Nos résultats ont indiqué un niveau d'expression de l'ARNm significativement augmenté dans le myocarde des animaux soumis au régime athérogène pendant 16 semaines versus témoins (figure 22).

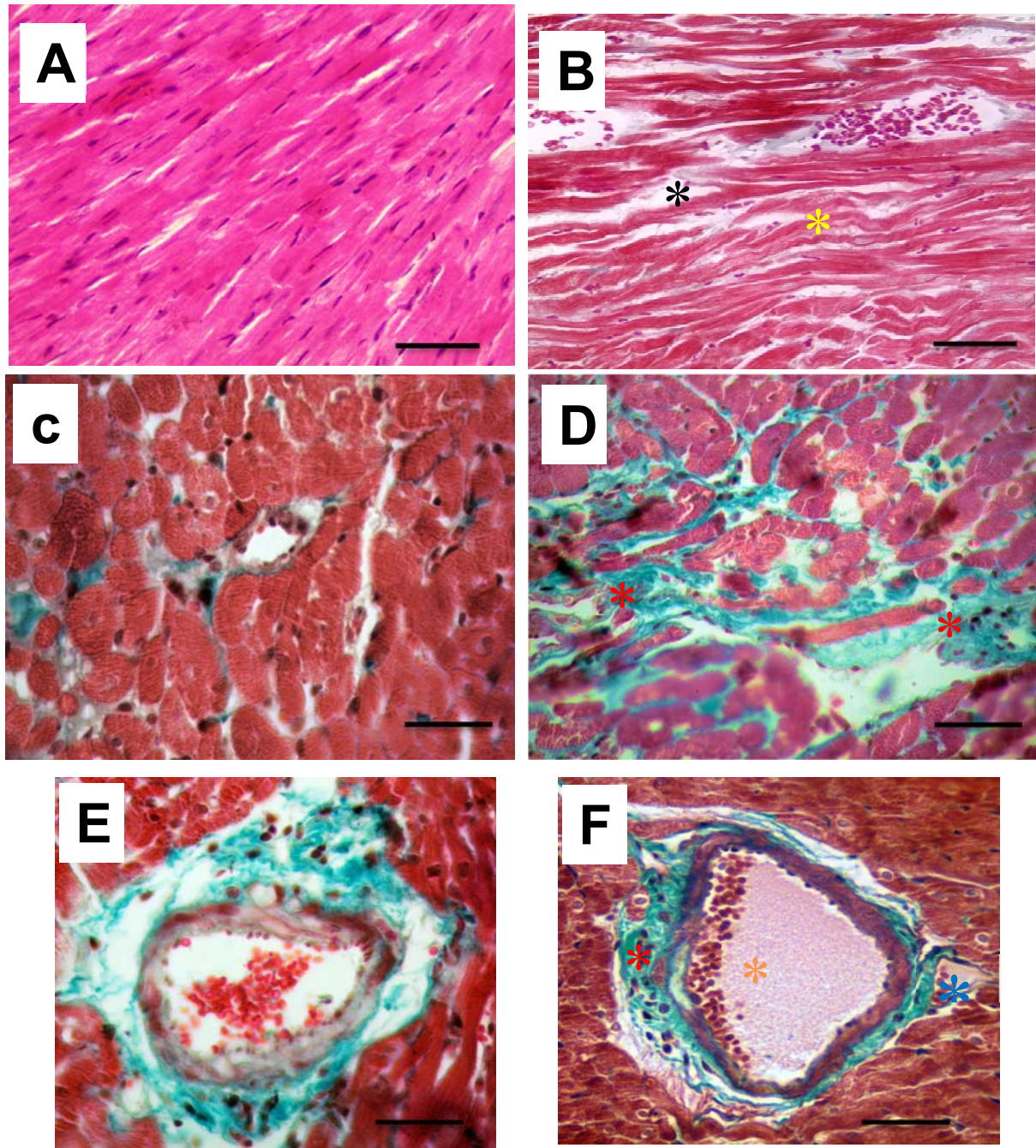


Figure 21. Etude histo-morphologique montrant des coupes colorées à l'hématoxyline-éosine et au trichrome de Masson du myocarde d'animaux nourris au régime normal (A, C, E) et au régime enrichi en lipides (B, D, F) pendant 16 semaines.

A : Figure montrant l'arrangement normal de l'architecture cellulaire du myocarde de témoin. B : Figure montrant la désorganisation de l'architecture cellulaire (*), l'installation de l'œdème (*), la thrombose (*) accompagnée d'un envahissement des capillaires par les cellules inflammatoires et l'angiogenèse(*) (F) dans le myocarde des animaux expérimentés.

C, D, E et F : La coloration au trichrome de Masson a été effectuée pour mettre en exergue les zones fibrotiques interstitielles et périvasculaires (*). Les coupes sont obtenues x400.

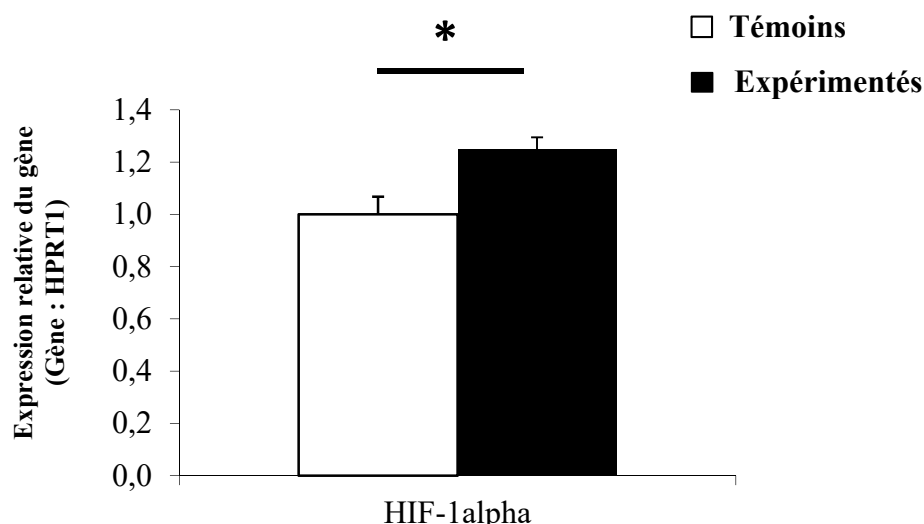


Figure 22. Expression myocardique du gène impliqué dans la réponse des tissus exposés à l'hypoxie (D), le facteur- α inductible de l'hypoxie (HIF-1 α) chez les animaux nourris au régime naturel (n = 10; colonnes blanches) et au régime enrichi en lipides (n = 10; colonnes noires). Les valeurs sont exprimées en tant que moyenne $\pm$ SEM. *P <0,05 ; animaux nourris au régime hyperlipidique (RHL) contre les témoins correspondant.

B. Profil de l'expression des gènes impliqués dans les cycles contraction- relaxation et dans la fibrose

Comme l'illustre la figure 23, 16 semaines du régime enrichi en lipides a changé le niveau d'expression myocardique des gènes impliqués dans le cycle contraction-relaxation dont principalement SERCA2a, RyR2, α -MHC et CaMK2D. Nos résultats ont montré une forte altération de l'expression de certains gènes et de certaines protéines marquées par une diminution significative de l'expression des gènes codant pour les protéines SERCA2a et α -MHC, ce qui contribue probablement à des perturbations de l'homéostasie du calcium cytosolique. Cependant, l'expression du gène codant pour la RyR-2 est restée inchangée dans le groupe expérimenté comparativement au groupe témoin. En outre, le niveau d'expression du gène codant pour la Ca⁺⁺ calmoduline protéine kinase (CaMK2D) est significativement augmenté (*p <0,05) dans le groupe soumis au régime hyperlipidique par rapport au témoin (Figure 23).

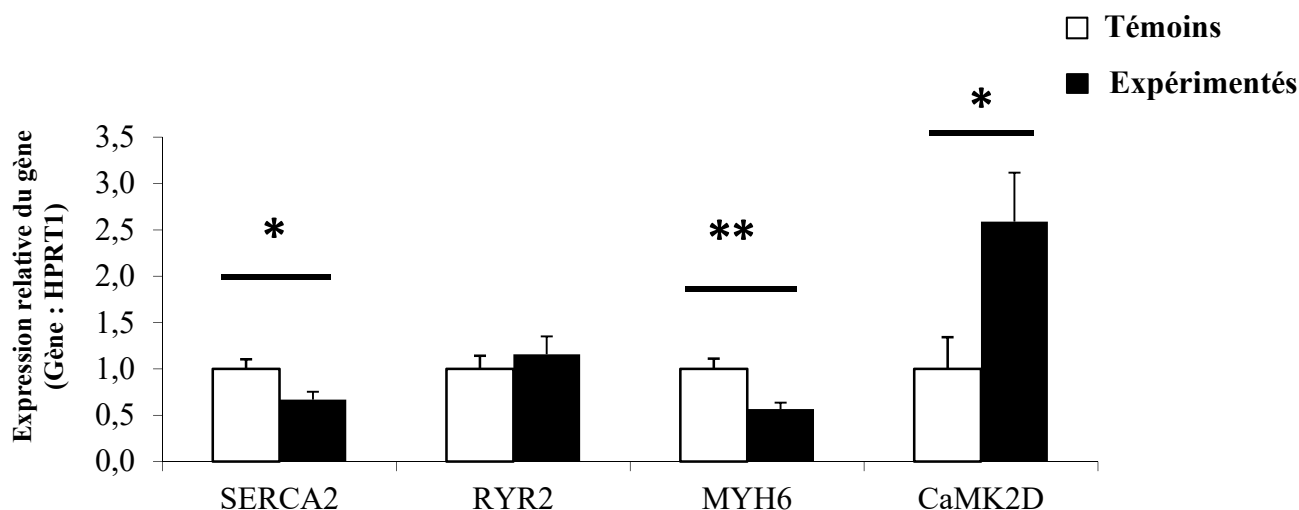


Figure 23. Expression myocardique des gènes impliqués dans la contraction cardiaque, SERCA2, RYR2, MYH6 ou α -MHC et CaMK2D chez les animaux soumis au régime alimentaire naturel (n = 10 ; colonnes blanches) et au régime hyperlipidique (n = 10; colonnes noires). Les valeurs sont exprimées en moyenne $\pm$ SEM.

*P <0,05 ; animaux soumis au régime hyperlipidique contre les témoins correspondant pour SERCA2a et CaMK2D

**P <0,01 ; animaux soumis au régime hyperlipidique contre les témoins correspondant pour MYH6 ou α -MHC

Afin de confirmer les résultats en rapport avec les dépôts de collagènes observés lors de l'étude morphologique et sachant que ces derniers influent sur les propriétés mécaniques passives du myocarde affectant les performances cardiaques passives, nous avons évalué l'expression des collagènes totaux (collagène I et collagène III) contenus dans le myocarde de rats. A cet effet, nous avons montré des niveaux d'expression de l'ARNm du collagène de type III significativement augmentés dans le myocarde des animaux soumis au régime hyperlipidique par rapport aux témoins. Le niveau d'expression du gène codant pour le collagène de type I est également augmenté et l'étude statistique s'est montrée significative par rapport au groupe témoin (figure 24).

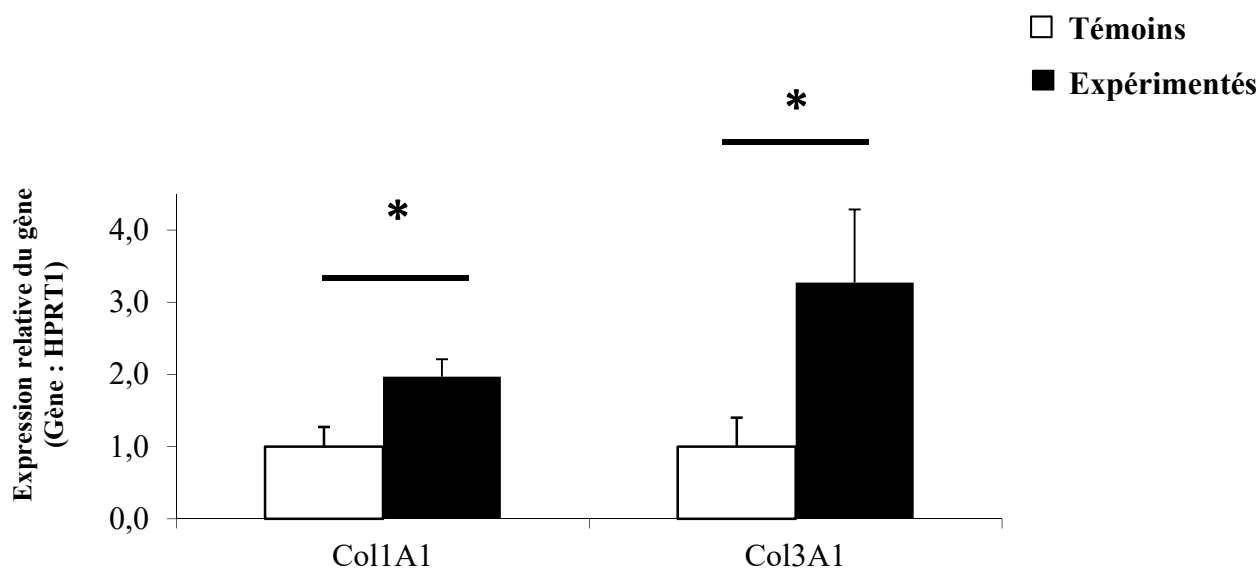


Figure 24. Expression myocardique relative des gènes codant pour les collagènes de type I (Coll1A1) et III (Col3A1) chez les animaux nourris au régime naturel pendant une durée de 16 semaines (n = 10 ; colonnes blanches) et soumis au régime enrichi en lipides (n = 10; colonnes noires). Les valeurs sont exprimées en moyenne $\pm$ SEM. *P < 0,05 versus les animaux témoins correspondant.

C. Profil d'expression des protéines impliquées dans la contraction myocardique dépendante du calcium

Les résultats présentés dans la figure (25) montrent l'évaluation par Western Blot de l'expression des protéines impliquées dans le cycle contraction-relaxation notamment le SERCA2a et ses protéines régulatrices dont le phospholamban et la PKA(c- α). Nous avons mis en évidence une diminution de l'expression de la protéine SERCA2a dans le myocarde des animaux soumis au régime hyperlipidique par rapport au groupe témoin. Cette diminution correspond à la diminution d'expression génique de SERCA2a décrite précédemment (Figure 23). La diminution de l'expression génique et protéique de SERCA2a pourrait contribuer à la diminution des stocks du calcium dans le réticulum sarcoplasmique. Ceci entraînerait une diminution de la concentration intracellulaire en calcium dans les cardiomyocytes et pourrait induire l'altération de la contraction.

Concernant l'analyse de l'expression de la protéine régulatrice de SERCA2a, la phospholamban laquelle se présente sous deux formes, monomérique et pentamérique. Nos résultats montrent qu'il n'y a pas de changement quant à l'expression protéique de la PLN totale (P+M) avec ses formes pentamérique (P) et monomérique (M) dans le myocarde des animaux nourris avec un régime hyperlipidique par rapport au groupe témoin. Par ailleurs,

Résultats

nos résultats indiquent également l'augmentation de l'expression protéique de la sous-unité catalytique (c- α) de la protéine kinase A indiquant une augmentation de son activité. Cette dernière est une holoenzyme tétramérique avec deux sous-unités catalytiques (C) et deux régulatrices (R) dont l'activité est dépendante de la concentration de l'AMP cyclique (AMPc)

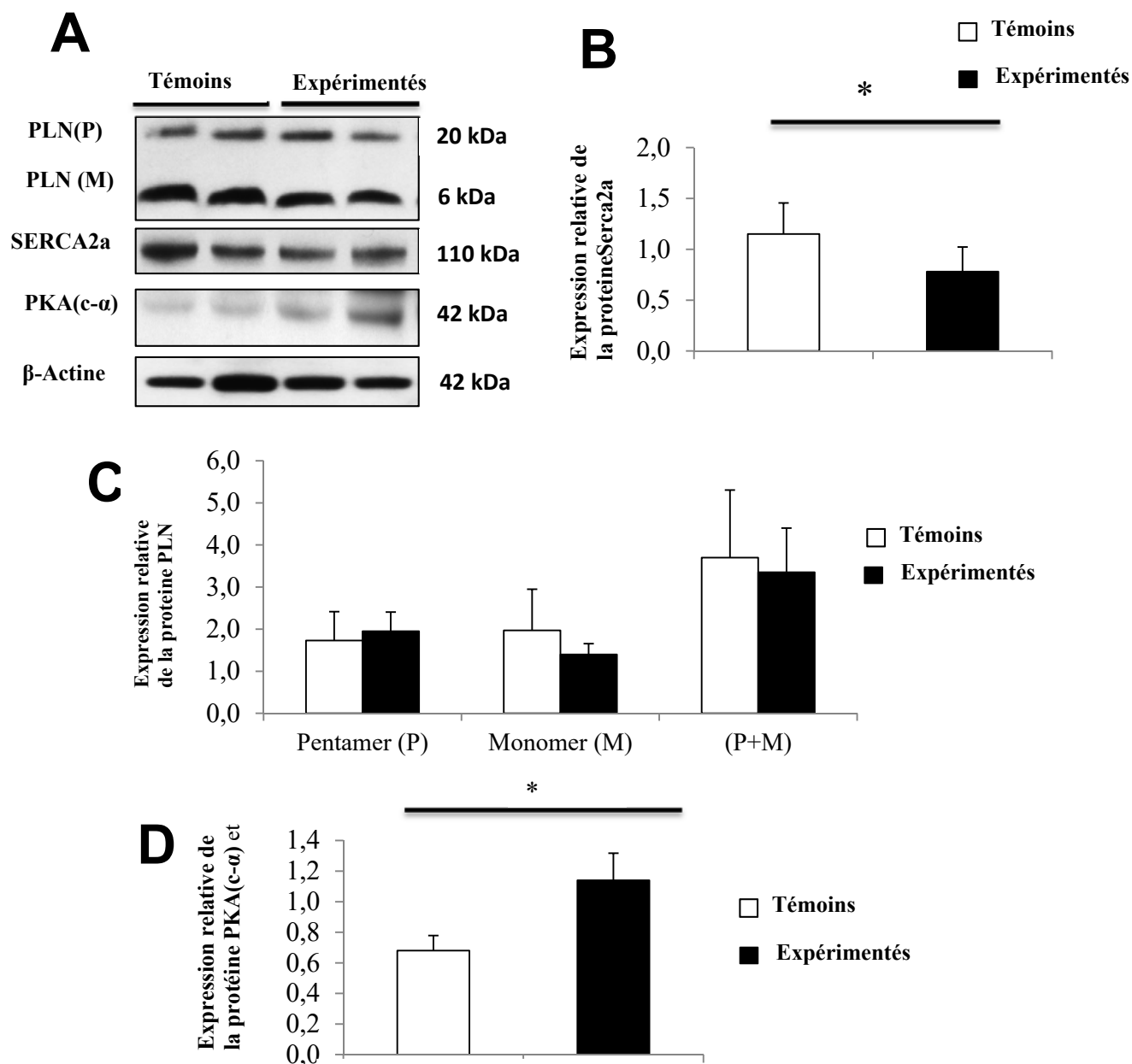


Figure 25. Figure A représentant les immunoblots respectifs de SERCA2a, PLN et PKA(c- α). Figures B, C et D montrant l'analyse quantitative de l'expression relative des différentes protéines caractérisées. B : diminution significative de l'expression du SERCA2a dans le groupe soumis au régime hyperlipidique ou RHL par rapport au groupe témoin. C : diminution non significative du PLN total (P+M) dans le groupe soumis au régime hyperlipidique par rapport au témoin. D : augmentation de l'expression de la (c- α) de la PKA dans le groupe soumis au régime hyperlipidique en comparaison avec le contrôle.

Chapitre III : régime athérogène et l'inflammation

A. Profil morphologique et immunohistochimie

Les coupes histologiques du myocarde des animaux ayant reçu un régime hyperlipidique montrent une importante concentration de cellules inflammatoires et ce tant au niveau tissulaire, sous forme d'infiltrats qu'au niveau capillaire (figure 26A et C) complétant le schéma de l'ischémie indiqué dans la figure (21F) précédemment. Par ailleurs, l'immunohistologie que nous avons effectuée a permis de mettre en évidence et de caractériser au niveau du myocarde le type d'infiltrat inflammatoire. A cet effet, un immunomarquage à la myéloperoxydase (MPO) a été effectué et nous a permis de mettre en évidence des neutrophiles extravasculaires colorés positivement à la MPO au niveau des coupes du myocarde des rats soumis au régime enrichi en lipides comparativement au régime naturel (Figure 27 A et B).

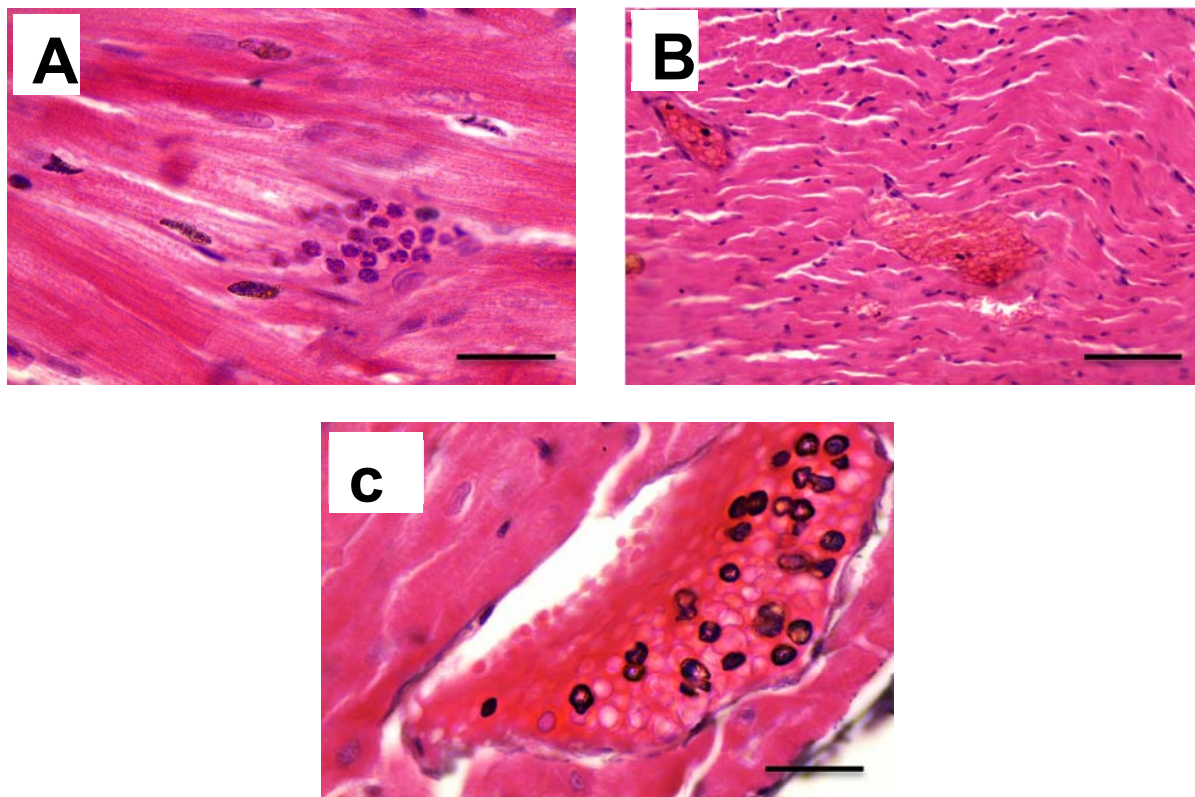


Figure 26. Localisation des cellules inflammatoires au niveau interstitiel et capillaire du myocarde soumis au régime hyperlipidique, après coloration à l'hématoxyline-éosine

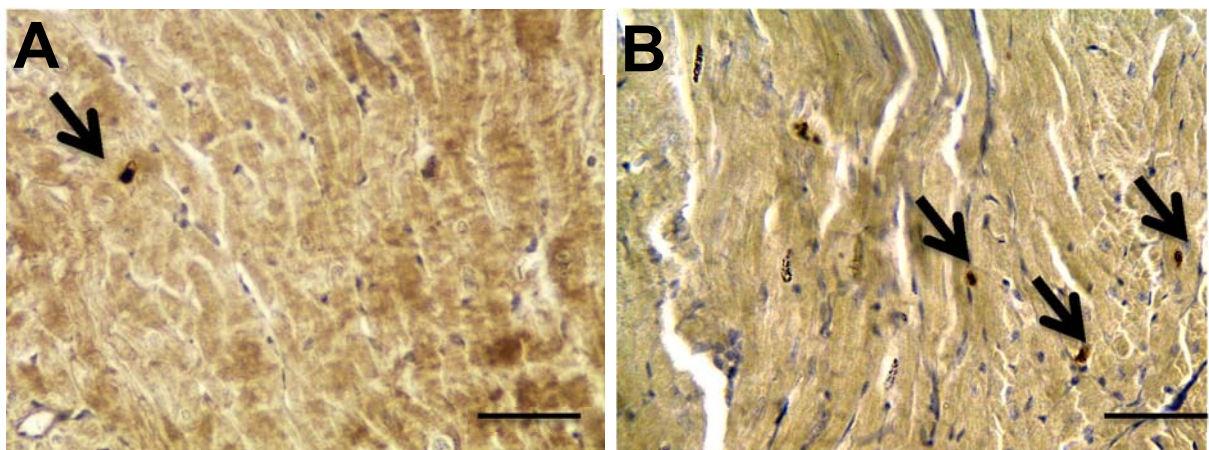


Figure 27. Caractérisation des cellules inflammatoires infiltrées dans le myocarde après avoir soumis les animaux au régime hyperlipidique pendant une durée de 4 mois. Immuno-coloration des neutrophiles positivement colorées à la myéloperoxydase (MPO) au niveau du myocarde des animaux nourris au régime naturel (A) et au régime hyperlipidique (B). Les flèches indiquent les cellules positives. Barres d'échelle: 50 μ m.

Résultats

Afin de quantifier et de comparer le nombre de neutrophiles extravasculaires, une étude morphométrique a été effectuée et a montré une augmentation du nombre de neutrophiles extravasculaires infiltrant le myocarde des animaux soumis au régime lipidique pendant 16 semaines par rapport aux témoins correspondants. L'étude statistique s'est révélée significative (Figure 28).

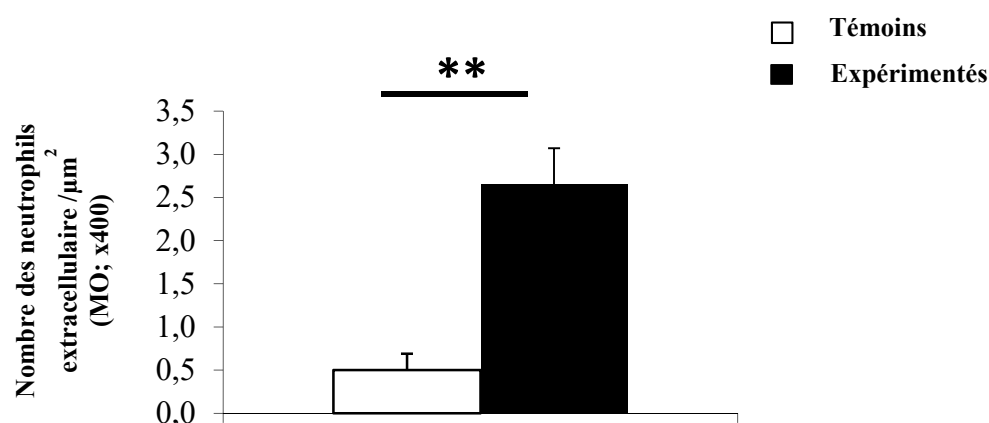


Figure 28. Evaluation du nombre de neutrophiles extravasculaires positifs à la MPO par morphométrie dans les sections de myocarde d'animaux soumis au régime alimentaire naturel (n = 10; histogramme blanc) et au régime hyperlipidique (n = 10; histogramme noire). Les valeurs sont exprimées en moyenne $\pm$ SEM. ** P < 0,01 versus les contrôles.

B. Profil de l'expression des gènes impliqués dans l'inflammation

Compte-tenu de l'importance de l'inflammation dans la genèse de certaines cardiomyopathies, nous avons analysé l'expression de gènes codant pour des cytokines pro-inflammatoires ainsi que des molécules d'adhésion cellulaire (ICAM) et vasculaire (VCAM). Seize semaines d'un régime enrichi en lipides a induit l'augmentation de l'expression myocardique de gènes impliqués dans les processus inflammatoires, tels que l'interleukine-1 β et le TNF- α par rapport aux témoins correspondants. En revanche, nos résultats ne montrent aucun changement dans le niveau d'expression génique de l'interleukine-6 (Figure 29).

Nous notons aussi une augmentation de l'expression génique des ICAM-1 et VCAM-1 chez ces animaux (Figure 30). L'augmentation de ces médiateurs inflammatoires confirme ce qui a été observé lors de l'étude immunohistologique et qui a montré l'infiltration du myocarde par un nombre élevé de neutrophiles chez les rats soumis au régime hyperlipidique (Figure 27B).

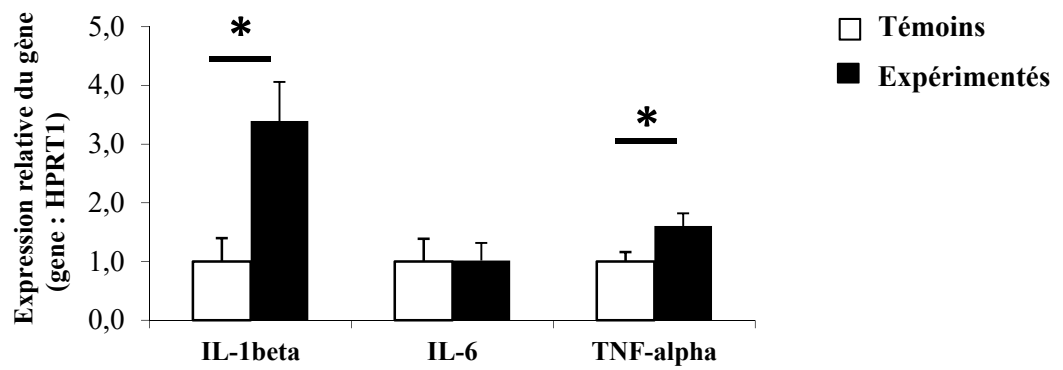


Figure 29. Expression myocardique des gènes codant pour les cytokines inflammatoires, l'IL-1 β , l'IL-6 et le TNF- α . Les valeurs sont exprimées en tant que moyenne $\pm$ SEM.

*P < 0,05 versus les contrôles.

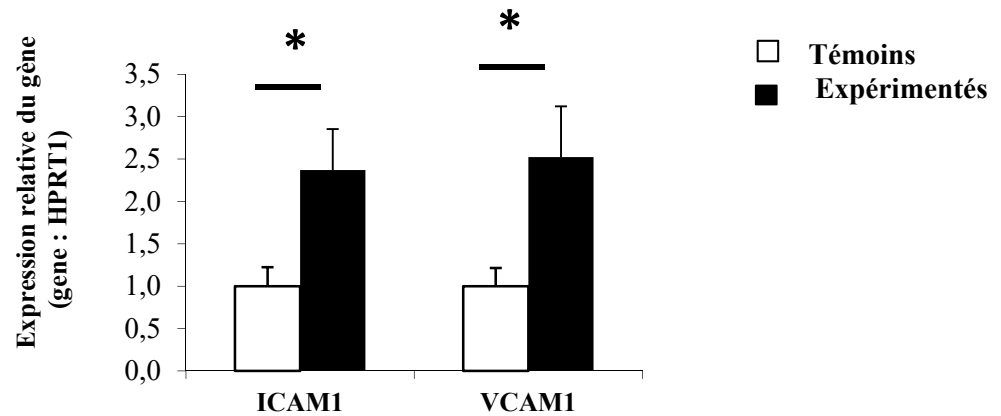


Figure 30. Expression myocardique des gènes codant pour les molécules d'adhésion ICAM1 et VCAM1 chez les animaux nourris au régime naturel (n = 10; colonnes blanches) et au régime enrichi en lipides (n = 10; colonnes noires).

Les valeurs sont exprimées en tant que moyenne $\pm$ SEM. *P < 0,05, animaux nourris au régime enrichi en lipides versus les contrôles

Chapitre IV : régime hyperlipidique, hypertrophie et apoptose

A. Profil morphologique et morphométrique

L'hypertrophie représente un mécanisme d'adaptation du myocarde en réponse à différentes contraintes. Au niveau histologique, cette hypertrophie qui est caractérisée par une augmentation de la taille des cardiomyocytes est observée au niveau des sections du myocarde des animaux soumis au régime hyperlipidique. En effet, la mesure des surfaces des cardiomyocytes par morphométrie est augmentée par rapport à celle des témoins correspondants (Figure 31). Ceci confirme et renforce ainsi l'observation réalisée en histomorphologie.

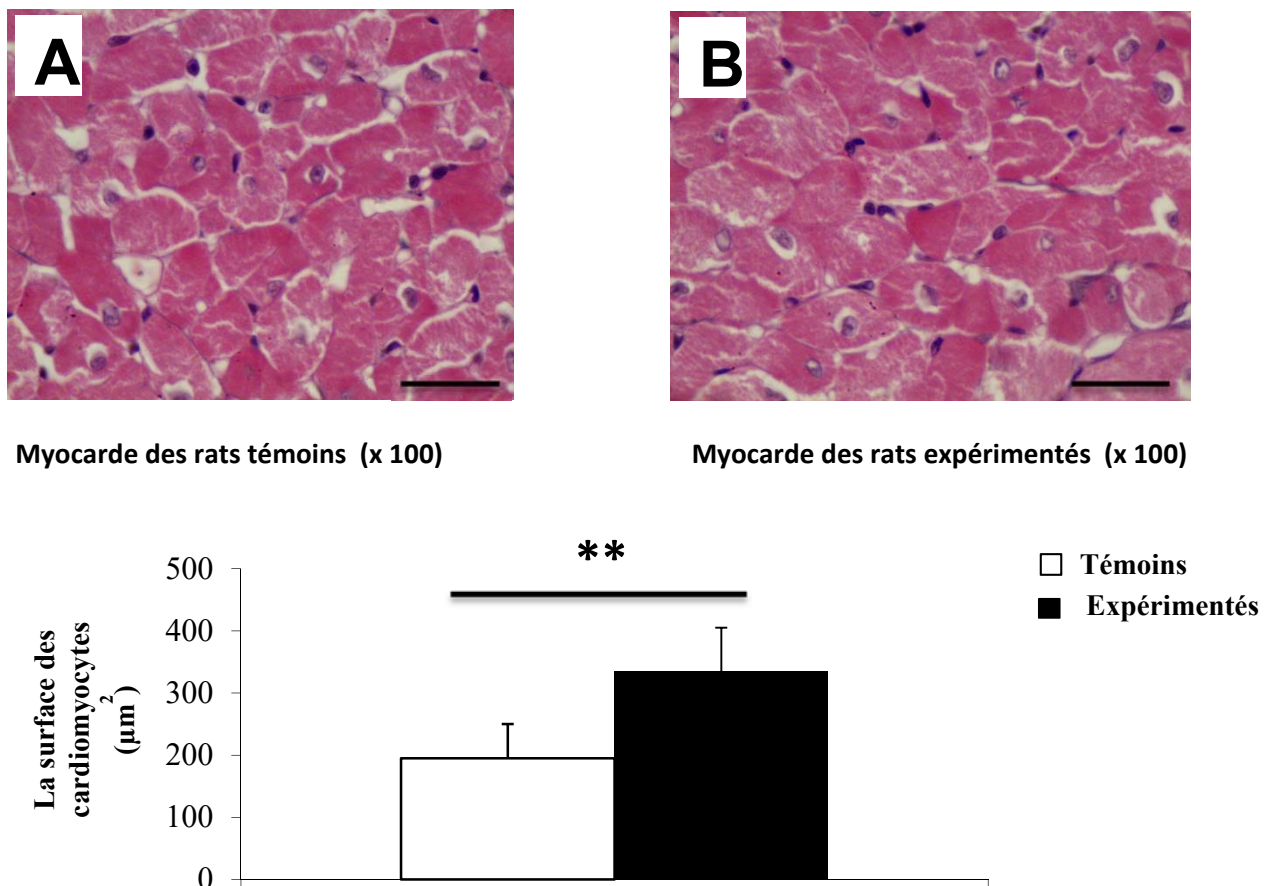


Figure 31. L'hypertrophie des cardiomyocytes (évaluée par la surface des cardiomyocytes en micromètre carré) est exacerbée au niveau du myocarde des animaux nourris au régime hyperlipidique par rapport aux témoins correspondants pendant une durée de 16 semaines. Les valeurs sont exprimées sous forme de moyenne $\pm$ SEM.

**P < 0,01, animaux nourris au régime hyperlipidique *versus* des animaux témoins correspondants.

Résultats

Par ailleurs, nous avons procédé à l'évaluation du niveau d'expression des ARNm des facteurs susceptibles d'être les acteurs principaux dans la mise en place de l'hypertrophie pathologique. Cette dernière survient suite à un remodelage au niveau du myocarde et implique certaines molécules telles que l'IGF-1 et son récepteur l'IGFR, ainsi que la NFAT3C (Nuclear factor of activated T cells c3). Nos résultats ont montré une augmentation de l'expression des ARNm de IGF-1 et NFATc3 dans le myocarde des animaux soumis au régime hyperlipidique par rapport aux témoins correspondants. Cependant, l'expression du gène IGFR n'est pas modifiée dans le myocarde du groupe d'animaux soumis au régime hyperlipidique versus témoins (figure 32).

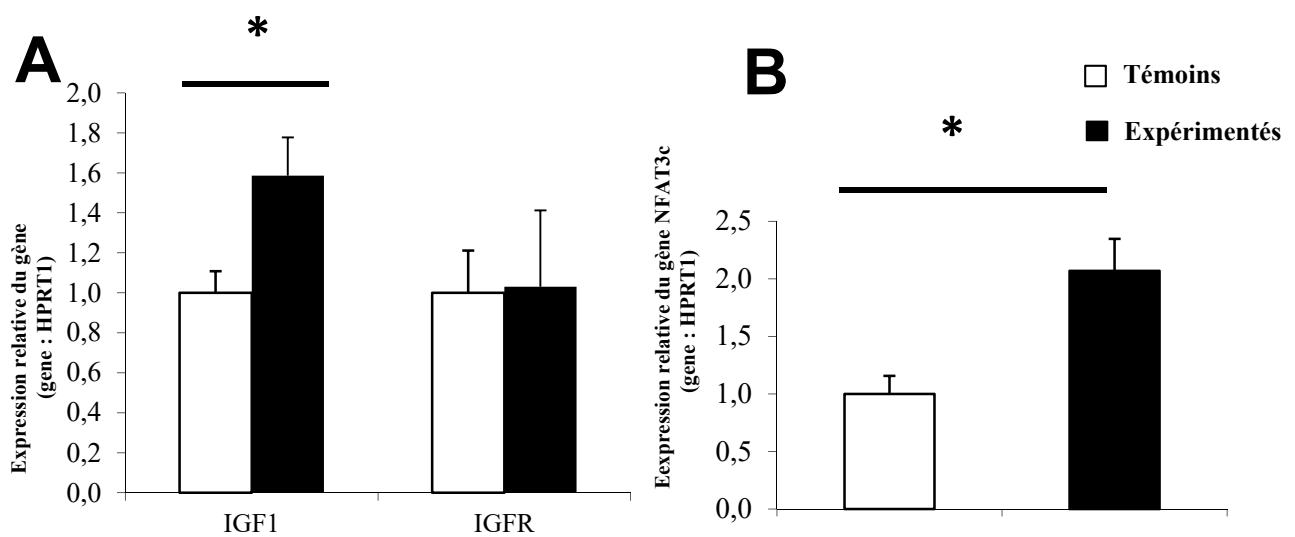


Figure 32. L'expression myocardique des gènes impliqués dans l'hypertrophie, IGF-1, son récepteur IGFR (A) ainsi que la NFAT3c (B).

Les valeurs sont exprimées sous forme de moyenne $\pm$ SEM. **p < 0,05, animaux nourris au régime hyperlipidique *versus* des animaux témoins correspondants

Pour ce qui est de l'étude portant sur l'analyse de l'activation des processus apoptotiques de la voie intrinsèque mitochondriale dans le myocarde d'animaux soumis au régime hyperlipidique, nous avons évalué le niveau d'expression des gènes pro-apoptotique Bax et anti-apoptotique Bcl-2. Nos résultats ont montré une augmentation de Bax et une tendance à la diminution de l'expression du Bcl-2. Par conséquent, le rapport pro-apoptotique (Bax/Bcl-2) est augmenté dans le myocarde du groupe expérimenté *versus* témoins correspondants, suggérant l'activation des processus apoptotiques dans les cardiomyocytes (Figure 33).

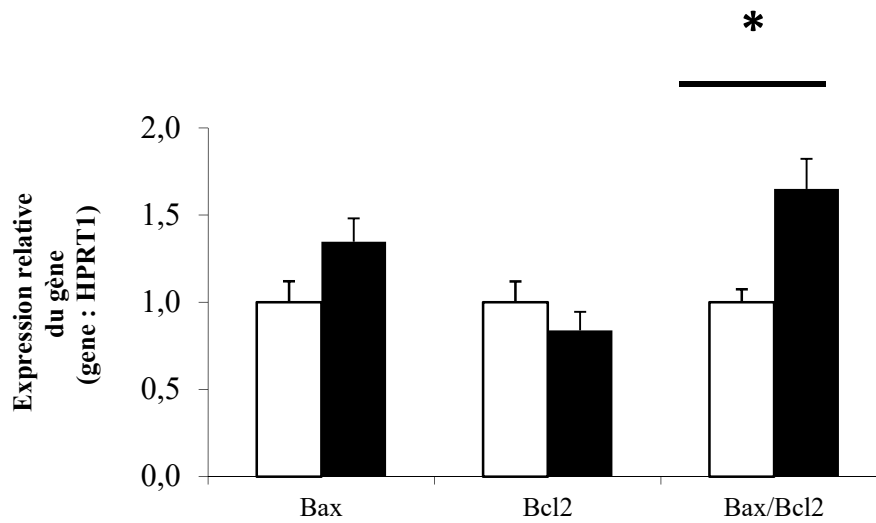


Figure 33. Expression myocardique des gènes impliqués dans l'activation de la voie apoptotique intrinsèque mitochondriale, Bax (pro-apoptotique) et Bcl2 (anti-apoptotique) ainsi que le rapport Bax/Bcl2 chez les animaux nourris au régime naturel (n = 10; colonnes blanches) et au régime enrichi en lipides (n = 10; colonnes noires).

Les valeurs sont exprimées en moyenne $\pm$ SEM.

* P < 0,05, animaux nourris au régime enrichi en lipides versus les contrôles correspondants.

Discussion

Nos investigations ont porté sur une étude « *in vivo* » s'étalant sur une période de 4 mois au cours de laquelle deux lots d'animaux de *Psammomys* sont reconstitués ; lot des rats obèses et un lot des rat normaux. Les résultats obtenus de cette étude ont révélé :

- des variations plasmatiques montrant les dérèglements métaboliques.
- l'altération de la contractilité du tissu myocardique révélant l'installation d'une cardiomyopathie caractérisée par la présence d'œdème, de fibrose, d'inflammation, d'hypertrophie pathologique, la thrombose, l'angiogenèse.
- des modifications protéomiques et génomiques en rapport avec les altérations tissulaires et cellulaires observées.

Chapitre I : poids corporel profil plasmatique

Les résultats de la présente étude ont montré que les rats des sables nourris au régime enrichi en lipides pendant 4 mois présentent une augmentation de poids corporel final ($p < 0,002$) par rapport aux témoins.

Des travaux antérieurs, en rapport avec l'instauration d'un régime hypercalorique ont montré son efficacité à promouvoir l'obésité dans ce modèle expérimental (Aouichat, 2001 ; Hamlat et *al.*, 2010).

Dans notre étude, le régime alimentaire enrichi en lipides a provoqué une augmentation significative du taux des triglycérides. Cette élévation plasmatique a été attribuée à une inhibition de l'activité de l'enzyme lipase (Goldberg et *al.*, 2008).

Nos résultats sont en accord avec ceux de Tentolouris et *al.* (2008); Schrauwen et Westerterp, (2000) qui montrent que la consommation de graisses et le défaut de leur oxydation favorise le dépôt de lipides notamment de triglycérides dans le tissu adipeux, ce qui conduit à une augmentation du poids corporel.

Par ailleurs, les régimes alimentaires riches en graisses, conduisent à une résistance à l'insuline et favorisent l'obésité (Purnell et Brunzell, 1997). Nos résultats ont également montré une augmentation significative du cholestérol- LDL et HDL, en accord avec l'étude de Clarke et *al.* (1997) qui ont montré que ce régime augmente aussi les concentrations du cholestérol-LDL et celui des HDL. Ceci suggère que l'augmentation favorable du cholestérol-HDL suite à une augmentation de l'apport en cholestérol ne parvient pas à compenser l'augmentation indésirable de la concentration totale de cholestérol-LDL. Par conséquent,

l'augmentation de cet apport peut augmenter le risque de maladie cardiaque coronaire (Young et *al.*, 2002).

Chapitre II : Régime hyperlipidique et morphologie cardiaque.

En ce qui concerne l'analyse morphométrique et moléculaire du myocarde des rats nourris au régime enrichi en lipides, nos résultats ont montré des signes d'inflammation et de fibrose. Il faut noter que les différents types de collagènes composant la matrice extracellulaire (MEC) jouent un rôle important dans la fonction cardio-vasculaire et que le remodelage de la MEC contribue à la dysfonction myocardique (Goldsmith et Borg, 2002 ; Porter et Turner, 2009).

Dans notre étude, nous avons observé des changements au niveau de l'expression des collagènes de types I et III dans le myocarde des rats soumis au régime riche en graisses. Une vaste réponse fibreuse interstitielle et périvasculaire a été observée dans le myocarde des rats nourris au régime enrichi en lipides. Ces résultats rejoignent ceux de Swynghedauw, (1999) qui montrent que l'insuffisance cardiaque et le remodelage myocardique sont caractérisés par l'accumulation de différents types de collagènes et la perte de myocytes par apoptose ou nécrose menant à une altération du réarrangement de la structure myocardique. Cela serait en rapport avec l'infiltration des cellules inflammatoires au niveau du myocarde.

En effet, selon Cleutjens et al. (1995); Sun et al. (1998) ces cellules par la sécrétion de transforming growth factor-beta (TGF- β) pourraient réguler l'activité des fibroblastes qui jouent un rôle central dans la progression de la fibrose sur la base de leur capacité à produire du procollagène. Ces données rejoignent également les études de Carroll et Tyagi, (2005) et Zhou et al. (2000) qui notent la présence d'une réponse fibrotique réactive dans le myocarde de divers modèles d'animaux obèses.

Par ailleurs, la réponse fibrotique dans le myocarde des rats des sables nourris avec un régime riche en graisses représenterait une manifestation inadaptée secondaire à la présence d'une obésité associée à l'hyperlipidémie, l'insulinorésistance conduisant à l'hyperglycémie chronique en accord avec les travaux de Hamlat (2010).

Chapitre III. Régime hyperlipidique et cycle de contraction-relaxation

La relation entre le régime alimentaire riche en lipides et les maladies cardiovasculaires a été clairement établi cliniquement et dans les modèles expérimentaux. Des études antérieures, ont montré que la diète hypercholestérolémique modifie la fonction contractile des cellules musculaires lisses artérielles (CML) et cela par le fait de l'enrichissement de leur membrane plasmique en cholestérol ainsi que par l'altération de la perméabilité au calcium (Chen et *al.*, 1995 ; Step et Tulenko, 1994).

Dans le présent travail, l'analyse moléculaire de plusieurs paramètres impliqués dans la fonction du myocarde des rats soumis à un régime hyperlipidique a montré des altérations de l'expression des gènes et des protéines impliqués dans la contractilité myocardique. Nous avons enregistré une diminution du niveau d'expression de l'ARNm et de la protéine de SERCA2a en comparaison avec les témoins correspondants ($P < 0,05$). Cette pompe transfère le Ca^{2+} à partir du cytosol à la lumière du RS aux dépens de l'hydrolyse d'ATP (Flagg et *al.*, 2009).

Nos résultats sont en accord avec ceux de Huang et al. (2004) qui ont montré que le niveau de l'ARNm du SERCA2a était corrélé à l'augmentation du cholestérol sanguin et membranaire au cours d'une période de prise excessive de cholestérol. Ceci suggère l'implication de la teneur en cholestérol membranaire dans la diminution de SERCA-2a. La réduction de l'ARNm de SERCA-2a est également accompagnée d'une diminution de 50% de son activité (Huang et *al.*, 2004).

Dans ce scénario, la captation du calcium par le RS serait réduite, conduisant à des taux de relaxation réduits et des teneurs en calcium du RS diminués entraînant par conséquent la diminution de la libération de calcium du RS et une diminution de la vitesse de raccourcissement (Morgan, 1991). Ces résultats suggèrent que la diminution de l'expression du SERCA-2a contribue à l'altération de la contractilité cardiaque par la perturbation de l'homéostasie du Ca^{2+} intracellulaire induisant la dysfonction cardiaque, principalement la dysfonction diastolique.

De plus, d'autres résultats, ont montré aussi que la perturbation de l'homéostasie du Ca^{2+} provoquée par l'altération de l'activité de SERCA2a génère une dysfonction diastolique causant de l'insuffisance cardiaque (Brini et Carafoli, 2009).

En outre, l'affinité de SERCA2a pour le Ca^{2+} est étroitement contrôlée par la régulation de l'interaction PLN-SERCA2. Plusieurs études sur la souris (Dash *et al.*, 2001 ; Kadambi *et al.*, 1996) et l'homme (Schmitt *et al.*, 2003) ont montré que l'altération chronique de cette affinité serait due à l'augmentation de l'inhibition de PLN par déphosphorylation. La perte fonctionnelle de PLN chez l'homme conduit également à une activation chronique de SERCA2a et serait impliqué dans la pathogénie pécoce de la cardiomyopathie dilatée (Haghighi *et al.*, 2003).

En accord avec les travaux sus cités, notre étude a révélé une diminution significative de l'expression de la protéine SERCA2a. Cependant nous n'avons pas enregistré de modification de l'expression de la protéine PLN totale, ce qui signifierait, soit qu'il n'y a pas d'effet de notre régime sur l'affinité SERCA2a-PLN, soit que cette diminution d'expression de PLN serait attribuée à une réponse compensatoire par la phosphorylation.

En effet, la défaillance de la captation du Ca^{2+} par le RS est un stade précoce compensée par une stimulation adrénergique accrue qui améliore la phosphorylation de PLN .

Il a été suggéré par ailleurs, que la diminution de l'activité de SERCA-2a accompagnée de la diminution de l'isoforme α et/ou du basculement de l'isoforme α à l'isoforme β de MHC serait responsable de l'altération de la contraction mécanique du cœur (Herron et McDonald, 2001).

Nous avons pour ce qui nous concerne, également constaté une diminution significative de l'expression de l'ARNm codant pour le MHC- α dans le myocarde des rats nourris au régime athérogène. Selon Dillmann, (1984), la MHC- α est l'isoforme rapide, tandis que la MHC- β est l'isoforme lente ; la MHC- β étant une ATPase plus économique que MHC- α , peut-être énergétiquement bénéfique pour le cœur défaillant.

Dans une autre étude portant sur le rat Zucker, Zaman *et al.* (2004), montrent que l'expression de MHC- α est moins élevée dans les cœurs isolés de rats Zucker obèses par rapport aux Zucker maigres. Les altérations de la fonction contractile peuvent avoir pour origine des effets combinés de la perturbation de l'homéostasie du calcium par la perturbation du complexe SERCA2a-PLN et de l'altération de l'expression des isoformes de MHC.

Dans le même sens, le phénomène de couplage excitation-contraction (ECC) est un processus hautement coordonné par plusieurs voies de signalisation, principalement celles de la PKA et de la CaMKII qui participent au contrôle de la signalisation intracellulaire du

calcium et dont la dysrégulation conduit à un cœur pathologique. Nos résultats ont indiqué une augmentation significative de l'expression de l'ARNm codant pour la CaMKIIdc (isoforme cytoplasmique delta) et la PKAc- α (région catalytique) chez les rats nourris au régime hyperlipidique pendant 4 mois versus contrôles.

Des études antérieures ont montré que la surexpression de la PKA (C- α) augmente sa capacité à phosphoryler d'autres sites dont celui du PLN pour améliorer la recaptation du Ca^{++} . Une autre étude ayant évalué l'expression de la sous-unité de la PKA (C- α) dans le cœur de souris a montré que la surexpression de celle-ci avait un impact délétère sur le cœur (Antos et *al.*, 2001), ces souris développaient rapidement une cardiomyopathie et mourraient de mort subite à cause de cycles de contraction-relaxation trop rapides.

Par ailleurs, selon Soltis et Saucerman, (2010), dans l'insuffisance cardiaque, une augmentation de l'expression et de l'activité de CaMKII est enregistrée. Cette dernière impliquée dans le découplage (ECC), conduirait à l'arythmie et à l'insuffisance cardiaque, condition caractérisée par une augmentation de l'activité du canal Ca^{2+} et par la fuite du calcium du RS menant à la perturbation de l'homéostasie du Ca^{2+} et à la mort accélérée des cardiomyocytes (Koval, 2010).

L'insuffisance cardiaque est associée à la surcharge en Ca^{2+} diastolique en raison d'une fréquence plus élevée des étincelles du Ca^{2+} à partir du RS (Libération élémentaire du Ca^{2+} du réticulum sarcoplasmique en raison de l'ouverture de récepteurs de la ryanodine). Ceci semble être dû à la phosphorylation de la RyR2, potentiellement par CaMKII (Zhou et *al.*, 2000). Les souris transgéniques surexprimant l'isoforme cardiaque de CaMKIIdc ont montré une hypertrophie cardiaque marquée, une altération de l'expression et des niveaux de phosphorylation de plusieurs protéines impliquées dans la signalisation Ca^{2+} . Activée par des concentrations plus élevées en Ca^{2+} intracellulaire, la CaMKII phosphoryle une variété de protéines impliquées dans le cycle ECC dont le canal de calcium de type L (LTCC), RyR2, le SERCA2a ainsi que sa protéine inhibitrice, le PLN (Weggemans et *al.*, 2001).

Les effets de la phosphorylation de CaMKII sur ces protéines conduiraient un plus grand afflux de Ca^{2+} , une plus grande libération de Ca^{2+} du RS et donc au renforcement de l'activité de SERCA2a pour empêcher l'appauvrissement du RS en Ca^{2+} (Weggemans et *al.*, 2001).

Chapitre IV. Régime hyperlipidique et le phénomène d'inflammation, le stress oxydatif, l'apoptose et l'hypertrophie.

Le monocyte/macrophage est une cellule pivot dans l'athérogenèse et l'inflammation. L'adhérence des monocytes à l'endothélium suivie par la transmigration dans la couche sous-endothéliale est un événement clé dans la pathogenèse de l'athérosclérose précoce (Li et al., 2006). Ce processus est médié en partie par des molécules d'adhésion cellulaire (CAMs) notamment les VCAM-1 et ICAM-1 et la E-sélectine, exprimées sur la membrane de l'endothélium, en réponse à plusieurs cytokines inflammatoires, dont l'IL1, le TNF α et l'Interféron-gamma (IFN γ) (Springer, 1994).

Dans notre étude, nous avons analysé et observé clairement une augmentation de l'expression de l'ARNm de ces (CAM) et de TNF- α dans le myocarde d'animaux nourris par un régime enrichi en lipides par rapport au groupe contrôle. Après 4 mois de l'administration de ce régime, l'expression de l'ARNm codant pour VCAM et ICAM-1 est augmentée dans le myocarde.

D'après les travaux de Li et al. (1993), sur les lapins nourris avec un régime athérogène, les VCAM-1 sont surexprimées par la cellule endothéliale et leur expression précède l'apparition de macrophages dans le sous endothélium de l'artère.

En outre, notre étude évaluant les conséquences de l'hyperlipidémie induite par l'alimentation riche en graisses au niveau du myocarde a montré l'installation de l'inflammation et d'un stress oxydatif associés à une expression accrue en MPO dans le myocarde du groupe expérimental versus témoin. Ceci est en accord avec l'étude de Libby et al. (2010) montrant que l'augmentation du stress oxydatif est associée à une expression plus élevée de la MPO dans le myocarde ischémique. Liu et al. (2009) ont montré qu'après 8 semaines de régime hypercholestérolémique, l'expression et l'activité de la MPO leucocytaire sont augmentées.

Par ailleurs, l'inflammation et la production de radicaux libres de l'oxygène sont connues pour favoriser l'activation des voies apoptotiques, via l'augmentation de l'expression de la molécule pro-apoptotique Bax (Wehrens et al., 2004) et la diminution de l'expression de Bcl-2 aux propriétés anti-apoptotiques. Autrement dit, la protéine Bcl-2 joue un rôle essentiel dans la prévention de l'apoptose, en bloquant l'activation de caspases effectrices 3, 6 et 7, 31 et la libération du cytochrome c mitochondrial (Gustafsson et Gottlieb, 2007).

Discussion

Nos résultats ont montré une diminution de l'expression de l'ARNm codant pour la protéine mitochondriale Bcl-2 et une augmentation significative de l'expression de l'ARNm codant pour la protéine mitochondriale Bax dans le groupe soumis au régime athérogène par rapport au groupe témoin.

Des études antérieures ont montré que la régulation négative de la protéine Bcl-2 et l'augmentation de l'expression de Bax (en faveur d'une activation de l'apoptose) induites par le stress oxydatif est potentiellement impliquées dans le dysfonctionnement contractile du myocarde chez les animaux obèses nourris avec un régime alimentaire occidental (Flagg et al., 2009).

L'apport excessif de nutriments dans un modèle d'obésité induite par l'alimentation chez le rat conduit à des lésions des cellules du myocarde dû à une augmentation du stress oxydatif et de l'apoptose. L'accumulation des métabolites des acides gras (en raison du déséquilibre de l'absorption du substrat et à l'oxydation) est associée à un dysfonctionnement contractile du myocarde.

Nous avons par ailleurs, évalué le rapport Bax/Bcl-2. Nos résultats ont montré que le myocarde des rats soumis au régime athérogène a un rapport Bax/Bcl-2 élevé, ce qui indiquerait une tendance de ces cellules à l'apoptose par rapport aux témoins.

En réponse aux contraintes que le myocarde a subi et afin de préserver son intégrité fonctionnelle, le cœur a développé une hypertrophie pathologique compensée suite à un remodelage cellulaire et moléculaire déclenché par plusieurs facteurs. A cet effet, nous avons jugé intéressant de caractériser certaines de ces molécules dans le myocarde des animaux soumis au régime athérogène et témoins, notamment IGF-1 et IGFR et NFAT.

Notre étude a montré par analyse morphométrique une hypertrophie des cardiomyocytes dans le groupe soumis au régime athérogène versus témoins correspondants. De plus, les niveaux d'expression des gènes d'IGF-1, IGFR et NFAT ont indiqué une augmentation d'IGF1 et NFAT et pas de variation pour IGFR. En revanche, les études de Reiss et al. (1993) ont indiqué que l'insuffisance ventriculaire aiguë est caractérisée à la fois par une expression accrue de l'IGF-1 et de IGF-1R dans les myocytes stressés.

Discussion

En outre, d'autres travaux ont montré que l'administration d'IGF-1 chez des rats présentant un infarctus du cœur provoqué expérimentalement induisait une hypertrophie des myocytes dans la partie du myocarde non infarcté avec une augmentation de la fonction ventriculaire chez ces animaux (Duerr *et al.*, 1995).

Dans les myocytes ventriculaires néonataux en culture, IGF-1 active la synthèse de l'ADN (Kajstura *et al.*, 1994) et l'expression de la chaîne légère de myosine-2, de la troponine, et de l'actine α -squelettique (Ito *et al.*, 1996) qui sont compatibles avec une réponse hyperplasique et hypertrophique.

L'autre médiateur important impliqué dans la voie de la signalisation hypertrophique et examiné dans cette étude est la NFAT. Nos données ont indiqué que le niveau d'expression de son ARNm est régulé à la hausse dans le myocarde des rats soumis au régime athérogène, ce qui signifierait que ce régime a induit des anomalies géométriques et fonctionnelles cardiaques associées à l'expression accrue de protéines pro-hypertrophiques comme NFATc et suggérerait une hypertrophie pathologique chez nos rats soumis à ce régime.

La pathogénie de l'hypertrophie cardiaque serait dépendante de la signalisation du calcium et médiée par la calcineurine, protéine calcium/calmoduline-dépendante protéine phosphatase. Cette dernière déphosphoryle la NFAT, conduisant sa translocation vers le noyau pour activer les gènes cibles de « programme des gènes hypertrophiques » (Crabtree et Olson, 2002).

Conclusion

Conclusion et Perspectives

L'administration d'une diète hyperlipidique (régime naturel additionné de jaune d'œuf (1/4) pendant 4 mois a provoqué des troubles métaboliques et des altérations cellulaires, interstitielles et moléculaires au niveau du myocarde de *Psammomys obesus*.

Au niveau plasmatique, nous avons enregistré une augmentation des paramètres lipidiques notamment les triglycérides, le cholestérol total, LDL-cholestérol et HDL-cholestérol.

Au niveau interstitiel et cellulaire, la réponse fibrotique à l'origine de l'augmentation de composants de la matrice extracellulaire notamment les collagènes I et III est accentuée. Cette réponse serait responsable de l'altération de la fonction contractile du myocarde.

Au niveau génomique, la diète hyperlipidique est à l'origine de l'altération de l'expression de l'ARNm de certaines protéines du cycle contraction-relaxation notamment Serca2a, PLN, RyR2 et α MHC ainsi que certaines molécules de signalisation comme PKAc- α et CaMKII impliquées dans la phosphorylation, responsables de la perturbation de l'homéostasie du calcium conduisant à la dysfonction cardiaque notamment le dysfonctionnement diastolique.

A cela s'ajoute l'installation de l'inflammation associée à l'augmentation de l'expression des CAMs notamment les ICAM, VCAM et certaines cytokines comme le TNF- α , IL-1 et IL-6. En réponse à ces contraintes, le cœur a développé une hypertrophie pathologique des cardiomyocytes mise en exergue par histo-morphométrie, induite par la surexpression d'IGF-1 et de NFAT.

En définitive, cette étude nous a permis d'avoir un aperçu sur le dysfonctionnement du cycle contraction-relaxation en rapport avec l'homéostasie du calcium.

Dans nos perspectives, il nous semble intéressant de cibler le profil énergétique par la caractérisation de molécules impliquées dans le glucotoxicité et la lipotoxicité comme l'AMPK, la CPT1, l'ACS, les Glut 1 et 4, FAT CD36, PPAR α , UCPs ainsi que la caractérisation de quelques molécules de signalisation insulinaire notamment IRS1.

Références bibliographiques

Références Bibliographiques

- Aasum E ; Hafstad AD ; Severson DL ; Larsen TS. 2003. Age-dependent changes in metabolism, contractile function, and ischemic sensitivity in hearts from *db/db* mice. *Diabetes* 52 : 434 - 441
- Abel ED ; Litwin SE; Sweeney G. 2008. Cardiac remodeling in obesity. *Physiol Rev.* 88: 389 -419.
- Abramson J ; Paz A ; Philipson KD. 2012. Structural biology. It's all in the symmetry. *Science.* 335: 669 - 70.
- Antos CL ; Frey N ; Marx SO ; Reiken S ; Gaburjakova M ; Richardson JA ; Marks AR ; Olson EN. 2001. Dilated Cardiomyopathy and Sudden Death Resulting From Constitutive Activation of Protein Kinase A. *Circ Res.* 89: 997-1004.
- Aker S ; Belosjorow S ; Konietzka I ; Duschin A ; Martin C ; Heusch G.2003. Serum but not myocardial TNF- α concentration is increased in pacing-induced heart failure in rabbits. *Am J Physiol Regul Integ Comp Physiol.* 285 : 463 - 469.
- Akki A ; Smith K ; Seymour AM. 2008. Compensated cardiac hypertrophy is characterised by a decline in palmitate oxidation. *Mol Cell Biochem.*311: 215 - 224
- Allard MF ; Schönekeess BO ; Henning SL ; English DR ; Lopaschuk GD. 1994. Contribution of oxidative metabolism and glycolysis to ATP production in hypertrophied hearts. *Am J Physiol.* 267: 742 - 750.
- An D ; Pulinilkunnil T ; Qi D ; Ghosh S ; Abrahani A ; RodriguesB. 2005. The metabolic “switch” AMPK regulates cardiac heparin-releasable lipoprotein lipase. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 288 : 246 - 253.
- An D ; Rodrigues B. 2006. Role of changes in cardiac metabolism in development of diabetic cardiomyopathy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 291: 1489 - 1506.
- Antzelevitch C ; Pollevick GD ; Cordeiro JM ; Casis O ; Sanguinetti MC ; Aizawa Y. 2007. Loss-of-function mutations in the cardiac calcium channel underlie a new clinical entity characterized by ST-segment elevation, short QT intervals, and sudden cardiac death. *Circulation.* 115: 442 - 9.
- Aouichat Bouguerra S. 2001. Relations diabète-athérosclérose; mécanismes cellulaires et moléculaires mis en jeu par la culture du myocyte artériel de *Psammomys obesus* diabétique. Thèse de doctorat d'état, *USTHB, Alger*.
- Arai M ; Matsui H ; Periasamy M. 1994. Sarcoplasmic reticulum gene expression in cardiac hypertrophy and heart failure. *Circ Res.* 74 : 555 - 64.
- Arras M ; Strasser R ; Mohri M ; Doll R ; Eckert P ; Schaper W.1998. Tumor necrosis factor-alpha is expressed by monocytes/macrophages following cardiac microembolization and is antagonized by cyclosporine. *Basic Res Cardiol.* 93: 97 -107.
- Arvanitis DA ; Vafiadaki E ; Fan GC ; Mitton BA ; Gregory KN ; Del Monte F ; Kontogianni-Konstantopoulos A ; Sanoudou D ; Kranias EG. 2007. Histidine-rich Ca²⁺-binding protein interacts with sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 293: 1581-1589.
- Arvanitis DA ; Vafiadaki E ; Sanoudou D ; Kranias EG. 2010. Histidine-rich calcium binding protein: the new regulator of sarcoplasmic reticulum calcium cycling. *J Mol Cell Cardiol.* 50 : 43 - 49.

Références Bibliographiques

- Asahi M ; McKenna E ; Kurzydowski K ; Tada M ; MacLennan DH. 2000. Physical interactions between phospholamban and sarco(endo)plasmic reticulum Ca^{2+} -ATPases are dissociated by elevated Ca^{2+} , but not by phospholamban phosphorylation, van date, or thapsigargin, and are enhanced by ATP. *J Biol Chem.* 275: 15034 - 8.
- Asahi M ; Nakayama H ; Tada M ; Otsu K. 2003. Regulation of sarco(endo) plasmic reticulum Ca^{2+} adenosine triphosphatase by phospholamban and sarcolipin: Implication for cardiac hypertrophy and failure. *Trends Cardiovasc Med.* 13:152-157.
- Asahi M ; Otsu K ; Nakayama H ; Hikoso S ; Takeda T ; Gramolini AO. 2004. Cardiac-specific overexpression of sarcolipin inhibits sarco(endo) plasmic reticulum Ca^{2+} ATPase (SERCA2a) activity and impairs cardiac function in mice. *Proc Natl Acad Sci.* 101: 9199 - 204.
- Asahi M ; Sugita Y ; Kurzydowski K ; De Leon S ; Tada M ; Toyoshima C et al. 2003. Sarcolipin regulates sarco(endo)plasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase (SERCA) by binding to transmembrane helices alone or in association with phospholamban. *Proc Natl Acad Sci.* 100: 5040 - 5.
- Atkinson LL ; Kozak R ; Kelly SE. 2003. Potential mechanisms and consequences of cardiac triacylglycerol accumulation in insulin-resistant rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 284(5): 923 - 30.
- Augusto O ; Bonini MG ; Amanso AM ; Linares E ; Santos CC ; De Menezes SL. 2002. Nitrogen dioxide and carbonate radical anion: two emerging radicals in biology. *Free Radic Biol Med.* 32: 841- 859.
- Autry JM ; Jones LR. 1997. Functional co-expression of the canine cardiac Ca^{2+} pump and phospholamban in *Spodoptera frugiperda* (Sf21) cells reveals new insights on ATPase regulation. *J Biol Chem.* 272: 15872 - 80.
- Babu GJ ; Zheng Z ; Natarajan P ; Wheeler D ; Janssen PM ; Periasamy M. 2005. Overexpression of sarcolipin decreases myocyte contractility and calcium transient. *Cardiovasc Res.* 65:177 - 86.
- Balijepalli RC ; Lokuta AJ ; Maertz NA ; Buck JM ; Haworth RA ; Valdivia HH. 2003. Depletion of T-tubules and specific subcellular changes in sarcolemmal proteins in tachycardia-induced heart failure. *Cardiovasc Res.* 59: 67 - 77.
- Beard NA ; Sakowska MM ; Dulhunty AF ; Laver DR. 2002. Calsequestrin is an inhibitor of skeletal muscle ryanodine receptor calcium release channels. *Biophys J.* 82 : 310 - 320.
- Beard NA ; Casarotto MG ; Wei L ; Varsanyi M ; Laver DR ; Dulhunty AF. 2005. Regulation of ryanodine receptors by calsequestrin: effect of high luminal Ca^{2+} and phosphorylation. *Biophys J.* 88: 3444 -3454.
- Beard NA ; Laver DR ; Dulhunty AF. 2004. Calsequestrin and the calcium release channel of skeletal and cardiac muscle. *Prog Biophys Mol Biol.* 155: 33 - 69.
- Benkusky NA ; Weber CS ; Scherman JA ; Farrell EF ; Hacker TA ; John MC ; Powers PA ; Valdivia HH. 2007. Intact beta-adrenergic response and unmodified progression toward heart failure in mice with genetic ablation of a major protein kinase A phosphorylation site in the cardiac ryanodine receptor. *Circ Res.* 101: 819 - 829.
- Berridge MJ. 2012. Cell Signalling Biology Module 3 Ion Channels. 201 : 3 -72
- Bers DM. 2002. Cardiac contraction-relaxation coupling. *Nature.* 414 : 198 - 205.

Références Bibliographiques

- Bhupathy P ; Babu JG ; Periasamy M. 2007. Sarcoplipin and phospholamban as regulators of cardiac sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} ATPase. *J Mol Cell Cardiol.* 42 : 903 - 911
- Bing RJ. 1954. The metabolism of the heart. *Harvey Lect.* 50 : 27 – 70.
- Boden G. 2008. Obesity and free fatty acids. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 37: 635 - 646.
- Bonen A ; Parolin ML ; Steinberg GR ; Calles-Escandon J ; Tandon NN ; Glatz JF; Luiken JJ; Heigenhauser GJ ; Dyck DJ. 2004. Triacylglycerol accumulation in human obesity and type 2 diabetes is associated with increased rates of skeletal muscle fatty acid transport and increased sarcolemmal FAT/CD36. *FASEB J.* 18: 1144 - 1146.
- Bowker-Kinley MM ; Davis WI ; Wu P ; Harris RA ; Popov KM.2001. Evidence for existence of tissue-specific regulation of the mammalian pyruvate dehydrogenase complex. *Biochem J.* 329 : 191 - 196.
- Bozkurt B ; Kribbs SB ; Clubb FJ ; Michael LH ; Didenke VV ; Hornsby PJ. 1998. Pathophysiologically relevant concentrations of tumor necrosis factor- α promote progressive left ventricular dysfunction and remodeling in rats. *Circulation.* 97: 1382 - 1391.
- Brandl CJ ; deLeon S ; Martin DR ; MacLennan D H. 1987. Adult forms of the Ca^{2+} ATPase of sarcoplasmic reticulum. Expression in developing skeletal muscle. *J Biol Chem.* 262: 3768 - 3774.
- Braunwald E. 2013. Heart failure. *J Am Col Cardio.*1(1):1-20.
- Bridge JH, Smolley JR ; Spitzer KW. 1990. The relationship between charge movements associated with ICa and INa-Ca in cardiac myocytes, *Science* 248:376 - 8.
- Brini M ; Carafoli E. 2009. Calcium pumps in health and disease. *Physiol Rev.* 89: 1341 - 1378.
- Brutsaert DL. 2003. Cardiac endothelial–myocardial signaling: its role in cardiac growth, contractile performance, and rhythmicity. *Physiol.* 83: 59 - 115.
- Buchanan J ; Mazumder PK ; Hu P ; Chakrabarti G ; Roberts MW ; Yun UJ ; Cooksey RC; Litwin SE ; Abel ED. 2005. Reduced cardiac efficiency and altered substrate metabolism precedes the onset of hyperglycemia and contractile dysfunction in two mouse models of insulin resistance and obesity. *Endocrinology.* 146: 5341- 5349.
- Buffy JJ ; Buck-Koehntop BA ; Porcelli F ; Traaseth NJ ; Thomas DD ; Veglia G. 2006. Defining the intramembrane binding mechanism of sarcoplipin to calcium ATPase using solution NMR spectroscopy. *J Mol Biol.* 358: 420 - 429.
- Burkhoff D ; Weiss RG ; Schulman SP; Kalil-Filho R ; Wannenburg T ; Gerstenblith G. 1991. Influence of metabolic substrate on rat heart function and metabolism at different coronary flows. *Am J Physiol.* 261: H741- H750.
- Bustin SA. 2000. Absolute quantification of mRNA using real-time reverse transcription polymerase chain reaction assays. *J Mol Endocrinol.* 25:169-93.
- Capes EM ; Loaiza R ; Valdivia HH. 2011. Ryanodine receptors. *Skelet Muscle.* 18 (1) : 1-18
- Crabtree GR ; Olson EN. 2002. NFAT signaling: choreographing the social lives of cells. *Cell.* 109(Suppl) : S67- 79.

Références Bibliographiques

- Carley AN ; Severson DL. 2005. Fatty acid metabolism is enhanced in type 2 diabetic hearts. *Biochim Biophys Acta* . 1734: 112-126.
- Carr AN ; Schmidt AG ; Suzuki Y ; Del Monte F ; Sato Y ; Lanner C ; Breeden K ; Jing SL ; Allen PB ; Greengard P ; Yatani A ; Hoit BD ; Grupp IL ; Hajjar RJ ; DePaoli-Roach AA ; Kranias EG. Type 1 phosphatase, aCatterall WA. 2000. Structure and function of voltage gated Ca^{2+} channels. *Cell Dev Biol*. 16: 521-55.
- Carroll JF, Tyagi SC. 2005. Extracellular matrix remodeling in the heart of the homocysteinemic obese rat. *Am J Hypertens*. 18: 692- 698.
- Catterall WA. 2000. Structure and function of voltage gated Ca^{2+} channels. *Cell Dev Biol*. 16: 521-55.
- Cavalli A ; Eghbali M ; Minosyan TY ; Stefani E ; Philipson KD. 2007. Localization of sarcolemmal proteins to lipid rafts in the myocardium. *Cell Calcium*. 42: 313-22.
- Celio XC ; Anilkumar SN; Zhang M ; Brewer AC ; Shah AM. 2011. Redox signaling in cardiac myocytes. *Free Radical Biology & Medicine*. 50: 777-793.
- Ceulemans H ; Bollen M. 2004. Functional diversity of protein phosphatase-1, a cellular economizer and reset button. *Physiol Rev*. 84:1-39.
- Chatham JC. 2002. Lactate—the forgotten fuel! *J Physiol*. 542: p333.
- Chen M ; Mason RP ; Tulenko TN. 1995. Atherosclerosis alters composition structure and function of arterial smooth muscle plasma membrane. *Biochim Biophys Acta* 1272: 101-112.
- Chen Z ; Akin BL ; Jones LR. 2007. Mechanism of reversal of phospholamban inhibition of the cardiac Ca^{2+} ATPase by protein kinase a and by anti-phospholamban monoclonal antibody 2d12. *J Biol Chem*. 282 : 20968 - 20976
- Chiu HC ; Kovacs A; Blanton RM ; Han X ; Courtois M ; Weinheimer CJ ;Yamada KA ; Brunet S ; Xu H ; Nerbonne JM ; Welch MJ ; Fettig NM ; Sharp TL; Sambandam N ; Olson KM ; Ory DS ; Schaffer JE. 2005. Transgenic expression of fatty acid transport protein in the heart causes lipotoxic cardiomyopathy. *Circ Res*. 96: 225 - 233.
- Chu G ; Egnaczyk GF ; Zhao W ; Jo SH ; Fan GC ; Maggio JE ; Xiao RP ; Kranias EG. 2004. Phosphoproteome analysis of cardiomyocytes subjected to beta-adrenergic stimulation: Identification and characterization of a cardiac heat shock protein. *Circ Res*. 94:184 -193.
- Chu G ; Kranias EG. 2002. Functional interplay between dual site phospholamban phosphorylation: insights from genetically altered mouse models. *Basic Res Cardiol*. 97:143 -8.
- Clarke R ; Frost C ; Collins R ; Appleby P ; Peto R. 1997. Dietary lipids and blood cholesterol: Quantitative meta-analysis of metabolic ward studies. *BMJ*. 314:112-117.
- Cleutjens JP ; Verluyten MJ ; Smiths JF ; Daemen MJ. 1995. Collagen remodeling after myocardial infarction in the rat heart. *Am J Pathol*. 147: 325-338.
- Coort SL ; Bonen A ; Van der Vusse GJ ; Glatz JF, Luiken JJ. 2007. Cardiac substrate uptake and metabolism in obesity and type-2 diabetes: role of sarcolemmal substrate transporters. *Mol Cell Biochem*. 299(1–2): 5 -18.

Références Bibliographiques

- Coort SL ; Hasselbaink DM ; Koonen DP ; Willems J ; Coumans WA ; Chabowski A ; Van der Vusse GJ ; Bonen A ; Glatz JF ; Luiken JJ. 2004. Enhanced sarcolemmal FAT/CD36 content and triacylglycerol storage in cardiac myocytes from obese Zucker rats. *Diabetes*. 53: 1655 - 1663.
- Daly M ; Daly S. 1973." On the feeding ecology of *Psammomys obesus* (Rodentia, gerbillidae) in the wadi saoura, Algeria ". *Mammalia*. Tome 35 : 546 - 561.
- Dally S ; Corvazier E ; Bredoux R ; Bobe, R ; Enouf J. 2010. Multiple and diverse coexpression, location, and regulation of additional SERCA2 and SERCA3 isoforms in nonfailing and failing human heart. *J Mol Cell Cardiol*. 48 : 633 - 644.
- Damas JK ; Eiken HG ; Oie E ; Bjerkeli V ; Yndestad A ; Ueland T. 2000. Myocardial expression of CC- and CXC-chemokines and their receptors in human end-stage heart failure. *Cardiovasc Res*. 47: 778 - 87.
- Dan P ; Lin E ; Huang J ; Biln P ; Tibbits GF. 2007. Three-dimensional distribution of cardiac $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger and ryanodine receptor during development. *Biophys J* .93: 2504 -18.
- Dart C. 2010. Lipid microdomains and the regulation of ion channel function. *J Physiol*. 588 : 3169 -78.
- Dash R ; Kadambi V ; Schmidt AG. 2001. Interactions between phospholamban and beta-adrenergic drive may lead to cardiomyopathy and early mortality. *Circulation* 103: 889- 896.
- Davidoff AJ ; Davidson MB ; Carmody MW ; Davis ME ; Ren J. 2004. Diabetic cardiomyocyte dysfunction and myocyte insulin resistance: role of glucose- induced PKC activity. *Mol Cell Biochem*. 262:155-163.
- Demetrios A ; Arvanitis ; Vafiadaki E ; Sanoudou D ; Kranias GE. 2011. Histidine-rich calcium binding protein: The new regulator of sarcoplasmic reticulum calcium cycling. *J Mol Cell Cardiol*. 50: 43 - 49.
- Despa S ; Brette F ; Orchard CH ; Bers DM. 2003. $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchange Na/K -ATPase function are equally concentrated in transverse tubules of rat ventricular myocytes. *Biophys J*. 85: 3388 - 3396.
- Desvergne B ; Michalik L ; Wahli W. 2006. Transcriptional regulation of metabolism. *Physiol Rev*. 86: 465 -514.
- Devaux B ; Scholz D ; Hirche A ; Klovekorn WP ; Schaper J. 1997. Upregulation of cell adhesion molecules and the presence of low grade inflammation in human chronic heart failure. *Eur Heart J*. 18 : 470 - 9.
- Dillmann WH. 1984. Hormonal influences on cardiac myosin ATPase activity and myosin isoenzyme distribution. *J Mol Cell Endocrinol*. 34: 169 -181.
- DiPolo R ; Beauge L. 1987. Characterization of the reverse $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchange in squid axons and its modulation by Ca_i and ATP. Ca_i -dependent Na_i/Ca_o and Na_i/Na_o exchange modes, *J Gen Physiol*. 90:505 - 525
- Dörge H ; Schulz R ; Belosjorow S ; Post H ; Van de Sand A ; Konietzka I. 2002. Coronary microembolization: the role of $\text{TNF}\alpha$ in contractile dysfunction. *J Mol Cell Cardiol*. 34: 51-62.

Références Bibliographiques

- Dreiza CM ; Komalavilas P ; Furnish EJ ; Flynn CR ; Sheller MR ; Smoke CC ; Lopes LB ; Brophy CM. 2010. The small heat shock protein, HSPB6, in muscle function and disease. *Cell Stress Chaperones*.15:1-11.
- Drews O ; Tsukamoto O ; Liem D ; Streicher J ; Wang Y ; Ping P. 2010. Differential Regulation of Proteasome Function in Isoproterenol-Induced Cardiac Hypertrophy. *Circ Res*. 107: 1094 - 1101.
- Du GG ; Sandhu B ; Khanna VK ; Guo XH ; MacLennan DH. 2002. Topology of the Ca^{2+} release channel of skeletal muscle sarcoplasmic reticulum (RyR1). *Proc Natl Acad Sci U S A*. 99 : 16725 - 16730.
- Duerr RL ; Huang S ; Miraliakbar HR ; Clark R ; Chien KR ; Ross JR. 1995. Insulin-like growth factor-1 enhances ventricular hypertrophy and function during the onset of experimental cardiac failure. *J Clin Invest*. 95: 619 - 627.
- Duncan JG ; Fong JL; Medeiros DM; Finck BN; Kelly DP.2007. Insulin-resistant heart exhibits a mitochondrial biogenic response driven by the peroxisome proliferator-activated receptor-alpha/PGC-1alpha gene regulatory pathway. *Circulation*. 115: 909 - 917.
- Dyck DJ ; Steinberg G ; Bonen A. 2001. Insulin increases FA uptake and esterification but reduces lipid utilization in isolated contracting muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 281(3): 600 - 7.
- Dyck JR ; Hopkins TA ; Bonnet S ; Michelakis ED ; Young ME ; Watanabe M ; Kawase Y ; Jishage K ; Lopaschuk GD. 2006. Absence of malonyl coenzyme A decarboxylase in mice increases cardiac glucose oxidation and protects the heart from ischemic injury. *Circulation*. 114 : 1721-1728
- Eaton RP. 1971. Synthesis of plasma triglycerides in endogenous hypertriglyceridemia. *J Lipid Res*. 12: 491- 497.
- Egger M ; Niggli E. 1999. Regulatory function of $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchange in the heart: milestones and outlook. *J Membr Biol*. 168: 107-130.
- El-Armouche A ; Rau T ; Zolk O ; Ditz D ; Pamminger T ; Zimmermann WH ; Jackel E ; Harding SE ; Boknik P ; Neumann J ; Eschenhagen T. 2003. Evidence for protein phosphatase inhibitor-1 playing an amplifier role in beta-adrenergic signaling in cardiac myocytes. *FASEB J*. 1: 437-439.
- Evangelia G ; Roger K ; Hajjar J. 2012. Modulation of Cardiac Contractility by the Phospholamban/SERCA2a Regulatome. *Circ Res*. 110:1646 -1660
- Fabiato A ; Fabiato F. 1977.Calcium release from the sarcoplasmic reticulum. *Circ Res*. 40:119- 29.
- Fan GC; Chu GX; Kranias EG. 2005. Hsp20 and its cardioprotection. *Trends Cardiovasc. Med*. 15:138-14.
- Fan GC; Gregory KN; Zhao W; Park WJ; Kranias EG. 2004. Regulation of myocardial function by histidine-rich, calcium-binding protein. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 287:1705 -1711.
- Ferdinandy P ; Danial H ; Ambrus I ; Rothery RA ; Schulz .2000. Peroxynitrite is a major contributor to cytokine-induced myocardial contractile failure. *Circ Res*. 87: 241- 247.

Références Bibliographiques

- Finck BN ; Kelly DP. 2002. Peroxisome proliferator-activated receptoralpha (PPARalpha) signaling in the gene regulatory control of energy metabolism in the normal and diseased heart. *J Mol Cell Cardiol.* 34 : 1249 -1257.
- Flagg TP ; Cazorla O ; Remedi MS ; Haim TE ; Tones MA ; Bahinski A ; Numann RE ; Kovacs A ; Schaffer JE ; Nichols CG ; Nerbonne JM. 2009. Ca^{2+} independent alterations in diastolic sarcomere length and relaxation kinetics in a mouse model of lipotoxic diabetic cardiomyopathy. *Circ Res.* 104: 95 - 103.
- Francis GA ; Annicotte JS ; Auwerx J. 2003. PPAR-alpha effects on the heart and other vascular tissues. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 285: H1- H9.
- Frank KF ; Bölek B ; Erdmann E ; Schwinger RH. 2003. Sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase modulates cardiac contraction and relaxation. *Cardiovascular Research.* 57 : 20 - 27.
- Frank K ; Tilgmann C ; Shannon TR ; Bers DM ; Kranias EG. 2000. Regulatory role of phospholamban in the efficiency of cardiac sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} transport. *Biochemistry.* 39:14176 - 82.
- Franzini-Armstrong C ; Jorgensen AO. 1994. Structure and development of E-C coupling units in skeletal muscle. *Annu Rev Physiol.* 56: 509 - 534.
- Fukuchi K ; Nozaki S ; Yoshizumi TH ; Asegawa S ; Uehara T ; Nakagawa T ; Kobayashi T ; Tomiyama Y ; Yamashita S ; Matsu ; Zawa Y ; Nishimura T. 1999. Enhanced myocardial glucose use in patients with a deficiency in long-chain fatty acid transport (CD36 deficiency). *J Nucl Med* 40 : 239 - 243.
- Gelebart P ; Martin V ; Enouf J ; Papp B. 2003. Identification of a new SERCA2 splice variant regulated during monocytic differentiation. *Biochem Biophys Res Commun.* 303: 676 - 684.
- Gilde AJ ; Van der Lee KA ; Willemsen PH ; Chinetti G ; Van der Leij FR ; van der Vusse GJ ; Staels B ; Van Bilsen M. 2003. Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) alpha and PPARbeta/delta, but not PPARgamma, modulate the expression of genes involved in cardiac lipid metabolism. *Circ Res.* 92: 518 - 524.
- Girard J ; Ferre P ; Pegorier JP ; Duee PH. 1992. Adaptations of glucose and fatty acid metabolism during perinatal period and sucklingweaning transition. *Physiol Rev.* 72: 507- 562.
- Goldberg IJ ; Eckel RH ; Abumrad NA. 2009. Regulation of fatty acid uptake into tissues: lipoprotein lipase- and CD36-mediated pathways. *J Lipid Res.* 50 : S86 - S90.
- Goldsmith EC ; Borg TK. 2002. The dynamic interaction of the extracellular matrix in cardiac remodeling. *J Card Fail.* 83: 14 - 318.
- Gómez AM ; Valdivia HH ; Cheng H ; Lederer MR ; Santana LF ; Cannell MB. 1997. Defective excitation-contraction coupling in experimental cardiac hypertrophy and heart failure. *Science.* 276: 800 - 6.
- Gramolini AO ; Kislinger T ; Asahi M ; Li W ; Emili A ; MacLennan DH. 2004. Sarcolipin retention in the endoplasmic reticulum depends on its Cterminal RSYQY sequence and its interaction with sarco(endo)plasmic Ca^{2+} -ATPases. *Proc Natl Acad Sci.* 101: 16807- 12.
- Gramolini AO ; Trivieri MG ; Oudit GY ; Kislinger T ; Li W ; Patel MM. 2006. Cardiac-specific overexpression of sarcolipin in phospholamban null mice impairs myocyte function that is restored by phosphorylation. *Proc Natl Acad Sci.* 103(7):2446 - 51.

Références Bibliographiques

- Grandel U ; Fink L ; Blum A ; Heep M ; Buerke M ; Kraemer HJ. 2000. Endotoxin-induced myocardial tumor necrosis factor- α synthesis depresses contractility of isolated rat hearts. Evidence for a role of sphingosine and cyclooxygenase-2-derived thromboxane production. *Circulation*. 102: 2758 - 2764.
- Gregory KN ; Ginsburg KS ; Bodi I ; Hahn H ; Marreez YM ; Song Q ; Padmanabhan PA ; Mitton BA ; Waggoner JR ; Del Monte F ; Park WJ ; Dorn GW ; Bers DM ; Kranias EG. 2006. Histidine-richCa²⁺ binding protein: a regulator of sarcoplasmic reticulum calcium sequestration and cardiac function. *J Mol Cell Cardiol*. 40: 653 - 665.
- Grynberg A. 2001. Modification du métabolisme énergétique cardiaque chez le diabétique. *Diabetes Metab*. 27 : 4S12 - 4S19.
- Grynberg A. In: Pinet F ; Babuty D ; Carrier L ; Duperray A ; Grynberg A ; Loirand G ; Samuel JL. 2002. Métabolisme lipidique du myocarde dans « Biologie et pathologie du cœur et des vaisseaux ». Paris : Flammarion Médecine-Sciences.
- Gupta RC ; Neumann J ; Watanabe AM ; Lesch M ; Sabbah HN. 1996. Evidence for presence and hormonal regulation of protein phosphatase inhibitor-1 in ventricular cardiomyocyte. *Am J Physiol*. 270: 1159 - 1164.
- Gustafsson AB ; Gottlieb RA. 2007. Bcl-2 family members and apoptosis, taken to heart. *Am J Physiol Cell Physiol*. 292: C45 - C51.
- Habets DD ; Coumans WA ; Voshol PJ ; Den Boer MA ; Febbraio M ; Bonen A, Glatz JF ; Luiken JJ. 2007. AMPK-mediated increase in myocardial long-chain fatty acid uptake critically depends on sarcolemmal CD36. *Biochem Biophys Res Commun*. 355 : 204 - 210.
- Haghighi K ; Bidwell P ; Evangelia G. Kranias. 2014. Phospholamban interactome in cardiac contractility and survival: A new vision of an old friend. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 77 : 160 - 167
- Haghighi K ; Kolokathis F ; Pater L. 2003. Human phospholamban null results in lethal dilated cardiomyopathy revealing a critical difference between mouse and human. *J Clin Invest*. 111: 869 - 876.
- Hakamata Y ; Nakai J ; Takeshima H ; Imoto K. 1992. Primary structure and distribution of a novel ryanodine receptor/calcium release channel from rabbit brain. *FEBS Lett*. 312 : 229-235.
- Hammer S ; Van der Meer RW ; Lamb HJ ; Schar M ; de Roos A ; Smit JW ; Romijn JA. 2008. Progressive caloric restriction induces dose dependent changes in myocardial triglyceride content and diastolic function in healthy men. *J Clin Endocrinol Metab*. 93: 497 - 503.
- Hamlat N ; Negazzi S ; Forcheron F ; Bricca G ; Beylot M ; Aouichat-Bouguerra S. 2010. Lipogenesis in arterial wall and vascular smooth muscle cells of *Psammomys obesus*: Its regulation and abnormalities in diabetes. *Diabetes & metabolism*. 36: 221 - 228.
- Han Y ; Chen YS ; Liu Z ; Bodyak N ; Rigor D ; Bisping E ; Pu WT ; Kang PM. 2006. Overexpression of HAX-1 protects cardiac myocytes from apoptosis through caspase-9 inhibition. *Circ Res*. 99 : 415 - 423.
- Harmon CM ; Abumrad NA. 1993. Binding of sulfosuccinimidyl fatty acids to adipocyte membrane proteins: isolation and amino-terminal sequence of an 88-kD protein implicated in transport of long-chain fatty acids. *J Membr Biol*. 133:43 - 49.

Références Bibliographiques

- Harris RA ; Huang B ; Wu P. 2001. Control of pyruvate dehydrogenase kinase gene expression. *Adv Enzyme Regul.* 41: 269 - 288.
- Herron T ; McDonald K. 2001. Small amounts of α - myosin heavy chain isoform expression significantly increase power output of rat cardiac myocyte fragments. *Circ Res.* 90: 1150 -1152.
- Hauton D ; Bennett MJ ; Evans RD. 2001. Utilisation of triacylglycerol and non-esterified fatty acid by the working rat heart: myocardial lipid substrate preference. *Biochim Biophys Acta* .1533: 99 - 109.
- He J ; Conklin MW ; Foell JD ; Wolff MR ; Haworth RA ; Coronado R.2001. Reduction in density of transverse tubules and L-type Ca^{2+} channels in canine tachycardia-induced heart failure. *Cardiovasc Res.* 49: 298 - 307.
- He JQ ; Balijepalli RC ; Haworth RA ; Kamp TJ. 2005. Crosstalk of beta adrenergic receptor subtypes through Gi blunts beta-adrenergic stimulation of L-type Ca^{2+} channels in canine heart failure. *Circ Res.* 97: 566 - 73.
- Heinzel FR ; Bito V ; Biesmans L ; Wu M ; Detre E; Von Wegner F. 2008. Remodeling of T-tubules and reduced synchrony of Ca^{2+} release in myocytes from chronically ischemic myocardium. *Circ Res.* 102: 338 - 46.
- Heinzel FR ; MacQuaide N ; Biesmans L ; Sipido K. 2011. Dyssynchrony of Ca^{2+} release from the sarcoplasmic reticulum as subcellular mechanism of cardiac contractile dysfunction. *J Mol Cell Cardiol.* 50: 390 - 400.
- Herzog A ; Szegedi C ; Jona I ; Herberg FW ; Varsanyi M. 2000. Surface plasmon resonance studies prove the interaction of skeletal muscle sarcoplasmic reticular Ca^{2+} release channel/ryanodine receptor with calsequestrin. *FEBS Lett.* 472: 73 -77.
- Hilgemann DW. 1996. The cardiac Na^{+} - Ca^{2+} exchanger in giant membrane patches, *Ann N Y Acad Sci.* 779:136 -158.
- Hilgemann DW. 1997. Cytoplasmic ATP-dependent regulation of ion transporters and channels: mechanisms and messengers, *Annu Rev Physiol* 59:193 - 220.
- Hilgemann DW; Collins A; Matsuoka S. 1992. Steady-state and dynamic properties of cardiac sodium-calcium exchange. Secondary modulation by cytoplasmic calcium and ATP, *J Gen Physiol.* 100: 933 - 61
- Hobai IA ; O'Rourke B. 2001. Decreased sarcoplasmic reticulum calcium content is responsible for defective excitation-contraction coupling in canine heart failure. *Circulation.* 103 : 1577- 1584.
- Hopkins TA ; Sugden MC ; Holness MJ ; Kozak R ; Dyck JR ; Lopaschuk GD.2003. Control of cardiac pyruvate dehydrogenase activity in peroxisome proliferator-activated receptor-alpha transgenic mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* .285: 270 - 276.
- Hori S; Nomura T ; Sakaguchi S. 2003. Control of regulatory T cell development by transcription factor Foxp3. *Science.* 299(5609): 1057- 61.
- Horiuchi-Hirose M ; Kashiwara T ; Nakada T ; Kurebayashi N ; Shimojo H ; Shibasaki T. 2011. Decrease in the density of t-tubular L-type Ca^{2+} channel currents in failing ventricular myocytes. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 300: 978 - 88.

Références Bibliographiques

- Hoshijima M ; Ikeda Y ; Iwanaga Y ; Minamisawa S ; Date MO Y ; Gu M ; Iwatate M ; Li L ; Wang JM ; Wilson Y. Wang J ; Ross JR ; Chien KR. 2002. Chronic suppression of heart-failure progression by a pseudophosphorylated mutant of phospholamban via in vivo cardiac rAAV gene delivery. *Nat Med.* 8 : 864 - 871.
- Huang B ; Wu P ; Bowker-Kinley MM ; Harris RA. 2002. Regulation of pyruvate dehydrogenase kinase expression by peroxisome proliferator- activated receptor- α ligands, glucocorticoids, and insulin. *Diabetes.* 51: 276 - 283.
- Huang B ; Wu P ; Popov KM ; Harris RA. 2003. Starvation and diabetes reduce the amount of pyruvate dehydrogenase phosphatase in rat heart and kidney. *Diabetes.* 52: 1371-1376.
- Huang Y ; Walker KE ; Hanley F ; Narula J ; Houser SR ; Tulenko TN. 2004. Cardiac Systolic and Diastolic Dysfunction After a Cholesterol-Rich Diet. *Circulation.* 109: 97-102.
- Huss JM ; Kelly DP. 2004. Nuclear receptor signaling and cardiac energetics. *Circ Res* 95: 568 - 578.
- Ihara Y; Kageyama K ; Kondo T. 2005. Overexpression of calreticulin sensitizes SERCA2a to oxidative stress. *Biochem Biophys Res Commun.* 392 : 1343 -1439.
- Ito H ; Hiroe M ; Hirata Y ; Tsujino M ; Adachi S ; Schichiri M ; Koike A ; Nogami A ; Marumo F. 1996. Insulin like growth factor1 induced hypertrophy with enhanced expression of muscle specific genes in cultured rat cardiomyocyte. *Circulation.* 87: 1715 - 1721.
- Iwamoto T ; Pan Y ; Wakabayashi S, Imagawa T; Yamanaka HI ; Shigekawa M.1996. Phosphorylation-dependent regulation of cardiac $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger via protein kinase C. *J Biol Chem.* 271: 13609 -15
- Jaehnig EJ ; Heidt AB; Greene SB ; Cornelissen I ; Black BL. 2006. Increased susceptibility to isoproterenol-induced cardiac hypertrophy and impaired weight gain in mice lacking the histidine-rich calcium-binding protein. *Mol Cell Biol.* 26: 9315 - 9326.
- Jiang MT ; Lokuta AJ ; Farrell EF ; Wolff MR ; Haworth RA ; Valdivia HH.2002. Abnormal Ca^{2+} release, but normal ryanodine receptors, in canine and human heart failure. *Circ Res.* 91: 1015 - 1022.
- Jones LR ; Zhang L ; Sanborn K ; Jorgensen AO ; Kelley J. 1995. Purification, primary structure, and immunological characterization of the 26-kDa calsequestrin binding protein (junctin) from cardiac junctional sarcoplasmic reticulum. *J Biol Chem.* 270: 87 - 96.
- Kadambi VJ ; Ponniah S ; Harrer JM ; Hoit BD ; Dorn II GW ; Walsh RA. 1996. Cardiac-specific overexpression of phospholamban alters calcium kinetics and resultant cardiomyocyte mechanics in transgenic mice. *J Clin Invest.* 197: 533 - 9.
- Kajstura J ; Cheng W ; Reiss K ; Anversa P. 1994. The IGF-1 – IGF- Receptor system modulate proliferation but not myocyte cellular hypertrophy in vitro. *Exp Cell Res.* 215: 273 - 283.
- Kamataki A ; Takahashi S ; Masamura K ; Iwasaki T; Hattori H; Naiki H; Yamada K; Suzuki J ; Miyamori I ; Sakai J ; Fujino T; Yamamoto TT. 2002. Remnant lipoprotein particles are taken up into myocardium through VLDL receptor: a possible mechanism for cardiac fatty acid metabolism. *Biochem Biophys Res Commun.* 293 : 1007-1013.
- Kamp TJ ; Hell JW. 2000. Regulation of cardiac L-type calcium channels by protein kinase A and protein kinase C. *Circ Res.* 87:1095 -102.

Références Bibliographiques

- Kang TM ; Hilgemann DW. 2004. Multiple transport modes of the cardiac $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger. *Nature*. 427: 544 - 548.
- Kashyap S ; Belfort R ; Gastaldelli A ; Pratipanawatr T ; Berria R ; Pratipanawatr W; Bajaj M ; Mandarino L ; DeFronzo R ; Cusi K. 2003. A sustained increase in plasma free fatty acids impairs insulin secretion in nondiabetic subjects genetically predisposed to develop type 2 diabetes. *Diabetes* 52: 2461-2474.
- Keith M ; Geranmayegan A ; Sole MJ ; Kurian R ; Robinson A ; Omran AS. 1998. Increased oxidative stress in patients with congestive heart failure. *J Am Coll Cardiol*. 31: 1352 - 6.
- Kirchhefer U ; Baba HA ; Bokník P ; Breeden KM ; Mavila N ; Brückert N ; Justus I ; Matus M ; Schmitz W ; Depaoli-Roach AA ; Neumann J. 2005. Enhanced cardiac function in mice overexpressing protein phosphatase inhibitor-2. *Cardiovasc Res*. 68: 98 -108
- Kleinbongard P. 2010. TNF α in atherosclerosis, myocardial ischemia/reperfusion and heart failure. *Pharmacology & Therapeutics*. 127: 295 - 314.
- Kolter T ; Uphues I ; Eckel J. 1997. Molecular analysis of insulin resistance in isolated ventricular cardiomyocytes of obese Zucker rats. *Am J Physiol*. 273: 59-67.
- Kolwicz SC ; Purohit S ; Tian R. 2013. Cardiac Metabolism and its Interactions With Contraction, Growth, and Survival of Cardiomyocytes. *Circ Res*. 113: 603-616.
- Koonen DP ; Glatz JF ; Bonen A ; Luiken JJ. 2005. Long-chain fatty acid uptake and FAT/CD36 translocation in heart and skeletal muscle. *Biochim Biophys Acta*. 1736 : 163-180.
- Korvald C ; Elvenes OP ; Myrnes T. 2000. Myocardial substrate metabolism influences left ventricular energetics in vivo. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 278:H1345-H1351.
- Koval OM. 2010. CaV1.2 beta-subunit coordinates CaMKII triggered cardiomyocyte death and after depolarizations. *Proc Natl Acad Sci*. 107: 4996 - 5000.
- Koushik SV ; Bundy J ; Conway SJ. 1999. Sodium-calcium exchanger is initially expressed in a heart-restricted pattern within the early mouse embryo. *Mech Dev*. 88:119 - 22
- Koushik SV ; Wang J ; Rogers R, Moskopidhis D ; Lambert NA, Creazzo TL; Conway SJ. 2000. Targeted inactivation of the sodium-calcium exchanger (Ncx1) results in the lack of a heartbeat and abnormal myofibrillar organization, *FASEB J*. 15:1209 -1211
- Koutsari C ; Jensen MD. 2006. Thematic review series: patient-oriented research. Free fatty acid metabolism in human obesity. *J Lipid Res*. 47: 1643-1650.
- Kraegen EW ; Sowden JA ; Halstead MB ; Clark PW ; Rodnick KJ ; Chisholm DJ; and James DE. 1993. Glucose transporters and in vivo glucose uptake in skeletal and cardiac muscle: fasting, insulin stimulation and immunolocalization studies of GLUT1 and GLUT4. *Biochem J*. 295: 287-293.
- Kuang M ; Febbraio M ; Wagg C ; Lopaschuk GD ; Dyck JR. 2004. Fatty acid translocase/CD36 deficiency does not energetically or functionally compromise hearts before or after ischemia. *Circulation*.109 : 1550 -1557.
- Kumar A ; Paladugu B ; Mensing J ; Kumar A ; Parrillo JE. 2007. Nitric oxide-dependent and independent mechanisms are involved in TNF- α -induced depression of cardiac myocyte contractility. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 292: 1900 - 1906.

Références Bibliographiques

- Kurien VA ; Oliver MF. 1971. Free fatty acids during acute myocardial infarction. *Prog Cardiovasc Dis.* 13: 361 - 373.
- Kurien VA ; Yates PA ; Oliver MF. 1969. Free fatty acids, heparin, and arrhythmias during experimental myocardial infarction. *Lancet* 2 : 185 - 187.
- Kurrelmeyer KM ; Michael LH ; Baumgarten G ; Taffet GE ; Peschon JJ ; Sivasubramanian N. 2000. Endogenous tumor necrosis factor protects the adult cardiac myocyte against ischemic-induced apoptosis in a murine model of acute myocardial infarction. *PNAS.* 97: 5456 - 5461.
- Lacampagne A ; Fauconnier J ; Richard S. 2008. Récepteur de la ryanodine et dysfonctionnement myocardique. *Medecine/Science.* 24 : 399 - 405.
- Lahat H ; Pras E ; Olender T ; Avidan N ; Ben-Asher E ; Man O. 2001. A missense mutation in a highly conserved region of CASQ2 is associated with autosomal recessive catecholamine-induced polymorphic ventricular tachycardia in Bedouin families from Israel. *Am J Hum Genet.* 69 : 1378 -1384.
- Lassers BW ; Kaijser L ; Carlson LA. 1972. Myocardial lipid and carbohydrate metabolism in healthy, fasting men at rest: studies during continuous infusion of 3H-palmitate. *Eur J Clin Invest.* 2 : 348 - 358.
- Lederer WJ ; Niggli E ; Hadley RW. 1990. Sodium-calcium exchange in excitable cells: fuzzy space, *Science* 248: p283.
- Lee HG ; Kang H ; Kim DH ; Park WJ. 2001. Interaction of HRC (histidine-rich Ca^{2+} -binding protein) and triadin in the lumen of sarcoplasmic reticulum. *J Biol Chem.* 276: 33 - 38.
- Lee J ; Goldberg IJ. 2007. Lipoprotein lipase-derived fatty acids: physiology and dysfunction. *Curr Hypertens Rep.* 9: 462 - 466.
- Lee Y ; Naseem RH ; Duplomb L ; Park BH ; Garry DJ ; Richardson JA ; Schaffer JE ; Unger RH. 2004. Hyperleptinemia prevents lipotoxic cardiomyopathy in acyl CoA synthase transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci USA.* 101: 13624 -13629.
- Lehman JJ ; Kelly DP. 2002. Gene regulatory mechanisms governing energy metabolism during cardiac hypertrophic growth. *Heart Fail Rev.* 27:175 -185.
- Leineweber K ; Böhm M ; Heusch G. 2006. Cyclic adenosine monophosphate in acute myocardial infarction with heart failure. Slayer or savior. *Circulation.* 114: 365 - 367.
- Lewis GF ; Uffelman KD ; Szeto LW ; Weller B ; Steiner G. 1995. Interaction between free fatty acids and insulin in the acute control of very low density lipoprotein production in humans. *J Clin Invest.* 95: 158-166.
- Li J ; Hu X ; Selvakumar P ; Russell RR 3rd ; Cushman SW ; Holman GD ; and Young LH. 2004. Role of the nitric oxide pathway in AMPK-mediated glucose uptake and GLUT4 translocation in heart muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 287: E834 - E841.
- Li S ; Zhong S ; Zeng K ; Luo Y ; Zhang F ; Sun X. 2009. Blockade of NF-kappaB by pyrrolidine dithiocarbamate attenuates myocardial inflammatory response and ventricular dysfunction following coronary microembolization induced by homologous microthrombi in rats. *Basic Res Cardiol.* 105 : 139 -150.

Références Bibliographiques

- Li Y ; Kranias EG ; Mignery GA ; Bers DM. 2002. Protein kinase A phosphorylation of the ryanodine receptor does not affect calcium sparks in mouse ventricular myocytes. *Circ Res.* 90 : 309 - 316.
- Li SY ; Yang X ; Ceylan-Isik AF ; Du M, Sreejayan N ; Ren J. 2006. Cardiac contractile dysfunction in Lep/Lep obesity is accompanied by NADPH oxidase activation, oxidative modification of sarco(endo)plasmic reticulum Ca^{2+} ATPase and myosin heavy chain isozyme switch. *Diabetologia.* 49 : 1434 - 46.
- Li H ; Cybulsky MI ; Gimbrone MA ; Libby P. 1993. An atherogenic diet rapidly induces VCAM-1, a cytokine-regulatable mononuclear leukocyte adhesion molecule, in rabbit aortic endothelium. *Arterioscler Thromb.* 13: 197 - 204.
- Liao J ; Li H ; Zeng W ; Sauer DB ; Belmares R ; Jiang Y. 2012. Structural insight into the ion-exchange mechanism of the sodium/calcium exchanger. *Science.* 335: 686 - 90.
- Libby P; Okamoto Y; Rocha VZ ; Folko E. 2010. Inflammation in atherosclerosis. *Circ J.* 74: 213 - 220.
- Lionetti V ; Linke A ; Chandler MP ; Young ME ; Penn MS ; Gupte S ; Agostino C, Hintze TH ; Stanley WC ; Recchia FA. 2005. Carnitine palmitoyl transferase-I inhibition prevents ventricular remodeling and delays decompensation in pacing-induced heart failure. *Cardiovasc Res.* 66: 454 - 461.
- Livak KJ ; Schmittgen TD. 2001. Analysis of relative gene expression data using realtime quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) *Method Methods.* 25(4): 402 - 8.
- Longo N ; Amat di San Filippo C ; Pasquali M. 2006. Disorders of carnitine transport and the carnitine cycle. *Am J Med Genet CSemin Med Genet.* 142 : 77 - 85.
- Lopaschuk GD ; Belke DD ; Gamble J ; Itoi T ; Schonekess BO. 1994. Regulation of fatty acid oxidation in the mammalian heart in health and disease. *Biochim Biophys Acta.* 1213: 263 - 276.
- Lopaschuk GD ; Collins-Nakai R ; Olley PM ; Montague TJ ; Mc-Neil G ; Gayle M ; Penkoske P ; Finegan BA. 1994. Plasma fatty acid levels in infants and adults after myocardial ischemia. *Am Heart J* 128: 61 – 67
- Lopaschuk GD ; Ussher JR ; Folmes CD ; Jaswal JS. 2010. Myocardial fatty acid metabolism in health and disease. *Physiol Rev.* 90(1): 207-58
- Lopaschuk GD ; Folmes CD ; Stanley WC. 2007. Cardiac energy metabolism in obesity. *Circ Res.* 101: 335 - 347.
- Lorenz JN ; Kranias EG. 1997. Regulatory effects of phospholamban on cardiac function in intact mice. *Am J Physiol.* 273 : 2826 - 2831.
- Luiken JJ ; Coort SL ; Koonen DP ; Van der Horst DJ ; Bonen A ; Zorzano A ; Glatz JFC. 2004. Regulation of cardiac longchainfatty acid and glucose uptake by translocation of substratetransporters. *Pflügers Arch.* 448: 1-15.
- Luiken JJ; Koonen DP ; Willems J. 2002. Insulin stimulates long-chain fatty acid utilization by rat cardiac myocytes through cellular redistribution of FAT/CD36. *Diabetes.* 51(10): 3113 - 9.
- Luiken JJ ; Koonen DP ; Willems J ; Zorzano A ; Becker C ; Fischer Y ; Tandon NN ; Van der Vusse GJ ; Bonen A ; Glatz JF. 2001. Insulin stimulates long-chain fatty acid utilization by rat cardiac myocytes through cellular redistribution of FAT/CD36. *Diabetes.* 51: 3113 - 3119.

Références Bibliographiques

- Lyon AR ; MacLeod KT ; Zhang Y ; Garcia E ; Kanda GK ; Lab MJ. 2009. Loss of Ttubules and other changes to surface topography in ventricular myocytes from failing human and rat heart. *Proc Natl Acad Sci USA*. 106: 6854 - 9.
- MacDougall LK ; Jones LR ; Cohen P. 1991. Identification of the major protein phosphatases in mammalian cardiac muscle which dephosphorylate phospholamban. *Eur J Biochem*. 196:725 - 734.
- MacLennan DH ; Asahi M ; Tupling AR. 2003. The regulation of SERCA-type pumps by phospholamban and sarcolipin. *Ann N Y Acad Sci*. 986 : 472 - 80.
- Madrazo JA ; Kelly DP. 2008. The PPAR trio: regulators of myocardial energy metabolism in health and disease. *J Mol Cell Cardiol*. 44 : 968 - 975.
- Maguy A ; Hebert TE ; Nattel S. 2006. Involvement of lipid rafts and caveolae in cardiac ion channel function. *Cardiovasc Res*. 69: 798 - 807.
- Marino MW ; Dunn A ; Grail D ; Inglese M ; Noguchi Y ; Richards E.1997. Characterization of tumor necrosis factor-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 94 : 8093 - 8098.
- Marks AR ; Marx SO ; Reiken S. 2002. Regulation of ryanodine receptors via macromolecular complexes: a novel role for leucine/isoleucine zippers. *Trends Cardiovasc Med*. 12 : 166 - 170.
- Marks AR ; Tempst P ; Hwang KS ; Taubman MB ; Inui M ; Chadwick C. 1989. Molecular cloning and characterization of the ryanodine receptor/junctional channel complex cDNA from skeletal muscle sarcoplasmic reticulum. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 86 : 8683 - 8687.
- Marx SO ; Reiken S ; Hisamatsu Y ; Gaburjakova M ; Gaburjakova J ; Yang YM ; Rosembli N ; Marks AR. 2001. Phosphorylation-dependent regulation of ryanodine receptors: a novel role for leucine/isoleucine zippers. *J Cell Biol*. 153: 699 - 708.
- Marx SO ; Reiken S ; Hisamatsu Y ; Jayaraman T ; Burkhoff D ; Rosembli N ; Marks AR. 2000. PKA phosphorylation dissociates FKBP12.6 from the calcium release channel (ryanodine receptor): defective regulation in failing hearts. *Cell* 101: 365 - 376.
- Mascioni A ; Karim C ; Barany G ; Thomas DD ; Veglia G. 2002. Structure and orientation of sarcolipin in lipid environments. *Biochemistry*. 41: 475 - 82.
- Mc Garry JD ; Foster DW. 1980. Regulation of hepatic fatty acid oxidation and ketone body production. *Annu Rev Biochem*. 49 : 395 - 420.
- McGarry JD ; Woeltje KF ; Kuwajima M ; Foster DW. 1989. Regulation of ketogenesis and the renaissance of carnitine palmitoyltransferase. *Diabetes Metab Rev*. 5: 271- 284.
- Meyer M ; Belke DD ; Trost SU ; Swanson E ; Dieterle T ; Scott B ; Cary SP ; Ho P, Bluhm WF ; McDonough PM ; Silverman GJ ; Dillmann WH. 2004. A recombinant antibody increases cardiac contractility by mimicking phospholamban phosphorylation, *FASEB J*. 18: 1312 - 1314.
- Miyazaki Y ; Ikeda Y ; Shiraishi K ; Fujimoto SN ; Aoyama H ; Yoshimura K, M. Inui M ; Hoshijima M ; Kasahara H ; Aoki H ; Matsuzaki M. 2012. Heart failure-inducible gene therapy targeting protein phosphatase 1 prevents progressive left ventricular remodeling. *PLoS One*. 7: e35875.

Références Bibliographiques

- Morgan J. 1991. Abnormal intracellular modulation of calcium as a major cause of cardiac contractile dysfunction. *N Engl J Med* 325: 625- 632.
- Mueller HS ; Ayres SM. 1980. Propranolol decreases sympathetic nervous activity reflected by plasma catecholamines during evolution of myocardial infarction in man. *J Clin Invest* 65: 338 - 346.
- Muoio DM ; Newgard CB. 2008. Mechanisms of disease: molecular and metabolic mechanisms of insulin resistance and beta-cell failure in type 2 diabetes. *Nat Rev Mol Cell Biol* 9 : 193 - 205.
- Murray AJ; Panagia M ; Hauton D ; Gibbons GF ; Clarke K. 2005. Plasma free fatty acids and peroxisome proliferator-activated receptor alpha in the control of myocardial uncoupling protein levels. *Diabetes*. 54: 3496 - 3502.
- Murase T et al. 2012. Cardiac remodeling and diastolic dysfunction in DahlS.ZLepr(fa)/Lepr(fa) rats: a new animal model of metabolic syndrome. *Hypertens Res*. 35(2) : 186 - 93
- Napolitano R ; Vittone L ; Mundiña WC.1992. Phosphorylation of phospholamban in the intact heart. A study on the physiological role of the Ca^{2+} -calmodulin-dependent protein kinase system. *J Mol Cell Cardiol*. 24: 387 - 96.
- Nascimben L ; Ingwall JS ; Lorell BH ; Pinz I ; Schultz V ; Tornheim K ; Tian R. 2004. Mechanisms for increased glycolysis in the hypertrophied rat heart. *Hypertension*. 44: 662- 667
- Neumann J ; Eschenhagen T; Jones LR ; Linck B ; Schmitz W; Scholz H, Zimmermann N. 1997. Increased expression of cardiac phosphatases in patients with end-stage heart failure. *J Mol Cell Cardiol*. 29 : 265 - 272.
- Neumann J; Gupta RC; Schmitz W; Scholz H; Nairn AC; Watanabe AM. 1991. Evidence for isoproterenol-induced phosphorylation of phosphatase inhibitor- 1 in the intact heart. *Circ Res*. 69 :1450 -1457.
- Nikolaidis LA ; Sturzu A ; Stolarski C ; Elahi D ; Shen YT ; Shannon RP. 2004. The development of myocardial insulin resistance in conscious dogs with advanced dilated cardiomyopathy. *Cardiovasc Res*. 61: 297 - 306
- Niu YG ; Hauton D ; Evans RD. 2006. Utilization of triacylglycerol-rich lipoproteins by the working rat heart: routes of uptake and metabolic fates. *J Physiol* 558: 225 - 237.
- Niwano K ; Arai M ; Koitabashi N ; Watanabe A ; Ikeda Y ; Miyoshi H ; Kurabayashi M. 2008. Lentiviral vector-mediated SERCA2 gene transfer protects against heart failure and left ventricular remodeling after myocardial infarction in rats. *Mol Ther*. 16 : 1026 -1032.
- Nozaki S ; Tanaka T ; Yamashita S ; Sohmiya K ; Yoshizumi T; Okamoto F ; Kitaura Y; Kotake C ; Nishida H ; Nakata A ; Nakagawa T ; Matsumoto K ; Kameda-Takemura K ; Tadokoro S ; Kurata Y ; Tomiyama Y ; Kawamura K ; Matsuzawa Y.1999. CD36 mediates long-chain fatty acid transport in human myocardium: complete myocardial accumulation defect of radiolabeled longchainfatty acid analog in subjects with CD36 deficiency. *Mol CellBiochem*. 192 : 129 -135.
- Odermatt A ; Becker S ; Khanna V K ; Kurzydowski K ; Leisner E; Pette D; MacLennan D H. 1998. Sarcoplipin regulates the activity of SERCA1, the fast twitch skeletal muscle sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase. *J Biol Chem*. 273: 12360 -12369.
- Simmerman H.K; Jones L R. 1998. Phospholamban:protein structure, mechanism of action and role in cardiac function. *Physiol*. 78: 921– 947.

Références Bibliographiques

- Odermatt A ; Taschner PE ; Scherer SW ; Beatty B ; Khanna VK ; Cornblath DR .1997. Characterization of the gene encoding human sarcolipin (SLN), a proteolipid associated with SERCA1: absence of structural mutations in five patients with Brody disease. *Genomics*. 45: 541- 53.
- Okere IC ; Chandler MP ; McElfresh TA ; Rennison JH ; Kung TA ; Hoit BD; Ernsberger P ; Young ME ; Stanley WC. 2007. Carnitinepalmitoyl transferase-I inhibition is not associated with cardiachypertrophy in rats fed a high-fat diet. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 34: 113 - 119.
- Oliver MF. 2006. Sudden cardiac death: the lost fatty acid hypothesis. *QJ Med*. 99 : 701 - 709, 2006.
- Olson AL; Pessin JE. 1995. Transcriptional regulation of the human GLUT4 gene promoter in diabetic transgenic mice. *J Biol Chem*. 270: 23491 - 23495.
- Opie LH ; Evans JR ; Shipp JC. 1963. Effect of fasting on glucose and palmitate metabolism of perfused rat heart. *Am J Physiol*. 205: 1203 - 1208.
- Orabi AI ; Lewarchik CM ; Jin S ; Jayaraman T. 2014. Ryanodine Receptor. *Panceapedia*.
- Orchard C ; Brette F. 2008. T-tubules and sarcoplasmic reticulum function in cardiac ventricular myocytes. *Cardiovascular Research*. 77: 237- 244.
- Orchard CH ; Pásek M ; Brette F. 2009. The role of mammalian cardiac t-tubules in excitation–contraction coupling: experimental and computational approaches. *Exp Physiol*. 94: 509 -19.
- Otsu K ; Willard ; HF ; Khanna VK ; Zorzato F ; Green NM ; MacLennan DH. 1990. Molecular cloning of cDNA encoding the Ca^{2+} release channel (ryanodine receptor) of rabbit cardiac muscle sarcoplasmic reticulum. *J Biol Chem*. 265 : 13472-13483.
- Ottini L ; Marziali G ; Conti A ; Charlesworth A ; Sorrentino V. 1996. Alpha and beta isoforms of ryanodine receptor from chicken skeletal muscle are the homologues of mammalian RyR1 and RyR3. *Biochem J*. 315: 207 - 216.
- Palomer X ; Salvadó L ; Barroso E ; Vázquez-Carrera M. 2013. An overview of the crosstalk between inflammatory processes and metabolic dysregulation during diabetic cardiomyopathy. *International Journal of Cardiology*. 168 : 3160 - 3172.
- Patel MS ; Korotchkina LG.2006. Regulation of the pyruvate dehydrogenase complex. *Biochem Soc Trans*. 34: 217- 222.
- Paterlini MG ; Thomas DD. 2005. The alpha-helical propensity of the cytoplasmic domain of phospholamban: a molecular dynamics simulation of the effect of phosphorylation and mutation. *Biophys J*. 88: 3243 - 51.
- Pathak A ; Del Monte F; Zhao W. 2005. Enhancement of cardiac function and suppression of heart failure progression by inhibition of protein phosphatase 1. *Circ Res*. 96:756 -766.
- Pereira L ; Cheng H ; Lao DH ; Na L ; VanOort RJ ; Brown JH ; Wehrens XH ; Chen J ; Bers DM. 2013. Epac2 mediates cardiac β 1-adrenergic-dependent sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} leak and arrhythmia. *Circulation*.127 : 913 - 922.
- Pereira L ; Métrich M ; Fernández-Velasco M ; Lucas A ; Leroy J; Perrier R ; Morel E; Fischmeister R ; Richard S ; Bénitah JP ; Lezoualc'h F ; Gómez A M.2007.The cAMP binding protein Epac

Références Bibliographiques

- modulates Ca^{2+} sparks by a Ca^{2+} /calmodulin kinase signaling pathway in rat cardiomyocytes. *J Physiol.* 583 : 685- 694.
- Pessin JE ; Bell GI. 1992. Mammalian facilitative glucose transporter family: structure and molecular regulation. *Annu Rev Physiol.* 54: 911- 930.
- Petersen KF ; Shulman GI. 2006. Etiology of insulin resistance. *Am J Med.* 119: S10 - 16.
- Petter F.1952. Note préliminaire sur l'éthologie et l'écologie de *Psammomys obesus* Cretzschmar. *Mammalia.* 16 : 136 -147.
- Pillutla P ; Hwang YC ; Augustus A ; Yokoyama M ; Yagyu H ; Johnston TP ; Kaneko M ; Ramasamy R ; Goldberg IJ. 2005. Perfusion of hearts with triglyceride-rich particles reproduces the metabolic abnormalities in lipotoxic cardiomyopathy. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 288: 1229 -1235.
- Pipkin W ; Johnson JA ; Creazzo TL ; Burch J ; Komalavilas P ; Brophy CM. 2003. Localization, macromolecular associations, and function of the small heat shock-related protein HSP20 in rat heart. *Circulation.* 107: 469 - 476.
- Pogwizd SM ; Qi M ; Yuan W ; Samarel AM ; Bers DM. 1999. Upregulation of $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger expression and function in an arrhythmogenic rabbit model of heart failure. *Circ Res.* 85:1009 - 1019.
- Porter KE ;Turner NA. 2009. Cardiac fibroblasts: at the heart of myocardial remodeling. *Pharmacol Ther.* 123: 255 -2 78.
- Prestle J ; Janssen PM ; Janssen AP ; Zeitz O ; Lehnart SE ; Bruce L ; Smith GL; Hasenfuss G. 2001. Overexpression of FK506-binding protein FKBP12.6 in cardiomyocytes reduces ryanodine receptor-mediated Ca^{2+} leak from the sarcoplasmic reticulum and increases contractility. *Circ Res* 88: 188 - 194.
- Pulinilkunnil T ; Rodrigues B. 2006. Cardiac lipoprotein lipase: metabolic basis for diabetic heart disease. *Cardiovasc Res.* 69: 329 - 340.
- Purnell JQ ; Brunzell JD. 1997. The central role of dietary fat, not carbohydrate, in the insulin resistance syndrome (review). *Curr Opin Lipidol.* 8: 17-22.
- Qian J ; Vafiadaki E ; Florea S ; Singh V ; Song W ; Lam CK ; Yuan Q ; Pritchard TJ ; Rodriguez P ; Wang Y ; Haghighi K ; Sanoudou D ; Cai W ; Wang HS ; Fan GC, Kranias EG. 2011. Small heat shock protein 20 interacts with protein phosphatase-1 and enhances sarcoplasmic reticulum calcium cycling. *Circ Res.* 108:1429 -1438.
- Rajasekaran NS ; Connell P ; Christians ES ; Yan LJ ; Taylor RP ; Orosz A ; Zhang ; XQ ; Stevenson TJ ; Peshock RM ; Leopold JA ; Barry WH ; Loscalzo J ; Odelberg SJ; Benjamin IJ. 2007. Human alpha β -crystallin mutation causes oxido-reductive stress and protein aggregation cardiomyopathy in mice. *Cell.* 130 : 427- 439.
- Randle PJ ; Garland PB ; Hales CN ; Newsholme EA. 1963. The glucose fatty-acid cycle. Its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. *Lancet.* 1: 785-789.
- Randle PJ ; Newsholme EA ; Garland PB. 1964. Regulation of glucose uptake by muscle. 8. Effects of fatty acids, ketone bodies and pyruvate, of alloxan-diabetes and starvation, on the uptake and metabolic fate of glucose in rat heart and diaphragm muscles. *Biochem J.* 93: 652-665.

Références Bibliographiques

- Reiss K ; Kajstura J ; Capasso JM ; Marino TA ; Anversa P. 1993. Impairment of myocyte contractility following coronary artery narrowing is associated with activation of the myocyte IGF1 autocrine system, enhanced growth related genes, DNA synthesis, and myocyte nuclear mitotic division in rats. *Exp Cell Res.* 207: 348 - 360.
- Saba RI ; Goormaghtigh E ; Ruyschaert JM ; Herchuelz A. 2001. Conformational changes of the 120-kDa Na⁺/Ca²⁺ exchanger protein upon ligand binding: a Fourier transform infrared spectroscopy study. *Biochemistry.* 40:3324-32.
- Sacchetto R ; Damiani E ; Turcato F ; Nori A ; Margreth A. 2001. Ca²⁺-dependent interaction of triadin with histidine-rich Ca²⁺-binding protein carboxyl terminal region. *Biochem. Biophys Res Commun.* 289 : 1125 - 1134.
- Sampson MJ ; Davies IR ; Braschi S ; Ivory K ; Hughes DA. 2003. Increased expression of a scavenger receptor (CD36) in monocytes from subjects with Type 2 diabetes. *Atherosclerosis.* 167: 129 - 134.
- Sandesara CM ; Roodneshin H ; Sbaity S ; Olshansky B. 2008. Antiarrhythmic effects of statins in heart failure. *Heart Fail Clin.* 4:187- 200.
- Sato Y ; Ferguson DG ; Sako H ; Dorn GW ; Kadambi VJ ; Yatani A ; Hoit BD ; Walsh RA ; Kranias EG. 1998. Cardiac-specific overexpression of mouse cardiac calsequestrin is associated with depressed cardiovascular function and hypertrophy in transgenic mice. *J Biol Chem.* 273: 28470 - 28477.
- Schmidt U ; Hajjar RJ ; Helm PA ; Kim CS ; Doye AA ; Gwathmey JK. 1998. Contribution of abnormal sarcoplasmic reticulum ATPase activity to systolic and diastolic dysfunction in human heart failure, *J. Mol. Cell. Cardiol.* 30: 1929 -1937.
- Schmitt JP ; Kamisago M ; Asahi M. 2003. Dilated cardiomyopathy and heart failure caused by a mutation in phospholamban. *Science.* 299 : 1410 - 1413.
- Schrauwen P ; Westerterp KR. 2000. The role of high-fat diets and physical activity in the regulation of body weight. *Br J Nutr.* 84(4): 417-27.
- Schulz H. 2007. Oxidation of Fatty Acids in Eukaryotes. *Elsevier Science.* 131- 154.
- Schulze DH, Muqhal M ; Lederer WJ ; Ruknudin AM. 2003. Sodium/Calcium Exchanger (NCX1) Macromolecular Complex. 278: 28849 - 28855.
- Schwartz GG ; Greyson C ; Wisneski JA ; Garcia J. 1994. Inhibition of fatty acid metabolism alters myocardial high-energy phosphates in vivo. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 267: H224 - H231.
- Scriven DR ; Klimek A ; Asghari P ; Bellve K ; Moore ED. 2005. Caveolin-3 is adjacent to a group of extradiadic ryanodine receptors. *Biophys J.* 89:1893- 901.
- Scriven DR; Dan P ; Moore ED. 2000. Distribution of proteins implicated in excitation– contraction coupling in rat ventricular myocytes. *Biophys J.* 79: 2682- 91.
- Sen L ; Bialecki RA ; Smith E ; Smith TW ; Colucci WS. 1992. Cholesterol increases the Ltype voltage-sensitive calcium channel current in arterial smooth muscle cells. *Circ Res.* 71:1008 - 14.

Références Bibliographiques

- Sharma S ; Adroque JV ; Golfman L ; Uray I; Lemm J ; Youker K ; Noon GP ; Frazier OH ; Taegtmeier H. 2004. Intramyocardial lipid accumulation in the failing human heart resembles the lipotoxic rat heart. *FASEB J*. 18: 1692-1700.
- Simmerman HK ; Jones LR. 1998. Phospholamban: Protein structure, mechanism of action, and role in cardiac function. *Physiol*. 78 : 921- 47.
- Sipido KR ; Volders PG ; de Groot SH ; Verdonck F ; Van de WF ; Wellens HJ ; Vos MA. 2000. Enhanced Ca^{2+} release and $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchange activity in hypertrophied canine ventricular myocytes: potential link between contractile adaptation and arrhythmogenesis, *Circulation*. 102(17): 2137- 44
- Sipido KR ; Volders PG ; Vos MA ; Verdonck F.2002. Altered $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchange activity in cardiac hypertrophy and heart failure: a new target for therapy? *Cardiovasc Res*. 53: p782.
- Soeller C ; Cannell MB. 1997. Numerical simulation of local calcium movements during L-type calcium channel gating in the cardiac diad. *Biophys J*. 73: 97- 111.
- Soltis AR ; Saucerman JJ. 2010. Synergy between CaMKII substrates and beta- adrenergic signaling in regulation of cardiac myocyte Ca^{2+} handling. *Biophys J*. 99: 2038 - 2047
- Song LS ; Guatimosim S ; Gomez-Viquez L ; Sobie EA ; Ziman A ; Hartmann H ; Lederer WJ. 2005. Calcium biology of the transverse tubules in heart. *Ann N Y Acad Sci*. 1047: 99 -11.
- Sorrentino V ; Volpe P.1993. Ryanodine receptors: how many, where and why? *Trends Pharmacol Sci*. 14 : 98 - 103.
- Springer TA. 1994. Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: The multistep paradigm. *Cell*. 76: 301-314.
- Stanley WC ; Lopaschuk GD ; Hall JL ; McCormack JG. 1997. Regulation of myocardial carbohydrate metabolism under normal and ischaemic conditions. Potential for pharmacological interventions. *Cardiovasc Res* .33: 243- 257.
- Stanley WC ; Recchia FA ; Lopaschuk GD. 2005. Myocardial substrate metabolism in the normal and failing heart. *Physiol Rev*. 85: 1093 -1129.
- Steenaaart NA ; Ganim JR ; Di Salvo J ; Kranias EG. 1992. The phospholamban phosphatase associated with cardiac sarcoplasmic reticulum is a type 1enzyme. *Arch Biochem Biophys*. 293:17 - 24.
- Step D ; Tulenko TN. 1994. Alteration in basal and serotonin- stimulated calcium movement and vasoconstriction in atherosclerotic aorta. *Arterioscler thromb*. 14: 1854 -1859.
- Steven OM ; Andrew R. 2013. Marks. Dysfunctional ryanodine receptors in the heart: New insights into complex cardiovascular diseases. *J Mol Cell Cardio*. 58 : 225- 231.
- Suarez J ; Hu Y ; Makino A ; Fricovsky E ; Wang H ; Dillmann WH. 2008. Alterations in mitochondrial function and cytosolic calcium induced by hyperglycemia are restored by mitochondrial transcription factor A in cardiomyocytes. *Am J Physiol Cell Physiol*. 295: 1561- 1568.
- Suckau LH ; Fechner E ; Chemaly S ; Krohn ; Hadri L ; Kockskamper J ; Westermann D ; Bisping E ; Ly H ; Wang X; Kawase Y ; Chen J ; Liang L ; Sipo I ; Vetter R, Weger S ; Kurreck J ; Erdmann V ; Tschope C ; Pieske B ; Lebeche D ; Schultheiss HP ; Hajjar RJ. Suematsu N ; Tsutsui H ; Wen J ; Kang D ; Ikeuchi M ; Ide T. 2003. Oxidative stress mediates tumor necrosis

Références Bibliographiques

- factor- α -induced mitochondrial DNA damage and dysfunction in cardiac myocytes. *Circulation*. **107**: 1418 - 1423.
- Sun Y ; Zhang JQ; Zhang J ; Ramires FJ. 1998. Angiotensin II, transforming growth factor-beta1 and repair in the infarcted heart. *J Mol Cell Cardiol*. 30:1559 -1569.
- Swan JW ; Anker SD ; Walton C ; Godslan IF ; Clark AL ; Leyva F ; Stevenson JC ; Coats AJ. 1997. Insulin resistance in chronic heart failure: relation to severity and etiology of heart failure. *J Am Coll Cardiol*. 30:527- 532
- Swynghedauw B. 1999. Molecular mechanisms of myocardial remodeling. *Physiological*.79 : 215 - 262
- Szczepaniak LS ; Dobbins RL ; Metzger GJ ; Sartoni-D'Ambrosia G ; Arbique D, Vongpatanasin W ; Unger R; Victor RG. 2003. Myocardial triglycerides and systolic function in humans: in vivo evaluation by localized proton spectroscopy and cardiac imaging. *Magn Reson Med*. 49: 417-423.
- Tada M ; Toyofuku T.1998. Molecular regulation of phospholamban function and expression. *Trends Cardiovasc Med*. 8: 330 - 40.
- Tadross MR ; Dick IE ; Yue DT. 2008. Mechanism of local and global Ca^{2+} sensing by calmodulin in complex with a Ca^{2+} channel. *Cell*. 133: 1228 - 1240.
- Takahashi S ; Sakai J ; Fujino T ; Hattori H ; Zenimaru Y ; Suzuki J ; Miyamori I ; Yamamoto TT. 2004. The very low-density lipoprotein (VLDL) receptor: characterization and functions as a peripheral lipoprotein receptor. *J Atheroscler Thromb*. 11: 200 - 208.
- Takeshima H ; Nishimura S ; Matsumoto T ; Ishida H ; Kangawa K ; Minamino N. 1989. Primary structure and expression from complementary DNA of skeletal muscle ryanodine receptor. *Nature*. 339 : 439 - 445.
- Tentolouris N ; Pavlatos S ; Kokkinos A ; Perrea D ; Pagoni S ; Katsilambros N. 2008. Diet-induced thermogenesis and substrate oxidation are not different between lean and obese women after two different isocaloric meals, one rich in protein and one rich in fat. *Metabolism*.57(3):313-20
- Terentyev D ; Cala SE ; Houle TD ; Viatchenko-Karpinski S ; Gyorke I ; Terentyeva, R. 2005. Triadin overexpression stimulates excitationcontraction coupling and increases predisposition to cellular arrhythmia in cardiac myocytes. *Circ Res*. 96: 651- 658.
- Terentyev D ; Nori A ; Santoro M ; Viatchenko-Karpinski S ; Kubalova Z ; Gyorke I. 2006. Abnormal interactions of calsequestrin with the ryanodine receptor calcium release channel complex linked to exerciseinduced sudden cardiac death. *Circ Res*. 98: 1151-1158.
- Terentyev D ; Viatchenko-Karpinski S ; Gyorke I ; Volpe P ; Williams SC ; Gyorke S. 2003. Calsequestrin determines the functional size and stability of cardiac intracellular calcium stores: mechanism for hereditary arrhythmia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 100 : 11759 -11764.
- Tiebel O ; Oka K ; Robinson K ; Sullivan M, Martinez J; Nakamuta M ; Ishimura-Oka K, Chan L. 1999. Mouse very low-density lipoproteinreceptor (VLDLR): gene structure, tissue-specific expressionand dietary and developmental regulation. *Atherosclerosis*. 145 : 239 - 251.
- Tijsskens P ; Jones LR ; Franzini-Armstrong C. 2003. Juncin and calsequestrin overexpression in cardiac muscle: the role of juncin and the synthetic and delivery pathways for the two proteins. *J Mol Cell Cardiol*. 35 : 961 - 974.

Références Bibliographiques

- Timerman AP ; Onoue H. Xin HB. 1996. Selective binding of FKBP12.6 by the cardiac ryanodine receptor. *J Biol Chem.* 271: 85-91.
- Tissieres A ; Mitchell HK ; Tracy UM. 1974. Protein synthesis in salivary glands of *Drosophila melanogaster*: relation to chromosome puffs. *J Mol Biol.* 85: 389 - 398.
- Tripathy A ; Xu L ; Mann G ; Meissner G. 1995. Calmodulin activation and inhibition of skeletal muscle Ca^{2+} release channel (ryanodine receptor). *Biophys J.* 69 : 106-119.
- Vafiadaki E ; Papalouka V ; Arvanitis DA, Kranias EG, Sanoudou D. 2009. The role of SERCA2a/PLN complex, Ca^{2+} homeostasis, and anti-apoptotic proteins in determining cell fate. *Pflugers Arch.* 457 : 687-700.
- Vafiadaki E ; Sanoudou D ; Arvanitis DA ; Catino DH ; Kranias EG ; Kontrogianni-Konstantopoulos A. 2007. Phospholamban interacts with HAX-1, a mitochondrial protein with anti-apoptotic function. *J Mol Biol.* 367: 65-79.
- Valdivia HH. 2012. Ryanodine receptor phosphorylation and heart failure: phasing out S2808 and “criminalizing” S2814. *Circ Res.* 110 : 1398-1402.
- Van der Vusse GJ ; Van Bilsen M ; Glatz JF. 2000. Cardiac fatty acid uptake and transport in health and disease. *Cardiovasc Res.* 45 : 279 - 293.
- Vandesompele J ; Kubista M ; Pfaffl MW. (2009). Reference gene validation software for improved normalization, in Real-time PCR: Current technology and applications. Logan J; Edwards K ; Saunders N. *Caister Academic Press.*
- Van Wagoner DR ; Pond AL ; Lamorgese M ; Rossie SS ; McCarthy PM ; Nerbonne JM. 1999. Atrial L-type Ca^{2+} currents and human atrial fibrillation. *Circ Res.* 85: 428 - 36
- Vangheluwe P ; Raeymaekers L ; Dode L ; Wuytack F. 2005. Modulating sarco (endo)plasmic reticulum Ca^{2+} ATPase 2 (SERCA2) activity: cell biological implications. *Cell Calcium.* 38: 291- 302.
- Vangheluwe P; Sipido KR ; Raeymaekers L ; Wuytack F. 2006. New perspectives on the role of SERCA2's Ca^{2+} affinity in cardiac function. *Biochim Biophys Acta.* 1763: 1216 - 28.
- Vaquero M ; Caballero R ; Gómez R ; Núñez L ; Tamargo J ; Delpón E. 2007. Effects of atorvastatin and simvastatin on atrial plateau currents. *J Mol Cell Cardiol.* 42: 931- 45.
- Viatchenko-Karpinski S ; Terentyev D ; Gyorke I ; Terentyeva R ; Volpe P; Priori S. 2004. Abnormal calcium signaling and sudden cardiac death associated with mutation of calsequestrin. *Circ Res.* 94: 471- 477.
- Wakimoto K ; Kobayashi K, Kuro O ; Yao A ; Iwamoto T ; Yanaka N, Kita S, Nishida A ; Azuma S ; Toyoda Y ; Omori K ; Imahie H ; Oka T ; Kudoh S ; Kohmoto O, Yazaki Y ; Shigekawa M ; Imai Y ; Nabeshima Y ; Komuro I. 2000. Targeted disruption of $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger gene leads to cardiomyocyte apoptosis and defects in heartbeat, *J Biol Chem.* 275(47): 36991- 8
- Wang T ; Xu H ; Oberwinkler J ; Gu Y ; Hardie RC ; Montell C. 2005. Light activation, adaptation, and cell survival functions of the $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger CalX. *Neuron.* 45 : 367-378.
- Wang Z ; Nolan B ; Kutschke W ; Hill ; JA. 2001. $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger remodeling in pressure overload cardiac hypertrophy, *J Biol Chem.* 276:17706 - 17711

Références Bibliographiques

- Weggemans RM ; Zock PL ; Katam MB. 2001. Dietary cholesterol from eggs increases the ratio of total cholesterol to high-density lipoprotein cholesterol in humans: a meta-analysis. *Am J Clin Nutr.* 73: 885 - 91.
- Wehrens XH ; Lehnart SE ; Reiken SR ; Marks AR. 2004. Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase II phosphorylation regulates the cardiac ryanodine receptor. *Circ Res.* 94: e61- e70.
- Wehrens XH ; Lehnart SE ; Reiken S ; Vest JA ; Wronska A; Marks AR.2006. Ryanodine receptor/calcium release channel PKA phosphorylation:acritical mediator of heart failure progression.*Proc Natl Acad Sci USA.*103: 511- 518.
- Weis BC; Esser V; Foster DW ; McGarry JD. 1994. Rat heart expresses two forms of mitochondrial carnitine palmitoyl transferase I. The minor component is identical to the liver enzyme. *J Biol Chem.* 269: 18712 - 18715.
- Winterbourn CC. 2008. Reconciling the chemistry and biology of reactive oxygen species. *Nat Chem Biol.* 4: 278 - 286.
- Wisneski JA ; Gertz EW ; Neese RA ; Mayr M. 1987. Myocardial metabolism of free fatty acids. Studies with ^{14}C -labeled substrates in humans. *J Clin Invest* 79: 359 - 366.
- Witcher DR ; Kovacs RJ ; Schulman H ; Cefali DC ; Jones LR.1991.Unique phosphorylation site on the cardiac ryanodine receptor regulates calcium channel activity. *J Biol Chem.* 266: 11144 -11152.
- Wisneski JA; Stanley WC; Neese RA; Gertz EW.1990. Effects of acute hyperglycemia on myocardial glycolytic activity in humans. *J Clin Invest.* 85: 1648 - 1656.
- Wu P ; Sato J ; Zhao Y ; Jaskiewicz J ; Popov KM ; and Harris RA. 1998. Starvation and diabetes increase the amount of pyruvate dehydrogenase kinase isoenzyme 4 in rat heart. *Biochem J.* 329: 197 - 201.
- Wuytack F; Van den Bosch L ; Ver Heyen M ; Baba-Aissa F ; Raeymaekers L; Casteels R. 1998. Regulation of alternative splicing of the SERCA2 pre-mRNA in muscle. *Ann N Y Acad Sci.* 853: 372 - 375.
- Xiao B ; Zhong G ; Obayashi M ; Yang D ; Chen K ; Walsh MP ; Shimoni Y ; Cheng H ; TerKeurs H ; Chen SR. 2006. Ser-2030, but not Ser-2808, is the major phosphorylation site in cardiac ryanodine receptors responding to protein kinase A activation upon beta-adrenergic stimulation in normal and failing hearts. *Biochem J.* 396 : 7 - 16.
- Xiao YF ; Gomez AM ; Morgan JP ; Lederer WJ ; Leaf A. 1997. Suppression of voltage-gated L-type Ca^{2+} currents by polyunsaturated fatty acids in adult and neonatal rat ventricular myocytes. *Proc Natl Acad Sci. USA.* 94:4182 - 7.
- Xiao YF ; Sigg DC ; Leaf A. 2005. The antiarrhythmic effect of n-3 polyunsaturated fatty acids: modulation of cardiac ion channels as a potential mechanism. *J Membr Biol.* 206:141-54.
- Yagyu H ; Chen G ; Yokoyama M ; Hirata K ; Augustus A ; Kako Y ; Seo T ; Hu Y; Lutz EP ; Merkel M ; Bensadoun A ; Homma S ; Goldberg IJ. 2003. Lipoprotein lipase (LpL) on the surface of cardiomyocytesincreases lipid uptake and produces a cardiomyopathy. *J Clin Invest.* 111: 419 - 426.
- Yamaguchi N ; Takahashi N ; Xu L ; Smithies O ; Meissner G. 2007. Early cardiac hypertrophy in mice with impaired calmodulin regulation of cardiacmuscle Ca^{2+} release channel. *J Clin Invest.* 117: 1344 - 1353.

Références Bibliographiques

- Yamaguchi N ; Xu L ; Pasek DA ; Evans KE ; Meissner G. 2003. Molecular basis of calmodulin binding to cardiac muscle Ca^{2+} release channel (ryanodine receptor). *J Biol Chem.* 278 : 23480 - 23486.
- Yang Y ; Guo T ; Oda T ; Chakraborty A ; Chen L ; Uchinoumi H. 2014. Cardiac myocyte Z-line calmodulin is mainly RyR2-bound, and reduction is arrhythmogenic and occurs in heart failure. *Circ Res.* 114 : 295 -306.
- Yang J ; Holman GD. 2005. Insulin and contraction stimulate exocytosis, but increased AMP-activated protein kinase activity resulting from oxidative metabolism stress slows endocytosis of GLUT4 in cardiomyocytes. *J Biol Chem.* 280: 4070 - 4078.
- Yang Z ; Pascarel C ; Steele DS ; Komukai K ; Brette F ; Orchard CH. 2002. $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchange activity is localized in the T-tubules of rat ventricular myocytes. *Circ Res.* 91:315-322.
- Yokoyama T ; Vaca L ; Durante W ; Hazarika P ; Mann DL. 1993. Cellular basis for the negative inotropic effects of tumor necrosis factor- α in the adult mammalian heart. *J Clin Invest.* 92: 2303 - 2312.
- Young ME ; Guthrie PH ; Razeghi P ; Leighton B ; Abbasi SH ; Patil S ; Keith AY ; Taegtmeyer H. 2002. Impaired Long-Chain Fatty Acid Oxidation and Contractile Dysfunction in the Obese Zucker Rat Heart. *Diabetes.* 51: 2587- 2595.
- Zaman AK ; Fujii S ; Goto D ; Furumoto T ; Mishima T ; Nakai Y ; Dong J ; Imagawa S ; Sobel BE ; Kitabatake A. 2004. Salutary effects of attenuation of angiotensin II on coronary perivascular fibrosis associated with insulin resistance and obesity. *J Mol Cell Cardiol.* 37: 525 - 535.
- Zhang Q ; Timofeyev V ; Qiu H ; Lu L ; Li N ; Singapuri A. 2011. Expression and roles of Cav1.3 ($\alpha 1\text{D}$) L-type Ca^{2+} channel in atrioventricular node automaticity. *J Mol Cell Cardiol.* 50:194 - 202.
- Zhou YT ; Grayburn P ; Karim A. 2000. Lipotoxic heart disease in obese rats: implications for human obesity. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 97 (4): 1784 - 9.
- Zorzato F ; Fujii J ; Otsu K ; Phillips M ; Green NM ; Lai FA. 1990. Molecular cloning of cDNA encoding human and rabbit forms of the Ca^{2+} release channel (ryanodine receptor) of skeletal muscle sarcoplasmic reticulum. *J Biol Chem.* 265: 2244 - 2256.

Figure 1	Métabolisme des acides gras dans le cœur
Figure 2	La régulation de métabolisme dans le cœur normal par l'insuline et l'AMPK
Figure 3	Le cycle Randle (Glucose – acide gras)
Figure 4	Le contrôle du métabolisme énergétique dans le cœur par l'axe PPAR/PGC-1 α
Figure 5	Les sources principales des ROS et leurs effets sur le cardiomyocyte
Figure 6	Le remodelage métabolique et le développement de l'insuffisance cardiaque
Figure 7	Le cycle contraction-relaxation dans les cardiomyocyte
Figure 8	Représentation des tubules transversale, des canaux ioniques, des transporteurs protéines clés et le réticulum sarcoplasmique
Figure 9	La structure primaire d'un récepteur du ryanodine (RyR) cardiaque et les domaines de liaison des protéines phosphatases 1 et 2A, de la protéine kinase A et de la calmoduline ainsi que de la FKBP12.6
Figure 10	Représentation schématique du complexe macromoléculaire formé par le récepteur de la ryanodine et ses protéines associées
Figure 11	La représentation schématique de complexe PLN/ SERCA2a
Figure 12	Représentation schématique de la séquence d'homologie entre la protéine PLN et la SLN
Figure 13	La modulation de la fonction Serca2a par le phospholamban et sarcolipine
Figure 14	Représentation schématique des interactions de HRC dans le RS. Ces interactions sont indiquées par une étoile
Figure 15	La stimulation des agonistes β -adrénergiques et de la protéine phosphatase 1 dans la régulation de l'activité PLN/SERCA
Figure 16	L'association de HAX-1 avec PLN et SERCA2, deux protéines jouant un rôle central dans la modulation de l'homéostasie du Ca ²⁺ et dans la fonction cardiaque
Figure 17	L'organisation du complexe de signalisation macromoléculaire NCX1
Figure 18	TNF α et la fonction contractile
Figure 19	Localisation géographique, biotope et capture du Rat des sables sauvage, <i>Psammomys obesus</i> .
Figure 20	Etude histo-morphologique montrant des coupes colorées à l'hématoxyline-éosine et au trichrome de Masson du myocarde d'animaux nourris au régime normal (A, C, E) et au régime enrichi en lipides (B, D, F) pendant 16 semaines.
Figure 21	Expression myocardique du gène impliqué dans la réponse des tissus exposés à l'hypoxie (D), le facteur- α inductible de l'hypoxie (HIF-1 α) chez les animaux nourris au régime naturel
Figure 22	Expression myocardique des gènes impliqués dans la contraction cardiaque, SERCA2, RYR2, MYH6 ou α -MHC et CaMK2D dans les sections de myocarde d'animaux soumis au régime alimentaire naturel
Figure 23	L'expression myocardique des gènes de collagène I et III chez animaux nourris au régime naturel pendant une durée de 16 semaines (n = 10 colonne blanche) et soumis au régime enrichi en lipides
Figure 24	Figure A représentant les immunoblots respectifs de Serca2a, PLN et PKA(c- α). Figures B, C et D montrant l'analyse quantitative des différentes protéines caractérisées
Figure 25	Localisation des cellules inflammatoires au niveau interstitiel et capillaire du myocarde PO soumis au régime hyperlipidique, après coloration à l'hématoxyline-éosine
Figure 26	Caractérisation des cellules inflammatoires infiltrées dans le myocarde après avoir soumis les animaux au régime hyperlipidique pendant une durée de 4 mois. Immunocoloration des neutrophiles positivement colorées à la myéloperoxydase (MPO) au niveau du myocarde des animaux nourris au régime naturel (A) et RHL (B)
Figure 27	Evaluation du nombre de neutrophiles extravasculaires positifs à la MPO par

Index

Index des figures et des tableaux

	morphométrie dans les sections de myocarde d'animaux soumis au régime alimentaire naturel (n = 10 histogramme blanc) et au régime hyperlipidique
Figure 28	Expression myocardique des gènes codant pour les cytokines inflammatoires, l'IL-1 β , l'IL-6 et le TNF- α
Figure 29	Expression myocardique des gènes codant pour les molécules d'adhésion intercellulaires de la famille des CAM, ICAM1 et VCAM1 chez les animaux nourris au régime naturel
Figure 30	L'hypertrophie des cardiomyocytes (évaluée par zone de cardiomyocytes en micromètre carré) est exacerbée au niveau du myocarde des animaux nourris au RHL par rapport aux témoins correspondants pendant une durée de 16 semaines
Figure 31	L'expression myocardique des gènes impliqués dans l'hypertrophie, IGF-1, son récepteur IGFR (A) ainsi que le facteur nucléaire des lymphocytes T activés, cytoplasmique, calcineurine dépendante 3 (NFAT3c) (B).
Figure 32	Expression myocardique des gènes impliqués dans l'activation de la voie apoptotique intrinsèque mitochondriale, Bax (pro-apoptotique) et Bcl2 (anti-apoptotique) ainsi que le rapport Bax/Bcl2 chez les animaux nourris au régime nature et au régime enrichi en lipides

INDEX DES TABLEAUX

Tableau I	La composition en pourcentage (%) des nutriments contenus dans le régime naturel
Tableau II	La composition en g du régime athérogène (100 g de jaune d'œuf)
Tableau III	Evaluation du poids corporel, de la glycémie et des paramètres lipidiques chez <i>Psammomys obesus</i> soumis à un régime athérogène (régime naturel additionné de jaune d'œuf cuit) pendant 4 mois

Annexes

Analyse de l'expression des ARNm codés pour les différentes protéines :

- SERCA2a

			HPRT	SERCA2A	ΔCt	$\Delta\Delta Ct$	$2\Delta\Delta Ct$	$1/2\Delta\Delta Ct$
1	Heart	C	24,55	18,6	-5,95	0,00	1,00	1,00
2	Heart	C	24,65	17,95	-6,70	-0,75	0,59	1,68
3	Heart	C	24,55	18,5	-6,05	-0,10	0,93	1,07
4	Heart	C	24,75	18,25	-6,50	-0,55	0,68	1,46
5	Heart	HFD	23,7	18,6	-5,10	0,85	1,80	0,55
6	Heart	HFD	24,6	18,6	-6,00	-0,05	0,97	1,04
7	Heart	HFD	24,45	19,2	-5,25	0,70	1,62	0,62
8	Heart	HFD	24,85	18,9	-5,95	0,00	1,00	1,00
9	Heart	HFD	24,45	18,65	-5,80	0,15	1,11	0,90
10	Heart	HFD	27,55	21,35	-6,20	-0,25	0,84	1,19
11	Heart	HFD	24,25	19,65	-4,60	1,35	2,55	0,39
12	Heart	HFD	24,55	19,35	-5,20	0,75	1,68	0,59
13	Heart	HFD	23,7	18,9	-4,80	1,15	2,22	0,45
14	Heart	HFD	24,4	19,65	-4,75	1,20	2,30	0,44
15	Heart	C	24,2	18,6	-5,60	0,35	1,27	0,78
16	Heart	C	24,8	18,3	-6,50	-0,55	0,68	1,46
17	Heart	C	24,55	18,8	-5,75	0,20	1,15	0,87
18	Heart	C	24,3	18,4	-5,90	0,05	1,04	0,97
19	Heart	C	26,85	21,2	-5,65	0,30	1,23	0,81
20	Heart	C	24,35	19,15	-5,20	0,75	1,68	0,59

-RyR

			HPRT	RyanR	ΔCt	$\Delta\Delta Ct$	$2\Delta\Delta Ct$	$1/2\Delta\Delta Ct$
1	Heart	C	24,55	24,85	0,30	0,00	1,00	1,00
2	Heart	C	24,65	25,2	0,55	0,25	1,19	0,84
3	Heart	C	24,55	25,05	0,50	0,20	1,15	0,87
4	Heart	C	24,75	31,1	6,35	6,05	66,26	0,02
5	Heart	HFD	23,7	24,65	0,95	0,65	1,57	0,64
6	Heart	HFD	24,6	24,8	0,20	-0,10	0,93	1,07
7	Heart	HFD	24,45	25,05	0,60	0,30	1,23	0,81
8	Heart	HFD	24,85	24,75	-0,10	-0,40	0,76	1,32
9	Heart	HFD	24,45	25,55	1,10	0,80	1,74	0,57
10	Heart	HFD	27,55	27,3	-0,25	-0,55	0,68	1,46
11	Heart	HFD	24,25	26,05	1,80	1,50	2,83	0,35
12	Heart	HFD	24,55	25,65	1,10	0,80	1,74	0,57
13	Heart	HFD	23,7	25,4	1,70	1,40	2,64	0,38
14	Heart	HFD	24,4	26,05	1,65	1,35	2,55	0,39
15	Heart	C	24,2	24,8	0,60	0,30	1,23	0,81
16	Heart	C	24,8	25,25	0,45	0,15	1,11	0,90
17	Heart	C	24,55	25,7	1,15	0,85	1,80	0,55
18	Heart	C	24,3	25,75	1,45	1,15	2,22	0,45
19	Heart	C	26,85	27,85	1,00	0,70	1,62	0,62
20	Heart	C	24,35	25,7	1,35	1,05	2,07	0,48

-IL-6

			HPRT	IL6	ΔCt	$\Delta\Delta Ct$	$2\Delta\Delta Ct$	$1/2\Delta\Delta Ct$
1	Heart	C	24,55	34,5	9,95	0,00	1,00	1,00
2	Heart	C	24,65	35,3	10,65	0,70	1,62	0,62
3	Heart	C	24,55	34,8	10,25	0,30	1,23	0,81
4	Heart	C	24,75	36,5	11,75	1,80	3,48	0,29
5	Heart	HFD	23,7	34,75	11,05	1,10	2,14	0,47
6	Heart	HFD	24,6	34,9	10,30	0,35	1,27	0,78
7	Heart	HFD	24,45	36	11,55	1,60	3,03	0,33
8	Heart	HFD	24,85	34,9	10,05	0,10	1,07	0,93
9	Heart	HFD	24,45	36,6	12,15	2,20	4,59	0,22
10	Heart	HFD	27,55	30,1	2,55	-7,40	0,01	168,90
11	Heart	HFD	24,25	34,85	10,60	0,65	1,57	0,64
12	Heart	HFD	24,55	36,75	12,20	2,25	4,76	0,21
13	Heart	HFD	23,7	35,1	11,40	1,45	2,73	0,37
14	Heart	HFD	24,4	33,15	8,75	-1,20	0,44	2,30
15	Heart	C	24,2	38,3	14,10	4,15	17,75	0,06
16	Heart	C	24,8					
17	Heart	C	24,55	33,15	8,60	-1,35	0,39	2,55
18	Heart	C	24,3	38,4	14,10	4,15	17,75	0,06
19	Heart	C	26,85	29,6	2,75	-7,20	0,01	147,03
20	Heart	C	24,35	37,85	13,50	3,55	11,71	0,09

- IL-1 β

			HPRT	IL1beta	ΔCt	$\Delta\Delta Ct$	$2\Delta\Delta Ct$	$1/2\Delta\Delta Ct$
1	Heart	C	24,55	35,55	11,00	1,30	2,46	0,41
2	Heart	C	24,65	34,35	9,70	0,00	1,00	0,00
3	Heart	C	24,55	35,95	11,40	1,70	3,25	0,31
4	Heart	C	24,75	36,50	11,75	2,05	4,14	0,00
5	Heart	HFD	23,7	34,25	10,55	0,85	1,80	0,55
6	Heart	HFD	24,6	33,35	8,75	-0,95	0,52	1,93
7	Heart	HFD	24,45	33,40	8,95	-0,75	0,59	1,68
8	Heart	HFD	24,85	33,30	8,45	-1,25	0,42	2,38
9	Heart	HFD	24,45			-9,70		
10	Heart	HFD	27,55	31,20	3,65	-6,05	0,02	66,26
11	Heart	HFD	24,25	34,45	10,20	0,50	1,41	0,71
12	Heart	HFD	24,55	35,70	11,15	1,45	2,73	0,37
13	Heart	HFD	23,7	34,15	10,45	0,75	1,68	0,59
14	Heart	HFD	24,4	33,55	9,15	-0,55	0,68	1,46
15	Heart	C	24,2	37,50	13,30	3,60	12,13	0,08
16	Heart	C	24,8	34,90	10,10	0,40	1,32	0,76
17	Heart	C	24,55	33,80	9,25	-0,45	0,73	1,37
18	Heart	C	24,3	36,45	12,15	2,45	5,46	0,18
19	Heart	C	26,85	30,45	3,60	-6,10	0,01	68,59
20	Heart	C	24,35	37,30	12,95	3,25	9,51	0,11

-TNF-alpha

			HPRT	TNF alpha	ΔCt	$\Delta\Delta Ct$	$2\Delta\Delta Ct$	$1/2\Delta\Delta Ct$
1	Heart	C	24,55	35,95	11,40	0,50	1,41	0,71
2	Heart	C	24,65	36,2	11,55	0,65	1,57	0,64
3	Heart	C	24,55	35,8	11,25	0,35	1,27	0,78
4	Heart	C	24,75	35,9	11,15	0,25	1,19	0,84
5	Heart	HFD	23,7	34,6	10,90	0,00	1,00	1,00
6	Heart	HFD	24,6	35,9	11,30	0,40	1,32	0,76
7	Heart	HFD	24,45	36	11,55	0,65	1,57	0,64
8	Heart	HFD	24,85	35,8	10,95	0,05	1,04	0,97
9	Heart	HFD	24,45	36,1	11,65	0,75	1,68	0,59
10	Heart	HFD	27,55	34,5	6,95	-3,95	0,06	15,45
11	Heart	HFD	24,25	35,7	11,45	0,55	1,46	0,68
12	Heart	HFD	24,55	35,7	11,15	0,25	1,19	0,84
13	Heart	HFD	23,7	34,85	11,15	0,25	1,19	0,84
14	Heart	HFD	24,4	34,4	10,00	-0,90	0,54	1,87
15	Heart	C	24,2	37,1	12,90	2,00	4,00	0,25
16	Heart	C	24,8	37,25	12,45	1,55	2,93	0,34
17	Heart	C	24,55	35,45	10,90	0,00	1,00	1,00
18	Heart	C	24,3	37,55	13,25	2,35	5,10	0,20
19	Heart	C	26,85	33,65	6,80	-4,10	0,06	17,15
20	Heart	C	24,35	36,8	12,45	1,55	2,93	0,34
21	Aorta	C	27,7	32,6	4,90	-6,00	0,02	64,00

- Bax

			HPRT	Bax	ΔCt	$\Delta\Delta Ct$	$2\Delta\Delta Ct$	$1/2\Delta\Delta Ct$
1	Heart	C	24,55	25,35	0,80	0,00	1,00	1,00
2	Heart	C	24,65	25,15	0,50	-0,30	0,81	1,23
3	Heart	C	24,55	24,7	0,15	-0,65	0,64	1,57
4	Heart	C	24,75	25,85	1,10	0,30	1,23	0,81
5	Heart	HFD	23,7	24,75	1,05	0,25	1,19	0,84
6	Heart	HFD	24,6	24,8	0,20	-0,60	0,66	1,52
7	Heart	HFD	24,45	25,15	0,70	-0,10	0,93	1,07
8	Heart	HFD	24,85	25,05	0,20	-0,60	0,66	1,52
9	Heart	HFD	24,45	25,3	0,85	0,05	1,04	0,97
10	Heart	HFD	27,55	27,65	0,10	-0,70	0,62	1,62
11	Heart	HFD	24,25	24,75	0,50	-0,30	0,81	1,23
12	Heart	HFD	24,55	24,65	0,10	-0,70	0,62	1,62
13	Heart	HFD	23,7	25,15	1,45	0,65	1,57	0,64
14	Heart	HFD	24,4	25,55	1,15	0,35	1,27	0,78
15	Heart	C	24,2	25,8	1,60	0,80	1,74	0,57
16	Heart	C	24,8	25,55	0,75	-0,05	0,97	1,04
17	Heart	C	24,55	26,05	1,50	0,70	1,62	0,62
18	Heart	C	24,3	25,95	1,65	0,85	1,80	0,55
19	Heart	C	26,85	28	1,15	0,35	1,27	0,78
20	Heart	C	24,35	25,9	1,55	0,75	1,68	0,59

Bcl-2

			HPRT	Bcl2	ΔCt	$\Delta\Delta Ct$	$2\Delta\Delta Ct$	$1/2\Delta\Delta Ct$
1	Heart	C	24,55	31,65	7,10	0,00	1,00	1,00
2	Heart	C	24,65	31,4	6,75	-0,35	0,78	1,27
3	Heart	C	24,55	31,55	7,00	-0,10	0,93	1,07
4	Heart	C	24,75	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	
5	Heart	HFD	23,7	31,75	8,05	0,95	1,93	0,52
6	Heart	HFD	24,6	32,05	7,45	0,35	1,27	0,78
7	Heart	HFD	24,45	32,05	7,60	0,50	1,41	0,71
8	Heart	HFD	24,85	32,7	7,85	0,75	1,68	0,59
9	Heart	HFD	24,45	32,7	8,25	1,15	2,22	0,45
10	Heart	HFD	27,55	34,25	6,70	-0,40	0,76	1,32
11	Heart	HFD	24,25	32,65	8,40	1,30	2,46	0,41
12	Heart	HFD	24,55	32,35	7,80	0,70	1,62	0,62
13	Heart	HFD	23,7	31,7	8,00	0,90	1,87	0,54
14	Heart	HFD	24,4	32,4	8,00	0,90	1,87	0,54
15	Heart	C	24,2	32,6	8,40	1,30	2,46	0,41
16	Heart	C	24,8	32,25	7,45	0,35	1,27	0,78
17	Heart	C	24,55	32,15	7,60	0,50	1,41	0,71
18	Heart	C	24,3	31,95	7,65	0,55	1,46	0,68
19	Heart	C	26,85	34,95	8,10	1,00	2,00	0,50
20	Heart	C	24,35	32,4	8,05	0,95	1,93	0,52
21	Aorta	C	27,7	32,1	4,40	-2,70	0,15	6,50

Rapport Bax/Bcl-2

			Bax	Bcl2	Bax/Bcl2
1	Heart	C	1,00	1,00	1,00
2	Heart	C	1,23	1,27	0,97
3	Heart	C	1,57	1,07	1,46
4	Heart	C	0,81		
5	Heart	HFD	0,84	0,52	1,62
6	Heart	HFD	1,52	0,78	1,94
7	Heart	HFD	1,07	0,71	1,52
8	Heart	HFD	1,52	0,59	2,57
9	Heart	HFD	0,97	0,45	2,14
10	Heart	HFD	1,62	1,32	1,23
11	Heart	HFD	1,23	0,41	3,03
12	Heart	HFD	1,62	0,62	2,64
13	Heart	HFD	0,64	0,54	1,19
14	Heart	HFD	0,78	0,54	1,46
15	Heart	C	0,57	0,41	1,41
16	Heart	C	1,04	0,78	1,32
17	Heart	C	0,62	0,71	0,87
18	Heart	C	0,55	0,68	0,81
19	Heart	C	0,78	0,50	1,56
20	Heart	C	0,59	0,52	1,15

- HIF- α

			HPRT	HIF1 alpha	ΔCt	$\Delta\Delta Ct$	$2\Delta\Delta Ct$	$1/2\Delta\Delta Ct$
1	Heart	C	24,55	25,95	1,40	0,00	1,00	1,00
2	Heart	C	24,65	26,7	2,05	0,65	1,57	0,64
3	Heart	C	24,55	26,1	1,55	0,15	1,11	0,90
4	Heart	C	24,75	31,6	6,85	5,45	43,71	
5	Heart	HFD	23,7	24,95	1,25	-0,15	0,90	1,11
6	Heart	HFD	24,6	25,8	1,20	-0,20	0,87	1,15
7	Heart	HFD	24,45	25,7	1,25	-0,15	0,90	1,11
8	Heart	HFD	24,85	26,55	1,70	0,30	1,23	0,81
9	Heart	HFD	24,45	25,8	1,35	-0,05	0,97	1,04
10	Heart	HFD	27,55	28,7	1,15	-0,25	0,84	1,19
11	Heart	HFD	24,25	25,75	1,50	0,10	1,07	0,93
12	Heart	HFD	24,55	25,75	1,20	-0,20	0,87	1,15
13	Heart	HFD	23,7	24,85	1,15	-0,25	0,84	1,19
14	Heart	HFD	24,4	25,85	1,45	0,05	1,04	0,97
15	Heart	C	24,2	25,7	1,50	0,10	1,07	0,93
16	Heart	C	24,8	26,6	1,80	0,40	1,32	0,76
17	Heart	C	24,55	25,85	1,30	-0,10	0,93	1,07
18	Heart	C	24,3	25,6	1,30	-0,10	0,93	1,07
19	Heart	C	26,85	28,95	2,10	0,70	1,62	0,62
20	Heart	C	24,35	26,3	1,95	0,55	1,46	0,68

- IGF-1

			HPRT	IGF1	ΔCt	$\Delta\Delta Ct$	$2\Delta\Delta Ct$	$1/2\Delta\Delta Ct$
1	Heart	C	24,55	25,7	1,15	0,00	1,00	1,00
2	Heart	C	24,65	26,3	1,65	0,50	1,41	0,71
3	Heart	C	24,55	25,95	1,40	0,25	1,19	0,84
4	Heart	C	24,75	25,7	0,95	-0,20	0,87	1,15
5	Heart	HFD	23,7	24,25	0,55	-0,60	0,66	1,52
6	Heart	HFD	24,6	24,95	0,35	-0,80	0,57	1,74
7	Heart	HFD	24,45	25,6	1,15	0,00	1,00	1,00
8	Heart	HFD	24,85	24,65	-0,20	-1,35	0,39	2,55
9	Heart	HFD	24,45	26	1,55	0,40	1,32	0,76
10	Heart	HFD	27,55	28,5	0,95	-0,20	0,87	1,15
11	Heart	HFD	24,25	25,05	0,80	-0,35	0,78	1,27
12	Heart	HFD	24,55	25,7	1,15	0,00	1,00	1,00
13	Heart	HFD	23,7	24,75	1,05	-0,10	0,93	1,07
14	Heart	HFD	24,4	25,15	0,75	-0,40	0,76	1,32
15	Heart	C	24,2	26,5	2,30	1,15	2,22	0,45
16	Heart	C	24,8	26,75	1,95	0,80	1,74	0,57
17	Heart	C	24,55	26,8	2,25	1,10	2,14	0,47
18	Heart	C	24,3	25,1	0,80	-0,35	0,78	1,27
19	Heart	C	26,85	27,9	1,05	-0,10	0,93	1,07
20	Heart	C	24,35	25,65	1,30	0,15	1,11	0,90

-IGFR

			HPRT	IGF1R	ΔCt	$\Delta\Delta Ct$	$2\Delta\Delta Ct$	$1/2\Delta\Delta Ct$
1	Heart	C	24,55	27,3	2,75	0,00	1,00	1,00
2	Heart	C	24,65	28,5	3,85	1,10	2,14	0,47
3	Heart	C	24,55	27,55	3,00	0,25	1,19	0,84
4	Heart	C	24,75	25,75	1,00	-1,75	0,30	3,36
5	Heart	HFD	23,7	27,4	3,70	0,95	1,93	0,52
6	Heart	HFD	24,6	27,5	2,90	0,15	1,11	0,90
7	Heart	HFD	24,45	26,55	2,10	-0,65	0,64	1,57
8	Heart	HFD	24,85	27,1	2,25	-0,50	0,71	1,41
9	Heart	HFD	24,45	26,5	2,05	-0,70	0,62	1,62
10	Heart	HFD	27,55	27,85	0,30	-2,45	0,18	5,46
11	Heart	HFD	24,25	28,5	4,25	1,50	2,83	0,35
12	Heart	HFD	24,55	29,1	4,55	1,80	3,48	0,29
13	Heart	HFD	23,7	27,45	3,75	1,00	2,00	0,50
14	Heart	HFD	24,4	28	3,60	0,85	1,80	0,55
15	Heart	C	24,2	26,7	2,50	-0,25	0,84	1,19
16	Heart	C	24,8	26,9	2,10	-0,65	0,64	1,57
17	Heart	C	24,55	27,15	2,60	-0,15	0,90	1,11
18	Heart	C	24,3	27,75	3,45	0,70	1,62	0,62
19	Heart	C	26,85	28,65	1,80	-0,95	0,52	1,93
20	Heart	C	24,35	27,6	3,25	0,50	1,41	0,71

- α MHC

			HPRT	α MHC	ΔCt	$\Delta\Delta Ct$	$2\Delta\Delta Ct$	$1/2\Delta\Delta Ct$
1	Heart	C	24,55	16,95	-7,60	0,00	1,00	1,00
2	Heart	C	24,65	17,25	-7,40	0,20	1,15	0,87
3	Heart	C	24,55	17,65	-6,90	0,70	1,62	0,62
4	Heart	C	24,75	17,45	-7,30	0,30	1,23	0,81
5	Heart	HFD	23,7	18,05	-5,65	1,95	3,86	0,26
6	Heart	HFD	24,6	17,75	-6,85	0,75	1,68	0,59
7	Heart	HFD	24,45	19,15	-5,30	2,30	4,92	0,20
8	Heart	HFD	24,85	18,75	-6,10	1,50	2,83	0,35
9	Heart	HFD	24,45	17,75	-6,70	0,90	1,87	0,54
10	Heart	HFD	27,55	20,75	-6,80	0,80	1,74	0,57
11	Heart	HFD	24,25	19,15	-5,10	2,50	5,66	0,18
12	Heart	HFD	24,55	18,4	-6,15	1,45	2,73	0,37
13	Heart	HFD	23,7	17,25	-6,45	1,15	2,22	0,45
14	Heart	HFD	24,4	18,25	-6,15	1,45	2,73	0,37
15	Heart	C	24,2	17,5	-6,70	0,90	1,87	0,54
16	Heart	C	24,8	18,4	-6,40	1,20	2,30	0,44
17	Heart	C	24,55	17,75	-6,80	0,80	1,74	0,57
18	Heart	C	24,3	16,6	-7,70	-0,10	0,93	1,07
19	Heart	C	26,85	20,7	-6,15	1,45	2,73	0,37
20	Heart	C	24,35	17,6	-6,75	0,85	1,80	0,55

- ICAM-1

			HPRT	aMHC	ΔCt	$\Delta\Delta Ct$	$2\Delta\Delta Ct$	$1/2\Delta\Delta Ct$
1	Heart	C	24,55	16,95	-7,60	0,00	1,00	1,00
2	Heart	C	24,65	17,25	-7,40	0,20	1,15	0,87
3	Heart	C	24,55	17,65	-6,90	0,70	1,62	0,62
4	Heart	C	24,75	17,45	-7,30	0,30	1,23	0,81
5	Heart	HFD	23,7	18,05	-5,65	1,95	3,86	0,26
6	Heart	HFD	24,6	17,75	-6,85	0,75	1,68	0,59
7	Heart	HFD	24,45	19,15	-5,30	2,30	4,92	0,20
8	Heart	HFD	24,85	18,75	-6,10	1,50	2,83	0,35
9	Heart	HFD	24,45	17,75	-6,70	0,90	1,87	0,54
10	Heart	HFD	27,55	20,75	-6,80	0,80	1,74	0,57
11	Heart	HFD	24,25	19,15	-5,10	2,50	5,66	0,18
12	Heart	HFD	24,55	18,4	-6,15	1,45	2,73	0,37
13	Heart	HFD	23,7	17,25	-6,45	1,15	2,22	0,45
14	Heart	HFD	24,4	18,25	-6,15	1,45	2,73	0,37
15	Heart	C	24,2	17,5	-6,70	0,90	1,87	0,54
16	Heart	C	24,8	18,4	-6,40	1,20	2,30	0,44
17	Heart	C	24,55	17,75	-6,80	0,80	1,74	0,57
18	Heart	C	24,3	16,6	-7,70	-0,10	0,93	1,07
19	Heart	C	26,85	20,7	-6,15	1,45	2,73	0,37
20	Heart	C	24,35	17,6	-6,75	0,85	1,80	0,55

-VCAM-1

	HPRT	VCAM1	ΔCt	$\Delta\Delta Ct$	$2\Delta\Delta Ct$	$1/2\Delta\Delta Ct$
C	24,55	31,7	7,15	0,00	1,00	1,00
C	24,65	32	7,35	0,20	1,15	0,87
C	24,55	32,2	7,65	0,50	1,41	0,71
C	24,75	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	
HFD	23,7	31,05	7,35	0,20	1,15	0,87
HFD	24,6	31,55	6,95	-0,20	0,87	1,15
HFD	24,45	30,2	5,75	-1,40	0,38	2,64
HFD	24,85	29,7	4,85	-2,30	0,20	4,92
HFD	24,45	32,2	7,75	0,60	1,52	0,66
HFD	27,55	34,35	6,80	-0,35	0,78	1,27
HFD	24,25	29,3	5,05	-2,10	0,23	4,29
HFD	24,55	29,65	5,10	-2,05	0,24	4,14
HFD	23,7	30,65	6,95	-0,20	0,87	1,15
HFD	24,4	31,65	7,25	0,10	1,07	0,93
C	24,2	32,25	8,05	0,90	1,87	0,54
C	24,8	32,9	8,10	0,95	1,93	0,52
C	24,55	32,1	7,55	0,40	1,32	0,76
C	24,3	32,75	8,45	1,30	2,46	0,41
C	26,85	32,75	5,90	-1,25	0,42	2,38
C	24,35	32,05	7,70	0,55	1,46	0,68

-NFAT

			HPRT	NFATc3	ΔCt	$\Delta\Delta Ct$	$2\Delta\Delta Ct$	$1/2\Delta\Delta Ct$
1	Heart	C	24,60	28,5	3,90	0,00	1,00	1,00
2	Heart	C	25,20	28,75	3,55	-0,35	0,78	1,27
3	Heart	C	25,60	29,2	3,60	-0,30	0,81	1,23
4	Heart	C	25,55	29,65	4,10	0,20	1,15	0,87
5	Heart	HFD	24,35	28	3,65	-0,25	0,84	1,19
6	Heart	HFD	25,10	28,3	3,20	-0,70	0,62	1,62
7	Heart	HFD	25,25	28,8	3,55	-0,35	0,78	1,27
8	Heart	HFD	25,50	29,15	3,65	-0,25	0,84	1,19
9	Heart	HFD	24,80	29,4	4,60	0,70	1,62	0,62
10	Heart	HFD	27,10	29,65	2,55	-1,35	0,39	2,55
11	Heart	HFD	24,80	27,35	2,55	-1,35	0,39	2,55
12	Heart	HFD	25,70	28,9	3,20	-0,70	0,62	1,62
13	Heart	HFD	26,75	30,1	3,35	-0,55	0,68	1,46
14	Heart	HFD	25,20	29,3	4,10	0,20	1,15	0,87
15	Heart	C	24,25	29,35	5,10	1,20	2,30	0,44
16	Heart	C	23,95	29,1	5,15	1,25	2,38	0,42
17	Heart	C	24,65	28,95	4,30	0,40	1,32	0,76
18	Heart	C	24,65	29,7	5,05	1,15	2,22	0,45
19	Heart	C	27,00	31,85	4,85	0,95	1,93	0,52
20	Heart	C	24,60	30,4	5,80	1,90	3,73	0,27

C : Control

HFD : Régime riche en lipides

Les paramètres plasmatiques dans le groupe des témoins (T) et des expérimentés (E)

A t=0 (Initiale)

N°	Gluc mmol/l	Gluc (g/l)	CH(mm/l)	CH(g/l)	Try(mmol/l)	Try(g/l)	LDL(mmol/l)	LDL(g/l)	HDL(mmol/l)	HDL(g/l)	CPK(U/L)
T1	3,4	0,61	1,32	0,51	0,27	0,66	0,34	0,13	0,9	0,35	220
T2	4,19	0,75	0,78	0,30	0,49	0,43	0,13	0,05	0,48	0,19	280
T3	2,79	0,50	1,18	0,46	0,66	0,58	0,21	0,08	0,77	0,30	329
T4	3,14	0,57	1,16	0,45	0,31	0,78	0,26	0,10	0,85	0,33	455
T5	2,6	0,47	1,3	0,50	0,49	0,43	0,31	0,12	0,91	0,35	437
T6	3,6	0,65	1,34	0,52	0,46	0,40	0,21	0,08	1,05	0,41	252
T7	2,7	0,49	3,29	1,27	0,9	0,79	0,98	0,38	0,21	0,08	306
T8	2,3	0,41	1,12	0,43	0,57	0,50	0,07	0,03	0,85	0,33	335
T9	4,97	0,89	1,72	0,67	0,83	0,73	0,3	0,12	1,9	0,74	277
T10	4,97	0,89	1,72	0,67	0,83	0,73	0,3	0,12	1,9	0,74	277
E1	2,55	0,46	1,65	0,64	1,18	0,75	0,49	0,19	0,96	0,37	274
E2	3,56	0,64	1,55	0,60	0,35	0,31	0,4	0,15	1,06	0,41	681
E3	2,85	0,51	1,95	0,75	0,92	0,81	0,46	0,18	1,13	0,44	253
E4	5,55	1,00	1,82	0,70	1,61	0,85	0,16	0,06	1,14	0,44	1023
E5	3,57	0,64	1,33	0,51	0,83	0,73	0,23	0,09	0,74	0,29	281
E6	3,49	0,63	2,07	0,80	1,16	0,55	0,39	0,15	1,16	0,45	282
E7	3,81	0,69	2,35	0,91	1,26	0,85	0,49	0,19	1,36	0,53	275
E8	3,39	0,61	1,79	0,69	0,89	0,78	0,33	0,13	1,09	0,42	647
E9	3,93	0,71	1,97	0,76	0,63	0,55	0,37	0,14	1,31	0,51	551
E10	2,41	0,43	1,86	0,72	1,14	1,00	0,44	0,17	1,01	0,39	193

A t= 4 mois (Finale)

N°	Gluc mmol/l	Gluc (g/l)	CH(mm/l)	CH(g/l)	Try(mmol/l)	Try(g/l)	LDL(mmol/l)	LDL(g/l)	HDL(mmol/l)	HDL(g/l)	CPK(U/L)
T1	8,03	0,36	2,05	0,79	0,76	0,67	0,34	0,13	1,45	0,56	421
T2	3,53	0,64	2,88	1,11	0,97	0,85	0,74	0,29	1,74	0,67	446
T3	3,65	0,66	1,77	0,68	0,56	0,49	0,31	0,12	1,29	0,50	325
T4	6,81	0,34	1,93	0,75	0,54	0,47	0,14	0,05	1,22	0,47	296
T5	4,36	0,78	2,08	0,80	0,63	0,55	0,1	0,04	0,42	0,16	688
T6	3,02	0,54	1,95	0,75	0,64	0,56	0,64	0,25	0,99	0,38	529
T7	2,48	0,45	1,32	0,51	0,27	0,24	0,34	0,13	0,9	0,35	220
T8	4,19	0,75	0,78	0,30	0,49	0,43	0,13	0,05	0,48	0,19	280
T9	3,14	0,57	1,16	0,45	0,31	0,27	0,26	0,10	0,85	0,33	455
T10	2,79	0,50	1,18	0,46	0,66	0,58	0,21	0,08	0,77	0,30	329
E1	1,99	1,45	4,05	1,57	0,71	0,62	1,78	0,69	1,72	0,67	538
E2	2,75	0,50	21,19	8,20	1,04	0,91	16,78	6,49	3,52	1,36	270
E3	4,67	0,84	2,54	0,98	0,9	0,79	13,2	5,11	1,83	0,71	2088
E4	4,25	0,77	3,14	1,22	0,44	0,39	1,52	0,59	1,05	0,41	281
E5	2,73	0,49	6,39	2,47	1,47	1,29	3	1,16	2,99	1,16	1123
E6	3,11	0,56	2,02	0,78	0,42	0,37	0,55	0,21	1,25	0,48	329
E7	3,92	0,71	36,8	14,24	4,95	4,33	30,38	11,76	3,69	1,43	459
E8	2,51	0,45	4,17	1,61	1,08	0,95	1,3	0,50	2,43	0,94	292
E9	3,41	0,61	37,74	14,61	0,51	0,45	35,4	13,70	5,02	1,94	485
E10	3,79	0,68	5,83	2,26	0,53	0,46	2,61	1,01	3,19	1,23	1780

Mesure de l'hypertrophie des cardiomyocytes

Nombre de cellules	Surface des cardiomyocytes (μm^2) dans le groupe contrôle	Surface des cardiomyocytes (μm^2) dans le groupe expérimenté
1	256,61	389,79
2	76,62	391,30
3	99,92	423,72
4	187,69	360,53
5	239,9	361,94
6	279,35	488,59
7	165,25	360,35
8	234,88	424,41
9	265,89	349,23
10	256,63	306,66
11	304,22	317,67
12	234,92	276,19
13	69,11	400,00
14	139,91	229,87
15	209,4	413,64
16	205,26	390,69
17	157,75	341,88
18	226,98	387,50
19	163,42	336,41
20	361,15	290,79
21	200,66	445,19
22	210,31	446,36
23	217,57	291,73
24	190,68	262,30
25	229,28	158,59
26	142,58	199,11
27	145,31	236,69
28	225,27	320,12
29	140,39	295,56
30	123,8	360,71
31	152,85	369,17
32	186,55	265,29
33	210,88	287,11
34	183,81	225,38
35	235,23	375,54
36	127,01	268,52
37	98,07	293,77
38	183,61	213,54
39	290,53	388,57
40	256,3	226,27
41	151,93	392,19
42	123,03	475,11

43	127,45	267,96
44	129,2	255,73
45	147,55	263,14
46	158,23	213,98
47	189,25	201,82
48	127,01	364,75
49	209,87	498,19
50	230,16	253,13
M	189,58	327,13
Ecartype	60,99	81,86
SEM	8,99	11,69

Abstract

Several experimental studies have shown that a high fat diet alters myocardial contractile function leading to heart failure. For this purpose, we proposed to study the effects of lipids –enriched diet on the contractile function of the myocardium in sand rat. For this, we submitted gerbils "sand rat" to a hyperlipidic diet for 16 weeks. At the end of the experiment, the analysis of the plasma profile showed a marked alteration in the lipid parameters associated with an increase in levels of triglycerides, total cholesterol, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol and the LDL / HDL ratio. Furthermore, cell and tissue myocardial analysis showed a change in its architecture in favor of an increase in cardiomyocyte size and installation of interstitial fibrosis and perivascular characteristic of a pathological hypertrophy. On the molecular level, our results showed an alteration expression level of the level of several proteins involved in Ca^{2+} signaling, including SERCA2a, RyR2, and CaMK α MHC, causing impairment of homeostasis calcium and the development of diastolic dysfunction. These alterations are complicated by the installation of an inflammatory reaction and of an apoptotic process marked by increased expression of TNF, IL-1, CAMs including VCAM and ICAM, and markers apoptosis Bax and Bcl-2. Finally, the administration of a high fat diet to rats caused structural alterations of the myocardium, the activation of inflammatory processes, hypertrophy and apoptosis and the altered expression of the protein contraction-relaxation cycle characteristics contractile cardiomyopathy.

ملخص

إن كثير من الدراسات التجريبية قد اظهرت أن التغذية الغنية بالدهون لها تأثير سلبي للغاية على عمل انقباض عضلة القلب التي تؤدي إلى فشل أو عجز القلب. لهذا الغرض اقترحنا القيام بدراسة تقوم على معرفة مدى تأثير التغذية الغنية بالدهون على عمل تقلص القلب عند جرذان الرمل. من أجل ذلك أخضعنا هذه الجرذان "جرذان الرمل" الى غذاء غني بالدهون لمدة 16 أسبوع. عند انتهاء المرحلة التجريبية، تحليل شحوم الدم أظهر ارتفاع في مستوى الدهون الثلاثية، الكوليسترول الإجمالي، الكوليسترول ذو الكثافة المنخفضة والعالية، كذلك نسبة الكوليسترول ذو الكثافة العالية إلى الكوليسترول ذو الكثافة المنخفضة. إضافة إلى هذا، التحليل الخلوي والنسجي لعضلة القلب أظهر كذلك تغيراً في هندسة هذا الأخير خاصة زيادة حجم الخلايا القلبية، ظهور تليف نسيجي وحول الأوعية، والذي يميز ما يعرف بـ **ضخامة** عضلة القلب. في هذه الدراسة سجلنا كذلك تغير تعبير مستوى جينات البروتينات التي تتحكم في دورة التقلص والانبساط والتي تتمثل في اضطراب مضخات الكالسيوم (Serca2a)، ثنائي هيدروبيريدين ، ميوزين ثقيل السلسلة ألفا (MHC- α) والذين يعتبرون أصل إختلال إتران الكالسيوم والذي يؤدي إلى ما يسمى بإعتلال عضلة القلب الارتخائي. هذه الإختلالات تعقدت بمرور وحصول ظاهرة الالتهاب وظاهرة موت الخلوي المبرمج المتمثلة في زيادة تعبير كل من عامل النخر الورمي ألفا (TNF- α)، الأنترلوكين 1- α (IL-1)، جزيئات التصاق الخلية القابلة للذوبان (CAMs) خاصة التصاق بين الخلايا جزيء 1- α (ICAM-1) أو جزيء التصاق الخلايا الوعائية 1- α (VCAM-1) وكذلك علامات الموت الخلوي المبرمج خاصة (Bax, Bcl-2). في النهاية نستطيع القول أن هذا الغذاء الغني بالدهون التي أخضعت له جرذان الرمل قد أحدث اضطراب في بنية عضلة القلب، تنشيط مكانيزمات الإلتهاب ، **ضخامة** عضلة القلب، موت الخلوي المبرمج وكذلك اضطراب في تعبير بروتينات دورة التقلص والإرتخاء، كل هذا أدى إلى حصول ما يعرف بإعتلال عضلة القلب الضخامي.