

TABLES DES MATIÈRES

RÉSUMÉ	iii
ABSTRACT	v
TABLES DES MATIÈRES	vii
LISTE DES TABLEAUX	xii
LISTE DES FIGURES	xiii
LISTE DES ABRÉVIATIONS	xix
DÉDICACES	xxiii
REMERCIEMENTS	xxv
AVANT-PROPOS	xxx

Chapitre 1 : INTRODUCTION GÉNÉRALE..... 1

1.1. Préambule.....	1
1.2. L'insuffisance valvulaire aortique au niveau fonctionnel	1
1.3. L'hypertrophie cardiaque et le remodelage métabolique	2
1.4. La modulation du métabolisme comme cible thérapeutique pour l'hypertrophie cardiaque	2
1.5. Le cœur et la surabondance de substrats; impacts de la diète riche en gras.....	3

Chapitre 2: LE CŒUR ; ORGANE CONTRACTILE ET PRINCIPAL CONSOMMATEUR D'ÉNERGIE 5

2.1. Généralités morphologiques du cœur.....	5
2.1.1. Anatomie macroscopique cardiaque	5
2.1.2. Les valves cardiaques.....	6
2.2. Données structurales et fonctionnelles du cœur.....	7
2.2.1. Le cardiomyocyte	8
2.2.2. Les fibroblastes.....	8
2.2.3. La matrice extracellulaire myocardique.....	9
2.2.3.1. Le collagène.....	9
2.2.3.2. La fibronectine.....	10
2.2.3.3. Les métalloprotéinases matricielles et leurs inhibiteurs.....	10
2.3. L'homéostasie calcique et le couplage excitation-contraction	11

Chapitre 3: LA FONCTION VENTRICULAIRE GAUCHE ET LES TECHNIQUES D'ÉVALUATION 13

3.1. La fonction cardiaque.....	13
3.2. Notions générales de la physiologie cardiaque	14
3.3. Évaluation de la fonction cardiaque.....	15
3.3.1. L'échographie cardiaque	16
3.3.1.1. Évaluation structurale du ventricule gauche.....	16
3.3.1.2. Évaluation de la fonction systolique.....	17
3.3.1.3. Évaluation de la fonction diastolique	18
3.3.2. Le cathétérisme ventriculaire gauche.....	19
3.3.2.1. Évaluation de la fonction systolique.....	20
3.3.2.2. Évaluation de la fonction diastolique	20
3.3.3. La technique de tomographie par émission de positrons et utilité cardiaque.....	20

Chapitre 4 : LE MÉTABOLISME ÉNERGÉTIQUE MYOCARDIQUE EN CONDITIONS SAINES

4.1. Le métabolisme énergétique; généralités	23
4.1.1. Historique	23
4.1.2. L'énergétique myocardique.....	24
4.1.3. La contribution des substrats à la production d'énergie	25
4.2. Le métabolisme myocardique du glucose.....	26
4.2.1. La captation du glucose dans le cardiomyocyte.....	27
4.2.2. La voie de la glycolyse et les enzymes clés de régulation.....	28
4.2.3. L'oxydation du glucose	29
4.2.4. Le turnover du glucose dans le cardiomyocyte	30
4.2.4.1. La voie de biosynthèse des hexosamines.....	30
4.2.4.2. La voie des pentoses phosphates	31
4.3. Le métabolisme myocardique des acides gras.....	31
4.3.1. Les sources des AG.....	32
4.3.2. La captation et le transport des AG dans le cardiomyocyte.....	33
4.3.2.1. Les « <i>fatty acid transport proteins</i> » et les « <i>fatty acid binding protein</i> ».....	33
4.3.2.2. La « <i>fatty acid translocase</i> »; <i>FAT/CD36</i>	34
4.3.3. Le turnover des AG dans le cardiomyocyte	35
4.3.4. Le transport mitochondrial des AG : les CPT.....	36
4.4. La mitochondrie ; centrale énergétique	36
4.4.1. La β -oxydation mitochondriale des AG.....	37
4.4.2. Le cycle de Krebs et la régénération de l'ATP.....	38
4.4.3. La chaîne de transport d'électrons et phosphorylation oxydative.....	39
4.4.4. Le transfert énergétique de la mitochondrie aux sites d'utilisation.....	41
4.4.5. Le découplage mitochondrial	42
4.4.6. Le côté sombre de la mitochondrie: la production des ROS.....	43

Chapitre 5: LES VOIES ET LES MÉCANISMES DE RÉGULATION DU MÉTABOLISME MYOCARDIQUE.....

5.1. Notion de flexibilité et la préférence métabolique cardiaque de substrat.....	45
5.2. Les mécanismes de régulation du métabolisme énergétique à court terme.....	45
5.2.1. La régulation enzymatique; le rôle compétiteur AG-Glu (cycle de <i>Randle</i>).....	46
5.2.2. La régulation hormonale par la voie de l'insuline/PI3K/Akt	47
5.3. Les mécanismes de régulation du métabolisme énergétique à long terme.....	49
5.3.1. L'AMPK : l'acteur moléculaire de l'orientation métabolique	49
5.3.1.1. Généralités.....	49
5.3.1.2. Structure moléculaire et localisation cellulaire de l'AMPK	49
5.3.1.3. Contrôle de l'activité de l'AMPK	51
5.3.1.4. Les rôles physiologiques de l'AMPK	53
5.3.1.5. Rôle de l'AMPK dans le transport et l'utilisation des lipides cardiaques.....	53
5.3.1.6. Rôle de l'AMPK dans le transport et l'utilisation du glucose cardiaque	55
5.3.1.7. Rôle de l'AMPK dans la biogenèse mitochondriale.....	56
5.3.2. Rôle de la voie d'Akt dans la régulation du métabolisme myocardique	56
5.3.3. Rôle de la voie mTOR dans la régulation du métabolisme myocardique	57
5.4. La régulation transcriptionnelle du métabolisme énergétique : rôle de PPAR α	57
5.4.1. La famille des PPARs : isoformes et expression tissulaire	57
5.4.2. Structure des PPARs.....	58
5.4.3. Les ligands des PPARs	60
5.4.4. Le mécanisme d'activation des PPARs.....	61
5.4.5. Régulation de l'activité de PPAR par des modifications post-traductionnelles.....	61
5.4.6. Les ligands de PPAR α	62

5.4.6.1.	Les agonistes naturels de PPAR α	62
5.4.6.2.	Les agonistes synthétiques de PPAR α ; les fibrates	62
5.4.7.	Les rôles et les principales fonctions de PPAR α dans l'organisme	63
5.4.8.	Le rôle de PPAR α dans le cœur.....	64
5.1.1.	Le co-activateur PGC-1	65

Chapitre 6: L'INSUFFISANCE VALVULAIRE AORTIQUE; CONTEXTE CLINIQUE ET MODÈLE EXPÉRIMENTAL

6.1.	Introduction aux valvulopathies.....	67
6.2.	L'insuffisance de la valve aortique	69
6.2.1.	Définition et incidence	69
6.2.2.	La physiopathologie de l'insuffisance aortique.....	70
6.2.3.	Les signes et les symptômes de l'IA	72
6.2.4.	Le diagnostic de l'IA par échocardiographie	73
6.2.5.	Le métabolisme myocardique énergétique dans l'IA	73
6.2.6.	La prise en charge thérapeutique de l'IA.....	74
6.3.	Modèle d'insuffisance aortique.....	76

Chapitre 7: L'HYPERTROPHIE VENTRICULAIRE GAUCHE ET LE REMODELAGE MYOCARDIQUE

7.1.	Le remodelage cardiaque; contexte physiopathologique.....	79
7.2.	Les caractéristiques structurelles et fonctionnelles de l'hypertrophie cardiaque	80
7.3.	L'activation du programme fœtal dans l'hypertrophie cardiaque	82
7.3.1.	La chaîne lourde de myosine	82
7.3.2.	La voie des peptides natriurétiques.....	83
7.4.	Les mécanismes moléculaires impliqués dans l'hypertrophie cardiaque.....	83
7.4.1.	Les facteurs déclencheurs de l'hypertrophie ventriculaire gauche	85
7.4.2.	Les cascades de signalisation stimulatrices de l'hypertrophie cardiaque	86
7.4.2.1.	Les petites protéines G	86
7.4.2.2.	Les protéines kinases	87
7.4.2.3.	Les mitogènes activés par les protéines kinases (MAPK)	87
7.4.2.4.	La voie de JAK-STAT	88
7.4.2.5.	La voie de la protéine kinase B ; PKB/Akt.....	89
7.4.2.6.	La signalisation calcique; la voie de la calcineurine/NFAT.....	90
7.4.3.	La régulation des voies hypertrophiques par les facteurs de transcription.....	92
7.4.3.1.	Les rôles de GSK-3 β dans le cœur	92
7.4.3.2.	Les rôles des facteurs de transcription FoxOs dans le cœur.....	92
7.4.4.	Les voies de signalisation associées à la synthèse de protéines : rôles de mTOR.....	93
7.4.4.1.	Les complexes et les effecteurs de mTOR	93
7.4.4.2.	L'implication de mTOR dans l'hypertrophie cardiaque.....	95

Chapitre 8: LE REMODELAGE DU MÉTABOLISME DANS L'HYPERTROPHIE CARDIAQUE ET POTENTIELS THÉRAPEUTIQUES

8.1.	Le remodelage métabolique myocardique.....	97
8.2.	Les adaptations métaboliques dans le cœur hypertrophié.....	98
8.2.1.	La régulation à la baisse du métabolisme des AG.....	101
8.2.2.	La régulation à la hausse du métabolisme du glucose	101
8.2.3.	L'altération de la capacité mitochondriale.....	102
8.2.4.	La diminution de la contribution à la production d'énergie.....	103
8.3.	Le rôle de l'AMPK dans le cœur hypertrophié.....	104

8.3.1.	L'activation de l'AMPK : une cible thérapeutique potentielle ?.....	105
8.3.2.	Le mécanisme d'action de la metformine	106
8.3.2.1.	La metformine et effets cardiovasculaires.....	107
8.3.2.2.	Le mécanisme d'activation de l'AMPK par la metformine	108
8.3.2.3.	Les effets AMPK-indépendants de la metformine	109
8.4.	Le rôle de PPAR α dans le cœur hypertrophié.....	110
8.4.1.	L'activation de PPAR α : une cible thérapeutique potentielle ?.....	111
8.4.2.	Mécanisme d'action général des fibrates.....	112
8.4.2.1.	Les fibrates et effets cardiovasculaires.....	113
8.4.2.2.	Les effets pléiotropes du fénofibrate.....	113
8.5.	La liaison métabolique entre l'activation de PPAR α et de l'AMPK.....	114

Chapitre 9 : LE CŒUR, L'OBÉSITÉ ET L'IMPACT DE LA DIÈTE RICHE EN GRAS 115

9.1.	L'obésité, la diète et retentissement cardiaque.....	115
9.2.	Les conséquences morphologiques et fonctionnelles cardiaques dans l'obésité.....	116
9.3.	Le phénotype métabolique dans l'obésité et le diabète: mécanismes et conséquences fonctionnelles	118
9.3.1.	Les altérations dans le métabolisme des AG.....	119
9.3.1.1.	L'apport cardiaque en AG	119
9.3.1.2.	La captation cardiaque d'AG dans l'obésité.....	119
9.3.1.3.	Les réserves endogènes de TAG.....	120
9.3.1.4.	La captation mitochondriale des AG.....	120
9.3.1.5.	La β -oxydation des AG.....	121
9.3.2.	Les altérations transcriptionnelles.....	121
9.3.3.	Les modifications des adipokines circulants	122
9.3.3.1.	Le rôle de la leptine.....	122
9.3.3.2.	Le rôle de l'adiponectine.....	123
9.3.4.	La contribution de la β -oxydation dans la signalisation de l'insuline et la pathologie cardiaque 124	
9.3.4.1.	La résistance à l'insuline cardiaque.....	124
9.3.4.2.	La lipotoxicité cardiaque	124
9.3.5.	L'efficacité cardiaque dans l'obésité et le diabète	125
9.4.	Impacts cardiaques de la diète riche en gras.....	126

Chapitre 10 : JUSTIFICATIONS DES ÉTUDES 127

10.1.	Le métabolisme énergétique comme stratégie thérapeutique.....	127
10.1.1.	Les hypothèses de travail.....	128
10.1.2.	Les objectifs	128
10.2.	La prévention nutritionnelle comme stratégie thérapeutique	129
10.2.1.	L'hypothèse de travail	129
10.2.2.	Les objectifs	130
10.2.3.	Les diètes utilisées.....	131
10.2.3.1.	Choix de la diète riche en AG saturés.....	131
10.2.3.2.	Choix de la diète contrôle	131

Chapitre 11 / Article 1: Fenofibrate reduces cardiac remodeling and improves cardiac function in a rat model of severe left ventricle volume overload 133

Résumé.....	134
Abstract.....	135
11.1. Introduction.....	136

11.2. Methods.....	137
11.2.1. Animals	137
11.2.2. Aortic regurgitation.....	137
11.2.3. Echocardiography	137
11.2.4. Analysis of mRNA accumulation by quantitative RT-PCR	138
11.2.5. Enzyme activity determinations.....	138
11.2.6. Immunoblotting.....	139
11.2.7. Statistical analysis.....	139
11.3. Results.....	140
11.3.1. Clinical data and measured heart weight (Table 1).....	140
11.3.2. Echocardiographic data	140
11.3.3. Level of activation of pro-hypertrophic myocardial kinases	143
11.3.4. Myocardial energy metabolism.....	144
11.4. Discussion.....	148
11.5. Study limitations.....	151
11.6. Conclusions.....	151
11.7. References	152

Chapitre 12 / Article 2: Metformin reduces left ventricular eccentric remodeling in experimental volume overload in the rat..... 157

Résumé.....	158
Abstract.....	159
12.1. Introduction.....	160
12.2. Methods.....	160
12.2.1. Animals	160
12.2.2. Aortic regurgitation.....	161
12.2.3. Echocardiography	161
12.2.4. Small animal PET protocol	161
12.2.5. Analysis of mRNA accumulation by quantitative RT-PCR	162
12.2.6. Enzyme activity determinations.....	163
12.2.7. Immunoblotting.....	163
12.2.8. Statistical analysis.....	163
12.3. Results.....	163
12.3.1. Increased myocardial glucose and decreased fatty acid uptake in AR rat myocardium	163
12.3.2. Clinical data and animal characteristics.....	164
12.3.3. Echocardiographic LV remodeling and hemodynamic data.....	165
12.3.4. Markers of LV stress and hypertrophy.....	167
12.3.5. Myocardial extracellular matrix remodeling.....	169
12.3.6. Myocardial metabolism	171
12.3.7. Metformin treatment impact on signaling in AR rats.....	172
12.4. Discussion.....	173
12.5. References	176

Chapitre 13 / Article 3: Chronic high-fat diet-induced obesity decreased survival and increased hypertrophy of rats with experimental eccentric hypertrophy from chronic aortic regurgitation 179

Résumé.....	180
Abstract.....	181
13.1. Introduction.....	182
13.2. Methods.....	182
13.2.1. Animals	182

13.2.2.	Aortic regurgitation.....	183
13.2.3.	Analysis of mRNA accumulation by quantitative RT-PCR	183
13.2.4.	Enzyme activity determinations	183
13.2.5.	Immunoblotting.....	184
13.2.6.	Statistical analysis	184
13.3.	Results	184
13.3.1.	Clinical data and animal characteristics.....	184
13.3.2.	LV hypertrophy markers.....	187
13.3.3.	GSK3 β and FoxO inactivation by the HF diet in eccentric LVH	191
13.3.5.	Cardiac metabolism	192
13.4.	Discussion.....	196
13.5.	Conclusions	200
13.5.	References	201
Chapitre 14 : DISCUSSION GÉNÉRALE		207
14.1.	Le concept du remodelage myocardique et potentiels thérapeutiques métaboliques	207
14.2.	L'intérêt de cibler le métabolisme énergétique dans l'IA.....	208
14.3.	Les impacts du traitement au fénofibrate dans l'IA.....	211
14.3.1.	Le fénofibrate préserve la fonction systolique et empêche la dilatation du VG	212
14.3.2.	Le fénofibrate réduit l'activité des MAPK	213
14.3.3.	Le fénofibrate active PPAR α et restore le métabolisme des AG.....	213
14.4.	Les impacts du traitement à la metformine dans l'IA	215
14.4.1.	La metformine améliore la fonction systolique et empêche la dilatation du VG	216
14.4.2.	La metformine active l'AMPK et inhibe le signal pro-hypertrophique.....	217
14.4.3.	La metformine améliore le métabolisme myocardique dans l'IA.....	218
14.5.	Exploration de l'impact de l'obésité sur l'IA ; rôles de la diète riche en gras.....	219
14.5.1.	La diète riche en gras réduit la survie et amplifie l'HVG sans affecter la fonction systolique..	220
14.5.2.	La diète riche en gras module les voies de signalisation hypertrophiques	221
14.5.3.	La diète riche en gras maintient le métabolisme myocardique	222
14.5.4.	Recommandations diététiques pour la prévention et le traitement de l'IA.....	224
Chapitre 15 : CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES		225
15.1.	Conclusions générales	225
15.2.	Les limitations des études.....	228
15.3.	Les perspectives pour des études futures	229
Références bibliographiques.....		231
Annexes		261

LISTE DES TABLEAUX

<i>CHAPITRE 4</i>		<i>Page</i>
Tableau 4.1	L'apport des substrats dans la production cardiaque d'énergie.	25
<i>CHAPITRE 5</i>		
Tableau 5.1	Distribution et actions des récepteurs activés par les proliférateurs de peroxyosomes (α , β/δ , γ).	58
Tableau 5.2	Protéines cibles et coactivateurs de PPAR α .	64
<i>CHAPITRE 6</i>		
Tableau 6.1	Critères de quantification de l'insuffisance aortique.	74
<i>CHAPITRE 8</i>		
Tableau 8.1	Résumé des principaux changements dans l'oxydation des substrats et la fonction mitochondriale dans divers modèles d'hypertrophie et d'insuffisance cardiaque.	99-100
<i>CHAPITRE 10</i>		
Tableau 10.1	Composition des différentes diètes utilisées dans la troisième étude.	131
<i>CHAPITRE 11</i>		
Table 1	Sacrifice data.	140
Table 2	Echocardiography data.	141
<i>CHAPITRE 12</i>		
Table 1	QuatiTec primer assays used in Q-PCR analysis of gene expression.	162
Table 2	Animals characteristics.	165
Table 3	Echocardiography data.	165
<i>CHAPITRE 13</i>		
Table 1	Biometric and echocardiographic parameters.	187
<i>CHAPITRE 14</i>		
Tableau 14.1	Données de la fonction cardiaque évaluées par la μ TÉP.	209

LISTE DES FIGURES

CHAPITRE 2		Page
Figure 2.1	Schéma du cœur faisant apparaître les quatre cavités, les quatre valves, les artères, les veines, l'épaisseur et le sens de circulation du sang.	6
Figure 2.2	Organisation microscopique du cœur, de la matrice extracellulaire, des myofibrilles et des sarcomères.	7
Figure 2.3	Représentation schématique de l'homéostasie calcique et du couplage excitation-excitation cardiaque.	12
CHAPITRE 3		
Figure 3.1	Récapitulation des divers facteurs impliqués dans la régulation de la fonction cardiaque.	13
Figure 3.2	Représentation de la courbe Pression/Volume permettant l'évaluation de la fonction diastolique et systolique ventriculaire gauche.	15
Figure 3.3	Image en mode TM obtenue par échocardiographie permettant la mesure des diamètres du VG.	17
Figure 3.4	Évaluation de la fonction diastolique par Doppler.	19
Figure 3.5	Technique de la tomographie par émission de positron et caractéristiques des isotopes utilisés.	21
Figure 3.6	Données obtenues par la TEP permettant l'évaluation du métabolisme myocardique in vivo chez le rat.	22
CHAPITRE 4		
Figure 4.1	Schéma récapitulatif des voies classiques du métabolisme cardiaque.	26
Figure 4.2	Illustration schématique des principales voies du métabolisme lipidique et le métabolisme énergétique dans les cardiomyocytes.	32
Figure 4.3	Les réactions et les enzymes impliquées dans le cycle de Krebs.	39
Figure 4.4	Chimiosmose entre la chaîne mitochondriale de transport d'électrons et la phosphorylation oxydative.	40
Figure 4.5	Schéma du mécanisme de transfert d'énergie aux sites d'utilisation par les myofilaments.	42
Figure 4.6	Les dégâts des ROS dans le cardiomyocyte.	44
CHAPITRE 5		
Figure 5.1	Schématisation du mécanisme de contrôle du métabolisme énergétique selon Randle.	47
Figure 5.2	Contrôle par l'insuline des protéines et des enzymes impliquées dans le métabolisme et dans la synthèse protéique dans le cardiomyocyte.	48
Figure 5.3	Structure du complexe de l'AMPK et domaines des différentes sous-unités moléculaires.	50
Figure 5.4	Représentation schématique des différentes formes de l'AMPK.	52
Figure 5.5	Mécanismes d'activation et rôles centraux de l'AMPK.	53
Figure 5.6	Mécanismes de régulation par l'AMPK du métabolisme énergétique cardiaque.	55
Figure 5.7	Structure et organisation fonctionnelle des trois sous-types de PPAR.	59
Figure 5.8	Les ligands des PPARs.	60
Figure 5.9	Complexe d'activation de la transcription des gènes de la β -OX par PPAR α .	61
Figure 5.10	Les actions de PPAR α dans la paroi vasculaire, le foie et le cœur.	63
Figure 5.11	Voies d'activation et contrôle transcriptionnel de la biogenèse et de la β -OX mitochondriales par PGC-1 α .	66
CHAPITRE 6		
Figure 6.1	Les effets d'une dysfonction systolique et diastolique sur les boucles de pression-volume ventriculaire gauche.	68
Figure 6.2	Représentation de l'IA diagnostiquée par Doppler couleur.	69
Figure 6.3	Représentation schématique du remodelage du VG au cours d'une IA sévère.	71
Figure 6.4	Boucle pression-volume en cas d'une IA chronique et aiguë.	73
Figure 6.5	Étapes de création du modèle d'insuffisance aortique sous guidage échocardiographique.	77

CHAPITRE 7		
Figure 7.1	Représentation schématique de la morphologie du cœur après une SP ou SV.	81
Figure 7.2	Les voies de signalisation intracellulaires actuellement connues qui coordonnent la réponse hypertrophique du myocarde.	84
Figure 7.3	Signalisation cellulaire de l'Akt, ses cibles et ses substrats.	90
Figure 7.4	Un modèle décrivant la régulation du signal pro- ou anti-hypertrophique impliquant les voies de la calcineurine/NFAT, et d'Akt, GSK-3 β et FoxO.	91
Figure 7.5	Voie de signalisation de mTOR.	95
CHAPITRE 8		
Figure 8.1	Simplification du métabolisme dans un cardiomyocyte en santé (gauche) et des changements associés à l'hypertrophie (droite).	97
Figure 8.2	Origine et structure de la metformine.	106
Figure 8.3	Mécanismes moléculaires possibles de l'action de la metformine sur la néoglucogenèse hépatique.	109
Figure 8.4	Les principaux mécanismes moléculaires impliqués dans les effets cardioprotecteurs de la metformine.	110
Figure 8.5	Représentation de la structure moléculaire des cinq agents des fibrates.	112
CHAPITRE 9		
Figure 9.1	Représentation des altérations hémodynamiques et métaboliques causées par l'obésité et la consommation de gras saturés et leur retentissement sur le cœur.	116
Figure 9.2	Représentation schématique des conséquences de l'augmentation de l'afflux des AG dans le cardiomyocyte.	118
CHAPITRE 10		
Figure 10.1	Schématisation de notre hypothèse d'une stratégie thérapeutique métabolique dans l'IA.	128
Figure 10.2	Schématisation de notre l'hypothèse de l'impact de la diète riche en gras sur l'IA.	130
CHAPITRE 11		
Fig.1	Typical macroscopic examples of left ventricular hypertrophy and remodeling in specific groups.	141
Fig.2	Fenofibrate treatment effects on stroke volume and cardiac output as evaluated by echocardiography.	142
Fig.3	Up-regulation of hypertrophy markers in AR animals.	143
Fig.4	MAP kinases and AMP kinase activation in AR rats treated or not with Fenofibrate.	144
Fig.5	Fenofibrate treatment effect on cardiac protein content of PPAR α and PGC1 α gene expression.	145
Fig.6	Enzymatic activity of enzymes implicated in myocardial energy metabolism.	146
Fig.7	Evaluation by real-time quantitative RT-PCR of the LV mRNA levels of genes related to cardiac metabolism.	147
CHAPITRE 12		
Figure 1	Myocardial glucose and fatty acid uptakes as well as oxidative metabolism modulation in the LV myocardium of AR rats as evaluated by μ PET.	164
Figure 2	Typical macroscopic examples of left ventricular hypertrophy and remodeling in specific groups.	166
Figure 3	Metformin treatment effects on stroke volume and cardiac output as evaluated by echocardiography.	167
Figure 4	Up-regulation of hypertrophy markers in AR animals.	168
Figure 5	Evaluation by real-time quantitative RT-PCR of the LV mRNA levels of genes related to extracellular matrix remodeling.	169-170
Figure 6	Activity levels of enzymes implicated in myocardial energy metabolism.	171
Figure 7	Evaluation by real-time quantitative RT-PCR of the LV mRNA levels of genes related to cardiac metabolism.	172
Figure 8	MAP kinases, LKB1, AMP kinase and Akt levels of activation in AR rats treated or not with metformin.	173
CHAPITRE 13		
Figure 1	Survival Kaplan-Meier curves of rats with severe chronic aortic valve regurgitation.	185
Figure 2	Heart hypertrophy is worsened by feeding AR rats with high-fat (HF) diet.	186

Figure 3	Evaluation by real-time quantitative RT-PCR of the LV mRNA levels of genes related to LV hypertrophy and extracellular matrix remodeling.	188
Figure 4	The high fat diet impact on LV signaling in AR rats.	189-190
Figure 5	AMPK phosphorylation and cellular sub-localization, GSK3 β and FoxO phosphorylation.	191
Figure 6	Impact of a high-fat diet on FAO in chronic eccentric LV hypertrophy.	193
Figure 7	The high fat diet in AR rats seems to impair the switch from fatty acid to glucose as preferred myocardium energy substrate.	194
Figure 8	The high fat diet impact on myocardial mitochondria.	196
Figure S1	Left ventricular fibrosis, extra-cellular matrix (ECM) remodeling and after 7 months in AR rats fed or not with HF chow.	205
Figure S2	Myocardial peri-vascular fibrosis after 7 months in AR rats fed or not with HF chow.	206
CHAPITRE 14		
Figure 14.1	Quantification du niveau de captage du ¹⁸ FTHA et du ¹⁸ F-FDG dans les 4 parois ventriculaires.	210
CHAPITRE 15		
Figure 15.1	Schéma de synthèse décrivant les effets du traitement au fénofibrate sur l'hypertrophie ventriculaire gauche et le métabolisme myocardique dans l'IA.	226
Figure 15.2	Schéma de synthèse décrivant des effets du traitement à la metformine sur l'hypertrophie ventriculaire gauche et le métabolisme cardiaque l'IA.	227
Figure 15.3	Schéma de synthèse décrivant des effets de la consommation d'une diète riche en gras saturés sur l'hypertrophie ventriculaire gauche et le métabolisme cardiaque dans l'IA.	228
ANNEXES		
Annexe A	Récapitulation schématique de la physiopathologie de l'insuffisance aortique	261
Annexe B	Représentation des principales protéines impliquées dans la cascade des MAPK et leurs effecteurs respectifs.	262

LISTE DES ABRÉVIATIONS

A	
ACC	Acétyl-CoA carboxylase
Acyl-CoA	Acyl-coenzyme A
ADN	Acide désoxyribonucléique
ADP	Adénosine diphosphate
AG	Acides gras
AGCC	AG de chaîne courte
AGCL	AG de chaîne longue
AGCM	AG de chaîne moyenne
AGL	AG libres
AGMI	AG monoinsaturés
AGPI	AG polyinsaturés
AHA	<i>American Heart Association</i>
AICAR	5 aminoimidazol-4-carboxamide-1- β -D-ribofuranoside
AMP	Adénosine monophosphate
AMPK	<i>AMP Activated protein kinase</i>
Ang II	Angiotensine II
ANP	Peptique natriurétique auriculaire
ANT	Adénine nucléotide translocase
ARNm	Acide ribonucléique messager
AT	Récepteur de l'angiotensine II
ATP	Adénosine triphosphate
B	
BNP	Peptide natriurétique du cerveau
C	
Ca ²⁺	Calcium
CaMK	Protéine kinase calcium/calmoduline dépendante
CAT	Carnitine acylcarnitine translocase
CEC	Couplage excitation-contraction
CO ₂	Dioxyde de carbone
CPT	Carnitine palmitoyl-transférase
CR	Chaîne respiratoire mitochondriale
CS	Citrate synthase
CK	Cycle de Krebs
D	
DAG	Diacylglycérol
DC	Débit cardiaque
DT2	Diabète de type 2
DTD	Diamètre télédiastolique du VG
DTS	Diamètre tétésystolique du VG
E	
eEF2K	Facteur d'élongation d'eucaryote kinase
ERK	Extracellular signal regulated kinase
ET-1	Endothéline 1
ETT	Échocardiographie transthoracique
F	

F 2,6 BP	Fructose 2,6-biphosphate
F-6P	Fructose-6-phosphate
FABP	<i>Fatty acid binding protein</i>
FADH	Flavine adénine dinucléotide
FAT/CD36	<i>Fatty acid transporter/CD36</i>
FATBP _{pm}	Plasma membrane FATBP
FATP	<i>Fatty acid transporter protein</i>
Fc	Fréquence cardiaque
FN	Fibronectine
FoxO	Forkhead isotype O
G	
G	Protéine G
G-6P	Glucose-6-phosphate
G6PDH	Glucose-6 déshydrogénase
GATA	<i>GATA binding protein</i>
GLUT	<i>Glucose transporter</i>
GSK-3	Glycogène synthase kinase
H	
HADH	3-hydroacyl-CoA déshydrogénase
HIF	<i>Hypoxia inducible factor</i>
HK	Hexokinase
HTA	Hypertension artérielle
HVG	Hypertrophie ventriculaire gauche
I	
IA	Insuffisance aortique
IC	Insuffisance cardiaque
IECA	Inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'Ang II
IGF-1	Facteur de croissance analogue à l'insuline
IL	Interleukine
IM	Insuffisance mitrale
Iso	Isoprotérénol
J	
JAK	Janus kinase
JNK	c-Jun N-terminal kinase
K	
K	Potassium
KO	Knock-out
L	
LDH	Lactate déshydrogénase
LDL	Lipoprotéines de faible densité
LKB	<i>Liver kinase type B</i>
LPL	Lipoprotéine lipase
MAPK	Kinases activées par les mitogènes
MCAD	<i>Medium chain acyl-CoA dehydrogenase</i>
MCD	Malonyl CoA décarboxylase
MCV	Maladie cardiovasculaire
MEC	Matrice extracellulaire
MEF	Facteur amplificateur de myocytes
Mg ²⁺	Magnesium
MHC	<i>Myosin heavy chain</i>
mi-CK	Créatine kinase mitochondriale

MMP	Métalloprotéinase
mTOR	Mamalian target of rapamcin
N	
Na	sodium
NADH	Nicotinamide adénine dinucléotide
NADPH	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
NCX2a	Échangeur Na ⁺ /Ca ²⁺ , isoforme 2a
NE	Norepinephrine
NFAT	<i>Nuclear factor of activated T cell</i>
NO	Oxyde nitrique
O	
O ₂	Dioxygène
OD	Oreillette droite
OG	Oreillette gauche
OXPHOS	Oxydation phosphorylative
P	
P	Pression
p38	Protéine 38 kDa MAPK
p70S6K	Protéine S6 kinase de 70 kDa
Pa	Pression artérielle
Pcr	Phosphocréatine
PDH	Pyruvate déshydrogénase
PDK	PDH kinase
PE	Phényléphrine
PFK	Phospho-fructo-kinase
PGC	PPAR γ -coactivator
PI3K	Phosphoinositide-3-kinase
PK	Pyruvate kinase
PL	Phospholipides
PPARs	Récepteurs activés par les proliférateurs de peroxysomes
PPRE	PPAR response element
R	
RA	Régurgitation aortique
RAA	Rhumatisme articulaire aigu
RCPG	Récepteurs couplés aux protéines G
ROS	Espèces réactives d'oxygène
RS	Réticulum sarcoplasmique
RVA	Remplacement valvulaire aortique
RXR	Récepteur de l'acide rétinoïque
S	
S6K	Kinase S6 ribosomique
SA	Sténose aortique
Ser	Sérine
SERCA2a	Ca ²⁺ -ATPase sarcoplasmique, isoforme 2a
SP	Surcharge de pression
SRAA	Système rénine angiotensine aldostérone
STAT	Signal transducers and activators of transcription
SV	Surcharge de volume
T	
TA	Tissu adipeux
TAC	Constriction trans-aortique

TAG	Triacylglycérol
TEP	Tomographie par émission de positrons
TG	Triglycérides
TGF- β	Facteur de croissance de transformation β
Thr	Thréonine
TIMP	Inhibiteur tissulaire de MMP
TNF	<i>Tumor necrosis factor</i>
TSC	<i>Tuberous sclerosis complex</i>
TSP	Thrombospondine
Tyr	Tyrosine

U

UCP	Protéine de découplage
-----	------------------------

V

VA	Valve aortique
VD	Ventricule droit
VEGF	Vascular endothelial growth factor
VES	Volume d'éjection systolique
VG	Ventricule gauche
VLDL	Lipoprotéines de très faible densité
Vmax	Vitesse maximale
VO ₂	Volume d'O ₂ consommé
VP	Valve pulmonaire
VT	Valve tricuspide
VTD	Volume de remplissage télédiastolique
VTS	Volume de remplissage télésystolique
4E-BP1	<i>elF4E-binding protein</i>
©WDH	Figure réalisée par Wahiba Dhahri

DÉDICACES

À ma famille!

Maman, je t'aime plus que tout. Si tu savais à quel point tu as été une inspiration pour moi. À quel point tu m'as insufflé une force pour continuer, malgré les épreuves que nous avons vécues ces dernières années avec l'absence de papa. Pour tout l'amour et le soutien que tu m'as apportés, je te remercie énormément!

Mon frerot **Saber** et ma petite sœur **Darine**. La distance ne viendra jamais à bout de la force qui nous unit. Je suis fière de vous, dans tous vos accomplissements et croyez-moi, on va surmonter ensemble toutes les difficultés dans ce monde. Je vous aime beaucoup !

Mes petits **Yassine** et **Fatma**, vous êtes un rayon de soleil dans ma vie et tout ce que j'espère est que Darine ait eu assez de temps pour vous transmettre une parcelle de sa personnalité merveilleuse pour que vous nous le fasses revivre. Yassine, tu es un petit bonhomme merveilleux et le meilleur neveu qu'une tante peut avoir, je t'adore !

Maher et **Naima**, vous êtes deux beau-frère et belle-sœur de rêve. Votre entrée dans la vie de ma sœur et mon frère leur a tant apporté et c'est entre autres pourquoi je vous serai éternellement reconnaissante !

À mon cher oncle **Mohamed Salah Belhedi**, tu étais toujours à mes côtés durant toutes mes années d'études, tu étais un deuxième père pour moi ! Merci beaucoup pour ton soutien et tes encouragements, je te serai à jamais reconnaissante !

À ma Tante **Feïza** ! Tu es plus qu'une grande sœur, jamais je n'oublierai ton soutien pour moi et pour notre famille ! Merci pour ta patience, ta grande générosité et tes chaleureux accueils chaque fois !

À tous les autres membres de ma famille; mes oncles; **Essaid**, **Abdellatif**, **Jamel**, mes tantes; **Mahdia**, **Aziza** et **Sonia** ! Merci beaucoup pour vos encouragements !

À mes meilleures amies !

Spécialement à Haifa Mahjoub, Imen Hamdi, Intisar Ben Othmen, Rihab Bouchareb, Sandra Olarte, Sana Chabbah et Alexandra Auclair ! Vous êtes merveilleuses les filles ! J'ai beaucoup de beaux souvenirs avec chacune de vous ! Bonne continuation à vous aussi!

Une pensée va également à tous ceux qui, tout au long de mon parcours professionnel, grâce à des échanges toujours nourris avec compétence et enthousiasme, m'ont aidé à me construire !

REMERCIEMENTS

Je tiens à adresser mes remerciements les plus chaleureux à tous ceux qui m'ont aidé au cours de la réalisation de ce travail.

À mes Directeurs!

Je tiens à remercier sincèrement mon directeur de recherche le Professeur **Jacques Couët**, et ma codirectrice Dr **Marie Arsenault** de m'avoir accueilli dans votre laboratoire, de m'avoir permis de faire partie de votre équipe de recherche et de m'avoir guidé tout au cours de mes études doctorales.

Je vous suis reconnaissante pour toutes les opportunités que vous m'avez présentées, de la confiance que vous m'avez témoignée et de la liberté d'action que vous m'avez offerte et surtout de m'avoir donné un si beau projet de recherche. Au cours de ces années, votre grande disponibilité, votre rigueur scientifique, votre enthousiasme et vos précieux conseils m'ont permis de travailler dans les meilleures conditions.

Aussi un grand merci, pour votre humanité, votre grande générosité, votre ouverture d'esprit et la patience dont vous avez témoigné lors de la correction et l'élaboration de mes papiers et de ce manuscrit, vous êtes des patrons exemplaires ! Merci beaucoup !

Ce travail est aussi le vôtre, je suis heureuse de pouvoir partager avec vous ce moment, comme nous avons partagé ces années de travail. Merci de votre confiance et de votre patience, et vivement la suite...

Aux Rapporteurs!

Les examinateurs de ma thèse; Dr **Yves Deshaies**, Dr **Mannix Auger-Messier**, Dr **Denis R. Joanisse**, et le directeur de programme de médecine expérimentale; Dr **Richard Larivière**, merci d'avoir bien voulu évaluer ce travail et apporter vos remarques en vue de son amélioration. Merci également d'accepter de le juger aujourd'hui. Soyez assurés de mon admiration et de ma reconnaissance.

Aux professionnelles de recherche!

Élise Roussel et Marie-Claude Drolet : Je vous suis reconnaissante pour votre support technique très intéressant à ma formation et à l'avancement de mes projets et surtout aux beaux moments qu'on a passé dans le laboratoire! Merci pour tout !

Aux membres du groupe de recherche en valvulopathies (GRV)!

Je tiens également à remercier Dr **Philippe Pibarot**, chercheur renommé et directeur de la chaire de recherche sur les valvulopathies. Vous êtes une personne remarquable avec autant d'intelligence, de savoir et de rigueur scientifique, de belles qualités humaines, de gentillesse, et de respect des autres.

Je tiens aussi à remercier les membres du GRV; Dr **Yohan Bossé** et Dr **Frédéric Picard** et mes collègues, en particulier **Marie-Annick Clavel**, pour ses conseils et son encouragement, **Romain Capoulade**, **Abdellaziz Dahou**, **Sandra Olarte**, **Sophie Carter** et **Diala El Husseini**. Nos nombreuses rencontres et discussions étaient assez enrichissantes et motivantes !

Aux collègues du Labo!

Je tiens à remercier beaucoup **Agung Purnama**, pour son aide et son amitié. Je remercie également **Andrée-Anne Bouchard Thomassin** et **Dominic Lachance** pour la formation avec l'appareil d'échocardiographie et **Adnane Zendaoui** pour la préparation de mes traitements au gélo!

Aux techniciens de l'animalerie!

Un gros merci à **Justin Robillard** et **Sébastien Poulin** pour le suivi consciencieux de nos rats ainsi que leur disponibilité et support technique, et surtout pour leur gentillesse !

Aux amis du CRIUCPQ!

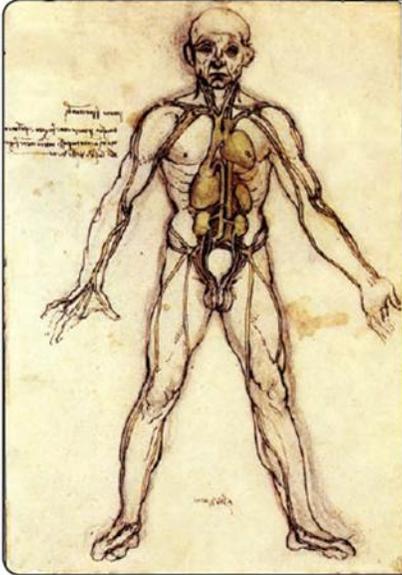
Je remercie infiniment notre secrétaire **Louise Pike** pour sa tendresse, sa gentillesse et sa générosité et surtout la belle ambiance qu'elle nous crée dans nos bureaux, merci pour tout ! T'es une amie exceptionnelle!

Je tiens à remercier également les professionnels de recherche qui m'ont aidé dans beaucoup de mes expériences, en particulier, **Dany Patoine** et **Sylvie Pilote** pour l'ultracentrifugeuse et les conseils pour mes westerns et aussi **Dominique Fourmier**, **Marie-Ève Paré**, **Anick Langlois** et **Annie Dubé** pour les échanges d'équipements et de produits !

J'ai débuté mes études graduées au CRIUCPQ parce que le cœur représentait un mystère pour moi. J'ai acquis un lot inestimable de connaissances relativement à cet organe mais certaines questions le concernant resteront à jamais sans réponse. J'étais tellement intéressée d'enrichir mes connaissances dans ce domaine pour deux principales raisons : la première, par ce que la cause de décès de mon cher papa était une maladie cardiaque, la deuxième était d'avoir l'opportunité de participer, par ces études, à l'amélioration de la vie des patients.

**À LA MÉMOIRE DE MON PÈRE
LAZHER DHAHRI**

*Chaque jour tu es au cœur de mes pensées,
Là où que je sois, peu importe le moment, l'endroit, tu es toujours présent...*



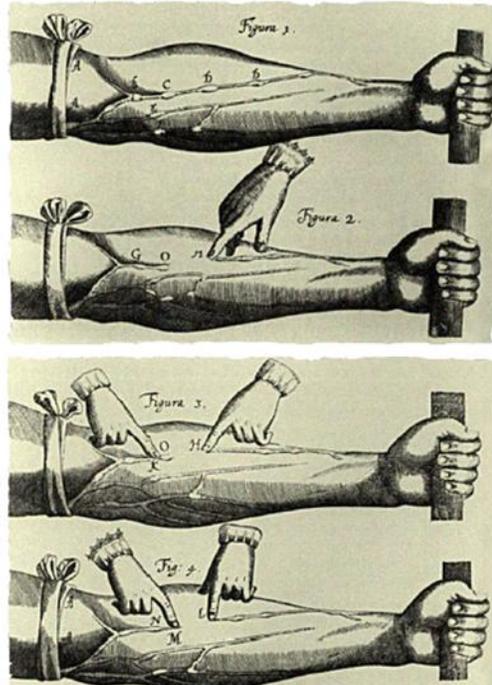
Anatomie du système circulatoire par Léonard de Vinci

À partir du 14^{ème} siècle, nous avons commencé à pratiquer officiellement des dissections et nous devons à Léonard de Vinci parmi les premières planches anatomiques décrivant le cœur et les vaisseaux. Jusqu'au 16^{ème} siècle, la véritable nature de la double circulation n'a pas été établie. Nous pensons encore que les flux de sang pouvaient à certains moments de la journée, s'inverser.



Direction du flux sanguin par William Harvey

Né en 1578, il a effectué les premières démonstrations expérimentales sérieuses de l'unidirectionnalité des flux sanguins. En particulier, en comprimant et relâchant des veines, il a démontré que le sang y circule à sens unique grâce aux valves veineuses.



“La nature est remplie d’une infinité de raisons
dont l’expérience n’a jamais vu la trace”

-Léonard de Vinci-

AVANT-PROPOS

Cette thèse, présentée à la Faculté des études supérieures de l'Université Laval, a été entièrement réalisée au centre de recherche de l'Institut universitaire de cardiologie et de pneumologie de Québec (CRIUCPQ) sous la direction du Docteur Jacques Couët et la codirection du Docteur Marie Arsenault.

Tous les résultats obtenus sont présentés sous forme de manuscrits qui ont fait l'objet d'articles publiés dans des revues scientifiques. Pour chacun de ces manuscrits, le rôle de Dr Jacques Couët (chercheur au CRIUCPQ et professeur à la Faculté de médecine de l'Université Laval) et de Dr Marie Arsenault (cardiologue et chercheure au CRIUCPQ et professeur à la Faculté de médecine de l'Université Laval) a été de concevoir le devis des études, de superviser et coordonner l'ensemble des protocoles et de participer à l'écriture de la version finale de l'article. Cette thèse comporte 3 projets et est présentée en 3 parties principales.

Dans **une première partie** comportant 10 chapitres, nous ferons une présentation générale des connaissances de la littérature.

Le chapitre 1 est un résumé général sur le contexte des études qui ont été réalisées dans cette thèse. Dans le chapitre 2, nous décrirons brièvement les concepts de base concernant le cœur; la morphologie anatomique, structurale et fonctionnelle. Le chapitre 3 représente une brève introduction sur la physiologie et les techniques d'évaluation de la fonction cardiaque sur lesquelles s'appuieront les hypothèses que nous ferons par la suite.

Dans les chapitres 4 et 5, nous envisageons la description du métabolisme énergétique au niveau du myocarde en conditions physiologiques saines (chapitre 4) ainsi que les voies et les mécanismes de sa régulation (chapitre 5). Dans le chapitre 6, une description détaillée de la maladie sur laquelle est fondé notre travail; l'insuffisance aortique, son contexte clinique ainsi que le modèle expérimental utilisé pour l'étude de la SV. Dans le chapitre 7, nous nous concentrerons sur la description de l'HVG dans ses différents niveaux; structural, cellulaire et moléculaire afin de caractériser les changements en lien avec les changements fonctionnels. Il n'existe que très peu de notions concernant l'IA chronique à ce sujet. Un parallèle sera donc effectué avec ce qui est connu dans d'autres types de pathologies ou de surcharges cardiaques ainsi que dans divers modèles expérimentaux.

Le chapitre 8 est un survol général sur les caractéristiques du métabolisme énergétique cardiaque en conditions pathologiques nous permettant de mieux formuler les hypothèses des différentes études de cette thèse. Il est difficile de discuter de tous les effecteurs de signalisation qui régulent les aspects de la réponse hypertrophique cardiaque dans la physiologie normale ou en conditions pathologiques comme dans l'IA. Cependant, nous avons présenté certaines voies bien définies qui semblent intégrer des signaux spécifiques sensibles à l'état métabolique énergétique de la cellule et de les transmettre à des protéines cibles intracellulaires qui sont impliquées dans la régulation de la transcription des gènes et de la synthèse protéique.

Le chapitre 9 représente une revue générale sur l'impact de la surabondance des substrats énergétiques sur le cœur, en particulier le rôle de l'obésité et de la diète riche en gras. Nous proposons dans le chapitre 10 la problématique, les différentes hypothèses pour tenter d'expliquer les impacts que peuvent avoir les interventions pharmacologiques et alimentaires ainsi que les principaux objectifs des 3 projets de cette thèse.

La deuxième partie est dédiée à la présentation des 3 manuscrits, fruit de ce doctorat.

Le premier manuscrit présenté (Chapitre 11) intitulé : « *Fenofibrate reduces cardiac remodeling and improves cardiac function in a rat model of severe left ventricle volume overload* » a été publié dans la revue *Life Sciences* en 2013. Les auteurs sont Wahiba Dhahri, Jacques Couët, Élise Roussel, Marie-Claude Drolet et Marie Arsenault. Ce chapitre constitue les résultats obtenus concernant l'efficacité du fénofibrate dans l'amélioration du métabolisme et de la fonction ventriculaire dans l'IA.

Le second manuscrit présenté (Chapitre 12) intitulé : « *Metformin reduces left ventricular eccentric remodeling in experimental volume overload in the rat* » a été publié dans la revue électronique *Journal of Clinical and Experimental Cardiology* en 2012. Les auteurs sont Wahiba Dhahri, Élise Roussel, Marie-Claude Drolet, Suzanne Gascon, Otman Sarrhini, Jacques A. Rousseau, Roger Lecomte, Jacques Couët et Marie Arsenault. Ce chapitre constitue les résultats obtenus sur l'effet de la deuxième molécule pharmacologique; la metformine dans le traitement de l'IA.

Le troisième manuscrit présenté (chapitre 13) intitulé : « *Chronic high-fat diet-induced obesity decreased survival and increased hypertrophy of rats with experimental dilated cardiomyopathy* » a été publié dans la revue *BMC Cardiovascular Disorders* en 2014. Les

auteurs sont Wahiba Dhahri, Marie-Claude Drolet, Élise Roussel, Jacques Couët et Marie Arsenaault. Cette étude représente les données obtenues de l'impact de la consommation d'une diète riche en gras sur l'évolution de l'IA au niveau fonctionnel et métabolique.

Pour chacun des 3 manuscrits, j'ai participé à l'élaboration du projet de recherche à tous les niveaux en plus d'avoir réalisé la majorité des expérimentations présentées, les échocardiographies et le suivi des animaux. Marie-Claude Drolet a fait toutes les chirurgies d'induction de l'IA aux rats. Élise Roussel a participé à la mise au point des immunobuvardages et des dosages enzymatiques. Pour le manuscrit 2 (chapitre 12), les autres co-auteurs de l'équipe de Dr Roger Lecomte du département de médecine nucléaire à l'université de Sherbrooke ; Suzanne Gascon, Otman Sarrhini et Jacques A. Rousseau ont participé par la réalisation de la technique de tomographie pour l'évaluation in vivo de la fonction et du métabolisme myocardique des animaux IA contrôles.

Dr Jacques Couët a directement supervisé et contribué à toutes les étapes de la réalisation de ce travail.

La troisième partie contient le chapitre 14 qui sera consacré à la discussion générale suivie d'une discussion spécifique pour chacun des manuscrits inclus dans cette thèse, et le chapitre 15, dans lequel nous résumerons les principales contributions présentées dans cette thèse, et proposerons quelques perspectives pour de futurs travaux.

Chapitre 1 : INTRODUCTION GÉNÉRALE

1.1. Préambule

Les cardiopathies valvulaires sont des pathologies qui peuvent être responsables de complications multiples tout en restant souvent asymptomatiques pendant de nombreuses années. En effet, l'hypertrophie ventriculaire gauche (HVG) induite par une surcharge de pression (SP) comme dans la sténose de la valve aortique (HVG concentrique) ou par une surcharge volumique (SV) due à une insuffisance aortique ou mitrale (HVG excentrique) reste une cause de mortalité et de morbidité importante. Sur le plan étiologique: dans les pays industrialisés, l'étiologie dégénérative est devenue la plus fréquente pour les cardiopathies valvulaires, contrairement aux pays en voie de développement où le rhumatisme articulaire aigu (RAA) prédomine toujours. Souvent une conséquence du RAA, l'insuffisance de la valve aortique demeure une valvulopathie très fréquente dans ces pays.

1.2. L'insuffisance valvulaire aortique au niveau fonctionnel

L'insuffisance de la valve aortique est une valvulopathie caractérisée par le reflux anormal du sang de l'aorte dans le ventricule gauche pendant la diastole due à une perte d'étanchéité de cette valve sigmoïde. Pour s'adapter à cette surcharge volumique, le VG doit donc s'hypertrophier et se dilater pour pouvoir éjecter le surplus du volume sanguin et répondre à l'augmentation de la précharge qui lui est imposée.

Cette hypertrophie ventriculaire gauche de type excentrique, au début compensatrice, est caractérisée par une augmentation de la masse cardiaque ainsi que par un ensemble de changements structuraux et moléculaires. Au cours du temps, cette hypertrophie va évoluer et pourra devenir décompensée. Le cœur devient alors incapable de réaliser ses fonctions et une insuffisance cardiaque (IC) apparaît. À l'heure actuelle, l'unique traitement curatif de l'IA demeure une chirurgie de remplacement valvulaire aortique (RVA), d'où la nécessité de développer et de trouver de nouvelles alternatives pour empêcher le développement de cette maladie ou du moins, retarder l'échéance chirurgicale ¹.

1.3. L'hypertrophie cardiaque et le remodelage métabolique

Il a été démontré, il y a quelques années, que parallèlement au remodelage morphologique et fonctionnel durant le développement de l'hypertrophie cardiaque, un remodelage au niveau du métabolisme énergétique est souvent observé². Ce remodelage métabolique est caractérisé par un transfert dans l'utilisation des substrats énergétiques et une réactivation du programme fœtal de l'expression génique. Le cœur a une demande énergétique très élevée et par conséquent doit produire beaucoup d'énergie sous forme d'adénosine triphosphate (ATP) afin de maintenir une fonction contractile appropriée et une homéostasie ionique. En conditions physiologiques normales, le cœur adulte en bonne santé dérive plus de 70 % d'ATP à partir de sa phosphorylation oxydative mitochondriale des acides gras (AG), tandis que le reste est généré à partir de la glycolyse. Bien que le cœur puisse utiliser de nombreux substrats différents pour générer de l'ATP, le cœur adulte sain a une préférence pour les AG en tant que substrat de carburant³. Cependant, plusieurs études ont montré que dans l'hypertrophie, le cœur s'adapte en réduisant son avidité pour les AG tout en augmentant celle pour le glucose.

Malgré qu'il ne soit pas encore clair si ce transfert dans l'utilisation myocardique des substrats représente un mécanisme d'adaptation ou une conséquence de l'altération morphologique et fonctionnelle du cœur pendant l'hypertrophie, de nombreuses études récentes ont proposé que le métabolisme énergétique puisse être une autre cible intéressante pour traiter les maladies cardiovasculaires.

1.4. La modulation du métabolisme comme cible thérapeutique pour l'hypertrophie cardiaque

À partir de cette observation, plusieurs ont suggéré qu'en modulant le métabolisme myocardique en utilisant des agents pharmacologiques ciblant des voies de signalisation impliquées dans son contrôle, un impact sur le développement de l'hypertrophie et une amélioration de la contractilité via une augmentation de la production d'ATP pourraient être obtenus⁴.

Parmi les traitements suggérés, le fénofibrate, un médicament hypo-lipidémiant et activateur puissant d'un récepteur nucléaire, le PPAR α (*peroxisome proliferator activated-*

receptor alpha), impliqué dans la régulation du métabolisme des AG, a montré son efficacité pour améliorer la fonction contractile et le métabolisme énergétique dans plusieurs modèles de surcharge de pression et d'IC⁵⁻⁸, mais aucune étude n'a évalué son impact dans une condition de SV.

L'autre, la metformine, est aussi une molécule qui s'est montrée capable d'activer une autre voie cruciale dans le contrôle du métabolisme énergétique, la voie de l'AMPK (*adénosine monophosphate (AMP) activated kinase*). Il a été montré que l'activation de l'AMPK par la metformine est capable d'améliorer la contractilité et le métabolisme cardiaque dans plusieurs modèles d'hypertrophie cardiaque causée par une SP ou dans l'IC^{9,10} mais les données concernant l'effet de la metformine sur l'HVG dans une situation de SV manquaient.

1.5. Le cœur et la surabondance de substrats; impacts de la diète riche en gras

Malgré les progrès remarquables obtenus grâce à la prévention, aux traitements pharmacologiques actuels et à la chirurgie, les maladies cardiovasculaires (MCV) demeurent encore aujourd'hui une cause majeure de mortalité. Cependant, ces progrès sont menacés par l'épidémie d'obésité et de DT2 qui touche l'ensemble des sociétés dans le monde entre autre le Canada¹¹.

Dans les deux dernières décennies, il est devenu clair que les recommandations diététiques sont un élément clé dans la prise en charge des MCV. De nombreuses données indiquent que certaines habitudes alimentaires peuvent influencer la santé cardiovasculaire et la prévention primaire par la modification des facteurs de risque tels que l'obésité, la dyslipidémie et l'hypertension ainsi que les facteurs impliqués dans l'inflammation systémique, la sensibilité à l'insuline, le stress oxydatif, la fonction endothéliale, la thrombose, et le rythme cardiaque¹¹.

Des données récentes, obtenues chez l'animal et chez l'homme, indiquent que le diabète est associé à des altérations du métabolisme énergétique des cardiomyocytes. Dans le diabète, l'entrée des AG dans les cardiomyocytes est majorée, d'une part, en raison de leur plus grande disponibilité et, d'autre part, de la réduction de l'utilisation du glucose qui accompagne l'insulino-résistance. L'oxydation très largement prédominante des AG est

associée à une augmentation de consommation d'oxygène du myocarde, à une accumulation cellulaire de dérivés lipidiques et au développement d'une insulino-résistance. Les altérations métaboliques des cardiomyocytes au cours du diabète peuvent elles-mêmes être à l'origine d'anomalies de la structure et de la fonction ventriculaires cardiaques ¹².

L'induction de l'obésité ou de l'insulino-résistance par intervention nutritionnelle dans un modèle animal permet de simuler en partie des pathologies humaines. En effet, il existe un certain nombre de similitudes entre les troubles de la fonction cardiaque mis en évidence chez ces différents modèles animaux et ceux qui sont associés au diabète, de même d'ailleurs qu'à l'obésité, chez l'homme. La plupart des diètes utilisées sont hypercaloriques et enrichies en lipides, en glucides ou en lipides et glucides. Elles varient donc par la nature des nutriments apportés, mais également par le pourcentage de calories fournies par ces différents nutriments ¹³.

La majorité des études réalisées sur des modèles expérimentaux de SP ou d'IC ont rapporté des données divergentes quant à l'impact d'une diète riche en lipides. Par ailleurs, à notre connaissance, peu ou pas d'études ont été menées sur leur effets sur la progression de l'HVG causée par une SV chronique comme dans le cas d'une IA et surtout vis-à-vis de la survie.

Aux vues des connaissances existantes sur l'insuffisance valvulaire aortique d'une part, et le rôle crucial du métabolisme énergétique dans le bon fonctionnement cardiaque d'autre part, nous avons alors voulu approfondir notre compréhension de l'effet d'un traitement pharmacologique ciblant deux voies de signalisation métaboliques importantes ainsi que l'impact de l'excès de gras venant de la diète comme modèle d'obésité sur l'évolution de cette pathologie.

Chapitre 2 : LE CŒUR ; ORGANE CONTRACTILE ET PRINCIPAL CONSOMMATEUR D'ÉNERGIE

2.1. Généralités morphologiques du cœur

Premier organe à se former au cours de l'embryogenèse, le cœur est un organe musculaire creux logé à l'intérieur du médiastin et dont la fonction principale est de faire circuler le sang dans l'organisme en agissant comme une pompe par des contractions rythmiques. Il est capable de faire circuler 4 à 5 litres de sang, en permanence depuis la naissance jusqu'à la mort. Le poids du cœur est proportionnel au poids du corps et varie d'une espèce à l'autre en fonction de l'activité de l'espèce considérée. Le cœur humain adulte normal est de 250 g, il est environ de 5 g chez un lapin de 2.5 kg, 0,25 g chez un rat de 300 g et de 0,09 g chez une souris de 20 g¹⁴.

2.1.1. Anatomie macroscopique cardiaque

Le cœur est constitué de deux entités distinctes gauche et droite séparées par une cloison inter-ventriculaire. Le cœur droit est assimilé à la pompe de la circulation pulmonaire qui va éjecter le sang pauvre en oxygène vers la petite circulation alors que le cœur gauche est considéré comme la pompe de la grande circulation et permet de propulser le sang riche en oxygène et en nutriments vers la circulation systémique¹⁴. La *base* présente les orifices des veines caves et des veines pulmonaires. Le sommet est appelé *l'apex*. Les deux cavités supérieures sont les oreillettes (droite (OD) et gauche (OG)) et les deux inférieures; les ventricules (droit (VD) et gauche (VG)) séparés l'un de l'autre par les valves auriculo-ventriculaires. Le VG est la composante anatomique du cœur la plus importante car il assure à lui seul environ 80% de la fonction cardiaque (équivalent à une pompe). Ainsi, bien que toutes les cavités cardiaques puissent être étudiées, l'analyse de la fonction contractile du myocarde se restreint souvent à l'étude du VG. La paroi du VG est d'une épaisseur double ou triple du VD¹⁵ (*voir figure 2.1*).

2.1.2. Les valves cardiaques

Les valvules auriculo-ventriculaires ont la forme d'un entonnoir qui s'enfonce dans le ventricule et dont la base est fixée sur le pourtour de l'orifice. La valve auriculo-ventriculaire droite (tricuspide) présente trois cuspidés. La gauche (valve mitrale (VM)) en présente deux. Les valves artérielles ou sigmoïdes occupent l'orifice de l'aorte (à gauche); la valve aortique (VA) et de l'artère pulmonaire (à droite); la valve pulmonaire (VP) ¹⁵ (voir figure 2.1). Grâce au fonctionnement de ces valves, le sang circule à sens unique dans le cœur, et passe des oreillettes aux ventricules, puis s'engage dans les grosses artères émergeant de la partie supérieure du cœur. Le passage du sang d'une cavité à l'autre dépend de leur ouverture et de leur fermeture en réponse aux variations de la pression sanguine exercées à leur surface.

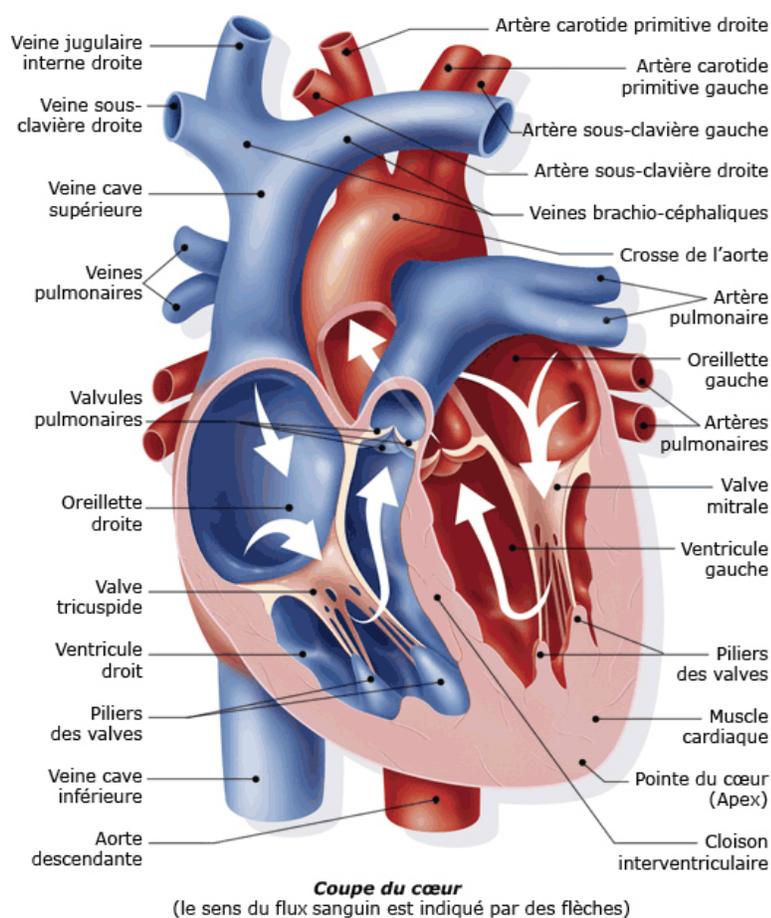


Figure 2.1 : Schéma du cœur faisant apparaître les quatre cavités, les quatre valves, les artères, les veines, l'épaisseur et le sens de circulation du sang (Source : S. Jacopin, "Anatomie du cœur" 2006).

2.2. Données structurales et fonctionnelles du cœur

Les myocytes cardiaques ou cardiomyocytes, responsables de l'activité contractile du cœur, occupent environ 75% du volume myocardique et 20% en nombre des cellules cardiaques. On distingue également d'autres cellules parmi lesquelles les cellules endothéliales, les cellules musculaires lisses et les fibroblastes (*voir figure 2.2*). Ces derniers représentent à eux seuls 70% des cellules cardiaques, et jouent un rôle clef dans la régulation du fonctionnement du cœur normal et au cours du remodelage cardiaque observé lors des pathologies. Chez les mammifères, à la naissance ou peu de temps après, la majorité des cardiomyocytes perdent la capacité à proliférer. Ainsi, la croissance cardiaque se produit principalement par une augmentation de la taille des myocytes ¹⁶.

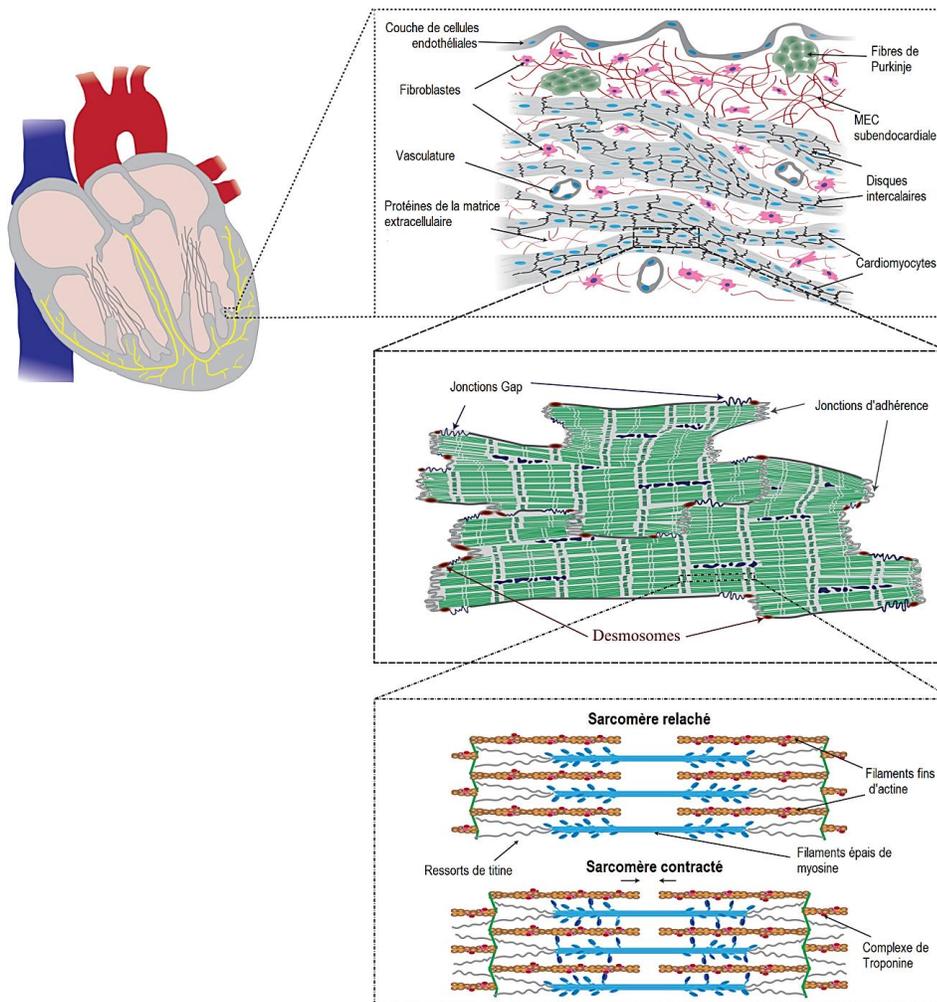


Figure 2.2 : Organisation microscopique du cœur, de la matrice extracellulaire, des myofibrilles et des sarcomères. MEC ; matrice extracellulaire (Image adaptée d'après Simmons C.S et coll. ¹⁷).

2.2.1. Le cardiomyocyte

Les cardiomyocytes ont une forme grossièrement cylindrique d'environ 175 µm de longueur et de 20 µm de diamètre, possédant un noyau central. Leur membrane plasmique ou sarcolemme abrite des protéines telles que les pompes, les échangeurs et les canaux ioniques responsables de la perméabilité ionique ainsi qu'à l'entrée des substrats énergétiques. À l'intérieur, le cardiomyocyte est composé de faisceaux de myofibrilles occupant environ 60% de son volume. Ces dernières contiennent les filaments fins d'actine et les filaments épais de myosine organisés en des sarcomères, l'unité contractile de base du cœur (*voir figure 2.2*). C'est le glissement de ces deux types de filaments l'un par rapport à l'autre qui génère la force à l'origine de la contraction cardiaque ¹⁵.

Les cardiomyocytes sont disposés en une orientation spirale circumférentielle dans le VG, et nécessitent de se contracter simultanément pour que le cœur pompe avec un rythme normal. Ils sont organisés en fibres courtes, ramifiées et fortement striées. Ces cellules sont reliées entre elles par le réseau de collagène contenu dans le tissu conjonctif et sont attachés bout à bout par des anastomoses qui forment des jonctions ; les disques intercalaires ¹⁸ (*voir figure 2.2*). La croissance des cardiomyocytes est dépendante de l'initiation de plusieurs événements en réponse à une augmentation de la charge fonctionnelle, y compris l'activation des voies de signalisation, des changements dans l'expression des gènes, l'augmentation du taux de la synthèse des protéines, ainsi que l'organisation des protéines contractiles dans des unités sarcomériques ¹⁹.

2.2.2. Les fibroblastes

Les fibroblastes cardiaques représentent plus de la moitié des cellules mais seulement 20% du volume et sont présents dans les tissus conjonctifs lâches du myocarde et des valves. Ces cellules permettent la production des molécules constitutives de la matrice extracellulaire (MEC) comme le collagène et d'élastine respectivement impliquées dans la cicatrisation et dans la souplesse du tissu myocardique. Les fibroblastes contrôlent la synthèse/dégradation des protéines de la MEC permettant son renouvellement continu ¹⁹. Cette régulation permet au myocarde de s'adapter aux diverses conditions pour conserver une fonction cardiaque normale et adaptée. Quand la synthèse de la MEC est accélérée par

rapport à sa dégradation ceci engendre une fibrose myocardique contribuant à une rigidification des parois cardiaques. Cependant, la réduction de la synthèse favorise le développement de cardiomyopathies dilatées ou la morphologie présente durant la décompensation en IC.

2.2.3. La matrice extracellulaire myocardique

La MEC cardiaque forme un réseau qui entoure les cellules constitutives du myocarde et assure la cohésion tissulaire ²⁰. Ses composantes principales incluent: des protéines structurelles (comme le collagène et l'élastine), des protéines adhésives (comme la laminine, la fibronectine (FN), collagène type IV et VI), des protéines antiadhésives (comme la ténascine, la thrombospondine et l'ostéopontine), les protéoglycanes, et les enzymes telles les métalloprotéinases (MMP) qui contrôlent l'organisation et la composition de la MEC et d'autres molécules telles que des facteurs de croissance, des cytokines, et des protéases extracellulaires ²⁰. Des liens moléculaires qui existent entre l'exosquelette et le cytosquelette via des complexes de protéines membranaires (intégrines, complexe sarcodystroglycane) constituent un lien physique entre les cellules et la MEC. La dynamique des interactions entre l'extérieur et l'intérieur de la cellule joue un rôle important dans l'activation de multiples voies de signalisation ¹⁹.

2.2.3.1. Le collagène

Dans le cœur adulte, cinq types de collagène (I, III, IV, V, VI) ont été identifiés constituant les principales protéines de structure de la MEC. Le collagène fibrillaire de type I, dont la résistance à la tension est proche de celle de l'acier, est prédominant, représentant plus de 80% du collagène total. Le collagène de type III est également présent dans des proportions importantes (environ 10% du collagène total) ²¹. Dans le cœur hypertrophié et/ou insuffisant, l'accumulation de collagène I-III conduit au développement de la fibrose, élément important du remodelage cardiaque (*voir chapitre 7*). Lors de situations pathologiques, le mécanisme de la dilatation du VG est principalement dû à la dégradation du réseau de collagène par des protéases telles que les MMP permettant le glissement des myocytes les uns par rapport aux autres et favorisant ainsi la dilatation du ventricule ²².

2.2.3.2. La fibronectine

La fibronectine (FN) est secrétée localement par les fibroblastes ²³. Elle est associée à la lame basale et à la MEC. La présence de la FN participe au contrôle de la croissance et à la différenciation cellulaire. Dans le cœur humain défaillant, le niveau d'ARNm de la FN est augmenté, et l'isoforme FN-EDA (*fibronectin-extra domain A*) s'accumule dans les zones de fibrose. Il est établi que les facteurs mécaniques, des facteurs hormonaux comme l'angiotensine (Ang) II, ou les facteurs de croissance activent l'expression du gène FN dans le myocarde ²⁴.

2.2.3.3. Les métalloprotéinases matricielles et leurs inhibiteurs

De nombreuses protéases extracellulaires et membranaires sont les principaux acteurs des processus de remodelage tissulaire. Ces protéases synchronisent la synthèse et la dégradation des protéines constitutionnelles avec l'activité des cytokines et des facteurs de croissance pour créer un environnement approprié permettant le remodelage cellulaire. Les MMP constituent une famille d'endoprotéinases qui dégradent les éléments de la MEC. Elles sont inhibées par des inhibiteurs endogènes spécifiques; les TIMP (*tissue inhibitors of metalloproteases*) ²⁵.

Les MMP jouent un rôle majeur dans le remodelage cardiaque ^{22,25}. Les collagénases (MMP-1, -8, -13) clivent les collagènes en fragments qui constituent le substrat d'autres protéases moins spécifiques, comme les gélatinases (MMP-2/MMP-9), responsables ainsi de la dégradation du collagène IV et de la FN ou de la laminine. À l'état basal, l'activité de la plupart des MMP est basse, leur transcription est activée par des cytokines inflammatoires, des facteurs de croissance ou des hormones telle l'aldostérone ²². Par contre, l'activité des MMP est stimulée lors du vieillissement, de l'hypertension artérielle, du remodelage cardiaque (en particulier dans les cardiomyopathies dilatées ou la cicatrisation post-infarctus) et de l'IC.

2.3. L'homéostasie calcique et le couplage excitation-contraction

Le couplage excitation-contraction (CEC) est un ensemble d'évènements qui convertit un signal électrique en un signal mécanique. Durant la contraction, le potentiel d'action va être le déclencheur du CEC au niveau des cellules pacemakers qui se propage jusqu'aux cellules contractiles tout au long de leur sarcolemme et leur tubules T²⁶. La dépolarisation initiale, d'origine majoritairement sodique, va activer des canaux calciques lents présents à la surface des tubules T entraînant la libération du calcium (Ca^{2+}) contenu dans le réticulum sarcoplasmique (RS). Cette élévation de Ca^{2+} intracellulaire à proximité des RyR (récepteurs de la ryanodine) du RS va provoquer l'ouverture de ces récepteurs-canaux, à l'origine d'une forte libération du calcium des stocks intra-RS vers le cytosol. La fixation du Ca^{2+} sur les myofilaments au niveau de la troponine C, va activer le raccourcissement des sarcomères et donc la contraction des myofibrilles. Durant le relâchement, le calcium cytosolique doit être exporté afin de permettre sa dissociation de la troponine C, entraînant ainsi la relaxation des myofibrilles. Cette diminution de concentration calcique intracellulaire est permise par des pompes ATPase et des échangeurs d'ions²⁷.

En conditions physiologiques, la Ca^{2+} -ATPase sarcoplasmique, isoforme 2a (SERCA2a) va recapter environ 70% du calcium cytosolique, alors que 30% est expulsé par l'échangeur $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$, isoforme 2a (NCX2a) et le récepteur de la ryanodine (RyR2), situé sur la membrane du RS. Seulement 1% de ce calcium est véhiculé par la Ca^{2+} -ATPase sarcolemmale et le MCU (*mitochondrial calcium uniporter*), qui sont considérés comme des mécanismes relativement lents par rapport à la SERCA2a et au NCX. Chaque pompe ATPase constitue donc un des acteurs importants du CEC ce qui montre l'importance de la production de l'ATP²⁷ (voir figure 2.3).

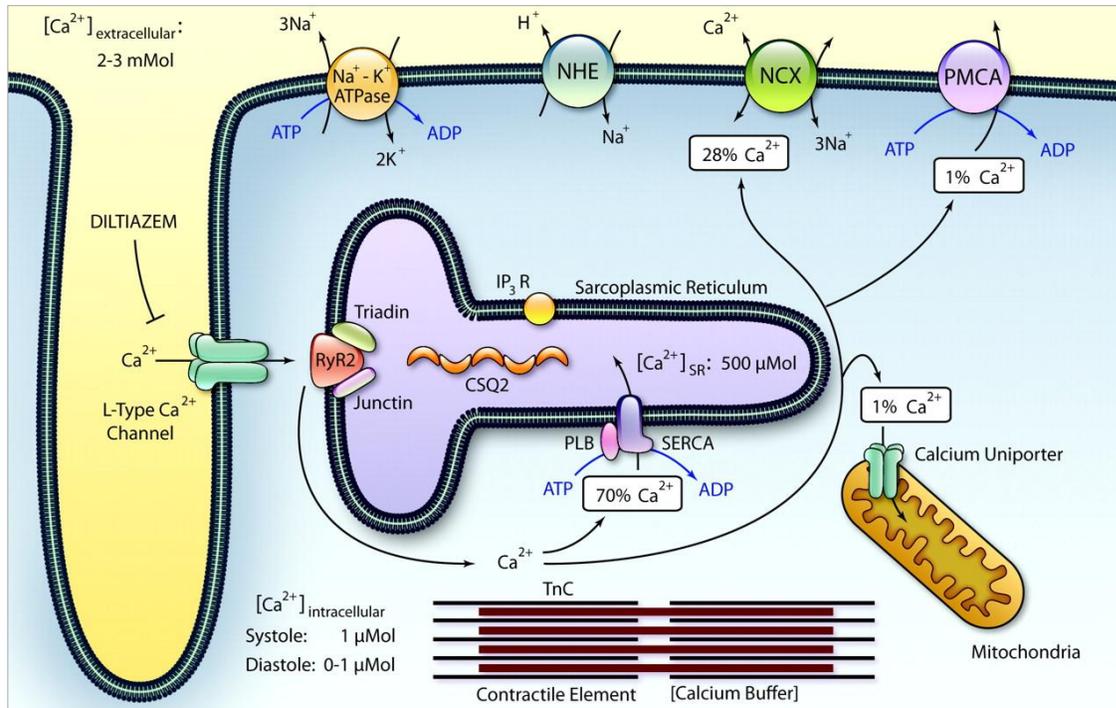


Figure 2.3 : Représentation schématique de l'homéostasie calcique et du couplage excitation-contraction cardiaque. AP ; potentiel d'action, Ica : influx de calcium, NCX ; échangeur Na⁺/Ca²⁺, NHE ; échangeur Na⁺/H⁺, CICR ; Ca²⁺-induced Ca²⁺ release, CSQ2 ; calsequestrine 2, IP₃R ; récepteur de l'inositol triphosphate, RyR2 ; récepteur cardiaque de la ryanodine, SR ; réticulum sarcoplasmique, SERCA ; SR Ca²⁺ ATPase, PLN ; phospholamban, PMCA ; plasma membrane Ca²⁺ ATPase, TnC ; troponine C, (Image tirée d'après Ashrafian H et coll. ²⁸).

Chapitre 3 : LA FONCTION VENTRICULAIRE GAUCHE ET LES TECHNIQUES D'ÉVALUATION

3.1. La fonction cardiaque

La fonction cardiaque consiste principalement à envoyer une quantité de sang adaptée en permanence et de manière synchrone dans les circulations pulmonaire et systémique qui rétroagissent sur son fonctionnement ainsi qu'adapter le débit sanguin qu'il produit aux besoins de l'organisme. Cela signifie que le cœur est capable de s'adapter en force, en puissance et en rapidité. Ces fonctions cardiaques sont assurées grâce à plusieurs éléments, tels le contrôle du rythme cardiaque, le maintien de la pression artérielle (Pa) dans les vaisseaux, la conduction de l'influx nerveux, la force de contraction du cœur, mais aussi un métabolisme énergétique sain (voir figure 3.1).

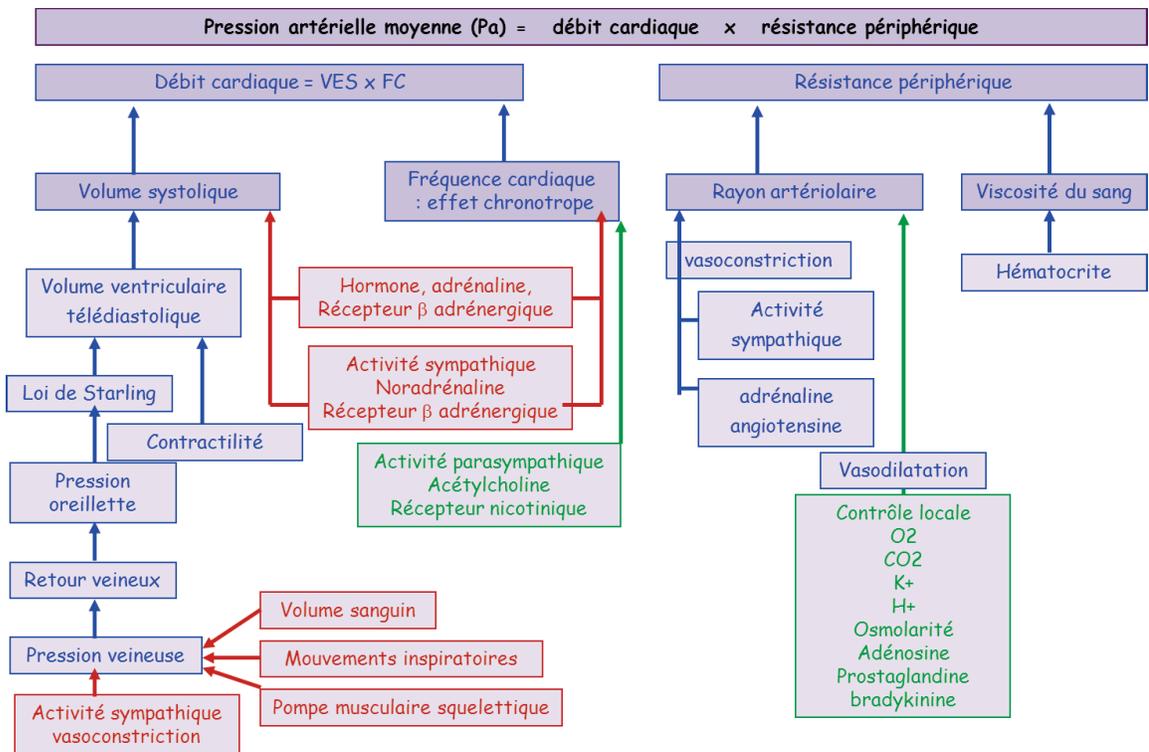


Figure 3.1 : Récapitulation des divers facteurs impliqués dans la régulation de la fonction cardiaque. VES ; volume d'éjection systolique, FC ; fréquence cardiaque (©WDH).

3.2. Notions générales de la physiologie cardiaque

- i) Un cycle cardiaque correspond à un battement complet du cœur de sa génération au début du prochain et comprend la diastole et la systole. Chaque battement comporte cinq grandes étapes. Les deux premières étapes, souvent considérées ensemble comme la phase de remplissage ventriculaire impliquant le mouvement du sang des oreillettes vers les ventricules. Les trois prochaines étapes impliquent la circulation du sang des ventricules dans l'artère pulmonaire (VD) et l'aorte (VG). La première étape ; *la diastase*, se produit quand les VA et VP sont fermées et les VT et VM sont ouvertes et tout le cœur est relâché. La deuxième étape ; *la contraction auriculaire* se produit lorsque l'oreillette se contracte et le sang s'écoule des oreillettes aux ventricules. La troisième étape ; *la contraction isovolumique* a lieu lorsque les ventricules commencent à se contracter, les valves se ferment sans changement de volume. La quatrième étape ; *l'éjection ventriculaire* se produit lorsque les valves s'ouvrent et les ventricules se vident. Au cours de la cinquième étape ; *la relaxation isovolumique*, la pression chute, le sang n'entre pas dans les ventricules qui commencent de se relâcher et les VA et VP se ferment ²⁹.
- ii) La Loi de *Starling* définit le mécanisme par lequel le muscle cardiaque, comme tout autre muscle, augmente sa force de contraction quand il est préalablement étiré. Il y a une relation directe entre le volume diastolique, c'est à dire l'étirement des fibres musculaires, et la force de contraction de la systole suivante ²⁹. La signification de ce mécanisme intrinsèque peut être appliquée *in situ*; une augmentation d'arrivée de sang veineux au cœur (retour veineux) entraîne automatiquement une augmentation du débit cardiaque en distendant le ventricule et en augmentant le volume systolique ³⁰.
- iii) La précharge peut être évaluée à partir de la pression de remplissage ou le volume en fin diastole du VG et correspond au degré d'étirement du muscle cardiaque. Elle correspond aussi à la contractilité des fibres du myocarde. La pression d'étirement du VG immédiatement avant la contraction est la pression en fin de diastole. Cliniquement, la précharge est évaluée par des mesures de la pression artérielle pulmonaire.

iv) La postcharge peut être définie comme la pression qui s'oppose à celle que produisent les ventricules lorsqu'ils éjectent le sang du cœur. Elle est déterminée par la pression artérielle ainsi que le volume et l'épaisseur du VG en fonction de la loi de Laplace. Quand la postcharge augmente soudainement, la capacité contractile diminue ainsi que le volume d'éjection systolique. Selon la loi de Laplace, la tension exercée sur les parois ventriculaires est proportionnelle à la pression intraventriculaire et au diamètre ventriculaire ainsi qu'inversement proportionnelle à l'épaisseur cumulative des parois. Cliniquement, le niveau de la postcharge peut être estimé par la pression artérielle systolique en l'absence de sténose aortique.

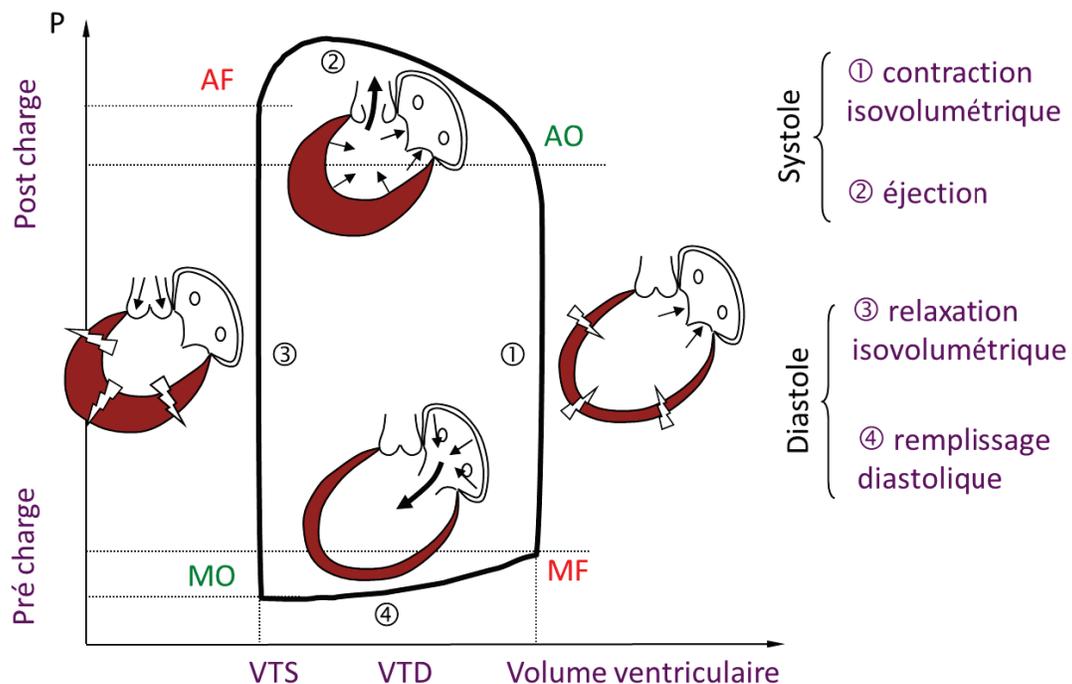


Figure 3.2 : Représentation de la courbe Pression/Volume permettant l'évaluation de la fonction diastolique et systolique ventriculaire gauche. VTS ; volume en fin systole, VTD ; volume en fin diastole, P ; pression, AO ; valve aortique ouverte, AF ; valve aortique fermée, MO ; valve mitrale ouverte, MF ; valve mitrale fermée (©WDH).

3.3. Évaluation de la fonction cardiaque

Il existe différentes techniques comme l'échocardiographie, le cathétérisme, l'angiographie ventriculaire gauche ou encore la coronarographie et l'imagerie, par

résonance magnétique (IRM) ou nucléaire par la technique de tomographie d'émission de positrons (TEP) qui sont utilisées en clinique pour évaluer la fonction cardiaque³¹. Dans ce travail, nous avons utilisé les deux premières techniques et la TEP. Donc, dans une première partie, nous décrivons les paramètres utilisés pour l'évaluation des fonctions systolique et diastolique, et de la morphologie cardiaque, réalisée par échocardiographie et cathétérisme ventriculaire gauche. L'emphase sera mise sur les différents indices et paramètres que nous avons mesurés pour évaluer la fonction cardiaque de nos animaux. La section qui suit survolera l'utilité de la technologie de TEP dans l'analyse de la fonction et du métabolisme myocardique in vivo.

3.3.1. L'échographie cardiaque

L'échocardiographie transthoracique (ETT) reste l'examen de loin le plus utilisé dans l'évaluation de la fonction cardiaque. Son caractère non-invasif lui confère un avantage important comparé au cathétérisme cardiaque. Les examens d'échocardiographie réalisés à l'état basal sont très utiles pour le diagnostic en clinique et fournissent des informations sur l'état fonctionnel du VG, permettant de prendre des décisions thérapeutiques.

3.3.1.1. Évaluation structurale du ventricule gauche

L'échocardiographie en mode TM (Temps-Mouvement) permet l'obtention des diamètres du VG (diamètre télédiastolique, EDD et diamètre télésystolique, ESD), et de l'épaisseur des parois ventriculaires gauches postérieure (PW) et septale (ou antérieure) (SW) en télédiastole et en télésystole mesurés en court-axe et en long-axe (*voir figure 3.3*).

La mesure de l'épaisseur du septum et de la paroi postérieure dans la coupe longitudinale (long-axe) permet d'évaluer la masse ventriculaire gauche. Cette dernière est un indice important de la performance ventriculaire gauche. Une augmentation de ce paramètre correspond souvent à une adaptation du VG à une augmentation de pression ou de volume. L'épaisseur de la paroi est définie par la distance entre le contour épicaudique et endocardique. Elle est généralement obtenue par la méthode dite «*center-line*»³² qui consiste à calculer la distance entre les deux contours suivant une ligne normale à la surface équidistante des deux contours. L'épaisseur relative pariétale (*relative wall thickness*;

RWT) permet de déterminer le type d'hypertrophie (concentrique ou excentrique) et se calcule selon l'équation :

$$\text{RWT} = (\text{dPW} - \text{sSW}) / \text{dPW}$$

dPW et sSW sont les épaisseurs ventriculaires gauches télé-diastolique et télé-systolique, respectivement.

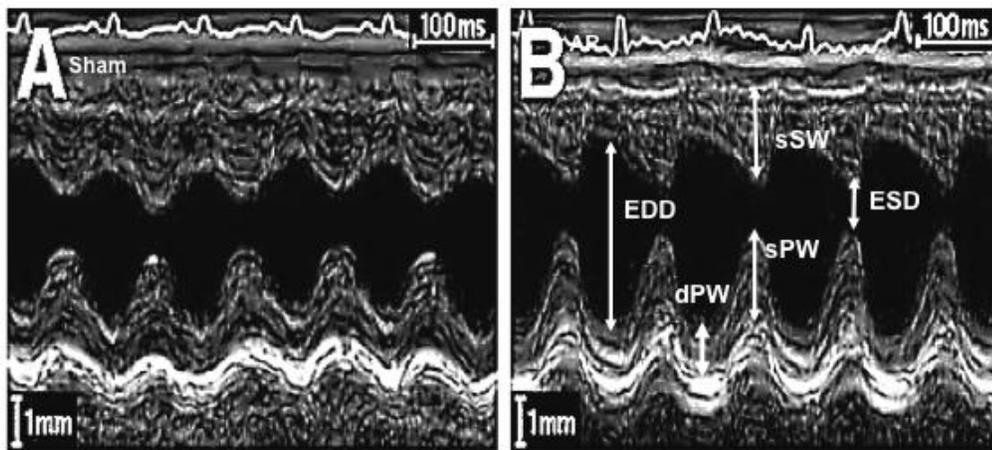


Figure 3.3 : Image en mode TM obtenue par échocardiographie permettant la mesure des diamètres du VG. A : VG normal, B ; VG dilaté. EDD ; diamètre télé-diastolique, ESD ; diamètre télé-systolique, PW ; paroi ventriculaire postérieure, SW ; paroi ventriculaire septale, d ; diastole, s ; systole (© WDH).

3.3.1.2. Évaluation de la fonction systolique

La fraction d'éjection ventriculaire gauche (FE) est le paramètre le plus utilisé pour rendre compte de la contractilité du VG. C'est aussi le paramètre le plus simple puisqu'il ne nécessite pour son calcul que deux volumes particuliers de la cavité cardiaque : le volume en télé-diastole (VTD) et celui en télé-systole (VTS) estimé selon l'équation:

$$\text{FE (\%)} = ((\text{VTD}^2 - \text{VTS}^2) / \text{VTD}^2) \times 100$$

Lorsque la contractilité du VG est efficace, son diamètre en fin de systole est significativement diminué par rapport à celui en fin de diastole pour éjecter son contenu sanguin. La FE est un indice spécifique d'altération de la fonction ventriculaire gauche

quand elle est abaissée. La fraction de raccourcissement (FR) ne nécessite pas la connaissance du volume de la cavité cardiaque, mais le EDD et ESD. Son calcul est complémentaire de celui de la FE :

$$\text{FR} = ((\text{EDD} - \text{ESD}) / \text{ESD})$$

Dans la majorité des cas, ces paramètres sont estimés à partir de données d'ETT bidimensionnelle (2D), mais il ne faut pas perdre de vue que, liés à la fonction contractile du cœur, ils sont de fait de nature tridimensionnelle.

Le débit cardiaque (DC) correspond à la quantité de sang qu'éjecte chaque ventricule en une minute. Il est égal au produit du volume éjecté à chaque battement par la fréquence cardiaque (Fc). L'unité utilisée est le millilitre / minute:

$$\text{DC} = \text{Fc} \times (\text{VTD} - \text{VTS})$$

L'index cardiaque (CI) est égal au quotient du DC par la surface corporelle et s'exprime donc en l/min/m² de surface corporelle. Il permet de comparer le DC de sujets de tailles différentes.

En l'absence complète de toute influence nerveuse ou hormonale, le cœur bat à une fréquence égale à 100-110 bpm. Ce rythme est lié à la fréquence de décharge autonome du nœud sinusal. Cependant, la Fc peut être plus basse ou plus élevée, car le nœud sinusal est placé sous l'influence constante de nerfs et d'hormones. La stimulation des nerfs parasympathiques (vagale) entraîne un ralentissement du cœur: c'est la bradycardie; la stimulation des nerfs sympathiques augmente la fréquence cardiaque: c'est la tachycardie. A l'état de repos l'influence parasympathique est dominante et la Fc de repos est inférieure à la fréquence de décharge du nœud sinusal (70-72 bpm).

3.3.1.3. Évaluation de la fonction diastolique

L'un des principaux paramètres utilisé, dans la plupart des cas, pour évaluer la fonction diastolique du VG est le flux transmitral mesuré par Doppler pulsé, soit le ratio E/A. En effet, le flux diastolique se compose en deux ondes, soit l'onde E pour « *early* » ou précoce qui correspond au remplissage passif de l'OG vers le VG, dû à la différence de pression

entre les deux, et l'onde A pour « atrium » qui correspond au remplissage actif du VG, dû cette fois à la contraction de l'OG. La diastole est donc influencée par les pressions de l'OG de même que celles dues à la relaxation isovolumique et la compliance du VG. Lorsque l'onde E est supérieure à l'onde A et que le temps de décélération se situe entre 160 et 200 millisecondes, la fonction diastolique est considérée normale (voir figure 3.4).

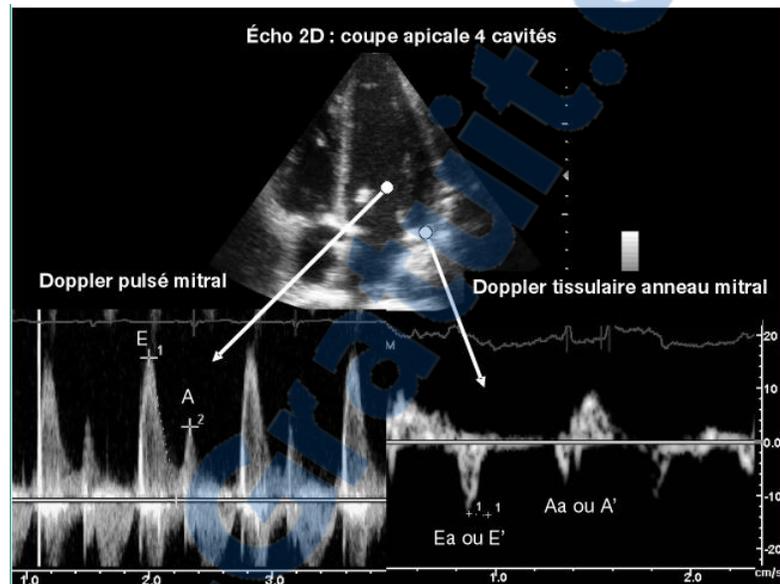


Figure 3.4 : Évaluation de la fonction diastolique par Doppler pulsé (à gauche) et Doppler tissulaire (à droite) guidée par ETT (Image adaptée d'après Arial Cohen, 2012³³).

3.3.2. Le cathétérisme ventriculaire gauche

Le cathétérisme ventriculaire est une procédure qui consiste à introduire une sonde par voie artérielle périphérique permettant un recueil des pressions aortique et ventriculaire gauche. Cette exploration invasive n'est pas forcément nécessaire du fait de la fiabilité des techniques non-invasives. Le cathétérisme n'est utile que dans certaines poly-valvulopathies chez l'homme et lors d'études effectuées chez l'animal afin de pouvoir confirmer les résultats.

3.3.2.1. Évaluation de la fonction systolique

La relation chronologique de la pression en fonction du volume dans le VG forme une boucle formée par les quatre phases du cycle cardiaque (*voir figure 3.2*). Le pic de pression systolique est le premier paramètre systolique mesurable par cathétérisme. L'éjection de sang vers l'aorte est meilleure quand ce pic est plus élevé. Ce pic dépend à la fois de la précharge, de la postcharge et de la Fc. Un deuxième indice largement utilisé est le pic maximum de la dérivée première de la pression intraventriculaire ($-dP/dt_{max}$). Ce dernier survient normalement au cours de la contraction isovolumique (indice pré-éjection) et est donc peu influencé par la postcharge, la VA étant alors fermée. Cependant, il est très dépendant de la précharge et de la Fc (renforcement positif lorsque l'un des deux ou les deux paramètres augmentent) ; il ne doit donc pas être considéré comme un indice pur de contractilité.

3.3.2.2. Évaluation de la fonction diastolique

A l'instar du dP/dt_{max} , le dP/dt_{min} (ou $-dP/dt$) caractérise la chute de la pression ventriculaire gauche pendant la diastole. Il survient habituellement au moment de la fermeture de la VA ou juste après; c'est donc un indice de relaxation active qui dépend des conditions de charge et de la Fc. Les valeurs normales sont de l'ordre de celles du dP/dt_{max} (en négatif) avec également une déviation standard importante.

3.3.3. La technique de tomographie par émission de positrons et utilité cardiaque

La tomographie par émission de positrons (TEP) est une technique d'imagerie nucléaire qui permet de révéler la façon dont les tissus et les organes fonctionnent, utilisant une substance radioactive; un traceur. Cette méthodologie permet, tant chez l'animal que l'humain, l'étude du métabolisme énergétique *in vivo* comme le cœur³⁴. Le 18F-déoxyglucose (¹⁸FDG) est un analogue du glucose faiblement métabolisé au-delà de sa phosphorylation par l'hexokinase ou la glucokinase, son absorption reflète la captation du glucose par les cellules du myocarde et est donc un marqueur de substitution de l'utilisation du glucose au sein du cœur. L'acide 14-R,S-18F-6-thia-heptadécanoïque (¹⁸FTHA), un

analogue des AG à chaîne longue dont la β -oxydation est bloquée, reflète l'utilisation lipidique dans le cœur^{35,36} (voir figure 3.5).

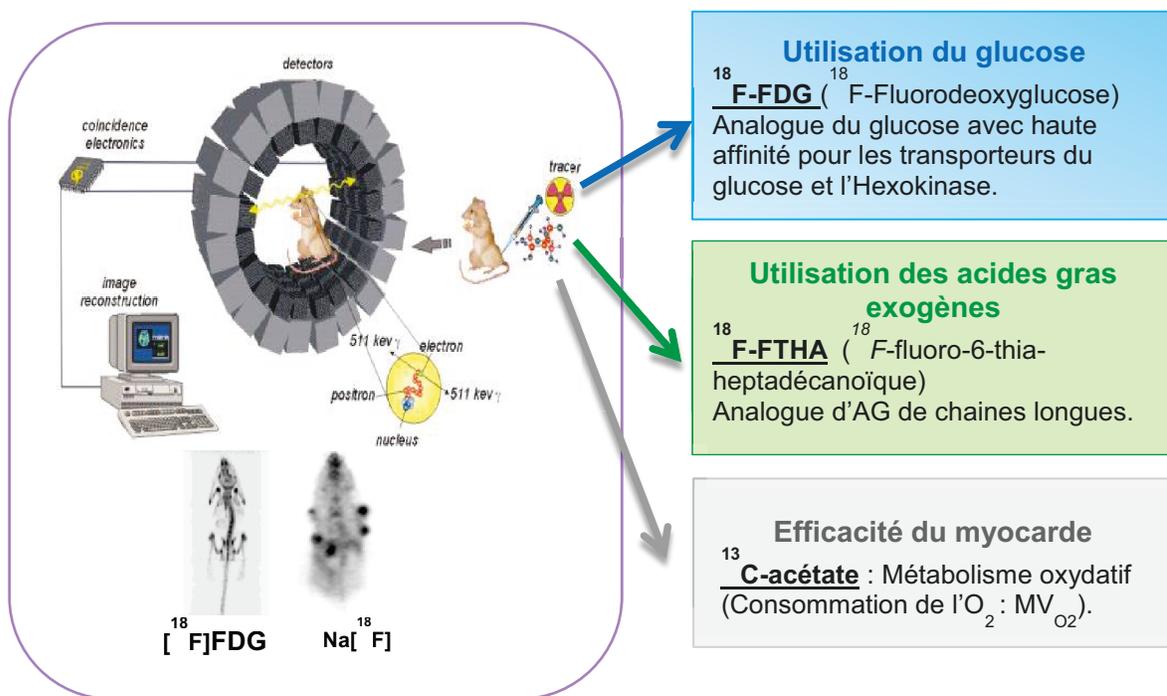


Figure 3.5 : Schéma de la technique de tomographie par émission de positron et caractéristiques des isotopes utilisés (©WDH).

Ceci nous permet, grâce à une modélisation pharmacocinétique particulière du radio-isotope utilisé, d'en déterminer soit le captage tissulaire net, soit le métabolisme oxydatif et non oxydatif. Dans certains cas, on peut aussi mesurer l'index de flux sanguin ou la vitesse de production tissulaire d'un métabolite du traceur administré, comme le ¹¹CO₂ produit à partir du ¹¹C-acétate. Aussi, ce dernier traceur reflète indirectement la consommation d'O₂. À cet égard, grâce à une combinaison de différents traceurs TEP tels que le ¹¹C-acétate, le ¹⁸F-FDG ainsi que le ¹⁸F-FTHA, nous pouvons mesurer le flot sanguin, le métabolisme oxydatif ainsi que l'utilisation des AG libres et du glucose par le cœur chez notre modèle. De plus, à l'aide de cette technique nous pouvons déterminer les volumes ainsi que la fonction ventriculaire cardiaque gauche *in vivo* (voir figure 3.6).

Cardiac PET Imaging in Rat with LabPET™

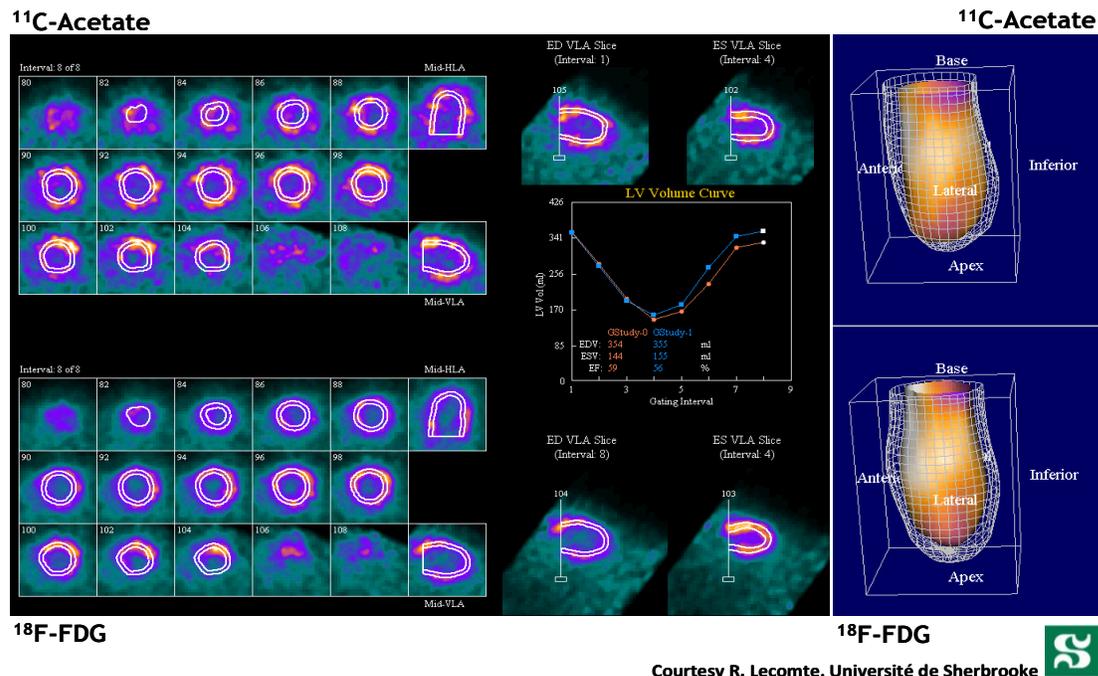


Figure 3.6: Données obtenues par la TEP permettant l'évaluation de la fonction et du métabolisme myocardique *in vivo* chez le rat (Courtoisie de Dr Roger Lecomte, Université de Sherbrooke).

Chapitre 4 : LE MÉTABOLISME ÉNERGÉTIQUE

MYOCARDIQUE EN CONDITIONS SAINES

4.1. Le métabolisme énergétique; généralités

Pratiquement toutes les fonctions cellulaires énergie-dépendantes sont réalisées grâce à l'utilisation de l'ATP. La capacité de la cellule à équilibrer entre la production et la consommation d'ATP désigne souvent la différence entre la survie et la mort cellulaire.

Le rôle central de l'ATP dans le fonctionnement des protéines permettant la contraction permanente du cœur explique la nécessité d'un apport constant en énergie^{37,38}. Les cardiomyocytes ne possèdent pas d'importantes réserves de substrats nécessaires pour former les phosphates à haute énergie³⁷. Par conséquent, le cœur doit s'approvisionner en substrats exogènes qui seront transportés dans les cardiomyocytes afin d'être catabolisés pour produire de l'ATP. Pour cette raison, le transport en continu de substrats tels que des AG, le glucose et le lactate dans les cardiomyocytes est un élément clé du métabolisme énergétique cardiaque.

Dans des conditions physiologiques normales, cette production d'ATP est remplie presque entièrement (>95%) par la phosphorylation oxydative mitochondriale^{37,38}. Plus précisément, l'oxydation des AG est responsable de la génération de 50 à 70% de l'ATP dans un cœur adulte normal alors que seulement 20 à 30% de l'énergie fournie est dérivée de l'oxydation du glucose, et moins de 5% d'autres sources (i.e. lactate, acides aminés, corps cétoniques)³⁷⁻³⁹. Dans certaines conditions comme pendant un exercice physique intense ou lors d'une élévation brutale de la glycémie, l'utilisation du glucose peut momentanément prendre une place plus importante.

4.1.1. Historique

Grâce aux expériences menées par *Oscar Langendorff* à la fin du 19^{ième} siècle, on sait que le myocarde utilise des nutriments énergétiques et l'oxygène pour maintenir sa fonction contractile via la circulation coronarienne, en lien étroit avec le métabolisme oxydatif⁴⁰. À

l'aide d'un modèle de perfusion de cœur de rat *ex vivo* et selon le mode *Langendorff*, Evans et coll. ont conclu, par la suite, dans les années 1960, que le cœur utilise comme substrats énergétiques des AG et des glucides ⁴¹. Pendant ce temps, il a été établi que les mécanismes de régulation du métabolisme oxydatif étaient du type allostérique, à court terme. Une nouvelle hypothèse a été proposée depuis ⁴². Selon cette hypothèse, chaque altération du métabolisme énergétique secondaire à des changements dans l'expression génique ou protéique d'une enzyme métabolique provoque aussi des altérations de la fonction contractile du cœur.

Aujourd'hui, il est admis que le cœur est un organe omnivore et flexible, c'est-à-dire qu'il utilise une grande gamme de substrats pour sa production d'énergie et qu'il modifie ses choix en fonction des conditions physiologiques ⁴³. Cette modification dans le choix des substrats résulte de différents stimuli à court terme, tels que la disponibilité des substrats, l'apport en oxygène et la charge de travail, mais aussi à long terme, tels que le changement d'expression de gènes métaboliques via des cascades de signalisation (*voir chapitre suivant*). Un cœur sain est, par conséquent, dépendant de cette flexibilité métabolique pour maintenir sa fonction contractile adaptée à sa demande énergétique constante.

4.1.2. L'énergétique myocardique

Le cœur est l'organe le plus consommateur d'énergie. Le cœur humain sain est une pompe très efficace qui propulse ~5 L/min de sang, totalisant >7000 L/jour et >2600000 L/année ⁴⁴. Pour effectuer ce travail, le myocarde hydrolyse ainsi une quantité importante d'ATP (~30 $\mu\text{mol/g}$ de poids humide⁻¹/min⁻¹ au repos; >6 kg d'ATP par jour) produit par transfert de l'énergie chimique des nutriments pris de la circulation sanguine par les myocytes ⁴⁵. Étant donné que dans les conditions normales, ses réserves cardiaques sont assez faibles (5 $\mu\text{mol/g}$ de poids humide) ⁴⁰ et que le turnover du pool d'ATP myocardique est d'environ 10 secondes, le cœur doit ainsi produire une quantité suffisante d'ATP pour maintenir sa contractilité et s'adapter rapidement aux changements physiologiques et à la disponibilité des différents substrats. Le renouvellement structurel extracellulaire et intracellulaire se produit rapidement à partir d'un approvisionnement régulier en acides aminés, des lipides et carbohydrates. D'un point de vue métabolique, le myocarde est alors

considéré comme un tissu «omnivore», car il peut oxyder simultanément les AG et le glucose et dans des proportions variables ⁴⁶.

4.1.3. La contribution des substrats à la production d'énergie

D'un point de vue énergétique et comparativement au glucose, les AG sont des substrats plus efficaces, puisque, pour une même quantité de substrats oxydés, les AG produisent une plus grande quantité d'ATP. Par contre, si l'on considère la dépense en oxygène pour leur oxydation, le glucose est un substrat plus efficace que les AG qui nécessitent 10% plus d'oxygène pour être oxydés ⁴⁷. Sur 80% de la consommation en O₂ couplée à la synthèse de l'ATP, environ 30% sont utilisés pour la synthèse protéique, 25% par la Na⁺-K⁺-ATPase, environ 8% par les Ca²⁺-ATP-ases et 10% pour la gluconéogenèse (voir tableau 4.1).

Tableau 4.1 : L'apport des substrats dans la production cardiaque d'énergie (© WDH).

Substrat énergétique	Contribution à la production totale d'énergie (%)	Situations dans lesquelles ce substrat est préféré	Principales enzymes impliquées dans le métabolisme
Acides gras	50-70	Augmentation des besoins énergétiques, conditions de jeûne	Transporteurs d'AG (FAT/CD36); carnitine palmitoyltransférase-1; enzymes de la β-oxydation
Glucose	10-30	IC, cardiomyopathies, ischémie	GLUT-1 et 4; phosphofructokinase-1; pyruvate déshydrogénase
Lactate	<1-40	Exercice	Lactate déshydrogénase
Acides aminés	<1-5	Catabolisme de protéines	Aminotransférases
Corps cétoniques	<1-40	Jeûne	β-hydroxybutyrate déshydrogénase
Éthanol	<1-5	Aucune	Acétyl-CoA synthase

Le produit final; l'acétyl-CoA (molécule de 2 carbones) de l'oxydation des différents substrats, via différentes voies métaboliques, lesquelles seront discutées ci-après, va ensuite entrer dans le cycle de Krebs (CK) pour y être oxydé. Ce sont les équivalents réduits produits par le CK, la β-oxydation (β-OX) des AG, la glycolyse et l'oxydation du pyruvate et du lactate (le nicotinamide adénine dinucléotide (NADH) et la flavine adénine dinucléotide (FADH₂)) qui vont par la suite transporter des électrons à la chaîne respiratoire (CR) où est produit l'ATP à partir de l'adénosine diphosphate (ADP) par phosphorylation oxydative (voir figure 4.1).

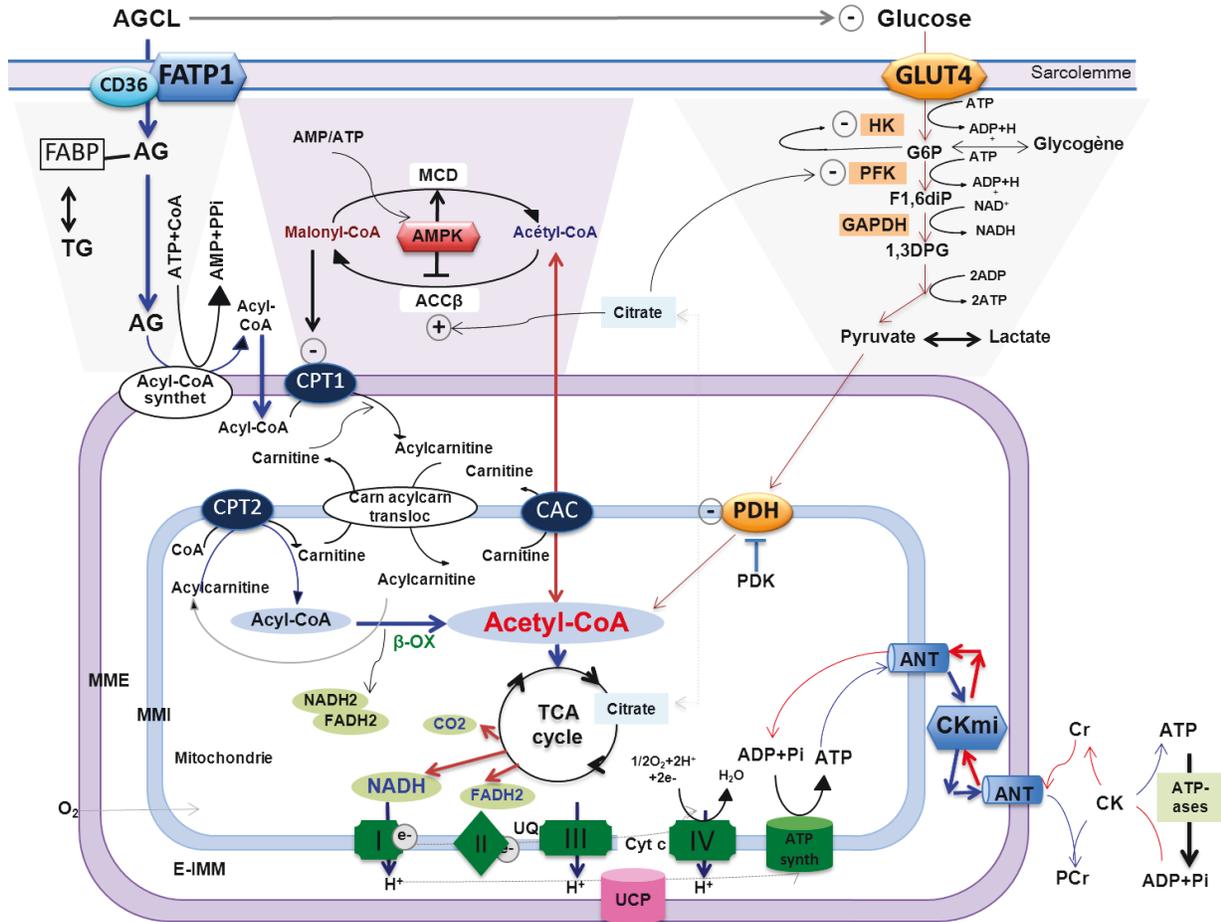


Figure 4.1 : Schéma récapitulatif des voies classiques du métabolisme énergétique cardiaque (détails dans le texte) (© WDH).

Afin de mieux comprendre le fonctionnement du métabolisme cardiaque, nous aborderons dans les sections suivantes les principales étapes impliquées dans la production d'énergie ainsi que le rôle de la mitochondrie dans des conditions physiologiques normales. Les informations présentées ici sont tirées de nombreux ouvrages et articles de revue⁴⁸⁻⁵⁴.

4.2. Le métabolisme myocardique du glucose

Le métabolisme du glucose est essentiel pour le cardiomyocyte pour deux raisons. D'une part, une petite quantité d'ATP peut être obtenue du métabolisme du glucose même en absence d'oxygène par la production anaérobie de lactate, par exemple pendant une ischémie. Clairement insuffisant pour assurer la fonction cardiaque, cet ATP permet

toutefois la survie des cardiomyocytes en attendant une possible reperfusion. D'autre part, l'ATP obtenu de la glycolyse alimente prioritairement les pompes membranaires qui entretiennent les gradients de Na^+ , de K^+ et Ca^{2+} à travers la membrane cellulaire ⁵⁵. L'oxydation du glucose se déroule selon deux voies métaboliques, i) la glycolyse ou l'oxydation anaérobie et, ii) l'oxydation mitochondriale en aérobie.

4.2.1. La captation du glucose dans le cardiomyocyte

La majorité du glucose métabolisé par le cœur vient du glucose repris de la circulation par les transporteurs de glucose (GLUT) qui sont principalement les deux isoformes GLUT1 et GLUT4 ⁵⁶. GLUT1 est généralement localisé à la membrane plasmique et est responsable de l'entrée basale du glucose, alors que GLUT4 est transloqué des réserves intracellulaires vers le sarcolemme en réponse à la stimulation par l'insuline, la contraction ou l'ischémie. Comme la concentration intracellulaire de glucose est normalement faible, les transporteurs de glucose facilitent le mouvement de glucose selon un gradient de concentration ⁵⁷. GLUT1 est l'isotype prédominant pendant la vie fœtale, qui devient de moins en moins exprimé au cours de la vie adulte, quant à GLUT4, il subit le processus inverse et devient le transporteur dominant dans le cœur adulte ⁵⁸.

En l'absence de stimulation par l'insuline, la majorité (>90%) de GLUT4 est située principalement dans des organites intracellulaires, y compris le réseau de Golgi, des endosomes et des vésicules de stockage sensible à l'insuline ⁵⁹.

Dans le cœur, plusieurs facteurs, autres que les concentrations de glucose circulant et de l'insuline, peuvent influencer son entrée dans la cellule, y compris la disponibilité d'autres substrats énergétiques, la stimulation aux catécholamines, l'AMPK, la charge de travail cardiaque, l'exercice et l'hypoxie / ischémie ^{49,60,61}. Les mécanismes à l'origine de la modification de la captation du glucose par ces facteurs peuvent inclure la régulation de la transcription des GLUT, leur translocation à la membrane plasmique à partir des réserves intracellulaires, ou leur endocytose et recyclage dans les réserves. L'insuline, en plus de son implication dans le métabolisme du glucose, joue un rôle primordial dans la régulation de la sélection des substrats et la fonction contractile du myocarde ^{62,63}. La régulation du métabolisme énergétique par l'AMPK et par l'insuline sera abordée avec plus de détails dans le chapitre 5.

4.2.2. La voie de la glycolyse et les enzymes clés de régulation

Une fois dans la cellule, le glucose est rapidement converti en glucose 6-phosphate (G-6P) par l'hexokinase (HK). Le G-6P peut être métabolisé par de multiples voies; il entre soit dans la glycolyse (métabolisme catabolique), soit dans la glycogénogenèse (la synthèse de glycogène), soit dans les voies des pentoses phosphates ou des hexosamines ⁶⁴. La glycolyse en aérobie se déroule en 10 étapes et convertit une molécule de glucose en deux molécules de pyruvate et produit deux molécules d'ATP et deux molécules de NADH. Les réactions impliquées dans ce processus sont représentées dans la *figure 4.1*.

La régulation de la voie glycolytique se produit au niveau des multiples étapes enzymatiques, y compris de l'HK, la phosphofructokinase-1 (PFK-1), la glycéraldéhyde 3-phosphate déshydrogénase (GAPDH), et de la pyruvate déshydrogénase (PDH). La phosphorylation du glucose en G-6P par l'action de l'HK est la première étape irréversible de la glycolyse ⁵⁵. Deux isoformes de l'HK sont présents dans le cœur. L'HK II, sensible à l'insuline, est présente dans le cœur adulte, tandis que l'HK I se retrouve principalement dans le cœur fœtal. L'augmentation d'expression des HK I dans le cœur adulte correspond donc à un retour vers un phénotype métabolique fœtal. Ce phénomène est présent lors d'hypertrophie pathologique cardiaque. Dans le cœur, l'accumulation du G-6P peut à son tour rétroagir et inhiber la réaction de l'HK, diminuant ainsi le flux glycolytique ⁵⁶. La phosphoglucose isomérase catalyse la prochaine étape dans la voie glycolytique en convertissant le G-6P en fructose-6-phosphate (F-6P) qui est ensuite converti en fructose 1,6-bisphosphate (F1,6BP) par la PFK-1 dans une réaction, en grande partie, irréversible engageant le glucose dans la voie glycolytique.

PFK-1 est sous le contrôle de plusieurs facteurs, ce qui en fait une étape limitante de la glycolyse. Bien que l'ATP est un cofacteur pour l'activité PFK-1, lorsque les niveaux cellulaires d'ATP sont élevés, ce dernier peut se lier à un site allostérique de PFK-1 et réduire l'affinité de l'enzyme pour F-6P ⁵¹. Les autres effecteurs allostériques négatifs de PFK-1 comprennent le citrate, les protons et la phosphocréatine (PCr) ⁵⁵. Lorsque les niveaux d'énergie sont faibles, l'AMP, le phosphate inorganique (Pi) et le F-6P agissent comme des régulateurs allostériques positifs de PFK-1. En plus, le F-6P peut être métabolisé par la 6-phosphofructo-2-kinase (PFK-2) en fructose 2,6-bisphosphate (F2,6BP) ⁵¹. Dans le cœur, l'activité de PFK-2 est régulée positivement par la phosphorylation

médiée par un certain nombre d'enzymes différentes dont l'Akt, la protéine kinase A (PKA) et l'AMPK en réponse à une charge de travail accrue, l'adrénaline ou l'insuline, conduisant à une augmentation de la glycolyse ⁵¹.

L'étape régulatrice majeure suivante est de la GAPDH qui catalyse l'oxydation NAD⁺-dépendante du glycéraldéhyde-3-phosphate en 1,3-bisphosphoglycérate et produit une molécule de NADH. La pyruvate kinase (PK) catalyse la dernière étape de la glycolyse en transformant le phosphoénolpyruvate en pyruvate, et la production de deux molécules d'ATP par molécule de glucose métabolisé. Dans le cœur, l'ATP ainsi que l'acétyl-coenzyme A et les AG à chaîne longue (AGCL) peuvent inhiber de manière allostérique l'activité de la PK ⁵¹. L'inhibition allostérique négative de la PK par l'ATP permet une régulation parallèle avec PFK-1, qui est également inhibée par des concentrations élevées d'ATP. En plus, le F1,6BP, produit de la réaction PFK-1, peut activer de manière allostérique la PK par stimulation de l'avant, ce qui est avantageux pendant la contraction pour augmenter le flux glycolytique. La glycolyse ne contribue normalement qu'à une petite proportion de l'ATP total produit dans le cœur, mais cette contribution est supérieure dans des conditions d'ischémie ou d'hypertrophie cardiaque ⁴⁹.

4.2.3. L'oxydation du glucose

La majorité du pyruvate formé à partir de la glycolyse pénètre dans les mitochondries où il est décarboxylé par le complexe pyruvate déshydrogénase (PDH) pour produire l'acétyl-CoA, le CO₂, et le NADH. Le complexe PDH est un complexe multi-enzymatique hautement organisé situé dans la matrice mitochondriale et représente l'étape d'oxydation du glucose limitante qui relie la glycolyse à la voie oxydative du CK. Étant donné que le complexe PDH joue un rôle important dans le maintien de l'homéostasie du glucose, le flux de carbone à travers le complexe PDH est strictement régulé par le contrôle transcriptionnel, ainsi que le contrôle réversible à court terme de phosphorylation / déphosphorylation catalysée par la pyruvate kinase déshydrogénase (PDK) et les phosphatases de la PDH, respectivement. Il existe trois isoformes de PDK; -1, -2 et -4, chacune spécifique d'un des trois sites de phosphorylation de PDH ⁴⁹. La PDH peut être inhibée par la phosphorylation de la sous-unité E1 du complexe par PDK-4, l'isoforme le plus exprimé dans le cœur ⁶⁵. Plusieurs facteurs favorisent l'activité de PDK-4 et donc

inhibent l'oxydation du glucose. Elle est inhibée par le pyruvate et par des changements au niveau du statut énergétique de la cellule (diminution des ratios acétyl-CoA/CoA libre et NADH/NAD⁺)⁵¹.

4.2.4. Le turnover du glucose dans le cardiomyocyte

Une quantité du G-6P produit par l'HK dans l'étape initiale de la glycolyse peut être temporairement stockée dans la cellule sous forme de glycogène, un polymère compact et hautement ramifié de molécules de glucose qui agit comme une réserve d'énergie pour être utilisée aux besoins. Par exemple, l'augmentation de l'oxydation des AG lors d'un jeûne, favorise l'augmentation de l'activité de la glycogène synthase (GS), enzyme responsable de la formation du glycogène. La glycogénolyse, est activée par une stimulation adrénergique ou une diminution de la disponibilité en oxygène⁶⁶. S'il n'est pas mis sous réserve, le G-6P est transformé en F-6P, lequel peut entrer dans la voie de biosynthèse des hexosamines (VBH) afin d'être utilisé pour la glycosylation des protéines, un type de modification post-traductionnelle⁵⁴.

4.2.4.1. La voie de biosynthèse des hexosamines

La voie de biosynthèse des hexosamines (VBH) a été longtemps reconnue comme une voie de sensibilisation au glucose ou aux nutriments, et son activation reflète les effets indésirables associés au diabète ou à l'hyperglycémie chronique. L'entrée du glucose dans la VBH est régulée principalement par la L-glutamine-D-F-6P amidotransférase, qui catalyse la conversion du F-6P en glucosamine-6 phosphate, conduisant à la synthèse de l'uridine diphosphate N-acétyl-glucosamine utilisé ensuite comme substrat pour l'ajout d'un groupement N-acétylglucosamine, via une liaison-O (O-GlcNAc), sur un résidu sérine ou thréonine des protéines cytoplasmiques ou nucléaires⁶⁷. Cette voie joue également un rôle dans la régulation du métabolisme énergétique comme a montré Laczy et coll. dans leur expérience de stimulation *ex vivo* par l'ajout de glucosamine qui induit une augmentation des niveaux cardiaques de O-GlcNAcylation des protéines ainsi que de l'oxydation des AG⁶⁸. Ce qui indique qu'un nouveau mécanisme de régulation du métabolisme énergétique cardiaque s'ajoutait et pourrait être important non seulement dans

le contrôle du choix des substrats, mais aussi dans le développement des altérations métaboliques ⁶⁸.

4.2.4.2. La voie des pentoses phosphates

La principale molécule rendant possible des processus anaboliques est la NADPH (nicotinamide adénine dinucléotide phosphate). En raison de la structure de cette molécule, elle peut donner facilement des ions d'hydrogène à des métabolites, de les réduire et de les rendre disponibles pour la production d'énergie ⁶⁹. La voie des pentoses phosphates est la principale source de synthèse pour la NADPH. Cette voie est également responsable de la production du ribose-5-phosphate indispensable à la synthèse des nucléotides puriques et pyrimidiques. Également, elle peut être activée pour produire la glycéraldéhyde-3-phosphate introduit ensuite dans le CK et la chaîne respiratoire permettant la production d'énergie. Selon les besoins de la cellule certaines enzymes peuvent être régulées en augmentant ou en diminuant ainsi la production des métabolites requis ⁶⁹.

4.3. Le métabolisme myocardique des acides gras

Le métabolisme des AG est sous un contrôle plus compliqué que celui du glucose et dépend d'un certain nombre de facteurs comme 1) l'apport d'AG; 2) la présence d'autres substrats énergétiques; 3) la demande énergétique; 4) l'approvisionnement en oxygène; 5) le contrôle allostérique de la captation, l'estérification, et le transport mitochondrial d'AG; et 6) le contrôle de la fonction mitochondriale, y compris le contrôle direct de β -oxydation, l'activité du cycle de Krebs et de la chaîne de transport d'électrons (CTE). Le contrôle transcriptionnel des enzymes impliquées dans le métabolisme des AG et de la biogenèse mitochondriale sont aussi des déterminants importants du taux de β -oxydation. Ces étapes de régulation seront abordées dans le chapitre qui suit. La *figure 4.2* illustre l'essentiel du métabolisme lipidique cardiaque et les différentes étapes décrites ci-dessous sont tirées de plusieurs articles de revue ^{50,51,70,71}.

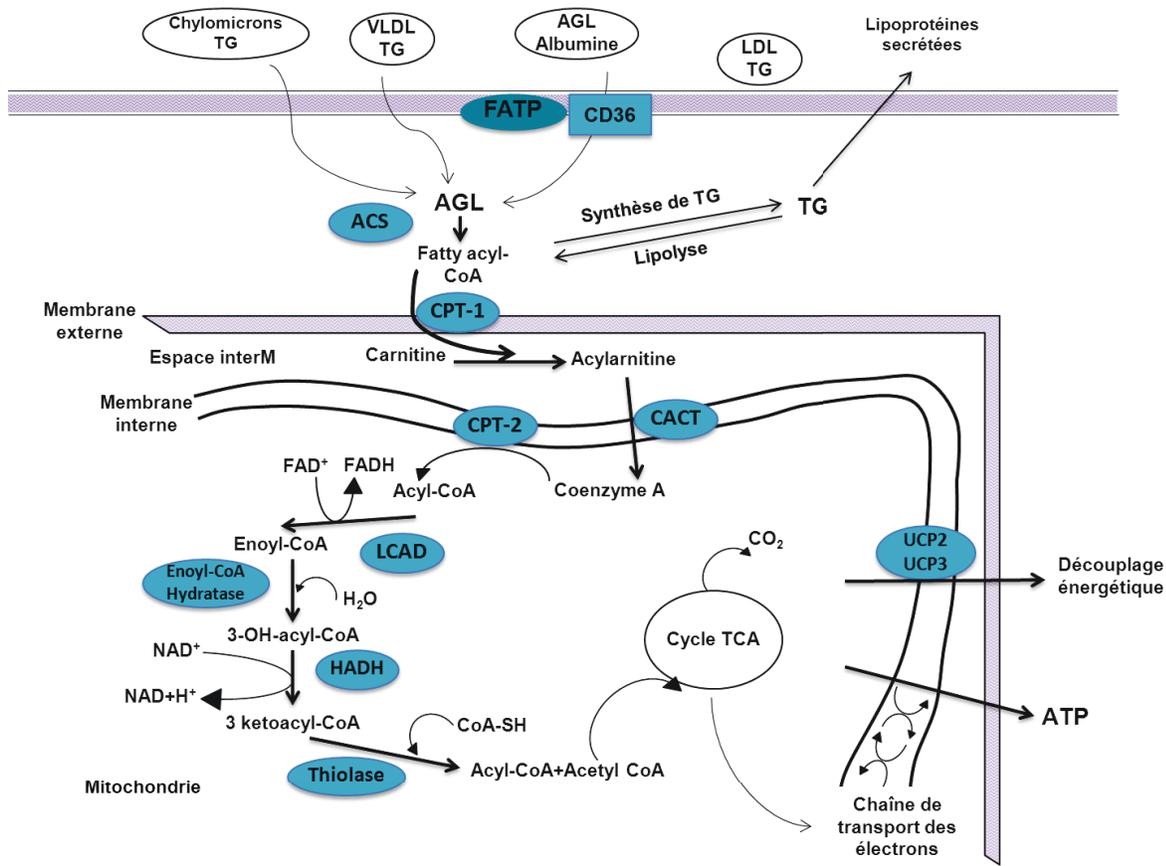


Figure 4.2 : Illustration schématique des principales voies du métabolisme lipidique dans le cardiomyocyte (détails dans le texte), (Image adaptée d'après Yang Q et al. ⁷²).

4.3.1. Les sources des AG

Le cœur a un potentiel limité pour synthétiser des AG et donc s'appuie fortement sur les AG endogènes fournis de l'hydrolyse des réserves de triglycérides (TG) ou de sources exogènes provenant de l'alimentation. Les AG sont ainsi fournis au cœur sous forme d'AG libres (AGL) liés à l'albumine ou libérés des triacylglycérols (TAG) contenus dans les chylomicrons des lipoprotéines de très faible densité (VLDL). Les deux sources contribuent de manière significative à l'apport total en AG aux cardiomyocytes ⁵¹.

Les concentrations normales des AGL circulants sont comprises entre 0,2 et 0,6 mM ⁵⁴. Cependant, ces niveaux peuvent considérablement varier des très faibles concentrations dans la circulation fœtale à plus de 2 mM dans les conditions sévères de stress comme l'ischémie et le diabète ⁷³. L'activation du système nerveux sympathique peut aussi augmenter rapidement les concentrations d'AGL circulants, résultant principalement de la

stimulation des récepteurs β -adrénergiques ⁷⁴. Cette augmentation chronique ou aiguë d'AGL a un impact majeur sur le taux cardiaque d'absorption et de β -oxydation mitochondriale ⁷⁵. Les niveaux d'AGL circulants chroniquement élevés dans l'obésité et le diabète sont également un déterminant important des taux élevés d'absorption et de β -oxydation observés dans ces états physiopathologiques (*voir chapitre 9*).

L'activité de la lipoprotéine lipase (LPL) est responsable de la majorité des AGL dérivés des chylomicrons et acheminés principalement vers la β -oxydation. En revanche, il a été démontré que les récepteurs des VLDL/apolipoprotéine E (apo E) sont exprimés dans le cœur, et que l'absorption des VLDL par cette voie peut être une source possible d'AG myocardique ⁷⁶. Une proportion importante de ces AG est répartie de manière égale entre la β -oxydation et le dépôt sous forme de lipides intramyocardiques ⁷⁶. Ceci a des implications potentiellement importantes dans le développement de la lipotoxicité cardiaque ⁷⁷. Dans le prochain paragraphe, les mécanismes ainsi que les rôles de la mobilisation lipidique et de la lipolyse seront abordés plus en détails.

4.3.2. La captation et le transport des AG dans le cardiomyocyte

Les AGL peuvent entrer dans le cardiomyocyte soit par diffusion passive par un mécanisme de *flip-flop* à travers la bicouche phospholipidique ⁷⁸, ou facilité par une protéine de transport membranaire ⁷⁹ (*voir figure 4.2*). Jusqu'à ce jour, trois protéines impliquées dans la captation des AGCL ont été identifiées: 1) l'isoforme membranaire de la protéine de liaison des AG (*fatty acid binding protein ; FABPpm*), 2) les protéines de transport des AG (*fatty acid transport proteins ; FATP*) et 3) les translocases qui, dans le cœur, sont connues sous la forme du CD36 (*fatty acid translocase/cluster of differentiation ; FAT/CD36*) ⁸⁰.

4.3.2.1. Les « *fatty acid transport proteins* » et les « *fatty acid binding protein* »

Dans le myocarde, les protéines de transport des AG (FATP) sont présentes en deux isoformes 1 et 6 ⁷⁹. FATP1 est liée à une acyl-CoA synthétase à chaîne longue, sensible à l'insuline. Elle pourrait ainsi participer à l'augmentation de l'afflux des AG en réponse à une sécrétion insulinique et faire pendant au transport insulindépendant du glucose par

GLUT4. Une protéine appelée «*plasma membrane-associated fatty acid binding protein*» (FABPpm) est liée à FAT/CD36, les deux agissant pour faciliter la dissociation des AGL de l'albumine ⁷⁹. FABPpm est liée à la membrane plasmique externe et peut lier à la fois les AG saturés et insaturés à chaîne longue (>14C) et les concentrer sur la surface membranaire pour leur absorption soit par diffusion passive ou transport facilité via FAT/CD36 ou FATP 1-6 ⁸⁰.

4.3.2.2. La «*fatty acid translocase*»; FAT/CD36

Parmi les trois transporteurs d'AG identifiés, FAT/CD36 est l'un des plus étudié qui joue un rôle essentiel dans le transport des AG à travers la membrane plasmique ⁷⁹. La distribution tissulaire de FAT/CD36 montre qu'il est fortement exprimé dans les tissus ayant une capacité métabolique pour les AG élevée, comme le cœur ⁸⁰. Des études utilisant des souris déficientes en FAT/CD36 ont montré que cette translocase est responsable de l'absorption de 50 à 80% des AG par le cœur. Des travaux antérieurs ont trouvé que l'inhibition de l'absorption d'AG médiée par CD36 par délétion génétique conduit à une réduction significative de 40 à 60% dans l'oxydation des AG dans le cœur, ainsi qu'une diminution des niveaux d'estérification de TG, ce qui suggère que le degré d'absorption des AG par FAT/CD36 a un impact considérable ^{81,82}.

FAT/CD36 est une glycoprotéine membranaire de 88 kDa. Sa fonction dans l'absorption des AGCL est largement régulée par sa translocation intracellulaire et le contrôle transcriptionnel. Dans le cœur environ 50% des FAT/CD36 sont stockés dans des compartiments intracellulaires, et doivent être acheminés vers la membrane plasmique afin de participer activement au transport des AG ⁸³. Il a été démontré que des stimuli physiologiques, y compris la contraction, l'exercice et l'insuline, peuvent induire sa translocation vers la membrane pour accélérer le transport et l'oxydation des AG ^{83,84}. Les mécanismes de la contraction et de la translocation de FAT/CD36 induite par l'insuline peut impliquer l'activation des voies de PDK/Akt et de l'AMPK, respectivement ⁸⁰. Comme pour d'autres protéines impliquées dans le métabolisme des lipides, l'expression de FAT/CD36 est sous le contrôle transcriptionnel des PPARs ⁸⁵. Nous aborderons ces mécanismes de régulation plus en détails dans le chapitre suivant.

4.3.3. Le turnover des AG dans le cardiomyocyte

Une fois dans le cytosol, les AGCL peuvent soit se lier à la forme cytosolique de FABP pour leur transport à travers le cytosol où ils sont rapidement estérifiés et convertis en coenzyme A (CoA), formant un acyl-CoA à chaîne longue (ACCL), une réaction catalysée par l'acyl-CoA synthétase (LACS)⁸⁶ (voir figure 4.2). Il a été proposé que, selon un processus connu sous le nom d'acylation vectorielle, l'estérification rapide des AG permet leur rétention à l'intérieur de la cellule, d'une manière similaire au glucose par sa conversion en G-6P par l'HK, maintenant ainsi le gradient de leur concentration à travers la membrane plasmique⁸⁷.

Les acyl-CoA ainsi formés peuvent entrer dans plusieurs voies différentes, comprenant d'autres estérifications pour la synthèse des TG et des phospholipides (PL) et la majorité est transférée à la carnitine et reprise par les mitochondries pour la β -oxydation (80%)⁸⁸. Une quantité d'acyl-CoA dans le cytosol peut être hydrolysée par une thioestérase cytosolique. Les AG non-estérifiés libérés peuvent être estérifiés à nouveau par des isoformes de l'ACS trouvés dans différents compartiments cellulaires, comme dans la mitochondrie ou dans les peroxysomes (10% de la β -oxydation totale), et peuvent les distribuer vers des voies distinctes⁸⁹. Le but de cette oxydation peroxysomale, qui n'aboutit pas à la production d'ATP, est de produire des AG de chaîne plus courte qui pourront ensuite être transportés vers la mitochondrie sous forme de carnitine-esters ou sous forme libre pour une oxydation finale.

Les AG qui ne sont pas oxydés (20%) peuvent être convertis en TG par la glycérophosphate acyltransférase⁹⁰. Les TG sont des substrats qui peuvent être facilement mobilisés pour la production d'énergie⁵³. Il a été montré qu'en présence d'AG et d'oxygène, le turnover des TG *ex vivo* peut produire ~10% de l'ATP dans des cœurs perfusés qui peut augmenter jusqu'à 50% lorsque les niveaux d'AG sont réduits⁹¹. La conversion des AG dans les lipides complexes tels que les TAG, le diacylglycérol (DAG) et les céramides a récemment reçu un intérêt considérable, car l'accumulation de ces intermédiaires peut être impliquée dans le développement de la résistance à l'insuline, et l'IC^{92,93}.

4.3.4. Le transport mitochondrial des AG : les CPT

Les AGCC (AG à chaîne courte) et les AGCM (AG à chaîne moyenne) vont pouvoir pénétrer par simple diffusion alors que les AGCL ne peuvent diffuser seuls à travers la membrane mitochondriale. Ces derniers sont transportés à travers la membrane mitochondriale via un système de navette carnitine-dépendant, constitué de trois protéines (voir figure 4.2); la carnitine palmitoyl transférase 1 (CPT-1), la carnitine acylcarnitine translocase (CACT) et la carnitine palmitoyl transférase 2 (CPT-2)^{94,95}.

La première étape implique la CPT-1 sur la membrane mitochondriale externe (MME) catalysant la conversion de l'ACCL à l'acylcarnitine, qui est ensuite acheminée à travers la membrane mitochondriale interne (MMI) par la CACT en échange de la carnitine. Dans l'étape finale, la CPT-2, une enzyme présente sur le côté matriciel de la MMI, convertit les acylcarnitines à leur ACCL respectifs qui subissent alors la β -oxydation dans la matrice mitochondriale⁵⁹.

CPT-1 existe sous 2 isoformes : CPT-1 α (ou L-CPT-1) est la forme prédominante dans le foie, tandis que CPT-1 β (ou MCPT-1), qui est aussi beaucoup plus sensible au malonyl-CoA, son principal inhibiteur physiologique, est la forme prédominante dans le cœur⁹⁶.

CPT-1 est l'enzyme limitante de la vitesse contrôlant l'absorption des AG dans la mitochondrie⁹⁷. La régulation de l'activité CPT-1 se produit à la fois au niveau transcriptionnel et de façon plus aigüe, par une inhibition allostérique exercée par le malonyl CoA endogène⁹⁷. Ce dernier est donc un régulateur clé du transport des AG dans les mitochondries et de la β -oxydation subséquente dans de nombreux tissus, y compris le cœur⁹⁸. Ce mécanisme de régulation sera abordé en détail dans le chapitre 5.

4.4. La mitochondrie ; centrale énergétique

Les mitochondries occupent plus de 30% du volume des cardiomyocytes. Elles sont denses, organisées sous le sarcolemme, et rangées entre les myofilaments de sorte qu'une distance constante de diffusion existe entre elles et le noyau des myofilaments. Ce type d'organisation fournit une base bioénergétique pour la contraction. Les éléments clés constituant la fonction énergétique de la mitochondrie sont d'une part, les réactions

enzymatiques d'oxydation des substrats énergétiques et d'autre part, la chaîne de transport des électrons. L'oxydation des substrats par le CK ou la β -oxydation entraîne la réduction du NAD en NADH²⁺ et du FAD en FADH²⁺ 99.

4.4.1. La β -oxydation mitochondriale des AG

Une fois dans la matrice mitochondriale, les ACCL subissent la β -oxydation qui se divise en 4 étapes importantes dont chaque tour de cycle raccourcit la chaîne de carbone de l'acyl-CoA de 2 carbones et produit une molécule d'acétyl-CoA destinée à entrer dans le CK ainsi qu'une molécule de NADH et de FADH₂. Ces équivalents réduits sont directement transférés à la CR par un système de flavoprotéines.

Les quatre réactions enzymatiques de la β -oxydation mitochondriale nécessaires pour aboutir à la production d'une molécule d'acétyl-CoA sont représentées dans la *figure 4.2* 100. Le métabolisme des esters acyl-CoA implique les actions séquentielles enzymatiques de l'acyl-CoA déshydrogénase (LCAD), l'énoyl-CoA hydratase, la L-3-hydroxylacyl-CoA déshydrogénase (HADH) et la L-3-cétoacyl-CoA thiolase (3-KAT). Dans la réaction finale, la 3-KAT divise 3 cétoacyl-CoA pour produire l'acétyl-CoA et un acyl-CoA qui est raccourcie par deux atomes de carbone 100. Cette séquence de réactions se poursuit jusqu'à ce que l'acyl-CoA d'origine ait été entièrement métabolisé en formant l'acétyl-CoA. Il existe divers isoformes de chacun des quatre enzymes β -oxydatives qui ont des spécificités différentes pour la longueur de chaîne, par exemple, l'acyl-CoA déshydrogénase à chaîne moyenne (MCAD) et l'acyl-CoA déshydrogénase à chaîne très longue (VLCAD).

Chacune de ces enzymes est soumise à une rétro-inhibition par les produits des réactions enzymatiques, tels que le NADH et FADH₂. En particulier, la 3-KAT peut être inhibée par l'accumulation d'acétyl-CoA, qui est un mécanisme de régulation important dans les conditions de faible demande énergétique ou une diminution de l'activité de la CTE et du CK. En plus, l'augmentation des niveaux de l'acétyl-CoA et de NADH provenant du complexe PDH peut également inhiber directement l'oxydation des AG. Par conséquent, le taux de la β -oxydation est contrôlé par la demande d'énergie et l'approvisionnement en ces différents substrats/produits. En plus, les enzymes β -oxydatives sont sous un haut degré de régulation transcriptionnelle, principalement par les facteurs PPARs 101.

L'acétyl-CoA ainsi produit va entrer dans le CK et l'acyl-CoA réduit de deux carbones reprendra un autre cycle de β -oxydation. L'acétyl-CoA produira 3 molécules additionnelles de NADH et une de FADH₂ dans le CK. La production d'ATP par la β -oxydation ne se fait pas directement seulement par la production d'acétyl-CoA, mais aussi par la production d'équivalents réduits qui sont produits à chaque tour de cycle. Ainsi, cette voie dans un organe ayant des grands besoins énergétiques, comme le cœur, est aussi contrôlée par les niveaux d'ATP et l'état redox de la cellule, c'est-à-dire le ratio NAD⁺/NADH ⁷⁰.

La majorité des AG subissant la β -oxydation ne sont pas des AG saturés, mais plutôt mono- ou polyinsaturés. Par exemple, l'AG le plus abondant dans le sang est l'oléate, un AG monoinsaturé. Leur β -oxydation est facilitée par des enzymes auxiliaires, qui sont la 2,4-dienoyl CoA réductase et l'énoyl-CoA isomérase. Ces enzymes facilitent la formation d'une double liaison *trans* nécessaire pour les principales enzymes ⁵¹.

Nous ne savons que peu du rôle joué par ces enzymes dans la détermination du taux des AG saturés par rapport aux insaturés (i.e. l'oxydation ou l'estérification dans les lipides complexes). À des concentrations équivalentes, dans les cœurs de rat perfusés, l'oxydation des AG insaturés tels que l'oléate ou de l'acide arachidonique se produit à des taux similaires à celles des AG saturés comme le palmitate ¹⁰². Des taux similaires d'oxydation de l'oléate et de palmitate sont observés chez l'humain ¹⁰³.

4.4.2. Le cycle de Krebs et la régénération de l'ATP

Initialement décrit par Krebs et Johnson en 1937, le CK a pour fonction principale d'oxyder le groupement acétyl de l'acétyl-CoA, provenant de l'oxydation des différents substrats, afin de produire du NADH et FADH₂. Le cycle est composé de 8 étapes, chacune catalysée par une enzyme spécifique ¹⁰⁰ (*voir figure 4.3*). L'acétyl-CoA subit une série de réactions conduisant à la production d'une molécule de guanosine triphosphate (GTP), trois molécules de NADH et une molécule de FADH₂, qui seront ensuite utilisées par la chaîne de transport d'électrons afin de produire les molécules d'ATP pendant la phosphorylation oxydative. La régénération d'une molécule d'oxaloacétate dans la réaction finale permet au CK de recommencer.

Le taux de flux à travers le CK est sous une régulation stricte et est contrôlé par la disponibilité de substrat (oxaloacétate et acétyl-CoA) pour la citrate synthase (CS) et la rétro-inhibition par l'accumulation de produits. L'activité de ce cycle augmente avec la charge de travail, principalement suite au changement dans le rapport NADH/NAD^+ dans les mitochondries, qui régule l'activité des isocitrate déshydrogénases, l' α -kéto-glutarate déshydrogénase et la malate déshydrogénase du cycle. Un ratio élevé de NADH/NAD^+ agit pour inhiber ces enzymes et limite le flux à travers le cycle. Le citrate, comme l'ATP, peuvent inhiber l'activité de la CS¹⁰⁰.

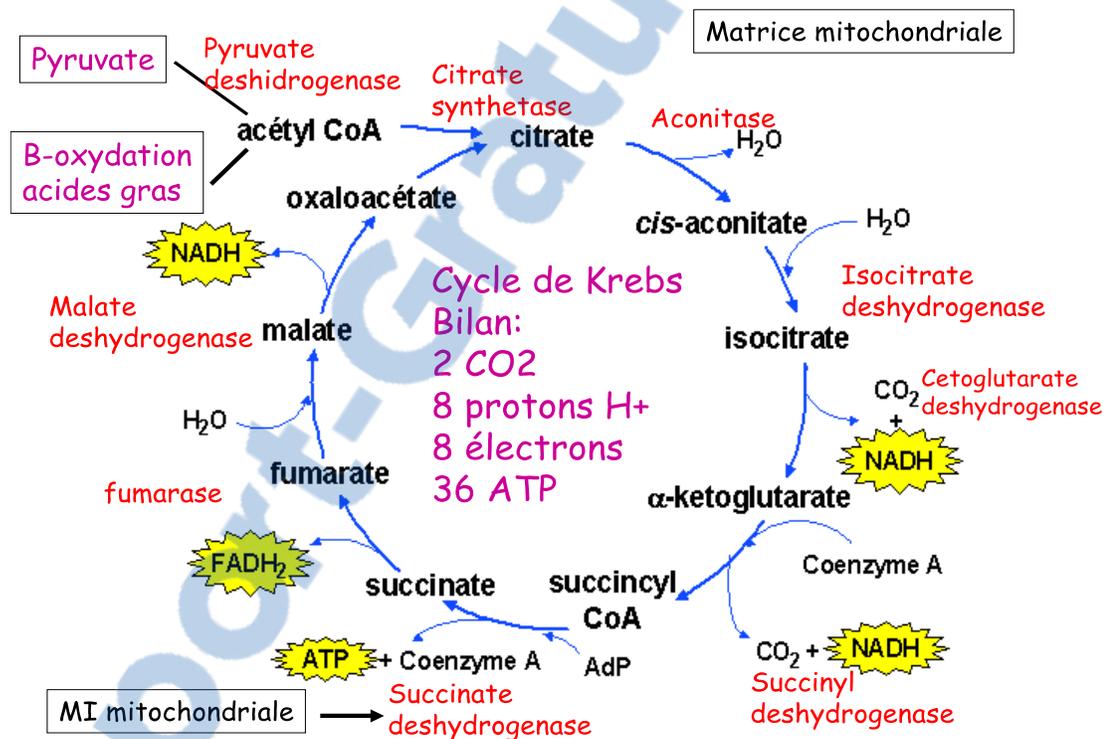


Figure 4.3 : Les réactions et les enzymes impliquées dans le cycle de Krebs (©WDH).

4.4.3. La chaîne de transport d'électrons et phosphorylation oxydative

Les équivalents réduits ou transporteurs d'hydrogène, produits dans le CK dans la matrice mitochondriale, sont oxydés dans la chaîne de transport d'électrons pour la synthèse d'ATP, dans un processus connu par la phosphorylation oxydative. Il existe quatre complexes de la chaîne respiratoire, à savoir la NADH-ubiquinone oxydoréductase

(complexe I); la succinate déshydrogénase (complexe II); l'ubiquinone-cytochrome c oxydoréductase (complexe III); et la cytochrome oxydase (complexe IV), incorporés dans la MMI (voir figure 4.4) ¹⁰⁰.

L'oxydation du NADH produit l'énergie pour pomper 10 protons à partir de la matrice mitochondriale dans l'espace intermembranaire, tandis que l'oxydation de FADH₂ se traduira par la production de 6 protons. Puisque la MMI est imperméable aux protons, ceci conduit à l'accumulation de protons dans l'espace intermembranaire laissant la matrice mitochondriale avec plus de charges négatives par rapport à l'espace intermembranaire. L'ATP synthase couple ainsi le flux de protons au gradient électrochimique créé dans la matrice mitochondriale pour phosphoryler des molécules d'ADP en ATP ¹⁰⁴ (voir figure 4.4). Habituellement, l'oxydation et la phosphorylation de l'ADP sont étroitement couplées; par conséquent, le taux de la respiration mitochondriale peut être contrôlé par la disponibilité de l'ADP. Cependant, un découplage respiratoire ou une fuite de protons peut se produire. Ces protons qui ne sont pas couplés à la production d'ATP sont transportés à travers la MMI, comme a été montré dans des mitochondries isolées qui, même en l'absence d'ADP, continuent à consommer de l'oxygène ¹⁰⁰.

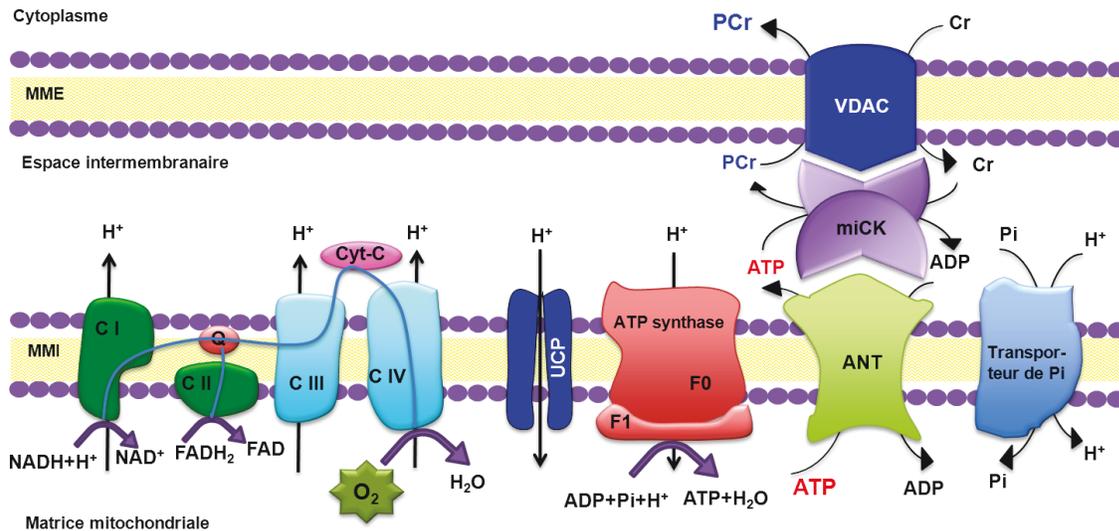


Figure 4.4 : Chimiosmose entre la chaîne mitochondriale de transport d'électrons et la phosphorylation oxydative (© WDH).

4.4.4. Le transfert énergétique de la mitochondrie aux sites d'utilisation

La présence de systèmes de transfert des phosphates à haute énergie est une autre caractéristique essentielle du métabolisme énergétique cardiaque. Dans les années soixante-dix, Bessman et coll. ont identifié les systèmes de la créatine kinase et de l'adénylate kinase comme des navettes de transfert d'énergie ¹⁰⁵. Les cardiomyocytes utilisent ce réseau de transfert composé de multiples réactions enzymatiques quasi-équilibrées et permettant le transfert des groupes phosphoryles riches en énergie entre les compartiments cellulaires d'une manière cinétique et thermodynamique efficace ¹⁰⁶. La plupart des groupes phosphoryles sont transférés entre les sites de production et de consommation d'ATP par de multiples échanges catalysés par la créatine kinase.

La créatine kinase est présente en quantités variables dans le cœur et catalyse le transfert réversible d'un groupe phosphate entre l'ATP et la créatine. Quatre isoformes différentes ont été décrits et sont exprimés d'une manière tissu-spécifique et régulés au cours du développement. La créatine kinase cytosolique existe sous forme de dimères composés de deux sous-unités, M et B, donnant trois isoenzymes, MM, BB, et MB. Un quatrième isoenzyme trouvé spécifiquement dans les mitochondries (mi-CK), peut former à la fois des structures dimères et octamériques et représente 20 à 40% de toute l'activité créatine kinase dans les cardiomyocytes ¹⁰⁷. La créatine kinase myofibrillaire (MM) est une protéine structurelle des myofilaments et est fonctionnellement couplée à l'ATP-ase de la myosine, fournissant ainsi suffisamment d'énergie pour soutenir une force maximale et une cinétique normale de contraction. Elle est également fortement liée à la membrane du RS où elle est couplée fonctionnellement à la SERCA2a, et assure une provision efficace en énergie nécessaire au processus de transports ioniques et à la contraction ¹⁰⁷.

Un autre couplage fonctionnel local a lieu dans l'espace intermembranaire mitochondriale, où la mi-CK est située sur la face externe de la MMI, au voisinage de l'adénosine nucléotide translocase (ANT). Pendant la phosphorylation oxydative, l'ATP généré dans la matrice est exporté par l'ANT dans l'espace intermembranaire, où il est *trans*-phosphorylé par la mi-CK en phosphocréatine (PCr) et ADP en présence de créatine ¹⁰⁸. L'ADP est alors immédiatement disponible pour la phosphorylation oxydative et stimule ainsi la respiration mitochondriale ¹⁰⁰ (voir figure 4.5). De ce fait, le ratio PCr/ATP

représente un très bon indicateur du métabolisme énergétique cardiaque et a été proposé comme indice pronostique dans certaines cardiopathies. Une valeur inférieure à 1,6 correspond à un fort risque de mortalité chez des patients atteints d'une cardiomyopathie dilatée.

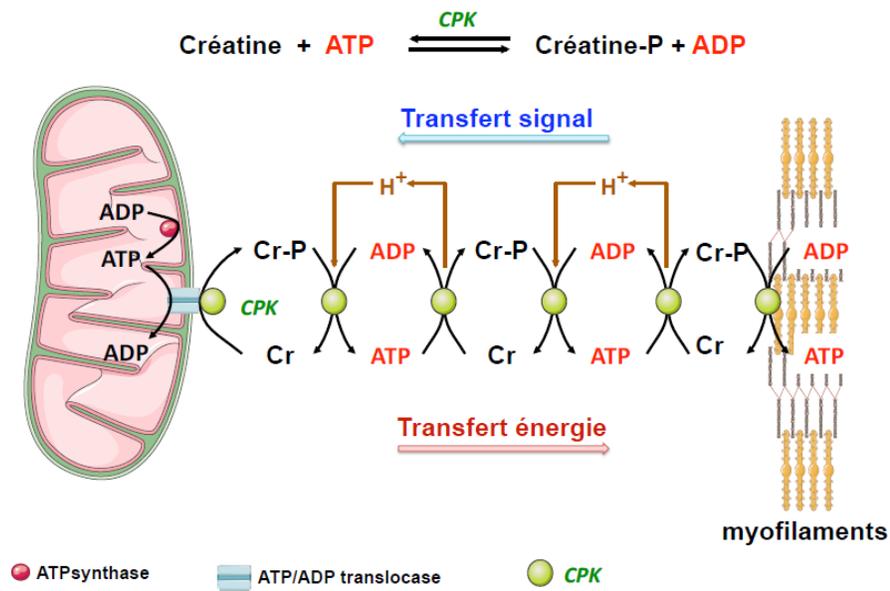


Figure 4.5 : Schéma du mécanisme de transfert d'énergie aux sites d'utilisation par les myofilaments. Cr ; créatine, Cr-P ; phosphocréatine, CPK; créatine kinase (© WDH).

4.4.5. Le découplage mitochondrial

Les protéines découplantes (ou de découplage) (UCP1-UCP5) constituent une famille de transporteurs mitochondriaux qui contrôlent les échanges entre la matrice et le cytoplasme (voir figure 4.2). Enchâssées dans la MMI, ces protéines sont un mécanisme par lequel des protons peuvent réintégrer la matrice mitochondriale en échappant à l'ATP synthase, et agit pour dissiper le gradient électrochimique et abaisser le potentiel de la membrane mitochondriale¹⁰⁹.

Trois homologues d'UCP ont été clonés (UCP1, -2 et -3)¹¹⁰. UCP1 est fortement exprimé dans le tissu adipeux brun, où il est impliqué dans la régulation de la thermogénèse, mais n'est pas exprimé dans le cœur. UCP2 est un isoforme ubiquitaire réduisant la génération mitochondriale de dérivés des espèces réactives d'oxygène (ROS)

(voir section suivante) ^{111,112}. Quant à UCP3, elle présente une distribution tissulaire plus limitée, et est fortement exprimée dans les tissus avec une forte capacité β -oxydative d'AG, comme le tissu adipeux brun, le muscle squelettique et le cœur ¹¹³. Initialement, il a été proposé que UCP3 agit comme un transporteur de protons, toutefois, des données plus récentes suggèrent que c'est également un transporteur d'AG anioniques ¹¹⁴.

4.4.6. Le côté sombre de la mitochondrie: la production des ROS

Il est largement admis que les ROS jouent un rôle physiologique crucial, non seulement dans diverses maladies, mais également dans l'homéostasie cellulaire ¹¹⁵. Les ROS sont des petites molécules chimiquement réactives dérivées de l'oxygène et formées en tant que sous-produits naturels du métabolisme aérobie. La chaîne respiratoire mitochondriale est une des sources cellulaires les plus importantes des éléments oxygénés (anion superoxide, hydroxyle, peroxyde) et un certain nombre de molécules non radicalaires qui sont des agents oxydants ou facilement convertibles en radicaux ¹¹⁶. Par conséquent, leur production est liée à la consommation d'oxygène qui est particulièrement élevée dans les cardiomyocytes. Pour cela, ces derniers sont bien équipés d'un grand nombre de mitochondries et d'un niveau élevé de composants de la chaîne respiratoire mitochondriale.

Les cellules possèdent différents mécanismes enzymatiques pour s'en protéger des ROS tels que la glutathione peroxydase, la catalase et la superoxydase dismutase. Dans les conditions normales, les concentrations des ROS sont étroitement contrôlées par ces antioxydants (gamme de pico molaire) ¹¹⁵. Leur faible concentration leur permet de jouer le rôle en tant que seconds messagers dans la transduction du signal de l'homéostasie vasculaire et la signalisation cellulaire. Lorsqu'elles sont produites en quantités élevées, ou lorsque des antioxydants sont épuisés, les ROS peuvent causer des dégâts au niveau des lipides, des protéines et d'ADN en particulier par l'oxydation des groupements SH participant aux sites actifs des enzymes et la peroxydation des lipides membranaires. Le déséquilibre entre la réduction et l'oxydation intracellulaire, appelé stress oxydatif, peut ensuite contribuer au développement et/ou la progression de maladies cardiovasculaires telles que l'athérosclérose, l'ischémie, la cardiomyopathie, l'IC congestive, et même des arythmies ¹¹⁷. Ces atteintes pouvant ainsi altérer ou détruire la fonction des molécules

cibles. La *figure 4.6* illustre la production mitochondriale des ROS et leurs conséquences biologiques.

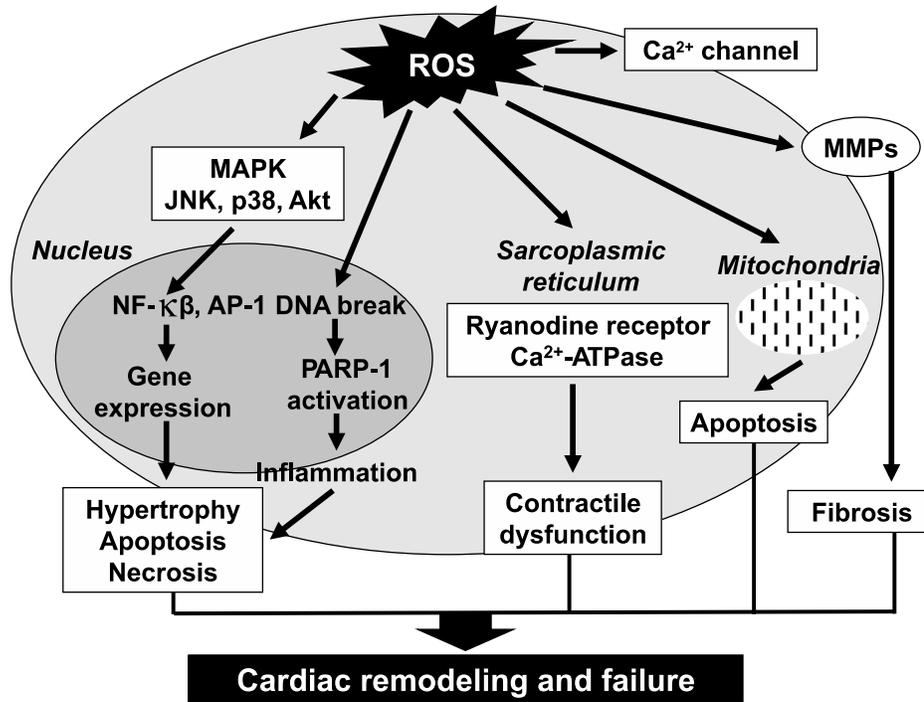


Figure 4.6 : Les dégâts des ROS dans le cardiomyocyte (Image tirée d'après Hiroyuki T, 2011 ¹¹⁸).

Chapitre 5 : LES VOIES ET LES MÉCANISMES DE RÉGULATION DU MÉTABOLISME MYOCARDIQUE

5.1. Notion de flexibilité et la préférence métabolique cardiaque de substrat

Le cœur représente un système complexe dans un état de flux constant. Dans ce système dynamique, le cœur a conservé sa capacité de s'adapter à une multitude de modifications environnementales, soit à court terme en changeant son flux par des voies métaboliques existantes permettant de maintenir son approvisionnement énergétique ou à long terme, en modifiant la synthèse de protéines spécifiques de la structure, de la fonction et du métabolisme cardiaque. Cette flexibilité métabolique du cœur est primordiale pour le maintien de sa fonction contractile en permettant une adaptation permanente de la balance des oxydations entre AG et glucides à la disponibilité glucido-lipidique. La modification dans le choix des substrats énergétiques se réalise en deux étapes principales; une à court terme faisant intervenir des facteurs hormonaux et enzymatiques, et une deuxième impliquant des voies de signalisation sensibles au statut énergétique, en particulier la voie de l'AMPK, d'Akt et de mTOR, ainsi qu'une régulation transcriptionnelle, par la voie de PPAR α .

Dans ce chapitre, nous documenterons les mécanismes et les processus de contrôle du métabolisme cardiaque en conditions physiologiques normales et, dans le chapitre suivant, nous nous exposons les adaptations métaboliques du cœur en conditions de surcharge cardiaque décrites dans divers modèles de l'hypertrophie pathologique.

5.2. Les mécanismes de régulation du métabolisme énergétique à court terme

Les premiers mécanismes qui seront activés dans la régulation du métabolisme énergétique sont ceux régulés par les enzymes mêmes impliquées dans le métabolisme des substrats ainsi que par les facteurs hormonaux, en particulier, l'insuline qui joue un rôle important.

5.2.1. La régulation enzymatique; le rôle compétiteur AG-Glu (cycle de *Randle*)

La relation réciproque pour le métabolisme oxydatif entre les AG et le glucose était décrite à l'origine par *Randle* et *Newsholme* en 1963¹¹⁹. Les mécanismes moléculaires impliqués dans ce cycle se manifestent à divers stades des voies impliquées dans le métabolisme de chaque substrat (*voir figure 5.1*).

Le principe consiste à une régulation négative de l'oxydation du glucose par le jeu de métabolites intermédiaires de l'oxydation des AGL qui inhibent certaines enzymes de la glycolyse. L'accumulation de l'acétyl-CoA dérivé de la β -oxydation conduit à une accumulation de citrate lequel oriente celui-ci vers la synthèse des AG par l'acétyl CoA carboxylase (ACC) dont le produit est le malonyl-CoA. L'augmentation de la quantité de citrate cytosolique inhiberait également la PFK-1 limitant le flux glycolytique ce qui conduit à accumulation en amont du G-6P, produit de l'HK et principal inhibiteur de cette enzyme. De plus, dans le cas d'une élévation des niveaux circulants de glucose, il y a une augmentation de la production de pyruvate et une augmentation de son oxydation en acétyl-CoA ou de sa carboxylation en oxaloacétate (OAA), deux processus menant à la production de citrate⁵⁶.

Une partie du citrate ainsi produit est exportée à l'extérieur de la mitochondrie pour régénérer de l'OAA et de l'acétyl-CoA via l'action de l'ATP citrate lyase et qui sera, également, carboxylé en malonyl-CoA par l'ACC¹²⁰. Les niveaux de malonyl-CoA sont régulés par le taux de sa dégradation par le MCD (malonyl-CoA décarboxylase), qui catalyse la décarboxylation de malonyl-CoA en acétyl CoA⁹⁶. Ainsi, si l'activité d'ACC est faible et que la MCD est assez active, les niveaux de malonyl-CoA seront bas, levant son inhibition de la CPT-1 et favorisant ainsi l'entrée des AGCL à l'intérieur de la mitochondrie pour y être oxydés (*voir figure 4.1*). Dans le même sens, la PDH est un régulateur clé de la glycolyse catalysant la décarboxylation du pyruvate, une étape irréversible qui engage le pyruvate vers la production de l'acétyl-CoA et la respiration aérobie. La PDH est indirectement inhibée par l'acétyl-CoA via la PDK. Quand les niveaux d'acétyl-CoA produits à partir de la β -oxydation augmentent, l'activité de la PDH diminue conduisant à une accumulation de pyruvate. L'augmentation des niveaux de pyruvate rétroagit le long de la voie de la glycolyse et déplace le flux du G-6P principalement vers la synthèse de glycogène.

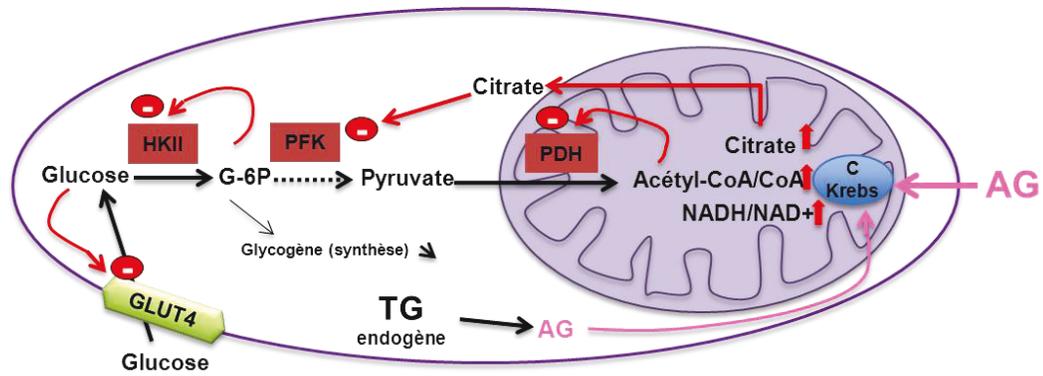


Figure 5.1 : Schématisation simplifiée du mécanisme de contrôle du métabolisme énergétique selon Randle (© WDH).

5.2.2. La régulation hormonale par la voie de l'insuline/PI3K/Akt

La fonction principale de l'insuline étant la régulation de l'homéostasie du glucose. Cette hormone agit en activant le récepteur de l'insuline (IR), transduisant ainsi une cascade de signaux intracellulaires permettant une augmentation de la captation du glucose par les tissus et une inhibition de la production de glucose par le foie. Au niveau du cœur, et dans les conditions physiologiques, le rôle principal de l'insuline est évidemment la régulation de l'utilisation des substrats énergétiques en favorisant l'absorption et l'oxydation du glucose. De plus, l'insuline participe à la régulation du métabolisme des AGCL, la synthèse des protéines, et la tonicité vasculaire^{60,121,122} (voir figure 5.2).

Le rôle de la cascade de signalisation PI3K (PI3-Kinase)/Akt dans la translocation de GLUT4 induite par l'insuline a été bien établi depuis plusieurs années¹²³. La phosphorylation induite par l'insuline inactive AS160, empêche la fonction Rab, et par conséquent, favorise la translocation de GLUT4 dans la cellule (voir figure 5.2).¹²⁴

Dans les cardiomyocytes, l'insuline favorise l'utilisation du glucose en activant la PFK-2. Le produit de la PFK-2, le F, 2-6BP est un stimulateur puissant de la PFK-1, la principale enzyme régulatrice du flux de la glycolyse¹²⁵. Le rôle de PFK-2 dans la régulation de la fonction cardiaque semble être important parce que l'expression d'un PFK-2 *kinase-dead* cardio-spécifique diminue le flux glycolytique, induit l'hypertrophie et la fibrose, et réduit la fonction du cardiomyocyte¹²⁶.

En parallèle à la stimulation de la captation du glucose, l'insuline induit également la captation des AGCL dans les cardiomyocytes essentiellement par une translocation vers la

membrane plasmique du FAT/CD36 qui nécessite l'activation de la PI3K ^{127,128} (voir figure 5.2).

En plus, l'activation médiée par l'insuline de la voie PI3K/Akt régule de nombreux autres processus cellulaires tels que l'hypertrophie cellulaire, la traduction des protéines, la production d'oxyde nitrique, l'apoptose et l'autophagie en activant d'autres intermédiaires de signalisation intracellulaire tels que mTOR, S6K, et les facteurs de transcription *forkhead* (FoxO1/3 et la glycogène synthase kinase-3 β). Les changements dans de nombreuses de ces voies comme dans l'insulino-résistance pourraient contribuer à une augmentation du risque d'hypertrophie cardiaque, le remodelage du VG, ou l'IC ¹²² (voir chapitre 7).

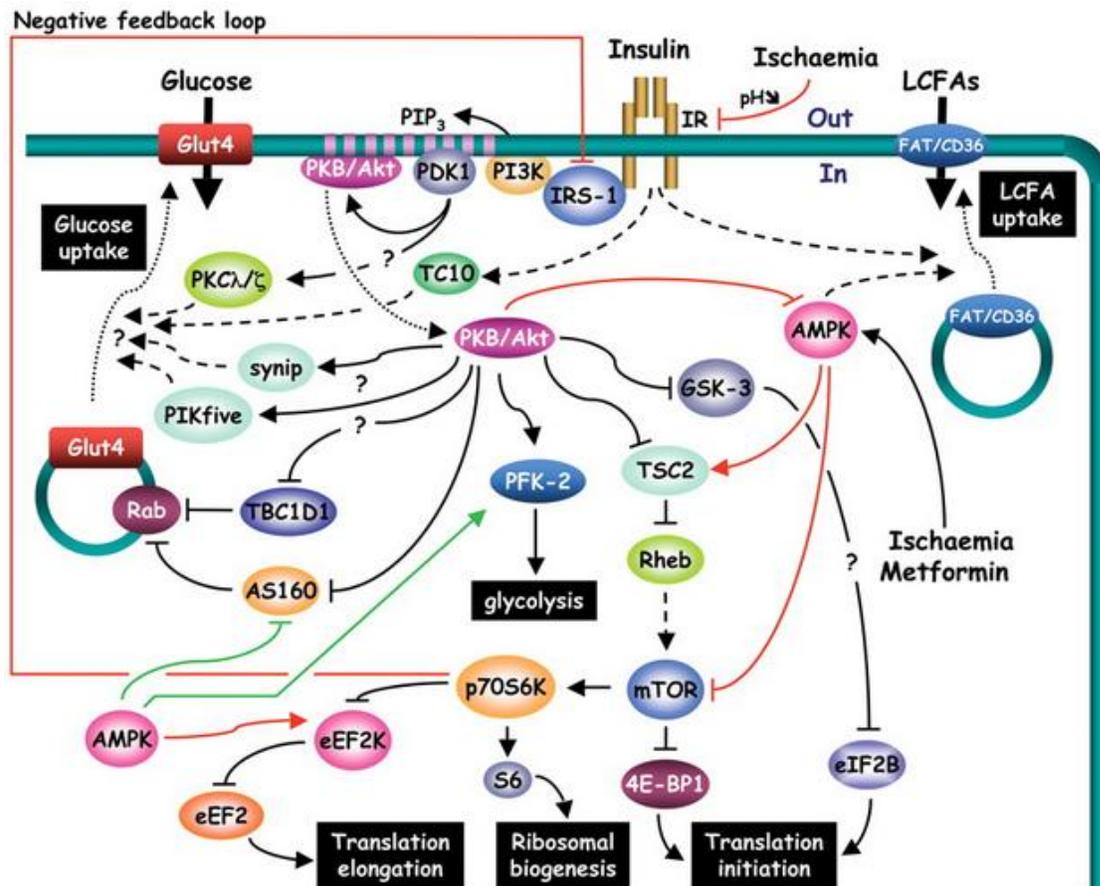


Figure 5.2 : Contrôle par l'insuline des protéines et des enzymes impliquées dans le métabolisme et dans la synthèse protéique dans le cardiomyocyte (Image tirée d'après Bertrand et coll. ⁶⁰).

5.3. Les mécanismes de régulation du métabolisme énergétique à long terme

Différentes voies de signalisation sont impliquées dans les mécanismes de régulation du métabolisme énergétique cardiaque. Parmi les plus étudiées à ce jour, on trouve les voies de l'AMPK, de l'Akt, et de mTOR qui ont été le sujet de plusieurs travaux de recherche ainsi que d'articles de revue^{60,96,129-134}. Leurs rôles respectifs seront discutés dans les prochaines sections. La quatrième voie de régulation transcriptionnelle spécifique du métabolisme des AG (voie de PPARs) sera abordée dans une section indépendante.

5.3.1. L'AMPK : l'acteur moléculaire de l'orientation métabolique

5.3.1.1. Généralités

La protéine kinase activée par l'AMP (AMPK) a été d'abord identifiée comme la protéine kinase qui phosphoryle et inhibe l'enzyme impliquée dans la synthèse du cholestérol; la 3-hydroxy-3-méthylglutaryl-coenzyme A réductase. Par la suite, en 1980, une protéine kinase également dépendante de l'AMP et inhibant l'ACC, l'enzyme contrôlant la synthèse des AG, a été découverte. Et ce n'est qu'en 1987 que l'AMPK est formellement reconnue comme étant l'unique enzyme responsable de l'inhibition liée de la synthèse des AG et du cholestérol. L'AMPK est alors défini comme un senseur métabolique incontournable permettant l'ajustement précis des besoins et des disponibilités énergétiques cellulaires^{131,135-138}.

5.3.1.2. Structure moléculaire et localisation cellulaire de l'AMPK

L'AMPK est une serine thréonine kinase hautement conservée à travers l'évolution. C'est un complexe hétérotrimérique composé d'une sous-unité α catalytique (63 kDa) et de deux sous-unités régulatrices β (30 kDa) et γ (38 à 63 kDa), toutes les trois nécessaires pour la formation d'un complexe de l'AMPK stable et fonctionnel. Chez l'homme, ces sous-unités sont codées par sept gènes distincts ($\alpha 1, \alpha 2; \beta 1, \beta 2; \gamma 1, \gamma 2, \gamma 3$) qui peuvent former au moins 12 hétérotrimères $\alpha\beta\gamma$, augmentant ainsi la diversification des fonctions de l'AMPK¹³⁹⁻¹⁴³ (voir figure 5.3).

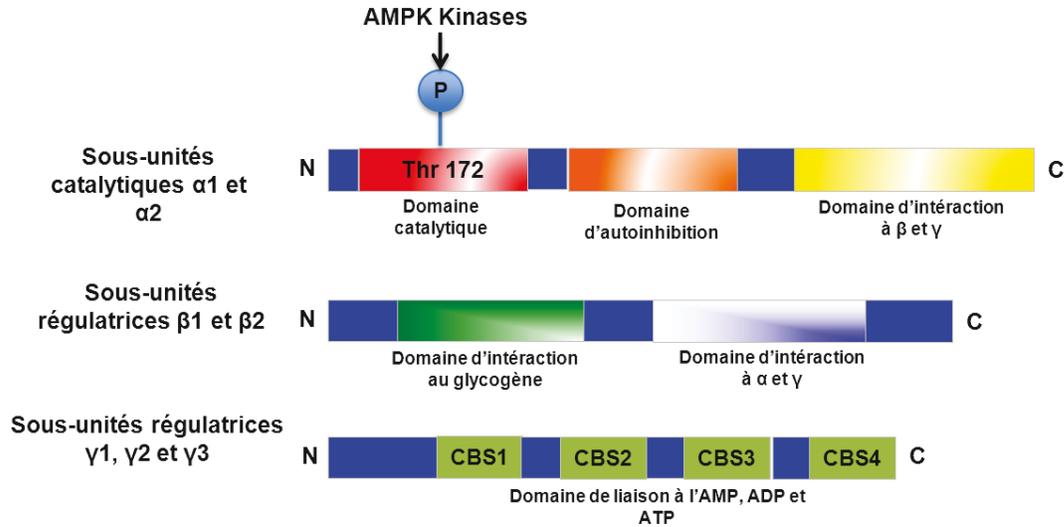


Figure 5.3 : Structure du complexe de l'AMPK et domaines des différentes sous-unités moléculaires (Image adaptée d'après Sanchez AM et coll. ¹⁴⁴).

L'isoforme $\alpha 2$ est la sous-unité de l'AMPK la plus exprimée dans le muscle cardiaque. Cette sous-unité contient le résidu thréonine (Thr-172) situé dans la boucle d'activation du domaine kinase, un domaine d'auto-inhibition et une extrémité C-terminale où se trouvent les domaines nécessaires pour la liaison des sous-unités β et γ . La phosphorylation du résidu Thr-172 à l'extrémité N-terminale des sous-unités α par des kinases en amont mène à l'activation de l'AMPK. Il a été montré que les deux sous-unités $\alpha 1$ et $\alpha 2$ de l'AMPK, ont une localisation différente dans les cellules, avec AMPK $\alpha 1$ étant localisée dans la fraction non nucléaire et l'AMPK $\alpha 2$ localisée à la fois dans le noyau et les fractions non nucléaires ¹⁴⁵.

L'AMPK β est formée d'un site de myristoylation N-terminal qui peut orienter l'AMPK vers la membrane ¹⁴⁶, d'un domaine interne de liaison au glycogène ¹⁴⁷, et d'un domaine C-terminal d'attachement aux sous-unités α et γ ¹⁴⁸. La sous-unité β contient également plusieurs sites de phosphorylation impliqués dans la localisation nucléaire de l'AMPK (Ser24 et Ser25), ainsi que dans la régulation de l'activité catalytique (Ser182) ¹⁴⁶. Les sous-unités $\beta 1$ et $\beta 2$ se retrouvent dans les fractions nucléaire et non nucléaire ¹⁴⁵. Les sous-unités γ possèdent une région N-terminal variable suivie par quatre motifs de séquences cystathionine- β -synthase hautement conservées capables de se lier à l'AMP ou

l'ATP. La sous-unité $\gamma 1$ présente une localisation préférentiellement nucléaire que les autres sous-unités γ ¹⁴⁶.

La localisation intracellulaire des différentes sous-unités AMPK et de leurs isoformes a suggéré que certains d'entre eux (en particulier $\alpha 2$, $\beta 2$ et $\gamma 1$) peuvent être impliqués principalement dans la régulation de l'expression des gènes tandis que les isoformes restants peuvent avoir des rôles dans le contrôle des fonctions cytosolique et/ou membranaire. Ainsi, l'AMPK semble être capable de changer sa localisation intracellulaire en fonction des besoins de la cellule.

5.3.1.3. Contrôle de l'activité de l'AMPK

Les cellules doivent maintenir une balance énergétique positive et stable, caractérisée par un rapport ATP/ADP élevé (*ratio* 10/1). Lorsque cette balance énergétique est perturbée par un facteur environnemental, la production d'ATP chute. Le rapport ATP/ADP ainsi que le rapport ATP/AMP sont alors automatiquement modifiés par l'intervention de l'adénylate kinase. C'est l'augmentation du rapport AMP/ATP qui détermine l'activation de l'AMPK en réponse aux états de stress énergétique comme l'absence de glucose, l'exercice physique, l'ischémie ou l'hypoxie (*voir figure 5.4*) ¹⁴⁹.

L'activité de ce complexe hétérotrimérique est contrôlée de manière extrêmement sensible en réponse à de faibles variations des concentrations en nucléotides intracellulaires et plus particulièrement de l'AMP ¹⁵⁰. L'augmentation du rapport AMP/ATP conduit à un changement conformationnel dans l'AMPK qui en fait un substrat moins accessible à la dégradation par des protéines phosphatases et un meilleur substrat pour les AMPKK (AMPK Kinase). En raison de son double effet, des petites augmentations des taux d'AMP peuvent induire une augmentation remarquable de l'activité AMPK ¹⁵⁰ (*voir figure 5.4*).

Deux protéines kinases capables de phosphoryler et d'activer l'AMPK ont été identifiées : il s'agit de la protéine kinase suppresseur de tumeur LKB1, impliquée dans la régulation de l'homéostasie du glucose ¹⁵¹⁻¹⁵³, et de la protéine kinase CaMKK β (*Calcium/calmodulin-dependent protein kinase kinase*) qui phosphoryle et active l'AMPK en réponse à l'augmentation du taux de Ca^{2+} ^{154,155}. LKB1 semble être constitutivement active dans la cellule et ne répond pas aux variations du rapport AMP/ATP. En fait, c'est la

liaison de l'AMP au complexe AMPK qui permettrait d'expliquer l'activation de l'AMPK par LKB1, en modifiant sa structure et en permettant l'accessibilité de son résidu Thr172^{151,152}. LKB1 est associée à d'autres protéines (MO25 et STRAD) pour former un complexe actif. Dans le cœur, l'AMPK est aussi phosphorylée et activée par LKB1¹⁵⁶, dont sa présence en amont de l'AMPK est essentielle au maintien de la fonction contractile.

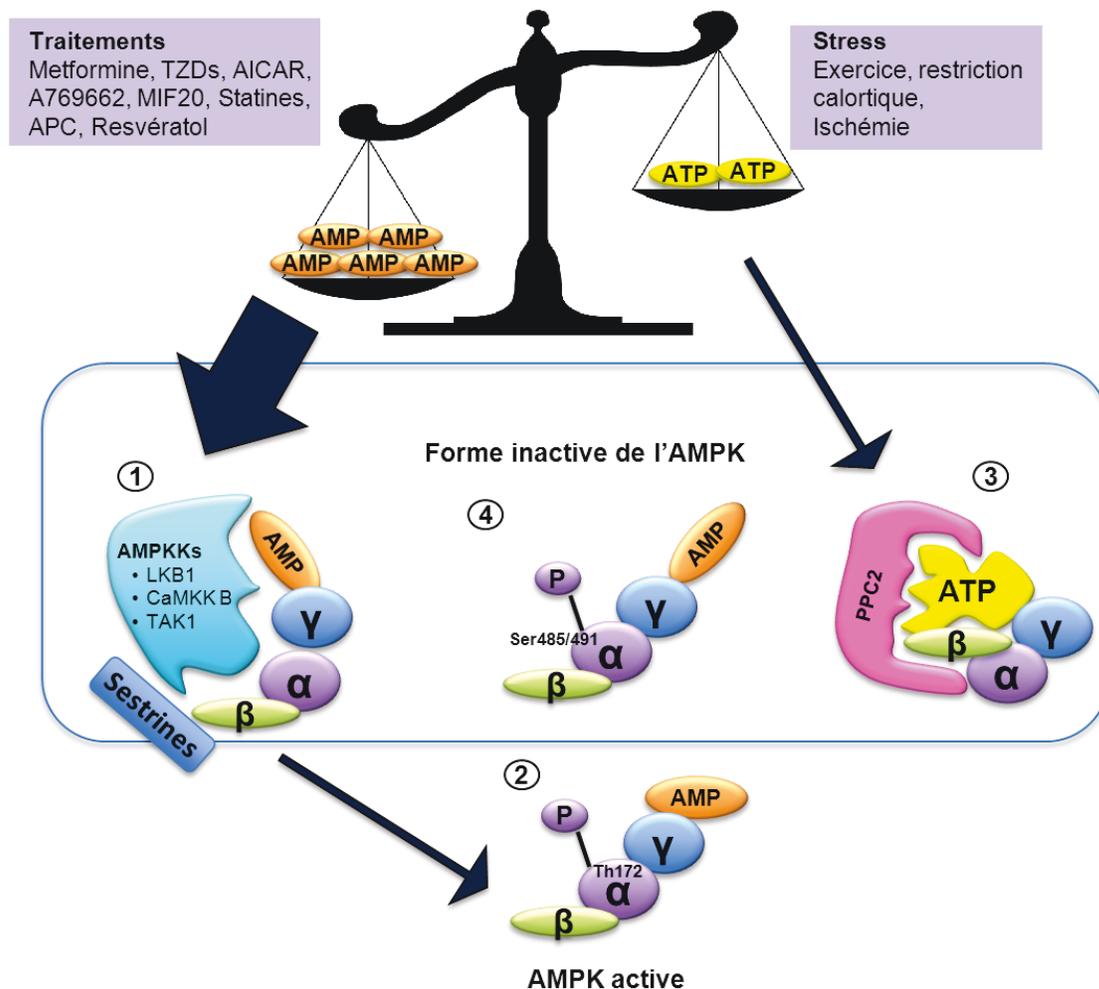


Figure 5.4 : Représentation schématique des différentes formes de l'AMPK. (1) L'augmentation du rapport AMP/ATP permet aux AMPKK de phosphoryler le résidu Thr-172 de la sous-unité α et d'activer l'AMPK. Cela se produit dans les situations de stress ou de stimulation par différents agents pharmacologiques. (2) La forme active de l'AMPK est maintenant disponible pour moduler le métabolisme cellulaire. (3) L'abondance de l'ATP lui permet de se lier à l'AMPK provoquant un changement de conformation qui la rend inaccessible à la dégradation par les phosphatases (PP2C). (4) La phosphorylation de l'AMPK au niveau du résidu Ser485/491 par Akt en réponse à l'insuline provoque un autre changement de conformation qui empêche la liaison des AMPKK et donc l'activation de l'AMPK (Image adaptée d'après Moussa A et coll.¹⁵⁰).

5.3.1.4. Les rôles physiologiques de l'AMPK

Suite à son activation, l'AMPK participe au maintien de l'homéostasie énergétique cellulaire en contrôlant, à court terme, l'activité de certaines enzymes et, à long terme, l'expression de certains gènes, la plupart impliqués dans le métabolisme énergétique ¹⁵⁷. Ainsi, afin de réajuster la balance énergétique cellulaire, l'activation de l'AMPK stimule des voies cataboliques impliquées dans la synthèse d'ATP (i.e. β -oxydation des AG, glycolyse) et inhibe des voies anaboliques ou consommatrices d'ATP (i.e. synthèse des protéines, de cholestérol et d'AG). Ce système senseur du métabolisme énergétique constitue un mécanisme de survie cellulaire hautement conservé chez les eucaryotes (*voir figure 5.5*).

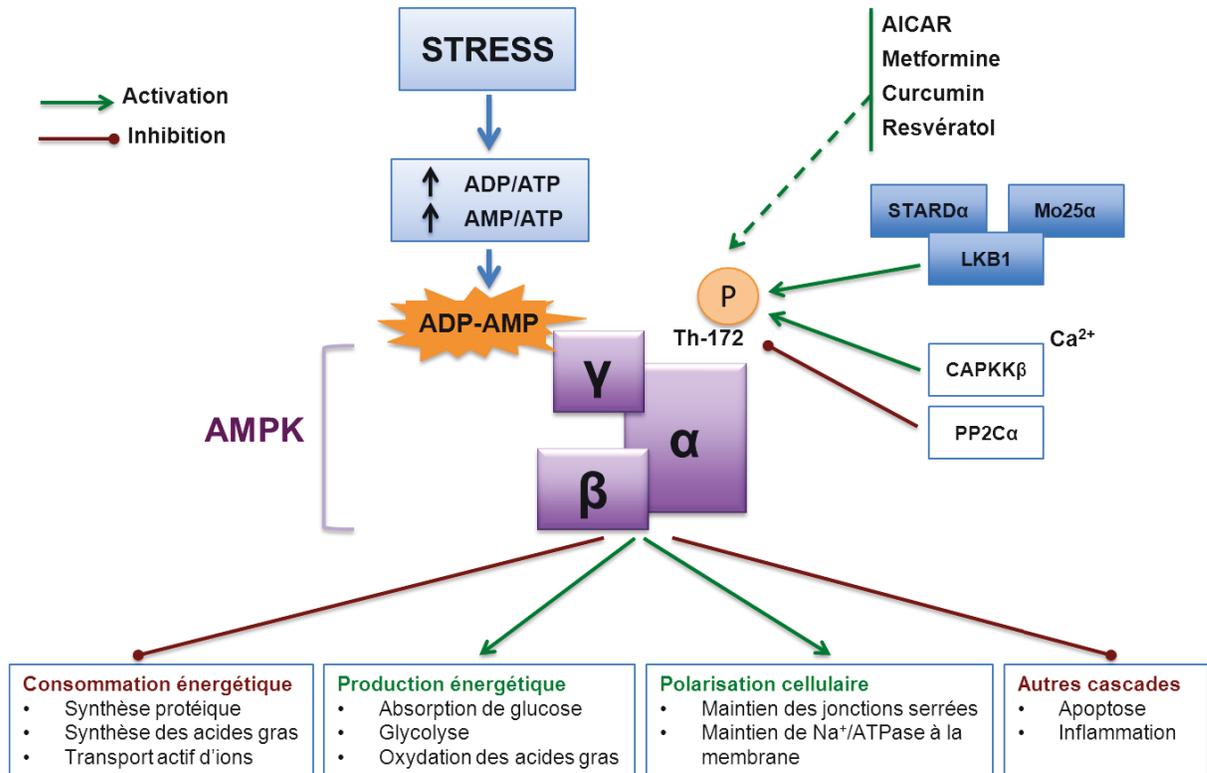


Figure 5.5 : Mécanismes d'activation et rôles centraux de l'AMPK (© WDH).

5.3.1.5. Rôle de l'AMPK dans le transport et l'utilisation des lipides cardiaques

L'activation de l'AMPK conduit à la phosphorylation ou à une modulation de l'expression d'un nombre important de protéines cibles impliquées dans la régulation du

métabolisme lipidique à la fois en termes de synthèse et d'utilisation des AG. L'hydrolyse médiée par la LPL des lipoprotéines riches en TG est un facteur majeur impliqué dans la captation des AG dans les cardiomyocytes ¹⁵⁸. Il a été montré que dans un état physiologique normal, l'activité augmentée de la LPL est associée à l'activation de l'AMPK (*voir figure 5.6A*). Conformément à cela, le jeûne et l'exercice physique (qui activent l'AMPK) permettent l'augmentation de l'activité de la LPL dans le cardiomyocyte, ainsi que l'induction par l'AMPK de son transport à la surface luminale de l'endothélium ^{159,160}.

Il a été montré que l'AMPK peut contrôler également la translocation de la FABPpm vers la membrane sarcolemmique dans le cardiomyocyte ¹⁶¹, ainsi que de CD36 à partir des vésicules intracellulaires ¹⁶² (*voir figure 5.6D*). De plus, d'autres ont montré que des activateurs de l'AMPK comme la leptine, l'oligomycine, et le dipyridamole, peuvent induire la translocation de CD36 vers la membrane dans le cœur (*voir figure 5.6B*) ^{84,161,163}.

Les AGCL sont convertis en des esters acyl-CoA par l'un des acyl-CoA synthétases (ACSL1-6) à l'aide de l'ATP générant ainsi des AMP. Cette augmentation simultanée du rapport AMP/ATP active l'AMPK par un contrôle allostérique (*voir figure 5.6E*). De plus, une diminution des niveaux de l'activité basale de l'AMPK cardiaque est observée chez les souris déficientes en ACSL1, soutenant davantage l'idée que le transport des AG dans les cardiomyocytes et leur conversion ultérieure peut activer l'AMPK ^{164,165}. Comme indiqué précédemment, le cœur ne peut pas maintenir de grandes réserves d'énergie dans les cardiomyocytes ^{37,38}. Toutefois, lorsque l'apport en AG dépasse son oxydation, le cœur peut stocker les AG sous forme de TG, qui peuvent être hydrolysés plus tard en cas de besoin. Étant donné que l'équilibre entre la synthèse et l'hydrolyse des TG est directement liée à l'état énergétique du cardiomyocyte, il a été suggéré que l'AMPK est impliquée également dans la régulation de ce processus dynamique ^{166,167}.

L'activation de l'AMPK augmente en plus la captation mitochondriale des AG par la CPT-1 en empêchant la production de malonyl CoA par l'intermédiaire de la phosphorylation inhibitrice de l'ACC (*voir figure 5.6I*). Par conséquent, l'activation de l'AMPK joue un rôle majeur dans la régulation de l'absorption mitochondriale des AG dans le cœur et contribue à la production éventuelle d'une source importante d'ATP dans les cardiomyocytes ¹⁶⁸⁻¹⁷¹.

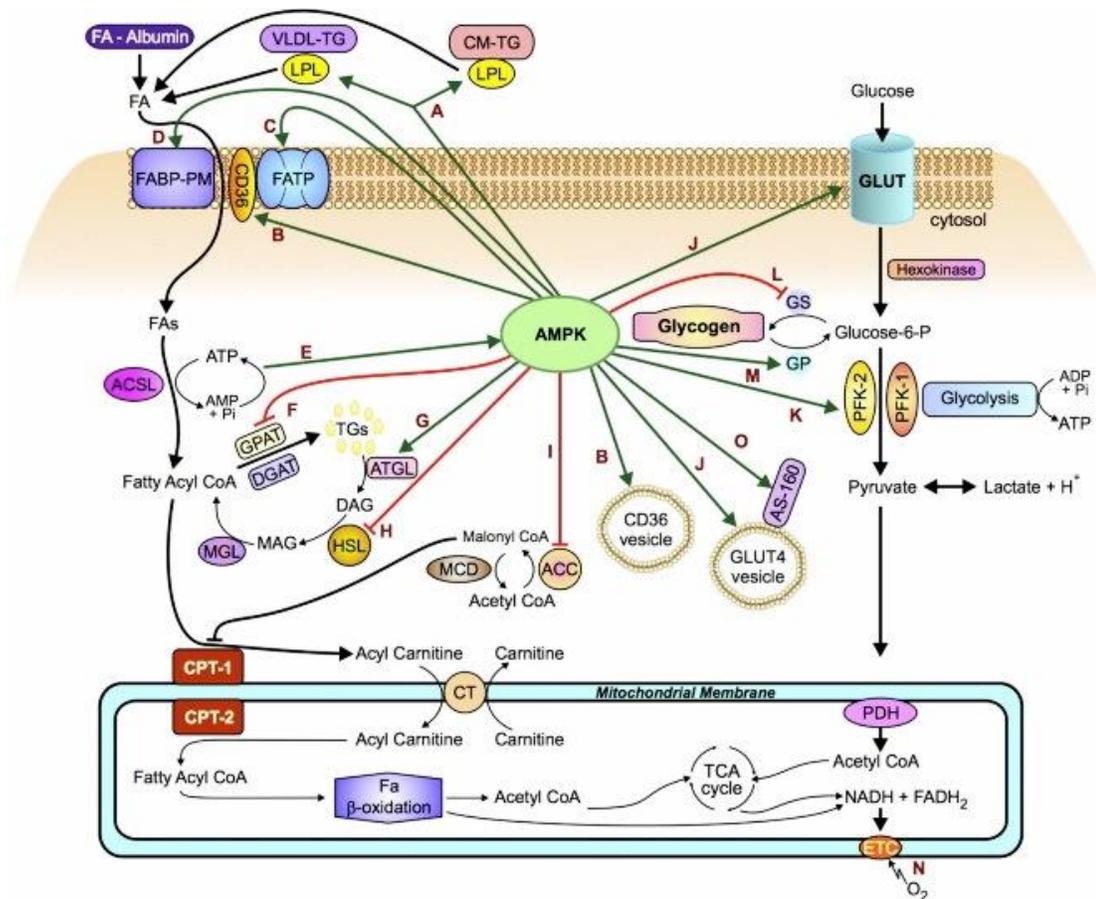


Figure 5.6 : Mécanismes de régulation par l'AMPK du métabolisme énergétique cardiaque (détails dans le texte) (Image tirée d'après Nagendran et coll. ¹⁷²).

5.3.1.6. Rôle de l'AMPK dans le transport et l'utilisation du glucose cardiaque

L'AMPK joue également un rôle important dans la régulation du métabolisme glucidique en stimulant le transport et l'oxydation du glucose dans le muscle cardiaque. Dans le cardiomyocyte, il a été établi que l'activation de l'AMPK est associée à un meilleur transport de glucose médié par GLUT1 ^{173,174}. Son activation durant le stress énergétique améliore également la translocation de GLUT4 vers la membrane plasmique dans divers types de tissus/cellules, y compris cœur/cardiomyocytes ^{175,176}. En plus des effets insulino-indépendants de l'AMPK dans l'induction de la translocation de GLUT4 à la membrane, il a été montré que l'AMPK est également impliquée dans sa translocation insulino-dépendante dans le cœur. En effet, il a été démontré que le substrat de AS160 qui régule la translocation de GLUT4 vers la membrane plasmique d'une manière dépendante de l'insuline peut être phosphorylé et donc activé par l'AMPK (voir figure 5.6J) ^{177,178}.

L'AMPK joue également un rôle essentiel dans la régulation de la glycolyse et de la synthèse de glycogène (*voir figure 5.6K-M*). L'activation de l'AMPK favorise la synthèse du pyruvate à partir du G-6P indirectement par l'intermédiaire de la phosphorylation et l'activation de la PFK-2 (*voir figure 5.6K*) menant à l'activation de la glycolyse.

5.3.1.7. Rôle de l'AMPK dans la biogenèse mitochondriale

La capacité oxydative des mitochondries dépend de leur nombre et de l'activation de leurs enzymes. L'activation chronique de l'AMPK augmente la biogenèse et l'expression des enzymes mitochondriales. Ces effets de l'AMPK passent par l'activation de PGC-1 α et 1 β . Ces deux cofacteurs de transcription jouent un rôle essentiel dans la régulation de la biogenèse mitochondriale (*voir section 5.4.9*).

5.3.2. Rôle de la voie d'Akt dans la régulation du métabolisme myocardique

Comme nous l'avons déjà mentionnée, l'Akt est un membre essentiel de la voie de signalisation de l'insuline et est impliquée dans la régulation de la flexibilité métabolique du cœur. La liaison de l'insuline induisant le recrutement intracellulaire et la phosphorylation du substrat de IR (IRS)-1 permet le recrutement subséquent et l'activation de PI3K et ainsi la production du phosphatidyl-inositol diphosphate (PIP2) qui active Akt¹³² et ainsi induit la translocation de GLUT4 et FAT/CD36 au niveau du sarcolème^{50,83} (*voir figure 5.2*). De plus, Akt peut être activée par différents facteurs de croissance et hormones. La captation et le transport du glucose stimulés par l'insuline sont bloqués dans des cardiomyocytes de souris déficientes pour Akt2 mais pas chez celles déficientes pour Akt1¹⁷⁹. Cette diminution du métabolisme du glucose est compensée par une augmentation de la captation et de l'oxydation du palmitate dans ces cardiomyocytes.

La cible de phosphorylation connue d'Akt, FoxO, régule également l'expression de gènes impliqués dans le métabolisme, tels que PDK4 et LPL¹⁸⁰. En particulier, FoxO1 est activé par le jeûne dans le muscle, ce qui contribue à l'induction de la PDK et d'autres gènes de la β -oxydation. La régulation de PDK par FoxO est essentielle pour le contrôle de la sélection de substrat et le maintien de niveaux suffisants d'ATP. FoxO contribue à la

régulation de PDK en interagissant avec d'autres récepteurs d'hormones nucléaires tels que le récepteur des œstrogènes (ERR), le récepteur des glucocorticoïdes, et le PPAR α ¹⁸¹.

5.3.3. Rôle de la voie mTOR dans la régulation du métabolisme myocardique

La voie de mTOR semble être profondément impliquée dans la régulation du métabolisme cardiaque. mTOR est une protéine kinase directement reliée à la machinerie de la synthèse des protéines, l'un des processus les plus consommateurs d'énergie dans la cellule ¹⁸² (*voir chapitre 7*). Il est donc essentiel que la synthèse des protéines ne se produit que dans des conditions énergiquement favorables. L'AMPK activée induit une activation de TSC2 (*tuberous sclerosis complex 2*), un inhibiteur de mTORC1. mTOR peut être également inhibée par l'AMPK indépendamment de mTORC1 (complexe 1 de mTOR) en phosphorylant directement raptor qui induit sa liaison à la protéine 14-3-3 et par conséquent son inactivation. Cet effet de l'AMPK, très important principalement en situation de stress énergétique, est un autre point de contrôle et un lien entre le métabolisme et la prolifération cellulaire ¹⁸³.

5.4. La régulation transcriptionnelle du métabolisme énergétique : rôle de PPAR α

Les premiers facteurs de transcription, caractérisés pour leur implication dans la régulation du métabolisme cardiaque dans les années 90, sont les récepteurs activés par les proliférateurs des peroxysomes (PPARs) et les coactivateurs-1 de PPAR γ (PGC-1 α/β) ¹⁸⁴. Étant donné le rôle majeur des PPARs et de PGC-1 α dans la régulation génique des enzymes de la β -oxydation, ils seront décrits en détails dans les sections suivantes.

5.4.1. La famille des PPARs : isoformes et expression tissulaire

Les récepteurs activés par les proliférateurs de peroxysomes (pour une revue, voir Desvergne et coll. ¹⁸⁵) sont des facteurs de transcription qui appartiennent à la superfamille des récepteurs nucléaires activés par des ligands, y compris les récepteurs d'acide rétinoïque (RAR), les récepteurs d'hormones thyroïdiennes, les récepteurs X hépatiques (LXR), les récepteurs de la vitamine D3 et les récepteurs de stéroïdes ¹⁸⁶. Les PPARs ont été d'abord

identifiés en 1990 comme les récepteurs pour les fibrates, une classe de médicaments hypolipidémiques utilisée chez l'homme depuis la fin des années 1960 ¹⁸⁷.

Leur nomination a été d'abord choisi en raison de leur capacité à induire la prolifération des peroxysomes chez les rongeurs ¹⁸⁸, mais depuis le clonage initial du premier isotype chez la souris par Issemann et coll. , qui est PPAR α et la découverte de deux autres isotypes (PPAR β/δ et PPAR γ) par Dreyer et coll. en 1992 ¹⁸⁹, de nombreuses études ont révélé que les PPARs présentent un mode de distribution tissus-spécifique et contrôlent également l'expression de plusieurs gènes impliqués dans le stockage et le métabolisme des AG, mais aussi dans le contrôle des réponses cellulaires. La distribution tissulaire et le niveau d'expression diffèrent selon l'isoforme considérée ¹⁹⁰ (voir *tableau 5.1*).

Tableau 5.1 : Distribution et actions physiologiques des PPARs (α , β/δ , γ) (© WDH).

Sous-type	Distribution	Action physiologique
PPAR α	Foie, reins, cœur, intestin, muscle squelettique, tissu adipeux.	- Catabolisme et oxydation des lipides, - Gluconéogenèse
PPAR β/δ	Ubiquitaire	- Différentiation des adipocytes (mineure). - N'est toujours pas totalement élucidée
PPAR γ	Tissu adipeux, Gros intestin, Cellules hématopoïétiques, Reins, Foie, Muqueuse intestinale.	- Capture du glucose et des AG, - Gluconéogenèse - Lipogenèse - Glycogenèse - Différenciation des adipocytes - Maturation des macrophages - Modulation de l'inflammation

5.4.2. Structure des PPARs

La structure générale de gènes PPARs révèle une organisation génomique conservée de six exons codants dérivés probablement d'un gène commun ¹⁹¹. Les PPARs sont des protéines de 49-56 kDa qui contiennent plusieurs domaines structuraux et fonctionnels, communs à la plupart des récepteurs nucléaires ¹⁹² (voir *figure 5.7*).

Le domaine N-terminal A/B est le moins conservé parmi les récepteurs nucléaires et contient un domaine AF-1 de *trans*-activation ligand-indépendant. Ce domaine interagit

avec des cofacteurs et contient des sites conservés de phosphorylation par les MAPK (mitogènes activés par les protéines kinases). Le domaine C, hautement conservé, contient le domaine de liaison à l'ADN (DBD) qui se replie en deux doigts de zinc (voir figure 5.7). Le DBD est responsable de la reconnaissance de la séquence hexanucléotide AGGTCA et est impliqué dans la dimérisation du récepteur. PPAR se lie à l'ADN en tant qu'hétérodimère avec le récepteur de l'acide 9-cis rétinolique (RXR) sur des éléments de réponse fonctionnels de PPAR (PPRE)¹⁹³. Le domaine D reliant le DBD au domaine de liaison du ligand (LBD) et hautement conservé est impliqué dans la localisation nucléaire et interagit avec des protéines régulatrices. Le domaine C-terminal E/F ou LBD contient une séquence hydrophobe qui peut se lier à de nombreux ligands lipophiles et une fonction de *trans*-activation dépendante du ligand (AF-2). Cette région comprend également des interfaces de dimérisation et est impliquée dans l'interaction avec RXR, son partenaire d'hétérodimérisation obligatoire¹⁹⁴.

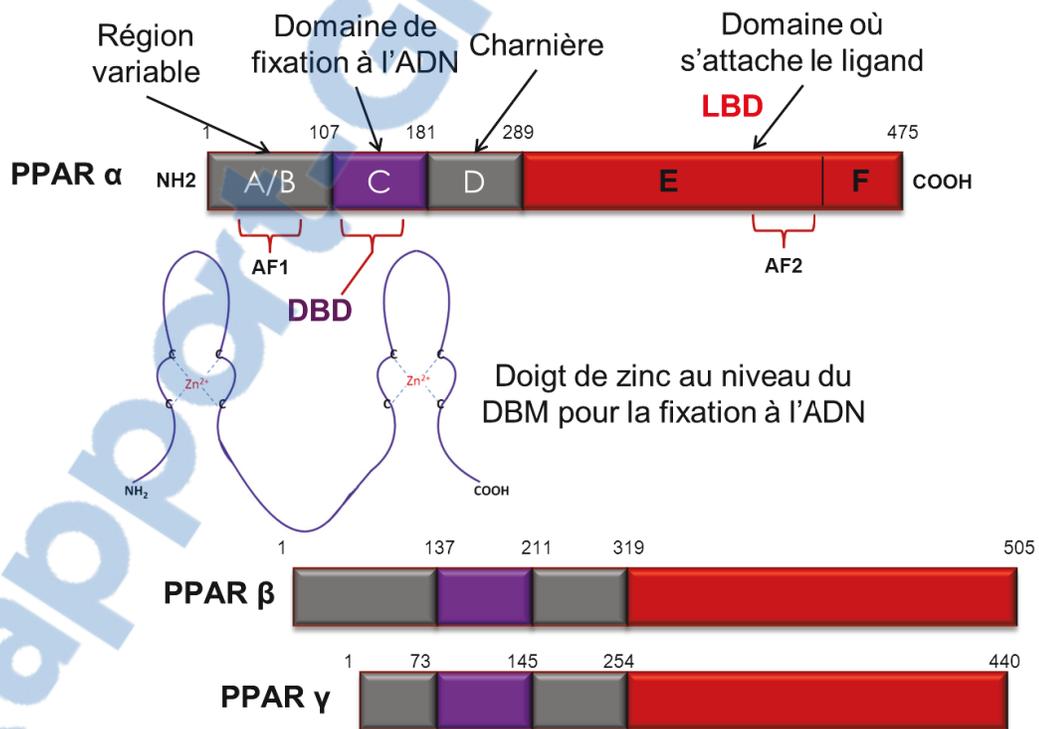


Figure 5.7 : Structure et organisation fonctionnelle des trois isoformes de PPAR (© WDH).

5.4.3. Les ligands des PPARs

De nombreux agonistes naturels et synthétiques des PPARs sont utilisés aujourd'hui dans le traitement des troubles liés au métabolisme du glucose et des lipides (voir figure 5.8). Les PPARs exercent différentes activités, principalement par l'intermédiaire de ligands endogènes produits dans les voies métaboliques des AG, et ils sont pour cela appelés des capteurs lipidiques. Les agonistes des PPARs ont des propriétés et des spécificités différentes pour chaque sous-type¹⁹⁵. Des études initiales ont révélé que les AGCL saturés et insaturés se lient avec une affinité presque similaire à PPAR α (K_d de 1 à 2 μ M) et de manière moins efficace à PPAR β (K_d de 3 à 10 μ M), alors que seulement les AGCL insaturés sont capables de se lier au récepteur PPAR γ ¹⁹⁶.

Le caractère du site de liaison du ligand aux PPARs est sa taille, qui est trois à quatre fois plus grand que celui des autres récepteurs nucléaires. Ainsi, les PPARs ont la capacité de s'adapter et de se lier à une variété d'acides lipophiles naturels et synthétiques, tels que des AG essentiels (AGE)¹⁹⁵.

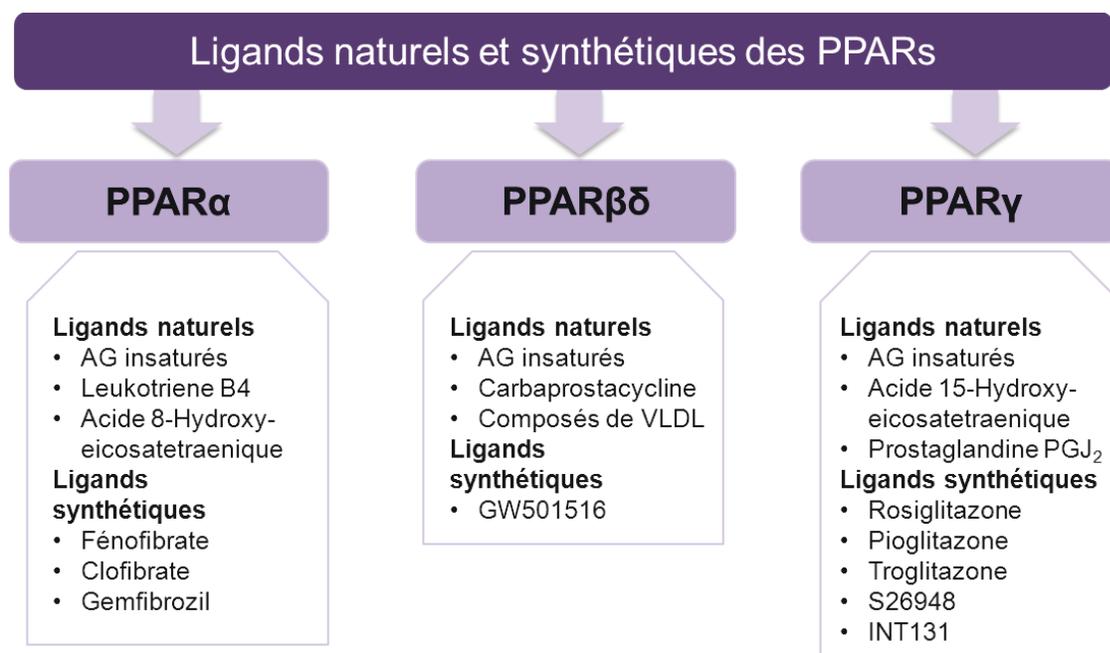


Figure 5.8 : Les ligands des PPARs (Image adaptée d'après Grygiel GB et coll.¹⁹⁷).

5.4.4. Le mécanisme d'activation des PPARs

En plus de leur activation par l'intermédiaire d'un ligand, les PPARs sont également régulés par des co-activateurs et des co-répresseurs de la transcription. Les co-activateurs transcriptionnels interagissent directement avec PPAR et d'autres récepteurs nucléaires établissant une plateforme pour le recrutement des complexes de protéines qui servent au remodelage de la chromatine et au recrutement du complexe de l'ARN polymérase II ^{101,198-201} (voir figure 5.9).

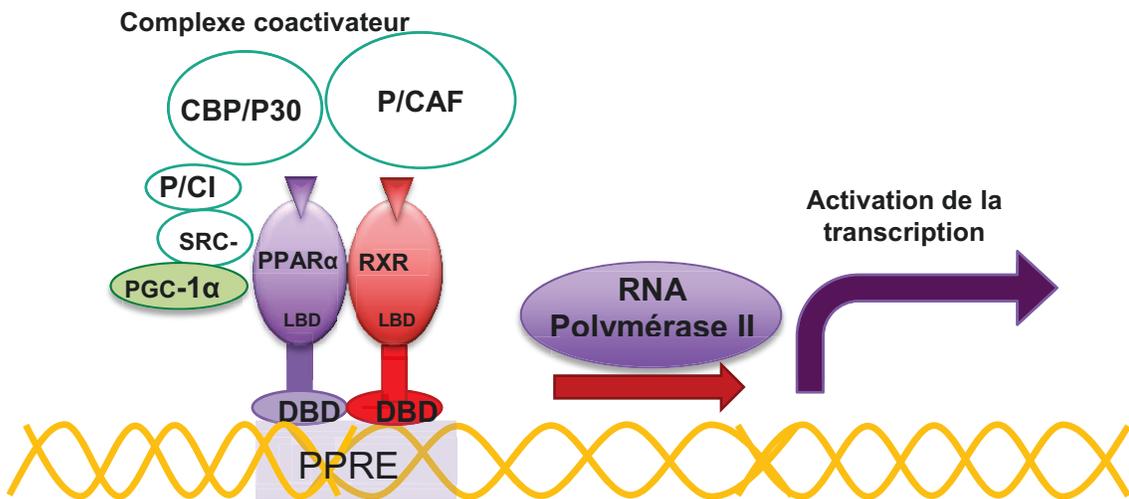


Figure 5.9 : Complexe d'activation de la transcription des gènes de la β -oxydation par PPAR α (© WDH).

5.4.5. Régulation de l'activité de PPAR par des modifications post-traductionnelles

Il est maintenant établi que les modifications covalentes par phosphorylation, ubiquitination ou sumoylation sont impliquées dans la régulation des fonctions de PPAR α et PPAR γ , tandis que des informations sur ces modifications pour PPAR β sont encore limitées. De nombreuses études ont montré que PPAR α et PPAR γ sont phosphorylés par diverses kinases, telles que les protéines kinases A et C (PKA et PKC), les MAPK, et l'AMPK, et que ces phosphorylations modulent leur activité à plusieurs étapes pendant la dégradation protéosomale, l'affinité du ligand, et la liaison à l'ADN ²⁰². PPAR α est une protéine de courte durée de vie, et la liaison du ligand empêche son ubiquitination et sa



dégradation par le protéasome; cependant, cet effet protecteur du ligand disparaît au bout de quelques heures et PPAR α est ensuite dégradé rapidement²⁰³.

Les sections suivantes seront consacrées principalement à la discussion des fonctions du PPAR α et de son intérêt comme cible thérapeutique, en particulier dans le système cardiovasculaire.

5.4.6. Les ligands de PPAR α

5.4.6.1. Les agonistes naturels de PPAR α

Les ligands naturels de PPAR α sont les AG oméga-3 qui comprennent l'acide docosahexaénoïque (DHA) et d'acide eicosapentaénoïque (EPA). Les eicosanoïdes, comme la leucotriène B₄, sont également des ligands naturels de PPAR α ¹⁹⁵. Toutefois, ces ligands sont nécessaires à des concentrations relativement élevées (environ 100 μ M) pour l'activation des PPARs²⁰⁴. Parce que les AG oméga-3 sont hautement polyinsaturées, ils subissent facilement l'oxydation et stimulent les PPARs. De même, l'oxydation des lipoprotéines de faible densité (LDL) les transforme en des stimulateurs puissants de PPAR α dans les cellules endothéliales²⁰⁵. Ainsi, l'oxydation des lipides peut être une des premières étapes impliquée dans la génération de l'efficacité des agonistes de PPAR α . Les AG oméga-3 révèlent également un effet anti-inflammatoire qui résulte de l'inhibition de leur oxydation provoquée par l'activation de NF- κ B dans une voie dépendante de PPAR²⁰⁶. En plus, PPAR α traduit les actions anti-inflammatoires de palmitoyl-éthanolamide, l'amide d'origine naturelle de l'acide palmitique et l'éthanolamine²⁰⁷.

5.4.6.2. Les agonistes synthétiques de PPAR α ; les fibrates

Les métabolites actifs des fibrates, tels que l'acide fénofibrique et l'acide clofibrique, sont des activateurs doubles de PPAR α et PPAR γ , avec environ une sélectivité 10 fois pour PPAR γ . L'effet du bésafibrate, un autre composé de ce groupe, est plus large, car il active les trois sous-types de PPAR à des doses comparables aux autres fibrates²⁰⁸. Par conséquent, le bésafibrate est considéré comme un panagoniste pour les trois isoformes

avec le potentiel d'améliorer directement la sensibilisation à l'insuline par l'activation de PPAR γ ²⁰⁸.

5.4.7. Les rôles et les principales fonctions de PPAR α dans l'organisme

Les actions les plus clairement définies des agonistes de PPAR α sont ceux aux niveaux hépatique et extra-hépatique sur le métabolisme des lipoprotéines. PPAR α est la sous-unité primaire exprimée dans le foie et est un régulateur important du métabolisme hépatique des lipides, la synthèse et le catabolisme des lipoprotéines, et certaines étapes de la synthèse des HDL (lipoprotéines de haute densité)²¹⁰ et des voies du transport inverse de cholestérol²¹¹. La β -oxydation mitochondriale des AG, plutôt que peroxysomale, est le site d'action principal de PPAR α dans le cœur²¹² (voir figure 5.10).

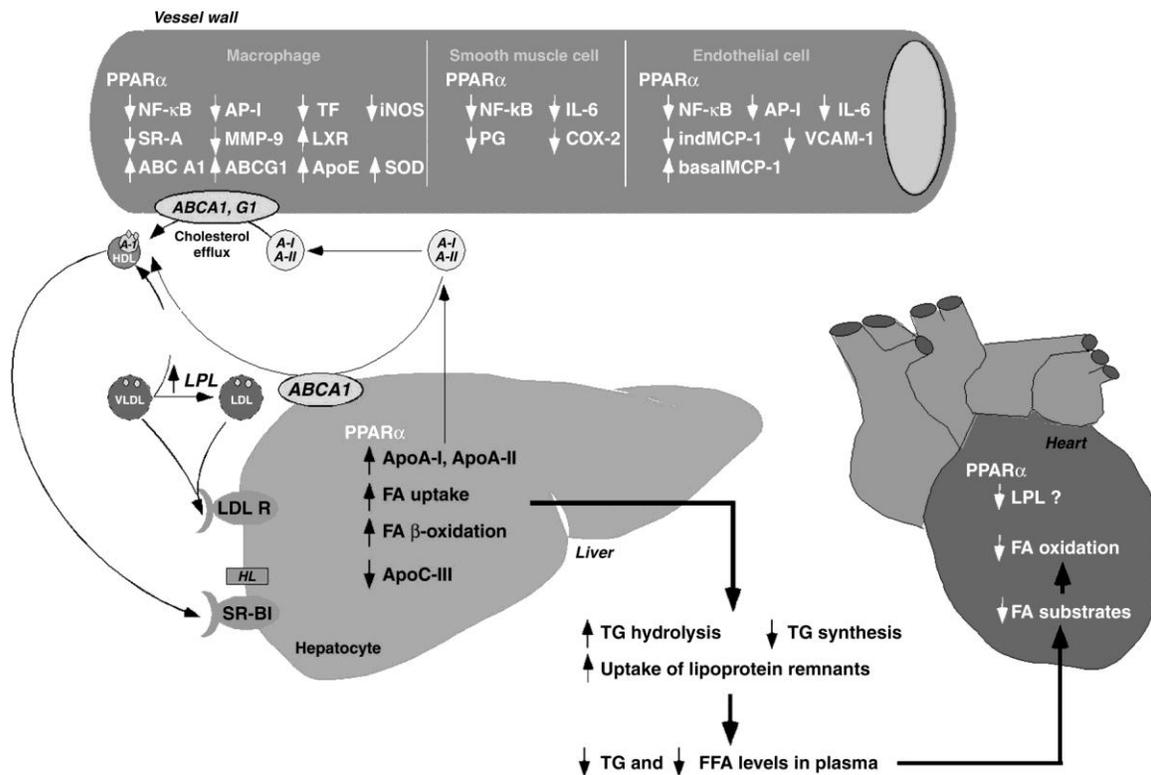


Figure 5.10 : Les actions de PPAR α dans la paroi vasculaire, le foie et le cœur (Image tirée d'après Gordon A. Francis et coll.²¹³).

5.4.8. Le rôle de PPAR α dans le cœur

Contrairement aux effets bénéfiques clairs des agonistes de PPAR α sur le métabolisme des lipoprotéines, les effets nets de l'activation de PPAR α sur le métabolisme et la fonction cardiaque dans les conditions normales et pathologiques sont moins bien définis. L'activité principale de PPAR α dans le cœur est de fournir de l'énergie au myocarde par l'activation des gènes régulant le transport et l'oxydation mitochondriale d'AG ²¹⁴. Le cœur fœtal s'appuie principalement sur le glucose et le lactate comme sources d'énergie. Après la naissance, sa capacité β -oxydative dépendante de PPAR α augmente nettement ^{215,216}.

Dans le cœur, l'activation de PPAR α augmente l'expression de gènes impliqués dans les trois principales étapes du métabolisme lipidique ²¹⁷. Le gène de MCAD est la première cible cardiaque identifiée de PPAR α ²¹⁸. L'expression de MCAD et d'autres enzymes de la β -oxydation est réduite au cours du développement fœtale et augmente considérablement après la naissance pour atteindre des niveaux élevés chez l'adulte. Le profil d'expression cardiaque du gène PPAR α au cours du développement est similaire à celui des gènes des enzymes β -oxydatives ²¹⁹.

Tableau 5.2 : Protéines cibles et co-activateurs de PPAR α dans le cœur (© WDH).

Classe de protéines	Protéine cible	Nom de la protéine cible
Transport, liaison cytosolique et estérification des AG	FATP	<i>Fatty acid transporter protein</i>
	FAT/CD36	<i>Fatty acid transporter/cluster of differentiation type 36</i>
	FATBP	<i>Fatty acid binding protein</i>
Importation des AG dans la mitochondrie	CPT-1 β	Carnitine palmitoyl-transférase de type 1 β
β -OX dans la mitochondrie	MCAD	<i>Medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency</i>
	LCAD	<i>Long-chain acyl-CoA dehydrogenase</i>
	VLCAD	<i>Very Long Chain Acyl CoA Dehydrogenase</i>
	KT	β -acyl-CoA thiolase
β -OX dans le peroxysome	ACO	Acyl-CoA oxydase
La chaîne respiratoire mitochondriale	MTE-1	Thioestérase mitochondriale 1
	UCP2	Protéine de découplage 2
	UCP3	Protéine de découplage 3
Coactivateurs de PPAR α	SRC-1	<i>Steroid receptor coactivator-1</i>
	CBP/p300	<i>CREB binding protein</i>
	PBP/TRAP220	<i>Presenilin-binding protein/thyroid hormone associated protein 220</i>
	PGC-1	<i>PPAR-γ coactivator 1</i>

Dans les cardiomyocytes, l'expression du gène M-CPT-1 est également régulée positivement par PPAR α , en particulier via les AGCL. Le PPRE de PPAR α dans le promoteur de M-CPT a été localisé et est appelé élément de réponse 1 d'AG (FARE-1)²²⁰. PPAR α régule aussi l'expression de protéines impliquées dans l'oxydation du glucose (PDK4) et dans le découplage mitochondrial (UCP2 et UCP3)^{72,214,221,222}. Le Tableau 5.2 présente les principales protéines cibles de PPAR α ainsi que les co-activateurs de ce dernier.

5.1.1. Le co-activateur PGC-1

PGC-1 α et PGC-1 β sont deux coactivateurs transcriptionnels importants de la biogenèse mitochondriale. PGC-1 α est une protéine nucléaire de 91kDa exprimée sélectivement dans les organes ayant un métabolisme oxydatif élevé, comme le cœur, le muscle squelettique et le foie. Il est impliqué dans le remodelage de la chromatine, l'activation de la transcription et la régulation de l'épissage des ARNm. Ce facteur a un rôle majeur dans la régulation du métabolisme énergétique, incluant non seulement la biogenèse, la prolifération mitochondriale et la β -oxydation des AG dans ces tissus, mais aussi la gluconéogenèse hépatique et la captation du glucose dans les muscles squelettiques²²³ (voir figure 5.11).

Les 2 isoformes de PGC-1 interagissent avec d'autres facteurs de transcription liés à des éléments d'ADN sur des régions promotrices spécifiques pour certains gènes²²⁴. Pour s'activer, PPAR α nécessite son attachement à PGC-1 α ainsi qu'à d'autres cofacteurs essentiels à la régulation de la transcription génique²²⁵. La fixation de complexe protéique aux sites spécifiques de l'ADN permettra d'activer l'expression de nombreux gènes impliqués dans les multiples voies du métabolisme énergétique, y compris; la captation et la β -oxydation des AG, le CK, le transport des électrons et la phosphorylation oxydative²²³. Chez la souris adulte, la surexpression cardio-spécifique de PGC-1 α stimule la prolifération mitochondriale non contrôlée et des altérations dans la structure des mitochondries dans les cardiomyocytes²²⁶. Par contre, dans le cœur fœtal, ainsi que pendant l'hypertrophie et l'IC, la diminution de l'expression de PGC-1 α provoque l'effet inverse, suggérant le rôle crucial de ce facteur dans la régulation du métabolisme cardiaque²²⁷.

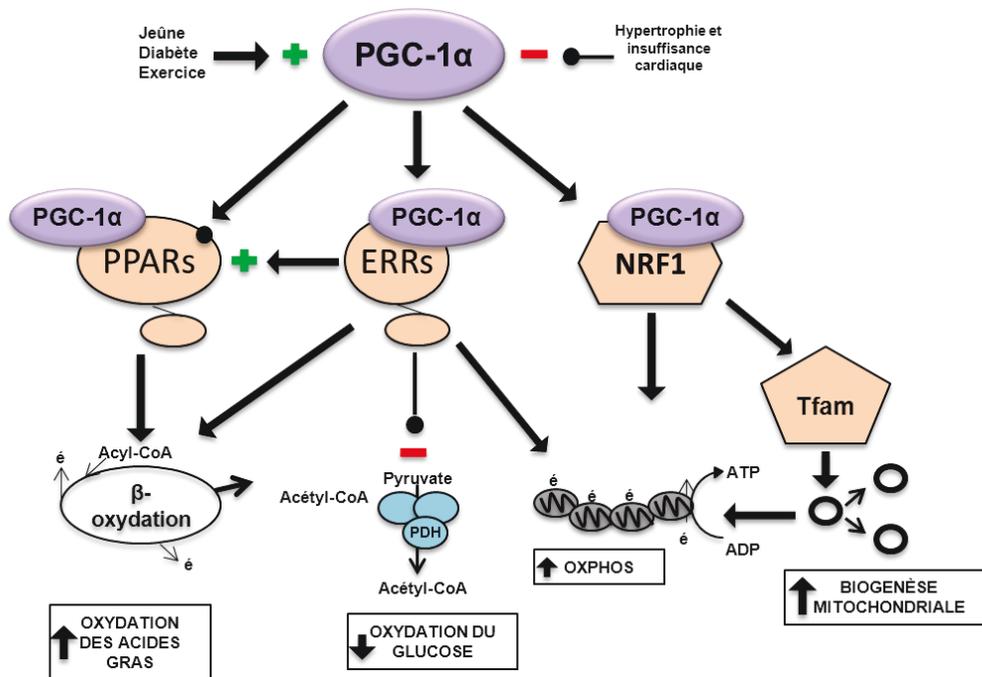


Figure 5.11 : Voies d'activation et contrôle transcriptionnel de la biogenèse et de la β-OX mitochondriales par PGC-1α. TFAM ; mitochondrial transcription factor A, et NRF-1 ; nuclear respiratory factor 1, ERR ; estrogen-related receptor (Image adaptée d'après Finck B N et coll. ²²⁷).

Chapitre 6: L'INSUFFISANCE VALVULAIRE AORTIQUE; CONTEXTE CLINIQUE ET MODÈLE EXPÉRIMENTAL

6.1. Introduction aux valvulopathies

Une pathologie chronique peut être responsable du développement de valves défectueuses. Une fièvre rhumatismale, une infection bactérienne ou virale et une inflammation peuvent déclencher des changements dans la structure et la fonction des valves. Habituellement, les feuillets valvulaires sont très minces et souples, mais ils peuvent devenir épais et rigides à la suite d'une pathologie. La valve peut devenir incapable d'ouvrir ou de fermer complètement. Les valvulopathies rencontrées chez les jeunes non consécutives à une infection sont généralement due à une malformation congénitale dans le développement embryologique du cœur^{228,229}.

Le dysfonctionnement valvulaire peut aussi se produire secondairement à d'autres maladies cardiaques, tels que la maladie coronarienne, l'hypertrophie et la dilatation cardiaques. Si la maladie coronarienne progresse au point où les muscles papillaires deviennent hypoxiques ou infarctés, la dysfonction contractile de ces muscles peut provoquer une fuite au niveau de la valve tricuspide ou mitrale. L'hypertrophie ou la dilatation cardiaque, en modifiant la structure et les dimensions de la chambre cardiaque, peut conduire également à un dysfonctionnement valvulaire²³⁰. Enfin, une valvulopathie peut se produire si les cordages tendineux qui relient les feuillets de la valve au muscle papillaire dégénèrent. Deux grands types de valvulopathies sont ainsi caractérisés^{229,231} :

- L'insuffisance, appelée également régurgitation, fuite ou incontinence, est définie comme un défaut d'étanchéité des valves cardiaques qui doivent, en théorie, quand leur fonctionnement est normal, empêcher le reflux sanguin.
- Le rétrécissement, appelé aussi sténose, entraîne une gêne au moment du passage du sang car la valve n'est pas suffisamment ouverte.

Les valvulopathies sont associées au développement d'altérations hypertrophiques, dans les cas de sténoses, ou suite aux insuffisances. La conséquence est une modification de la relation de la fonction ventriculaire et de la précharge de deux manières. Le dysfonctionnement systolique est caractérisé par une diminution de la contractilité du myocarde (voir figure 6.1A). Le VG ne peut pas alors pomper efficacement le sang dans la circulation systémique ce qui conduit à la congestion pulmonaire. Le dysfonctionnement systolique est une caractéristique de la cardiomyopathie dilatée ainsi que hypertrophique et est généralement défini comme une FE du VG inférieure à 40%. La dysfonction diastolique se développe quand le remplissage ventriculaire devient anormal et accompagné par des pressions élevées (voir figure 6.1B). Elle est caractéristique des cardiomyopathies hypertrophique, restrictive et dilatée et généralement défini comme une FE du VG supérieure à 40% ¹⁴.

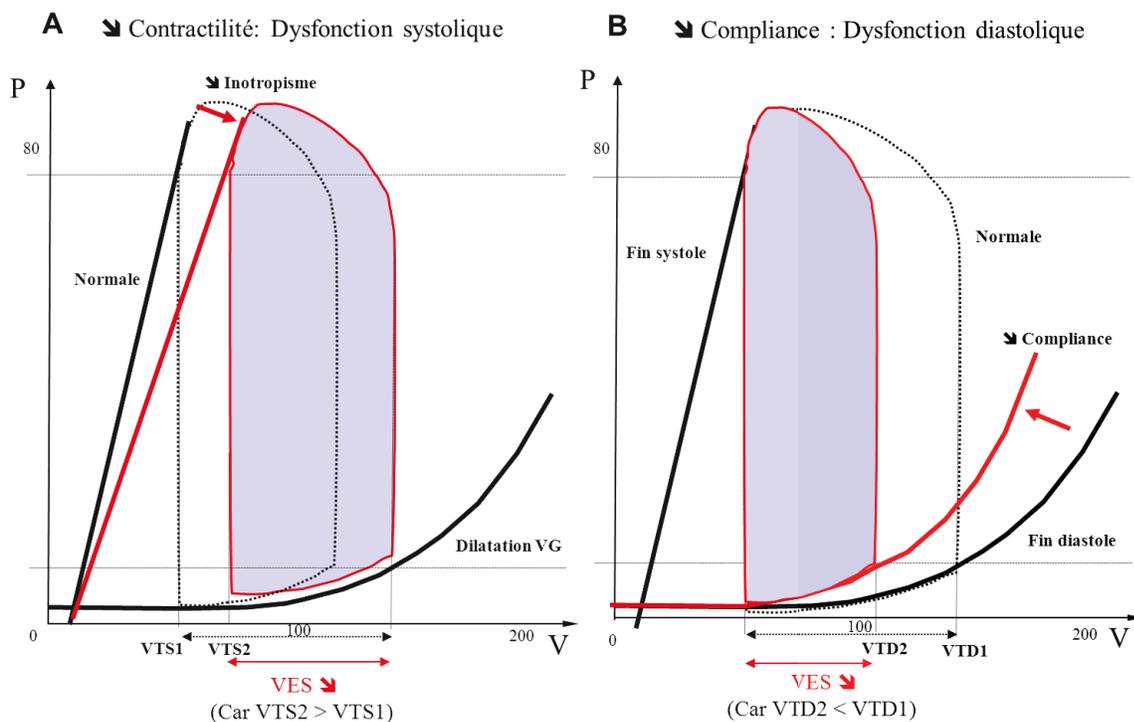


Figure 6.1: Les effets d'une dysfonction systolique (A) et diastolique (B) sur les boucles de pression-volume ventriculaire gauche. P ; pression, V ; volume, VTD ; volume télédiastolique, VTS ; volume téléstolique (Image inspirée d'après Klabunde, 2012 ¹⁴).

Dans le cadre de cette thèse, l'IA chronique causant une surcharge de volume et une hypertrophie excentrique sera abordée en détail dans les sections suivantes puisqu'elle a été le centre d'intérêts de mes travaux.

6.2. L'insuffisance de la valve aortique

6.2.1. Définition et incidence

L'insuffisance aortique (IA) ou régurgitation aortique (RA) est une valvulopathie définie par le reflux anormal du sang de l'aorte thoracique ascendante dans le VG pendant la diastole dû à une perte de la contenance de la valve aortique (*voir figure 6.2*).

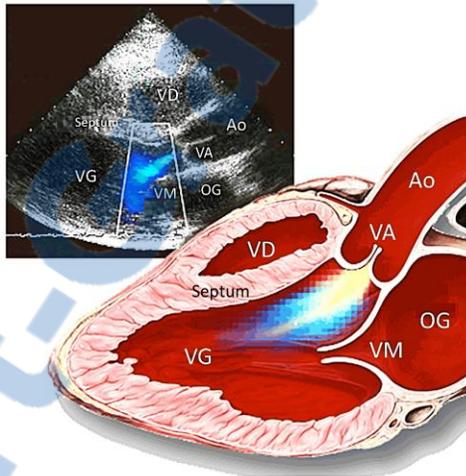


Figure 6.2 : Représentation de l'IA diagnostiquée par Doppler couleur. Le jet de régurgitation (couleur principalement en rouge-jaune) se produit pendant la diastole en direction de la cavité ventriculaire gauche (Source: Atlas of echocardiography : http://www.yale.edu/imaging/echo_atlas/entities/aortic_regurgitation.html).

Dans le monde, la fièvre rhumatismale est encore la principale cause de l'IA. Les patients ayant une IA causée par la fièvre rhumatismale sont généralement plus jeunes que les personnes atteintes d'une IA dans les pays industrialisés où la fièvre rhumatismale est moins répandue. Dans les pays occidentaux, l'IA est en grande partie causée par une maladie congénitale ou dégénérative, et aux États-Unis, elle est généralement détectée chez les patients âgés de 40 à 60 ans²³². La prévalence de l'IA, si légère, modérée ou sévère, a été estimée de 2-30%, dépendamment de la définition utilisée de l'IA, l'âge et les

caractéristiques de la sous-population étudiée. L'IA sévère se présente chez seulement 5-10% des cas, avec une prévalence dans la population générale inférieure à 1% ²³¹.

L'IA est associée à une multitude de signes cliniques. Généralement, l'IA légère ou modérée avec des dimensions du VG normales n'est pas associée à une séquelle clinique sauf si compliquée par l'endocardite infectieuse. Généralement, l'IA sévère sans symptômes n'est pas associée à une morbidité ou une mortalité accrue jusqu'à ce que les dimensions du VG soient augmentées ²³³. La progression de la maladie se produit à un taux variable, souvent insidieusement. En conséquence, les critères les plus appropriés pour l'identification du risque à l'aide de tests non invasifs et le traitement médicamenteux optimal restent controversés ^{234,235}.

6.2.2. La physiopathologie de l'insuffisance aortique

Le flux de régurgitation augmente la charge de volume sur le VG en fin de diastole et le stress au niveau des parois. Avec la diminution de l'étanchéité aortique au cours du temps, cela conduira à une hypertrophie du VG de type excentrique responsable des modifications de sa morphologie et de sa fonction et à une diminution de sa compliancé. L'augmentation de ses dimensions (dilatation) par étirement des sarcomères permet d'améliorer la performance systolique selon le mécanisme de *Starling*. L'allongement des myocytes par adjonction de nouveaux sarcomères en série (hypertrophie) et l'élongation des fibres (loi de *Laplace*) permettent la réduction de la tension pariétale diastolique ²³⁶.

Dans l'IA sévère, des mécanismes compensatoires maintiennent la fonction ventriculaire afin de préserver le volume d'éjection. Cependant, dans l'IA aiguë, la compensation ne parvient pas à réagir face à la surcharge de volume soudaine, conduisant rapidement à une dysfonction systolique du VG.

L'hypertrophie progressive augmente le stress de la paroi et les dimensions en fin de systole ²³⁷, en conséquence, la rigidité du myocarde (résistance à l'étirement) augmente et la relaxation du VG est prolongée (*voir figure 6.3*) ²³⁸. En raison de ces facteurs de stress, les fibroblastes cardiaques augmentent la synthèse de la fibronectine et de la glucosamine, ainsi que l'expression de certaines protéines de collagène et de remodelage de la MEC, responsable du développement d'une fibrose myocardique ²³⁹.

L'effet direct de la surcharge sur la fonction myocardique chez les patients atteints d'IA a été établie par des études d'IRM cardiaques qui ont confirmé la réduction du stress pariétal après le remplacement de la valve aortique, ²⁴⁰ ainsi que par des études échocardiographiques qui ont démontré des changements dans la tension pariétale après RVA ²⁴¹. Cette amélioration de la performance du myocarde pourrait être associée à une modulation bénéfique de la matrice extracellulaire. Bien que l'expression générale de collagène n'augmente pas, le transfert dans l'expression de type I au type III ²⁴² et les altérations dans l'organisation des fibres de collagène et du degré de la fibrose abiment directement la fonction systolique et diastolique ²⁴³.

Malgré que la réserve contractile ventriculaire soit conservée pendant la phase compensée, la perte de l'élastance artérielle (augmentation de la rigidité) augmente la charge de travail, et comme la contractilité ventriculaire se détériore, la diminution de l'élastance artérielle peut conduire à une diminution du débit cardiaque. Le volume de régurgitation est influencé par trois paramètres principaux ; en grande partie par la taille de l'orifice de régurgitation, le gradient de pression *trans*-valvulaire diastolique qui affecte minoritairement le degré de régurgitation et la durée de la diastole. En effet la bradycardie intensifie la SV diastolique en prolongeant la phase de régurgitation de chaque cycle cardiaque, augmentant la période de remplissage diastolique nette du VG d'une seconde chaque minute ²⁴⁴.

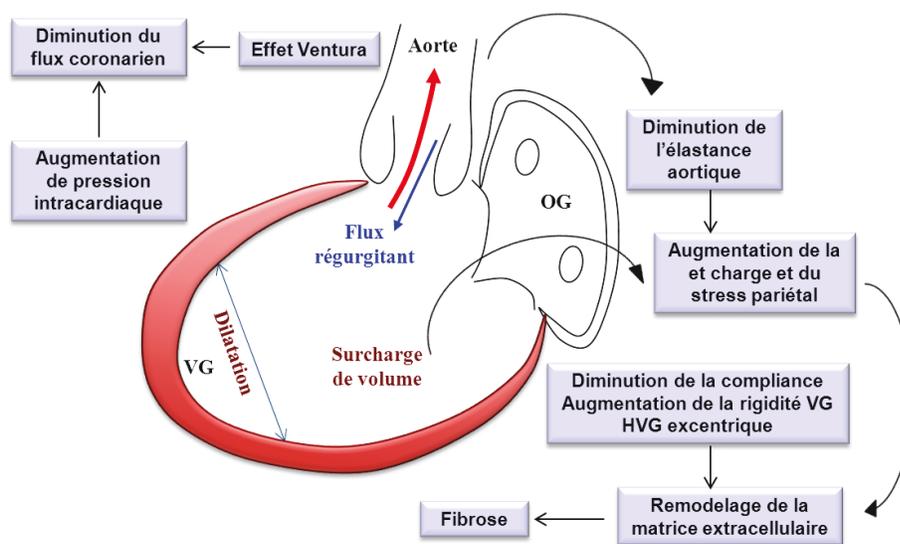


Figure 6.3 : Représentation schématique du remodelage du VG au cours d'une IA sévère (Image adaptée d'après Goldbard S.H et Halperin J ²⁴⁵).

Le ventricule dilaté accommode alors de grands volumes pour des pressions de remplissage encore normales tant que la fonction systolique est conservée et la compliance est préservée. La surcharge de volume progressive va donc déplacer toute la courbe de compliance vers la droite. Par contre, dans l'IA aigüe, la pente de la relation pression/volume (P/V) diastolique est redressée à volume élevé; le VG opère sur la partie ascendante de la courbe, donc à pression diastolique élevée (*voir figure 6.4*). Lors de la compensation, le VG dépense davantage d'énergie en travail externe d'éjection; ce rapport est favorable à l'efficacité énergétique et à la consommation d'O₂.

Toutefois, lorsque la dilatation s'accroît, la tension pariétale devient excessive et la postcharge effective du VG s'élève ; le travail de pression augmente. Tant que la géométrie du VG est conservée, le remplacement de la valve atteinte permet une bonne récupération fonctionnelle, mais lorsque le VG devient sphérique, le remodelage et les lésions fonctionnelles sont irréversibles ²⁴⁶. Au cours du temps, la dilatation et la masse du VG continuent de s'accroître, sans augmentation du volume régurgité. Il reste sphérique avec un faible épaissement systolique et sa compliance diastolique et sa FE s'abaissent. C'est surtout l'altération de la contractilité et l'excès de la postcharge qui sont à la base de cette évolution. La dysfonction ventriculaire peut être réversible dépendamment du degré d'altération de la contractilité, elle-même liée aux altérations des ultrastructures biochimiques des myocytes et à l'importance de la fibrose ²⁴⁴.

Une décompensation s'installe au cours du temps où la fonction systolique baisse, le VG se dilate davantage, sa tension pariétale s'élève, son éjection diminue, et la fraction régurgitée augmente. Étant donné que la compliance diminue en même temps, les pressions diastoliques ventriculaires s'élèvent et la symptomatologie de stase veineuse pulmonaire apparaît, d'abord à l'effort puis au repos. L'ischémie est un signe tardif, qui survient par plusieurs mécanismes ²⁴⁷.

6.2.3. Le signes et les symptômes de l'IA

L'IA aigüe causée par une endocardite infectieuse ou une dissection de l'aorte ou par traumatisme mène souvent rapidement à une IC. En revanche, l'IA chronique peut demeurer asymptomatique pendant des années, même en présence d'une dilatation et d'un dysfonctionnement ventriculaire. Comme la fonction du VG diminue, l'IC peut se

développer. Plusieurs mécanismes peuvent contribuer à une angine de poitrine au cours de l'IA, y compris le flux rétrograde diastolique, qui réduit la perfusion coronaire et provoque une augmentation de la pression diastolique du VG, et une plus grande charge de travail, ce qui augmente la demande en oxygène du myocarde. Ensemble, ces facteurs peuvent provoquer une ischémie sous-endocardique et de la douleur angineuse (*voir annexe A*).

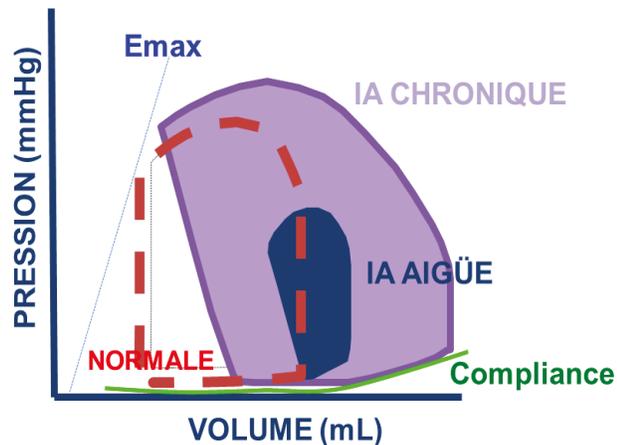


Figure 6.4 : Boucle pression-volume en cas d'une IA chronique et aiguë (© WDH).

6.2.4. Le diagnostic de l'IA par échocardiographie

Le but de l'examen est d'identifier les patients avec une IA sévère qui peuvent être candidats à la chirurgie. L'échocardiographie Doppler aide à évaluer le mécanisme de l'IA, la taille et la fonction ventriculaire gauche, et le diamètre de l'aorte ascendante. Les paramètres échocardiographiques qualitatifs et quantitatifs définissant l'IA sévère sont influencés par les conditions de charge, la variabilité d'inter-évaluation et les lacunes techniques, donc une combinaison de signes devrait être utilisée pour évaluer la sévérité de l'IA²⁴⁸. Les critères définissant l'IA sont présentés dans le Tableau 5.1²⁴⁹⁻²⁵².

6.2.5. Le métabolisme myocardique énergétique dans l'IA

Bien que peu d'études ont investigué les effets d'une altération du métabolisme énergétique cardiaque sur l'évolution de l'IA vers l'IC, il est, toutefois, nécessaire d'accorder plus d'attention considérant l'association entre l'HVG et les altérations

métaboliques impliquées dans le déficit cardiaque. L'élévation importante du VES, du DC et de la masse du VG lors de l'IA compensée augmente davantage la charge de travail et la dépense énergétique du VG, lequel peut perdre sa capacité à produire de l'énergie amenant à une carence énergétique cardiaque responsable d'une détérioration de sa fonction. Le rôle du remodelage métabolique dans la progression de l'hypertrophie pathologique vers l'IC sera décrit dans le chapitre 8.

Tableau 6.1 : Critères de quantification de l'insuffisance aortique (© WDH).

	<u>IA mineure</u>	<u>IA modérée</u>	<u>IA sévère</u>
<u>Paramètres structuraux</u>			
Taille de l'OG	Normale	Normale/peu dilatée	Dilatée *
Taille du VG	Normale	Normale/peu dilatée	Très dilatée *
Cuspides aortiques	Peu déformées	Normales/anormales	Anormales, prolapsus, large défaut de coaptation
<u>Critères spécifiques</u>			
Étendue du jet couleur **	< CCVG	Extrémité feuillet ant	Cavité VG
Vena contracta	< 0,3 cm	0,3 – 0,6 cm	> 0,6 cm
Jet IA/CCVG	< 25 %	20 – 60 %	> 65 %
Orifice de régurgitation	< 0,1 cm	0,1 – 0,3 cm ²	> 0,3 cm ²
Volume régurgité	< 30 mL	30 – 50 mL	> 60 %
Fraction de régurgitation	< 30 %	30 – 40 %	> 45 %
<u>Critères d'appoint</u>			
P1/2 flux IA	> 500 msec	250 – 500 msec	< 200 msec
Reflux diast. aorte desc	absent	absent	Présent holodiastole

* ; Absence de dilatation dans l'IA aigue

** ; Dépend de l'hémodynamique et de la morphologie du jet

ant; antérieur, desc; descendante, CCVG; chambre de chasse du VG, msec; milliseconde, P1/2; temps de demi pression.

Sources références : ^{248,249,251,252}.

6.2.6. La prise en charge thérapeutique de l'IA

Le remplacement valvulaire aortique doit être effectué chez le patient symptomatique ou ayant un retentissement sur le VG pour prévenir un dysfonctionnement irréversible et améliorer la survie ²⁵³. Cependant, le traitement médical garde des indications avant ou

après la cure chirurgicale. Les vasodilatateurs ont fait l'objet de plusieurs études au cours de l'IA chronique ²⁵⁴⁻²⁵⁶. Toutefois, ils n'ont pas toujours apporté la preuve de leur efficacité. La recherche et le développement de nouveaux traitements autre que le RVA dans l'IA a fait l'objectif de nombreuses études, surtout sur l'animal.

Les objectifs principaux du traitement aux vasodilatateurs sont de réduire la tension pariétale, diminuer le volume de régurgitation et d'améliorer ou de préserver la fonction ventriculaire gauche. Leur effet réducteur sur le profil hémodynamique pourrait retarder la progression de la dilatation et le dysfonctionnement ventriculaires, ainsi que l'apparition des symptômes et la nécessité pour la chirurgie. Cependant, les vasodilatateurs ne semblent pas être bénéfiques pour les patients atteints d'une IA légère ou modérée ou ceux avec IA sévère sans dilatation ventriculaire, qui ont un pronostic favorable à long terme. La plupart des études sur le traitement aux vasodilatateurs ont, par conséquent, ciblé les patients atteints d'IA chronique sévère et se sont focalisées sur les données hémodynamiques et fonctionnelles. Pour cela, ils ont été considérés comme une thérapie de nature chronique pour prolonger la phase compensatrice des patients asymptomatiques ayant une FE préservée mais avec une importante dilatation du VG ²⁴⁹. Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ACEI) comme l'énalapril et le captopril réduisent le remodelage myocardique décompensé chez les patients atteints d'IC ou d'hypertension, en particulier lorsqu'elle est associée à la fibrose. En plus de réduire la pression sanguine, les ACEI pourraient avoir des effets pléiotropes qui atténuent le remodelage et la fibrose dans l'IA sévère ^{257,258}. Le traitement par les antagonistes des canaux calciques (comme la nifédipine) a pu améliorer la fonction ventriculaire et réduire l'IA dans certaines études, mais, comme avec les ACEI, les résultats sont contradictoires ^{259,260}.

L'utilisation des agents β -bloquants comme chez les patients avec une IA sévère est controversée et non recommandée par les directives de l'*American College of Cardiology* et de l'*American Heart Association* (ACC/AHA). La bradycardie résultante augmente le risque d'aggravation du volume de régurgitation au fil du temps. Par contre, il est important de souligner que le volume régurgitant total par minute est le même puisque la fréquence cardiaque est diminuée. De plus, l'IA, tout comme l'IC, est associée à une activation importante du système neuro-endocrinien. Les bienfaits des β -bloquants chez les patients IC sont en partie reliés à la régulation de ce système ²⁶¹. Leur utilisation en condition d'IA

chronique pourrait donc également être bénéfique et retarder l'évolution de la maladie. D'ailleurs, une étude réalisée par notre équipe sur un modèle d'IA, des rats traités au métoprolol a montré une réduction de la dilatation du VG, une baisse de la synthèse de collagène et une diminution de l'hypertrophie ventriculaire gauche par rapport aux rats contrôles ²⁶².

6.3. Modèle d'insuffisance aortique

L'induction expérimentale de l'IA est effectuée en perforant un ou deux feuillets de la VA. Nous procédons en faisant entrer un cathéter ayant l'extrémité biseautée dans l'artère carotide droite de l'animal. Le cathéter est ensuite poussé de façon rétrograde vers l'aorte ascendante et ultimement à l'intérieur du VG. Par cette technique, le passage du cathéter au niveau de la VA a pour effet de perforer l'un de ses feuillets et d'induire l'IA (*voir figure 6.5*). Avant, la baisse de la pression diastolique de plus de 30 mmHg ainsi que la sensation que percevait le chirurgien lors de la déchirure des feuillets de la valve constituaient les critères de la réussite de l'induction d'une IA ²⁶³⁻²⁶⁵. En utilisant un guidage échocardiographique, notre équipe de recherche a pu raffiner et innover cette technique ²⁶⁶. En effet, l'utilisation de cette technique d'imagerie nous permet de superviser l'opération, de graduer l'IA induite et de s'assurer de l'obtention d'une IA pure et de sévérité homogène pour tous les animaux. Aucune difficulté n'est rencontrée durant l'induction de l'IA chez le rat qui est associée à un taux de survie post-opératoire d'environ 85%.

À la suite de l'induction de l'IA, la phase aigüe est caractérisée par une période transitoire d'hyper-contraction du VG lui permettant d'éjecter de façon efficace et à court terme le surplus sanguin auquel il est soumis avant qu'il n'ait eu le temps de se dilater. Au terme de la deuxième semaine post-opératoire, nous avons démontré que la fonction du VG revient à la normale et que le VG a déjà développé une hypertrophie de type excentrique. Nous avons donc fixé à deux semaines le début de la phase chronique de l'IA chez nos rats.

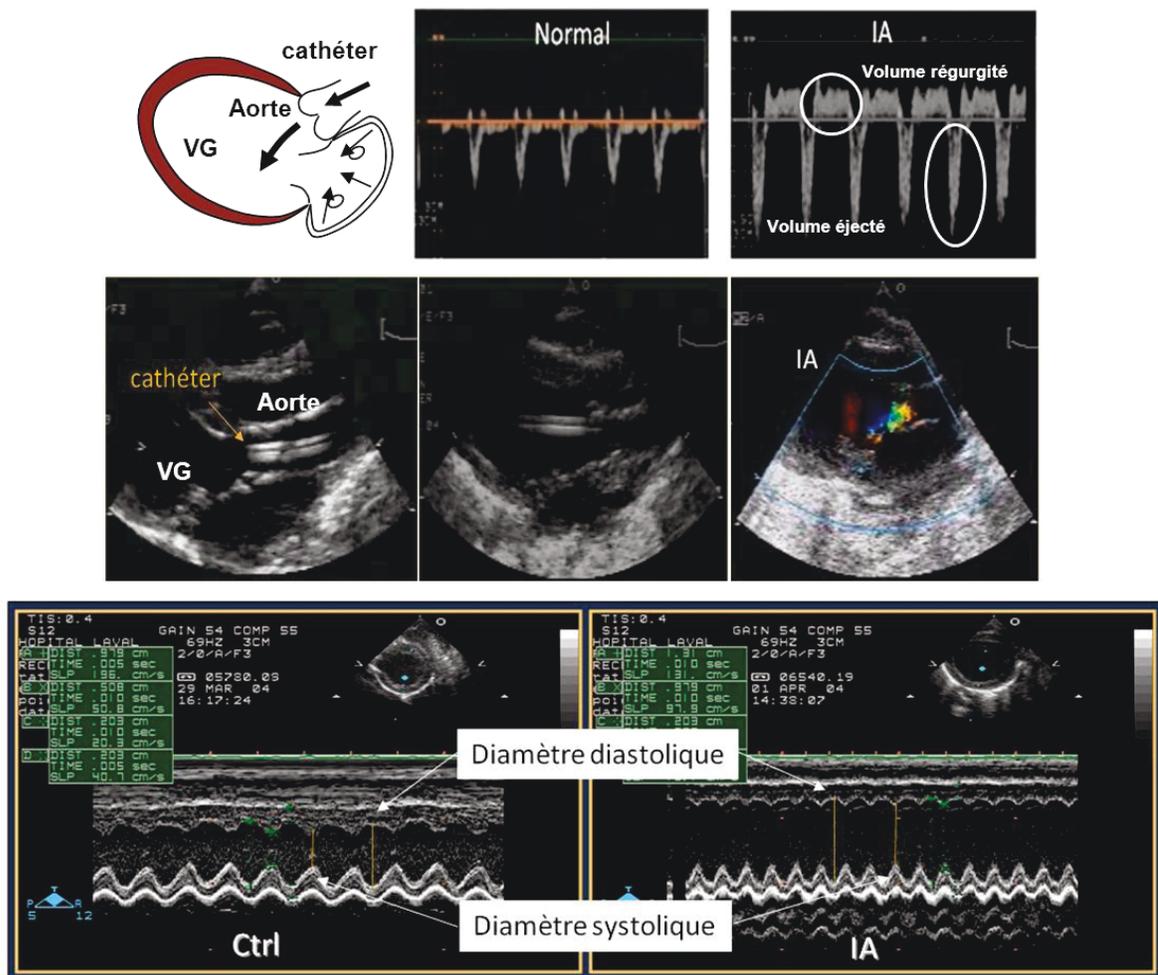


Figure 6.5 : Étapes de la création du modèle d'insuffisance aortique sous guidage échocardiographique (Courtoisie de Éric Plante).

Chapitre 7 : L'HYPERTROPHIE VENTRICULAIRE GAUCHE ET LE REMODELAGE MYOCARDIQUE

7.1. Le remodelage cardiaque; contexte physiopathologique

La physiologie cardiaque normale représente un état d'équilibre dans lequel la structure et la fonction du cœur avec le système circulatoire évoluent en réponse aux demandes métaboliques liées à leur tâche principale. Cet équilibre cardiaque est constamment remis en question par des facteurs de stress externes et internes qui peuvent être causés par l'expression altérée des gènes cardiaques, ou par des changements moléculaires, cellulaires, et interstitiels du cœur. En conséquence, des mécanismes de compensation sont activés permettant de réduire les effets néfastes de ces facteurs de stress et, si c'est possible, de rétablir l'équilibre. Cet équilibre définit ainsi la structure, la forme et la fonction du cœur et est appelé remodelage cardiaque²⁶⁷. Les sections qui suivent traiteront des caractéristiques communes du remodelage cardiaque en général, ainsi que les données disponibles dans la condition d'une SV.

Le remodelage cardiaque est un mécanisme d'adaptation complexe, dynamique qui survient dès les premiers signes de surcharge. Il touche quatre niveaux, à savoir; l'organisation structurale et fonctionnelle du cœur, le niveau moléculaire ainsi que le métabolisme myocardique²⁶⁸⁻²⁷¹. Au niveau structural, lors d'une SP ou une SV, la géométrie du ventricule va changer ; le myocarde va s'épaissir et la cavité s'agrandir. Au niveau du tissu myocardique, le nombre de cardiomyocytes ne varie pas alors que leur phénotype se modifie. Les cellules non musculaires sont plus abondantes et la synthèse de la MEC s'accroît²⁷². Les cardiomyocytes vont augmenter leur volume à différents degrés au niveau de la longueur ou de l'épaisseur selon le type de surcharge. Elles présentent plus de mitochondries et un changement de phénotype protéique avec des modifications de quantité ou bien d'isoformes. À l'échelle moléculaire, on observe des changements d'expression de gènes conduisant à la réactivation du phénotype fœtal, et, enfin, comme

démontré il y a quelques années, des modifications importantes dans le métabolisme énergétique myocardique sont également établis ^{39,54,273,274}.

7.2. Les caractéristiques structurelles et fonctionnelles de l'hypertrophie cardiaque

L'HVG pathologique est classiquement subdivisée comme concentrique ou excentrique (*voir figure 7.1*). Ces classifications sont basées sur les changements dans la forme du VG, qui est dépendante du stimulus initiant. Une SP induit une élévation du stress de la paroi systolique et une hypertrophie de type concentrique avec rétrécissement de la cavité ventriculaire ; le mécanisme est une réplication en parallèle des myocytes. Une SV engendre une élévation du stress de la paroi diastolique ; elle donne lieu à une hypertrophie excentrique avec dilatation de la cavité ventriculaire et une réplication en série des myocytes.

Pendant la phase compensatrice de l'IA, l'augmentation de la masse des cardiomyocytes est généralement la cause du gain de la masse cardiaque. Considérant que les cardiomyocytes adultes ont perdu leur capacité de se diviser, l'hypertrophie cardiaque est donc principalement induite par l'hypertrophie individuelle des cardiomyocytes ²⁷⁵. Cette hypertrophie est consécutive d'une élévation du rapport synthèse/dégradation de leurs protéines structurales. En plus, le nombre augmenté des unités fonctionnelles (sarcomères) confère aux cardiomyocytes une capacité contractile meilleure permettant au VG d'éjecter efficacement son contenu sanguin élevé. Cette hypertrophie est associée également à une réorganisation structurelle des composants des parois ventriculaires, y compris les changements dans le réseau des fibres de collagène et la densité capillaire ²⁷⁶. Le remodelage de la matrice extracellulaire, le type de la fibrose et la distribution sont variables selon le mécanisme physiopathologique qui est responsable ²⁷⁷.

Nous avons mis en évidence, lors de l'HVG secondaire à une SV, un changement des proportions des différentes composantes de la MEC (contrairement à la SP où le remodelage pariétal du VG s'accompagne d'une accumulation massive de fibrose) ^{24,278}. Au cours du développement de la fibrose, le taux d'augmentation de la matrice de collagène est corrélé avec le degré d'hypertrophie ²⁷⁹. La proportion de collagène de type III augmente en début d'évolution, puis dans des stades plus avancés, le ratio type I/type III se normalise

^{278,279}. Le degré de liaison entre les fibres est également augmenté ²⁷⁹. Ces modifications qualitatives du contenu en collagène pourraient être plus significatives pour l'élastance du ventricule que l'augmentation de la quantité de collagène ²⁸⁰. D'abord, il s'accumule au sein de l'adventice des vaisseaux coronaires intramyocardiques : on parle alors de fibrose périvasculaire. Ensuite, le collagène remplit le milieu interstitiel et apparaît dans des espaces intermusculaires précédemment dépourvus de collagène : c'est la fibrose interstitielle ²⁷⁷.

Le développement de la fibrose intracardiaque peut limiter les mouvements myofibrillaires responsables d'un déclin progressif et continu du débit et de la performance cardiaques altérant ainsi la fonction cardiaque globale ²⁸¹. Au cours du temps, les limites des capacités d'adaptation sont franchies et ces changements peuvent évoluer en une IC caractérisée par un stress oxydatif, l'apoptose des cardiomyocytes et le début de la phase de décompensation.

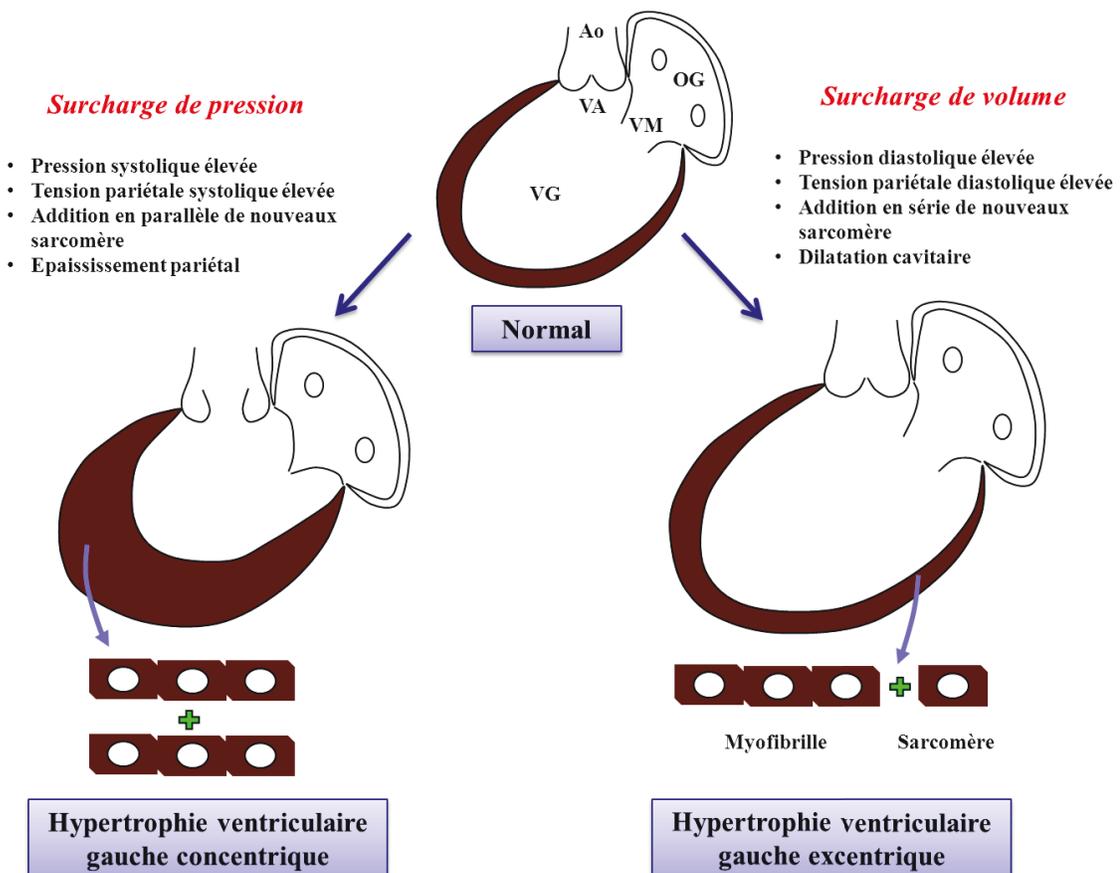


Figure 7.1 : Représentation schématique de la morphologie du VG après une SP ou SV (© WDH).

7.3. L'activation du programme fœtal dans l'hypertrophie cardiaque

En réponse au stress chronique de surcharge de travail, l'un des changements moléculaires initiaux est la réactivation du soi-disant le programme fœtal de l'expression d'un ensemble de gènes qui sont normalement exprimés seulement dans le cœur en développement et sont réprimées dans le myocarde adulte. L'activation du programme fœtal de gènes permet la synthèse coordonnée des protéines nécessaires pour provoquer une augmentation de la taille des cardiomyocytes et l'adaptation aux besoins en énergie modifiés dans ces cellules agrandies. En effet, l'analyse de correspondance entre les profils d'expression génique dans le cœur adulte normal, le cœur insuffisant et le cœur fœtal a révélé que le pattern des gènes fortement exprimés de manière différentielle est très similaire dans les cœurs fœtaux et insuffisants²⁸². Bien qu'il existe une multitude de gènes fœtaux ré-exprimés au cours de l'hypertrophie, les niveaux d'expression des chaînes lourdes de myosine (MHC), les peptides natriurétiques et l' α -actinine, sont les plus souvent utilisés comme des marqueurs moléculaires de l'hypertrophie.

7.3.1. La chaîne lourde de myosine

Il a été établi, il y a plus de 20 ans, que l'une des caractéristiques de l'hypertrophie cardiaque chez l'humain et dans les modèles de rongeurs est l'augmentation de l'expression de β -MHC et une diminution de l'expression de α -MHC²⁸³. Étant donné que chaque isoforme a une activité enzymatique distincte, cela signifie que leurs proportions relatives influencent grandement la fonction cardiaque. La MHC est le composant majeur de la myosine, le complexe protéique responsable de la contraction dans les cellules musculaires.

Chez les rongeurs, β -MHC est l'isoforme prédominant présent dans le cœur prénatal, mais il est régulé à la baisse peu après la naissance quand l' α -MHC est exprimée²⁸⁴. Au cours de l'hypertrophie cardiaque, l'augmentation de l'expression de la β -MHC et la diminution de l' α -MHC peuvent représenter une réponse adaptative, comme la β -MHC est plus lente que l' α -MHC à catalyser l'hydrolyse de l'ATP conduisant à une fonction contractile plus lente et plus économique²⁸⁵⁻²⁸⁷. La réversion de l'hypertrophie est associée à un retour des niveaux des deux isoformes à la normale, par exemple, chez les patients

atteints de cardiomyopathie dilatée subissant un traitement β -bloquant, la récupération a été associée à une augmentation de l' α -MHC et une diminution de l'expression de β -MHC ²⁸⁸.

7.3.2. La voie des peptides natriurétiques

Les peptides natriurétiques (NP) sont des marqueurs moléculaires de l'hypertrophie des cardiomyocytes et régulent l'homéostasie endocrinienne cardiovasculaire et rénale par des récepteurs spécifiques et des voies de signalisation ²⁸⁹. Il existe trois peptides: le peptide natriurétique auriculaire (ANP), peptide natriurétique de type B (*brain*; BNP) et le peptide natriurétique de type C (CNP). L'ANP est exprimé dans les oreillettes, tandis que BNP est exprimé à la fois dans les oreillettes et les ventricules. Les N-terminaux des NP sont clivés pour libérer le peptide physiologiquement actif dérivé du C-terminal, qui se lie aux récepteurs membranaires reliés aux NP en particulier le récepteur de la guanylate cyclase (GC). L'activation de la GC permet la conversion de GTP à un deuxième messager; la GMPc (GMP cyclique). L'effecteur en aval de la GMPc est PKG-1 (protéine kinase dépendante du GMPc) qui inhibe les canaux calciques de type L, réduisant ainsi la disponibilité du calcium et bloque la translocation nucléaire de NFAT (*nuclear factor of activated T cells*) et les facteurs de transcription associés ²⁹⁰.

L'ANP et le BNP se trouvent à des niveaux élevés au cours du développement embryonnaire et chez les nouveau-nés, mais sont absents chez les adultes en bonne santé ²⁹¹. Les stimuli hypertrophiques augmentent considérablement l'expression de ces deux facteurs par le facteur de transcription GATA4 (*GATA binding protein 4*) ²⁹².

7.4. Les mécanismes moléculaires impliqués dans l'hypertrophie cardiaque

Il est maintenant bien connu que l'HVG est associée à des altérations distinctes dans les protéines contractiles cardiaques, une augmentation de l'expression de gènes fœtaux, avec la régulation négative des protéines impliquées dans l'homéostasie calcique. Ces différents phénotypes peuvent être dus à des stimuli et à l'activation de certaines voies de signalisation distinctes. Les étapes d'évolution et les mécanismes cellulaires et moléculaires impliqués dans l'IA sont très peu documentés. Cependant, nous trouvons beaucoup plus de littératures sur ceux survenant dans diverses autres conditions comme la SP, la fistule

aorto-cave (FAC ; SV) ou les cardiomyopathies. Pour cela, nous aborderons dans les sections qui suivent les adaptations cellulaires et moléculaires impliquées généralement dans le remodelage et l'hypertrophie pathologique du VG.

La *figure 7.2* représente un récapitulatif de ces mécanismes moléculaires impliqués dans l'activation de l'hypertrophie cardiaque lesquels seront discutés dans les sections suivantes.

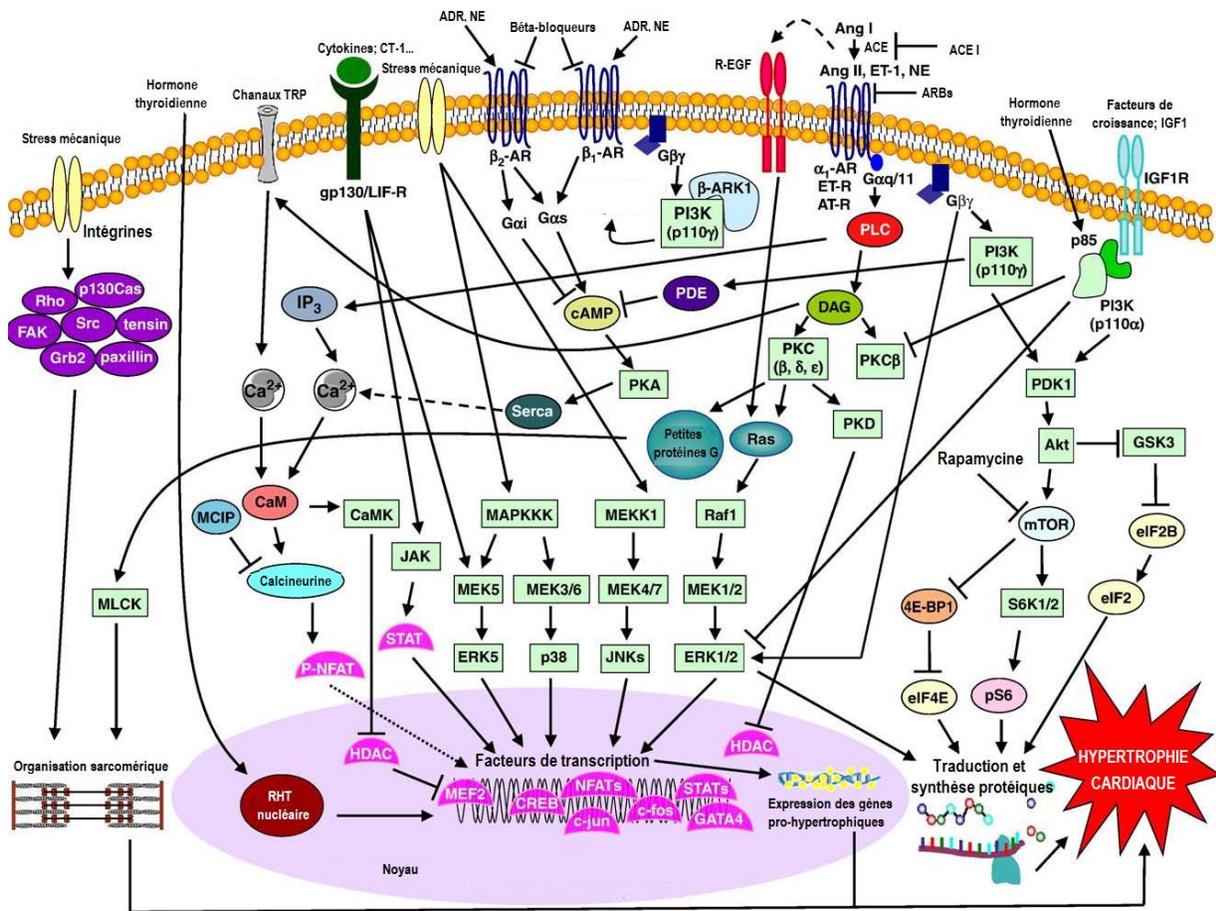


Figure 7.2 : Les voies de signalisation intracellulaires actuellement connues qui coordonnent la réponse hypertrophique du myocarde (détails dans le texte), (Image adaptée d'après Berbarido C et coll. 2010²⁹³).

7.4.1. Les facteurs déclencheurs de l'hypertrophie ventriculaire gauche

En addition du stress hémodynamique chronique (SV et SP), l'HVG peut être déclenchée par le stress biomécanique. En effet, l'étirement des cellules occasionne une activation de la transcription à l'origine d'une reprogrammation de l'expression de leur génome, mais l'activité mécanique proprement dite joue un rôle supplémentaire aussi bien dans l'activation de la synthèse protéique que dans celle des ARNm spécifiques^{294,295}. La stimulation adaptative du système neurohormonal, dont le plus caractérisé est celui du système rénine angiotensine (Ang) II aldostérone (SRAA)²⁹⁶ et de l'endothéline (ET)-1 sont aussi capables d'induire une réponse hypertrophique^{297,298}.

Il s'agit, dans un premier temps, d'une activation du système sympathique par la stimulation des récepteurs adrénergiques (AR) dont deux catégories sont identifiées: α -AR et β -AR, et sont capables de lier les catécholamines, l'épinéphrine et la norépinéphrine^{299,300} (voir figure 7.2). La stimulation des récepteurs β -adrénergiques active l'adénylate cyclase par l'interaction avec la protéine G stimulatrice (Gs) déclenchant des cascades intracellulaires activant entre autre la protéine kinase A et la p38-MAPK. La stimulation chronique des β -AR par l'isoprotérénol induit une augmentation de la masse cardiaque, une fibrose et un dysfonctionnement progressif des cardiomyocytes aboutissant à une IC³⁰¹. L'activation aigüe des α -AR augmente la contractilité par l'intermédiaire d'une activation de la protéine Gq. Cette dernière induit l'activation de la phospholipase C (PLC) ce qui stimule l'hydrolyse du phosphatidyl-inositol présent dans la membrane plasmique, la génération de deux second messagers, le diacylglycérol (DAG) et le triphosphate-inositol (PI3). La PI3 stimule la libération du Ca^{2+} dans le RS, alors que la DAG active la PKC, qui induira l'hypertrophie des cardiomyocytes³⁰².

Le rôle du système SRAA est de réguler la pression sanguine et l'homéostasie des fluides et du sel³⁰³⁻³⁰⁶. L'augmentation systémique et myocardique de l'Ang II, qui agit par l'intermédiaire des récepteurs de type 1 et 2 (AT-1 et AT-2), est à l'origine de la prolifération des fibroblastes et de la production de collagène³⁰⁷. Indépendamment de ses effets sur la résistance vasculaire, l'Ang II est aussi impliquée dans l'induction de l'hypertrophie des cardiomyocytes^{308,309}. Elle interagit avec le récepteur AT-1 associé à la protéine G qui stimule la PLC et ainsi la PKC et l'adénylate cyclase³¹⁰. Il est aussi capable d'induire une cascade d'activation par les tyrosines kinases impliquées dans la régulation

des voies effectrices, y compris les MAPK ³¹¹ (*voir figure 7.2*). La stimulation des cardiomyocytes par l'Ang II induit la transcription de proto-oncogènes, une réactivation du programme fœtal d'expression des gènes cardiaques et la stimulation de la synthèse de facteurs de croissance ³⁰⁹.

7.4.2. Les cascades de signalisation stimulatrices de l'hypertrophie cardiaque

Les réponses hypertrophiques de compensation et de décompensation sont en effet générées par des programmes génétiques distincts contrôlant la contractilité des cardiomyocytes, la réponse au stress et la production métabolique de l'énergie. Chaque programme est une réponse à des signaux hypertrophiques, à des cytokines et à des hormones de stress. Parmi les transducteurs de signaux les plus importants impliqués dans l'hypertrophie cardiaque nous trouvons la voie des MAPK, des phosphatases calmoduline-dépendantes, et de JAK-STAT. Les protéines G, les protéines kinases ainsi que les voies de l'Akt et de mTOR jouent également un rôle important ^{293,312-316} (*voir figure 7.2*).

7.4.2.1. Les petites protéines G

Les petites (de bas poids moléculaire) protéines de liaison au GTP (protéines G) appartiennent à la famille des Rho (tels que Ras, Rho, Sar1/Arf, Rab et Ran) régulent diverses fonctions cellulaires, comme la motilité, la prolifération et l'apoptose ³¹⁷. Ces protéines hétérotrimériques sont impliquées dans la transmission de signaux activateurs ou inhibiteurs suite à la fixation d'un agoniste à son récepteur transmembranaire (les RCPG ; récepteurs couplés aux protéines G). Dans le cœur, on trouve 3 sous-classes importantes de protéines G à savoir, la G α s qui permet la transmission du signal en réponse à l'activation des β -AR, la G α i couplée au récepteur cholinergique et enfin G α q étroitement liée aux récepteurs à l'Ang II, à l'ET-1 et α -AR. Il a été démontré que les protéines G jouent un rôle direct dans l'induction d'une réponse hypertrophique des myocytes ventriculaires ²⁹⁹. Récemment, il a été montré que l'effet inducteur de l'hypertrophie de la leptine a été associée à une activation significative dépendante de p38-MAPK de RhoA/Rho kinase ³¹⁸.

7.4.2.2. Les protéines kinases

La réponse hypertrophique peut être activée via les voies de signalisation de la PI3K. Les PI3K constituent une famille de kinases lipidiques conservées qui régulent de nombreuses fonctions cellulaires fondamentales, y compris la prolifération, l'adhésion, la taille des cellules, et la protection contre l'apoptose. Ces réponses résultent de l'activation des protéines de transport membranaires et des enzymes telles que la kinase PI3K-dépendante (PDK), l'Akt, ou les S6 kinases par l'intermédiaire du second messager ; la PIP3. Quatre PI3K de type I différentes ont été décrites, dont trois (PI3K α , β , δ) sont activées par les voies des récepteurs tyrosine kinases. A la différence de l'isoforme p110 α de PI3K (couplé au IGF1R), p110 γ est couplé à des RCPG et semble avoir un effet nuisible sur le cœur³¹⁹. Cet isoforme n'affecte pas la taille du cœur dans des conditions basales, mais est un régulateur négatif de la contractilité cardiaque³²⁰.

7.4.2.3. Les mitogènes activés par les protéines kinases (MAPK)

Les cascades MAPK sont des voies de triples kinases qui comprennent un MKKK (MAPK kinase kinase), une MKK (MAPK kinase) et une MAPK terminal. Elles sont organisées de cette façon afin de promouvoir l'amplification et l'intégrité du signal. Les MAPK sont impliquées dans les voies de signalisation conduisant à la mitose, la prolifération, la différenciation, la croissance cellulaire, l'expression génique ou l'apoptose en réponse aux signaux extracellulaires (*voir annexe B*)³²¹.

Les ERK (*Extracellular signal regulated kinases*) jouent un rôle majeur dans la prolifération et la différenciation des cardiomyocytes. ERK1/2 est exprimée de manière ubiquitaire et est activée dans de nombreuses situations d'hypertrophie et d'IC mais il n'est pas encore clair si elle est un facteur critique des réponses hypertrophiques. ERK5 (aussi connu comme *big* MAP kinase 1, BMK1) peut également jouer un rôle dans l'induction de l'hypertrophie cardiaque excentrique³²².

La famille JNK est constituée d'au moins dix isoformes, dérivés à partir de trois gènes : JNK1, JNK2 et JNK3. JNK1 et JNK2 sont exprimés de manière ubiquitaire, alors que JNK3 a un profil d'expression plus restreint dans le cœur, le cerveau et les testicules. JNK est activée dans le cœur de patients IC³²³. Un certain nombre d'études *in vitro* ont suggéré

que les JNK peuvent être des régulateurs importants de l'hypertrophie pathologique³²⁴⁻³²⁷, bien que des études *in vivo* ont été plus difficiles à interpréter.

La famille p38-MAPK est constituée de quatre isoformes (α , β , γ et δ) et uniquement α et β sont exprimés dans le cœur. L'isoforme p38 α est principalement exprimé dans le myocarde humain et de rongeur^{328,329}. La p38-MAPK est un médiateur important de nombreuses fonctions biologiques, y compris la croissance, la prolifération, le cycle et la mort cellulaire, et est considérée comme une composante essentielle des voies de réponse au stress (*voir figure 7.2*). Elle est impliquée dans la régulation de l'expression des gènes cardiaques, l'hypertrophie des cardiomyocytes, la contractilité, le remodelage et le métabolisme³³⁰⁻³³³.

7.4.2.4. La voie de JAK-STAT

La voie de signalisation de JAK-STAT (*Janus kinase/Signal transducers and activators of transcription*) est également connue comme étant impliquée dans le développement de l'hypertrophie cardiaque³³⁴. Elle a été initialement identifiée comme une voie activée par les récepteurs sensibles principalement à l'interféron-gamma et aux membres de la famille des interleukines, tels que l'IL-6, la cardiotrophine 1 (CT-1) et le facteur d'inhibition et de la leucémie (LIF)³³⁵. Le signal produit par ces ligands et leurs récepteurs joue un rôle important dans la biologie cellulaire. D'autres études ont démontré que cette voie est associée avec plusieurs autres cascades de transduction du signal extracellulaire, comme celles activées par les récepteurs tyrosine kinases et couplés aux protéines G, la voie de EKR1/2 et de l'Akt³³⁶.

La diversification des récepteurs et des voies de signalisation de JAK-STAT est liée à une variété de cardiomyopathies telles que l'hypertrophie, l'infarctus du myocarde et l'ischémie. Cette voie répond en inhibant l'apoptose tout en favorisant la survie et la croissance hypertrophique cellulaire. Au niveau du myocarde, il semblerait que STAT1 joue un rôle pro-apoptotique en modulant négativement l'expression des gènes anti-apoptotiques *Bcl-2* et *Bcl-XL* alors que STAT3 serait au contraire anti-apoptotique. Il a été rapporté que la cardiotrophine 1, en activant JAK pouvait induire un phénotype d'hypertrophie cardiaque des myocytes en culture³³⁷. De même, l'activation de JAK par

l'Ang II pourrait jouer un rôle dans le développement de l'hypertrophie dans certains modèles *in vivo* ³³⁸.

7.4.2.5. La voie de la protéine kinase B ; PKB/Akt

Akt (ou protéine kinase B; PKB) est une sérine/thréonine kinase impliquée dans diverses fonctions cellulaires ³³⁹ (voir figure 7.3). Situé à l'intersection de plusieurs signaux afférents et efférents, Akt agit comme un senseur moléculaire qui coordonne les réponses dynamiques de la cellule dans littéralement chaque aspect des fonctions biologiques. L'équilibre de la signalisation homéostatique est particulièrement essentiel dans le myocarde, où la régulation de la survie, la production d'énergie, la contractilité, et la réponse au stress pathologique sont toutes contrôlées par l'activation ou la répression d'Akt. Également, la perte de l'activité régulatrice d'Akt est principalement la cause ou la conséquence des conditions pathologiques conduisant à un remodelage et une décompensation cardiaque. Il existe 3 isoformes d'Akt (Akt1, Akt2, Akt3) qui présentent des fonctions biologiques différentes. Les isoformes Akt1 et Akt2 sont les plus abondants dans le myocarde et sont activés par l'insuline. Akt1 est impliqué dans la croissance physiologique cœur ³⁴⁰ alors que l'Akt2 est essentiel dans la régulation de la captation du glucose. Le mécanisme d'activation de Akt dans le cœur et d'autres organes a été bien décrit dans plusieurs études ^{339,341} (voir figure 7.3).

La cible en aval d'Akt la plus étudiée est la GSK-3, une sérine / thréonine kinase qui régule de nombreux processus cellulaires, y compris le métabolisme du glycogène, la transcription génique, la traduction des protéines, et l'apoptose cellulaire (voir section 7.3.3.1). Les facteurs de transcription de famille Forkhead (FoxO) sont des cibles bien connues d'Akt. Akt phosphoryle FoxO1, FoxO3a et FoxO4, conduisant à leur translocation du noyau et à l'atténuation de l'apoptose ³⁴². La phosphorylation de FoxO par l'Akt crée des sites d'interaction avec les protéines 14-3-3, conduisant à leur séquestration cytosolique comme un mécanisme pour inhiber la fonction pro-apoptotique. L'Akt nucléaire augmente les niveaux cytosolique de FoxO, facilitant potentiellement la protection contre les lésions ischémiques chez les souris surexprimant Akt au niveau du noyau ³⁴³. Le membre de famille Bcl-2; BAD induit l'apoptose cellulaire par hétéro-dimérisation avec BCL-xL/BCL-

2 neutralisant ainsi leur effet protecteur. La phosphorylation par l'Akt de la Ser-136 de BAD perturbe la dimérisation entre le BAD et BCL-xL et inhibe l'apoptose.

Un mécanisme de signalisation complexe existe entre Akt et mTOR. L'activation de mTOR conduit à une stimulation de la transcription des gènes impliqués dans la synthèse protéique et la croissance cellulaire (*voir section 7.3.4*).

Il a été démontré que l'activation d'Akt a lieu après une SP ainsi qu'une SV dans des modèles de lapin à différents temps ³⁴⁴. L'IC résultant d'une SV est caractérisée par une augmentation précoce de l'activité Akt ³⁴⁵, suivie par une diminution de sa phosphorylation contribuant à une décompensation ³⁴⁶.

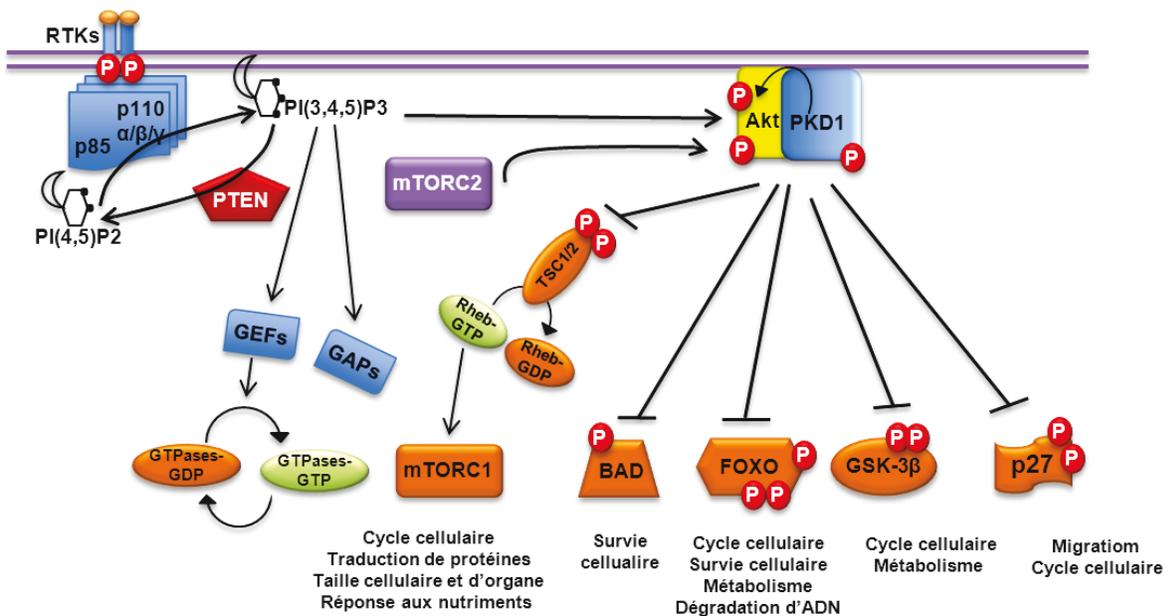


Figure 7.3 : Signalisation cellulaire de l'Akt, ses cibles et ses substrats. L'Akt activée augmente la traduction des protéines, la croissance cellulaire, le métabolisme et l'activité du cycle cellulaire par la régulation des facteurs situés en aval (© WDH).

7.4.2.6. La signalisation calcique; la voie de la calcineurine/NFAT

Les protéines de signalisation calcium-dépendantes les mieux décrites comprennent la calcineurine et les protéines kinases calcium/calmoduline-dépendantes (CaMKs). La calcineurine déphosphoryle les facteurs de transcription NFAT, qui favorisent la translocation nucléaire et l'activation de la transcription de gènes (*voir figures 7.2 et 7.4*).

La famille des facteurs de transcription NFAT est composée de cinq membres (NFAT1, NFAT2, NFAT3, NFAT4 et NFAT5) ³⁴⁷. Il est bien établi que l'activation de NFAT3 (NFATc4) est impliquée de manière critique dans le développement de l'hypertrophie cardiaque ³⁴⁸. L'activité de la calcineurine est augmentée dans les cœurs hypertrophiés et insuffisants ³⁴⁹, et dans le muscle ventriculaire humain exposé à l'ET-1, l'Ang II et l'urotensine II ³⁵⁰. De plus, l'activité de la calcineurine est régulée à la hausse dans les cœurs hypertrophiés suite à une ligature aortique (SP) chez les rongeurs ³⁵¹⁻³⁵³. La translocation de NFAT vers le noyau, où il s'associe à d'autres facteurs de transcription tels que GATA4 et facteur amplificateur de myocytes 2 (MEF2), régule l'expression de gènes cardiaques ³⁵⁴.

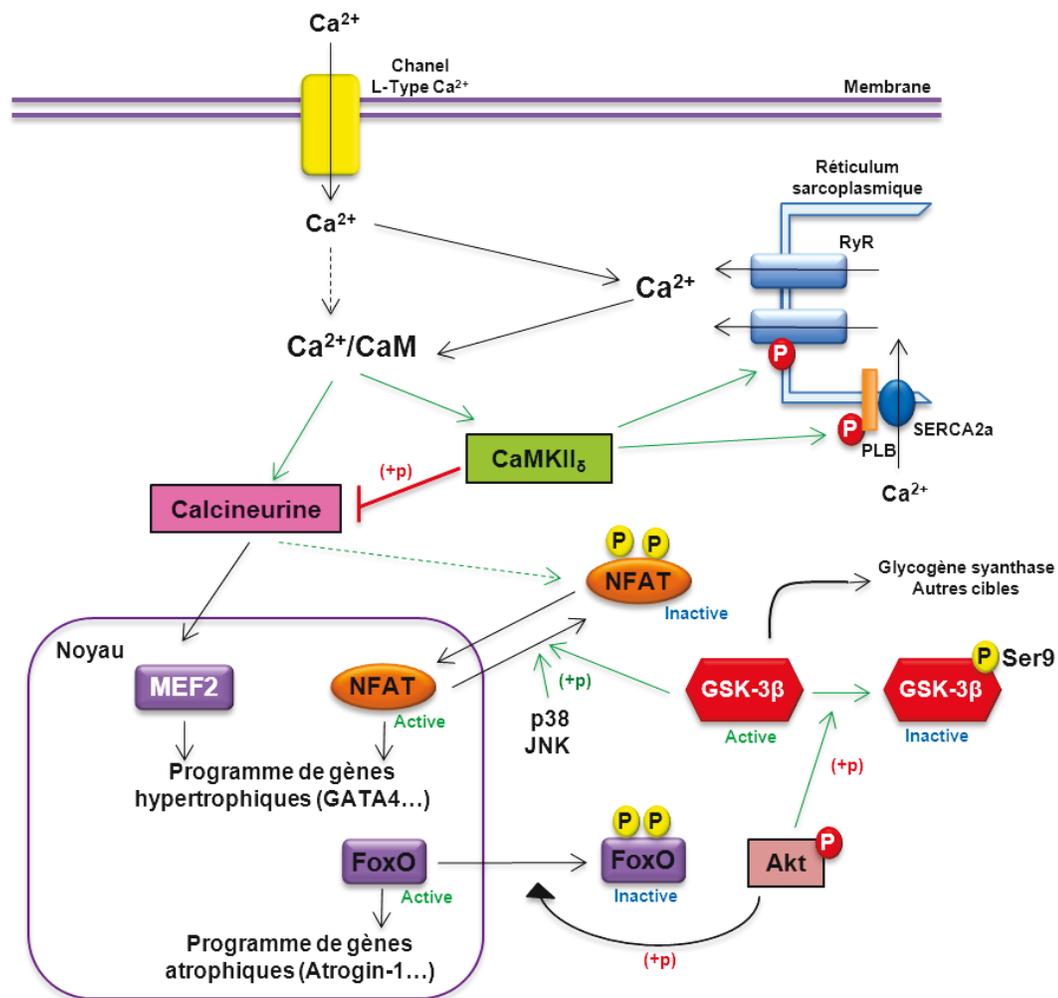


Figure 7.4 : Un modèle décrivant la régulation du signal pro- ou anti-hypertrophique impliquant les voies de la calcineurine/NFAT, et d'Akt, GSK-3β et FoxO (© WDH).

7.4.3. La régulation des voies hypertrophiques par les facteurs de transcription

7.4.3.1. Les rôles de GSK-3 β dans le cœur

La Glycogène Synthase Kinase 3, ou GSK-3, est une sérine/thréonine kinase qui phosphoryle et inactive la glycogène synthase. GSK-3 dispose de deux isoformes: GSK-3 α (51 kDa) et GSK-3 β (47 kDa), codés par deux gènes différents, tous les deux exprimés dans le cœur ³⁵⁵. GSK-3 β est actif de manière constitutive dans des cellules non stimulées et régule négativement la transcription des gènes et la traduction des protéines par phosphorylation d'un ensemble de régulateurs de la transcription et le facteur d'initiation de la traduction eIF2B ³⁵⁶. GSK-3 phosphoryle NFAT et favorise sa translocation du noyau vers le cytoplasme ainsi que sa dégradation protéasomale ³⁵⁷ (voir figure 7.4). L'expression cardio-spécifique de la GSK-3 β atténue l'hypertrophie induite par la SP via l'inhibition de l'augmentation de NFAT nucléaire ³⁵⁸. Le facteur de transcription cardiaque GATA4 est également transloqué du noyau après sa phosphorylation par GSK-3 ³⁵⁹. La myocardine, un autre facteur de transcription cardio-spécifique, est également phosphorylée par la GSK-3 β , réduisant son activité transcriptionnelle intrinsèque et l'hypertrophie associée ³⁶⁰. La GSK-3 β peut phosphoryler également c-jun, HIF-1 α , et l'ANT, ainsi que différentes protéines de la voie Wnt canonique, régulant leur activité et/ou leur stabilité ³⁶¹. L'isoprotérénol ³⁶², l'ET-1 et le phényléphrine ³⁶³ induisent la phosphorylation PI3K-dépendante de GSK-3 β , ce qui indique que son inactivation pourrait être nécessaire pour la croissance hypertrophique. L'inhibition de la signalisation PI3K/Akt active GSK-3, qui s'accumule dans le noyau, et phosphoryle c-Myc, favorisant ainsi son ubiquitination et sa dégradation ³³⁹. La capacité d'Akt à inhiber GSK-3 β via phosphorylation et les effets répressives de GSK-3 β des actions d'Akt est une voie classique d'antagonisme moléculaire réciproque ³⁶⁴.

7.4.3.2. Les rôles des facteurs de transcription FoxOs dans le cœur

Plusieurs protéines de la famille de facteurs de transcription Fox (Forkhead box) comme FoxC1, FoxC2, FoxH1, FoxM1, FoxO1, et FoxP1, semblent être essentielles pour le développement cardiaque normal, puisque leur suppression dans la souris conduit à des anomalies cardiaques et à une létalité précoce ³⁶⁵. De plus, plusieurs études ont démontré que trois membres de la sous famille FoxO : FoxO1, FoxO3, et FoxO4 sont

essentiels au maintien de la fonction cardiaque. La famille FoxO est censée être impliquée dans diverses activités, y compris la réponse au stress oxydatif ³⁶⁶, la régulation du métabolisme ³⁶⁷, le contrôle du cycle cellulaire ³⁶⁸, et la stimulation de l'apoptose ³⁶⁹. La phosphorylation du facteur FoxO est diminuée dans des conditions d'inactivation d'Akt. Dans ces conditions, les facteurs FoxO restent dans le noyau et activent des gènes liés à l'atrophie, y compris des ubiquitine ligases *Atrogine-1* et MuRF-1, qui favorisent la dégradation des protéines (voir figure 7.4). L'atrogine-1 réprime l'activité de la calcineurine, en induisant sa protéolyse médiée par l'ubiquitine, conduisant à une inhibition de la croissance cardiaque.

Contrairement à la phosphorylation par l'Akt, qui entraîne la rétention cytoplasmique de FoxO et l'inhibition de la transcription de ses gènes cibles, la phosphorylation par l'AMPK augmente la transcription des gènes cibles sans affecter sa localisation cellulaire ³⁷⁰. Ces effets opposés sur l'activité de FoxO induits par la phosphorylation via l'Akt et l'AMPK peuvent être attribués au fait que les signaux menant à leur activation se produisent généralement dans des circonstances énergétiques opposées d'abondance ou de conservation de l'énergie, respectivement ³⁷¹. Chez l'humain, la souris et le rat, les sites de liaison de FoxO se trouvent dans les promoteurs de plusieurs gènes métaboliques, y compris ceux codant pour l'ACC2, le CD36, la LPL, et GLUT4 ³⁷².

Les protéines FoxO peuvent également exercer des effets métaboliques indirectement par la transcription de PGC-1 α pour activer les gènes impliqués dans la biogenèse mitochondriale, l'oxydation des AG, et la gluconéogenèse ³⁷³. En plus, PGC-1 α peut servir comme un co-activateur de FoxO pour réguler l'expression de gènes métaboliques comme PDK4, ce qui limite la production de l'acétyl-CoA à partir du pyruvate et ralentit l'oxydation du glucose en l'absence d'insuline ³⁷⁴.

7.4.4. Les voies de signalisation associées à la synthèse de protéines : rôles de mTOR

7.4.4.1. Les complexes et les effecteurs de mTOR

La protéine *mammalian* (ou *mechanistic*) *target of rapamycin* (mTOR) est une sérine/thréonine kinase de 2549 acides aminés (289 kDa) qui appartient à la famille des

PIKK (*phosphatidyl-inositol 3 kinase-related-kinase*). L'activité kinase de mTOR peut être modulée en réponse à une variété de stimuli, tels que les interleukines, les facteurs de croissance mitogéniques, les hormones (notamment l'insuline), les nutriments (acides aminés, glucose), le niveau d'énergie cellulaire et les conditions de stress. Ainsi, l'activation de mTOR et de ses effecteurs en aval influence de nombreux processus physiologiques et pathologiques. Son rôle principal est le contrôle de la croissance cellulaire.

mTOR exerce ses principales fonctions cellulaires en interagissant avec des protéines spécifiques adaptatrices pour former deux complexes multiprotéiques distincts ^{375,376}. Quand elle se lie à la protéine *Raptor*, elle forme le complexe mTORC1, qui est sensible à la rapamycine (un inhibiteur spécifique de mTORC1) et contrôle la traduction des protéines par phosphorylation des effecteurs en aval, tels que le facteur 4E-BP1 (*eukaryotic initiation factor 4E-binding protein 1*) ³⁵⁶, et la protéine kinase ribosomale p70 S6K, et le facteur d'initiation de la traduction 4G des eucaryotes (eIF4G). mTOR interagit également avec *Rictor* pour former un complexe mTORC2 insensible à la rapamycine, qui régule la dynamique de l'actine et la phosphorylation de l'Akt et la protéine kinase C. mTORC1 est un régulateur de la synthèse protéique, la croissance et la prolifération cellulaire, la biogenèse ribosomale et mitochondriale, l'autophagie, et le métabolisme, alors que mTORC2 semble réguler la survie cellulaire ³⁷⁶ (*voir figure 7.5*).

4E-BP1 est une protéine de liaison à eIF4E qui joue un rôle critique dans le contrôle de la synthèse protéique, la survie et la croissance des cellules. Lors de la traduction cap-dépendante, EIF4E se lie à la coiffe des ARNm et favorise la formation du complexe d'initiation eIF4F et la liaison aux ribosomes. Lorsque 4E-BP1 est active (forme hypophosphorylée), elle se lie à EIF4E et empêche la formation du complexe d'initiation; la traduction est alors bloquée, favorisant l'apoptose. Toutefois, lorsque 4E-BP1 est hyperphosphorylée, l'affinité de liaison pour EIF4E est réduite, EIF4E est libérée, et la traduction cap-dépendante peut initier ³⁷⁷.

La p70 S6K est une protéine Ser-Thr-kinase qui phosphoryle la sous-unité ribosomale S6, un composant de la sous-unité 40S des ribosomes eucaryotes. Elle joue un rôle dans la synthèse des protéines et le contrôle de la croissance cellulaire durant la phase G1 pour accroître la traduction de certains ARNm encodant des protéines impliquées dans la

synthèse protéique dont les protéines ribosomales et certains facteurs d'élongation (voir figure 7.5).

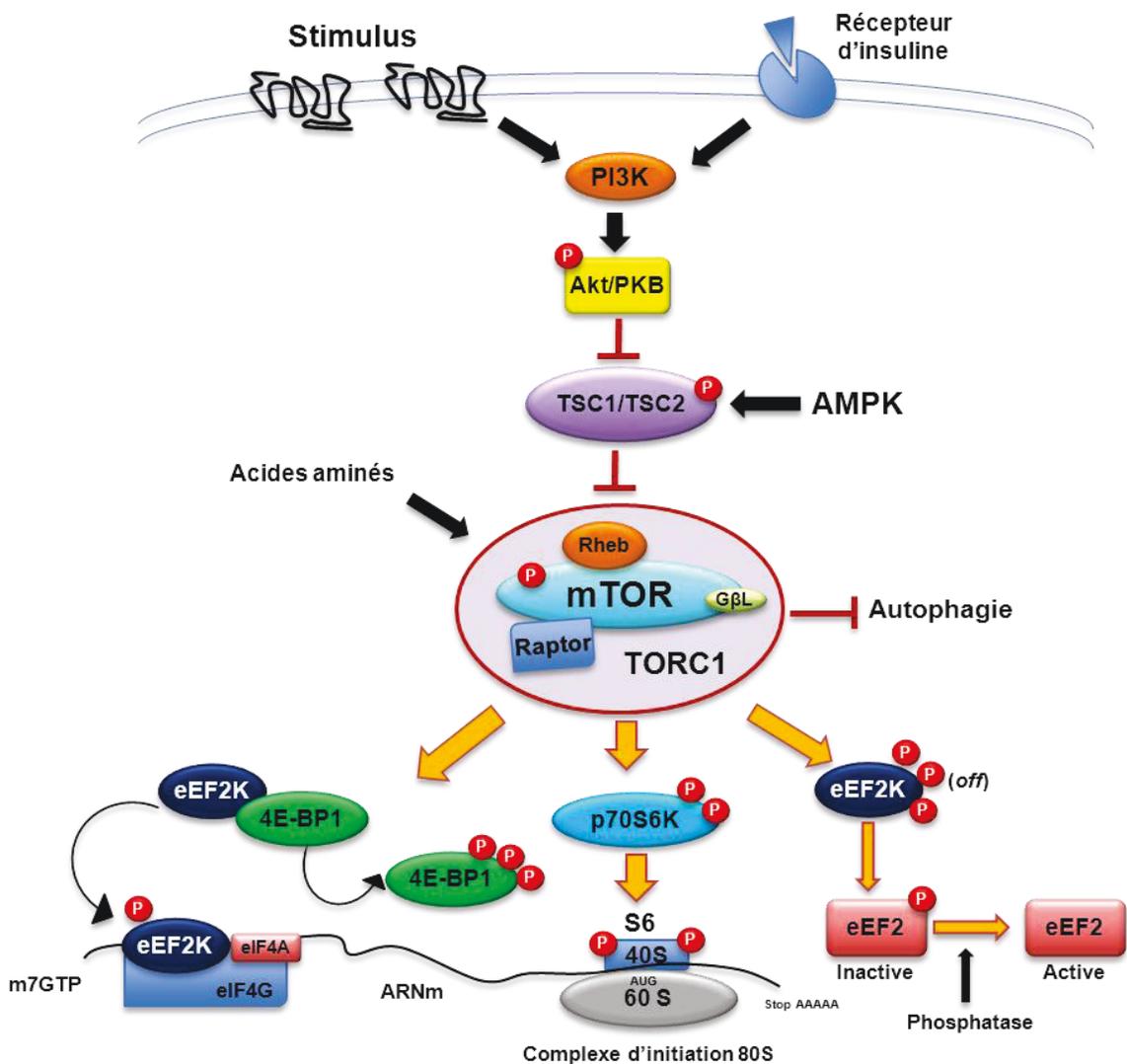


Figure 7.5 : Voie de signalisation de mTOR. La phosphorylation de mTOR, dans le complexe I, permet l'activation de p70S6K et l'inhibition de 4E-BP1, tous les deux impliqués dans l'initiation de la synthèse protéique (© WDH).

7.4.2.1. L'implication de mTOR dans l'hypertrophie cardiaque

La voie mTOR semble jouer un rôle clé dans le développement de l'hypertrophie cardiaque. Ceci n'est pas particulièrement surprenant si l'on considère que l'hypertrophie cardiaque est un processus qui nécessite une augmentation marquée de la synthèse des

protéines du sarcomère. L'activité de mTORC1 est augmentée au cours de la réponse hypertrophique des cardiomyocytes à une stimulation β -adrénergique,³⁷⁸ avec l'Ang II,³⁷⁹ et l'IGF-1,³⁸⁰ et l'inhibition de mTORC1 inhibe le développement de l'hypertrophie. Cependant, il a été démontré que, plus tard, mTORC1 est inactivé lorsque la fonction cardiaque se détériore et l'IC apparaît³⁸¹⁻³⁸³. Le prétraitement à la rapamycine prévient le développement de l'hypertrophie cardiaque en réponse à la SP³⁸⁴.

Chapitre 8 : LE REMODELAGE DU MÉTABOLISME DANS L'HYPERTROPHIE CARDIAQUE ET POTENTIELS THÉRAPEUTIQUES

8.1. Le remodelage métabolique myocardique

Les variations de la masse cardiaque à la suite d'une hypertrophie sont également associées à des changements majeurs dans le métabolisme cardiaque^{385,386}. Au cours de la progression de l'hypertrophie, la préférence des cardiomyocytes pour les AG diminue et il y a une dépendance accrue aux hydrates de carbone pour la production d'ATP (voir figure 8.1)³⁸⁵⁻³⁸⁸.

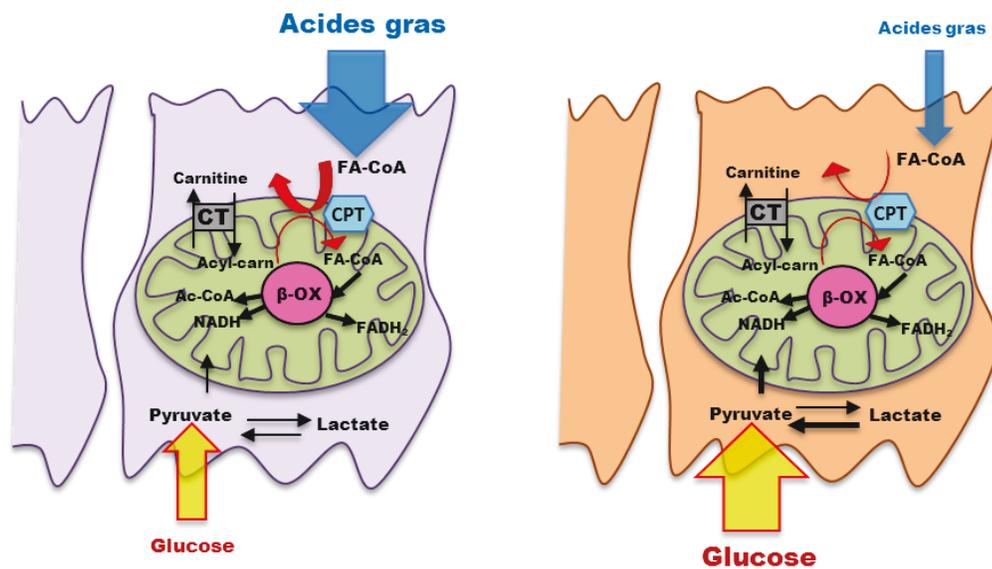


Figure 8.1 : Simplification du métabolisme dans un cardiomyocyte en santé (gauche) et des changements associés à l'hypertrophie (droite) (© WDH).

Il existe plusieurs mécanismes impliqués dans ce passage à un métabolisme plus foetal qui affectent directement la captation et l'utilisation des AG et du glucose³⁸⁹⁻³⁹¹. Cependant, nous ne savons pas lesquels des changements métaboliques au cours de

l'hypertrophie sont adaptatifs. De plus, il est également probable que ces changements métaboliques affectent différemment le fonctionnement du cœur à différents stades de la croissance hypertrophique compensée ou décompensée. Pour répondre rapidement aux besoins énergétiques cardiaques augmentés, un transfert vers un mode davantage glycolytique a lieu pendant la phase de compensation. Toutefois, à un stade plus avancé (de décompensation), cette régulation à la hausse de la glycolyse n'est plus suffisante pour corriger cette carence d'énergie reliée à la baisse de l'oxydation des AG. Enfin, le métabolisme du glucose est aussi diminué et le cœur se retrouve en sérieux déficit énergétique. L'hypertrophie cardiaque est un important stimulus à l'origine de cette carence énergétique. Selon la loi de Laplace, la dilatation du VG provoque un gaspillage énergétique en augmentant son travail interne au profit de son travail d'éjection³⁹².

En rapport avec mes travaux, dans les sections qui suivent nous aborderont les principales adaptations métaboliques occasionnées lors de l'hypertrophie pathologique du VG. Par la suite, nous proposons les intérêts de cibler le métabolisme myocardique au niveau de deux de ses principales voies ; l'AMPK et PPAR α en utilisant deux médicaments pharmacologiques connus ; la metformine et le fénofibrate.

8.2. Les adaptations métaboliques dans le cœur hypertrophié

Une hypothèse généralement considérée est que dans le court terme, la réduction relative de la disponibilité d'oxygène et d'ATP peut exiger ce changement dans le métabolisme énergétique des AG au glucose puisqu'il baisserait significativement la demande pour l'oxygène. Cependant, en addition à l'épuisement d'énergie, la dépendance continue au métabolisme de glucose, et donc l'utilisation diminuée des AG, peut aussi induire une lipotoxicité dans les cardiomyocytes.

Plusieurs études sur l'animal et chez l'humain ont démontré un remodelage au niveau du métabolisme énergétique myocardique. Le Tableau 8.1 résume les principaux changements observés au niveau du métabolisme myocardique dans des modèles expérimentaux d'hypertrophie ou d'IC.

Tableau 8.1 : Résumé des principaux changements dans l'oxydation des substrats et la fonction mitochondriale dans divers modèles d'hypertrophie et d'insuffisance cardiaque (suite à la page suivante) (© WDH).

Modèles de maladies cardiaques	Caractéristiques morphologiques et fonctionnelles	Métabolisme lipidique	Métabolisme glucidique	Changements mitochondriaux et statut énergétique
Constriction aortique (SP); rat ⁴⁰⁶	Hypertrophie compensée sans /avec dysfonction diastolique - systolique	La β -OX et l'expression des ARNm des gènes régulant la β -OX sont diminuées dans l'H compensée et pendant la dysfonction systolique	L'OX-Glu est diminuée dans la dysfonction systolique	La respiration stade 3 est initialement augmentée mais diminue pendant la dysfonction systolique
Constriction aortique (SP); rat ⁴¹³	Hypertrophie avec dysfonctions systolique et diastolique	La β -OX, l'ARNm et l'expression des enzymes de la β -OX sont diminuées	L'OX-Glu est diminuée, l'expression protéique du complexe PDH est augmentée	Les crêtes mitochondriales sont désorganisées, la densité mitochondriale et les niveaux protéiques de la CTE sont diminués, la respiration stade 3 est diminuée
Constriction aortique (SP); souris ⁴¹⁴	Hypertrophie avec dysfonction systolique	β -OX inchangée	Glycolyse et Oxy-Glu augmentées	Dysfonction mitochondriale et diminution de la respiration et du contenu d'ATP
Constriction aortique (SP); souris ⁴¹⁵	Hypertrophie avec dysfonctions systolique et diastolique	β -OX inchangée	Ut-Glu, synthèse de Gly et oxydation de lactate sont diminuées	-
Constriction de l'aorte abdominale (SP); rat ⁴¹⁶	Hypertrophie compensée modérée	β -OX et expression d'ARNm des gènes régulant la β -OX inchangées	Glycolyse modérément augmentée	-
Constriction de l'aorte abdominale (SP); rat ⁴¹⁷	Hypertrophie compensée modérée	β -OX et expression d'ARNm des gènes régulant la β -OX inchangées	OX-Glu inchangée	-
Constriction de l'aorte abdominale (SP); rat ⁴⁰⁸	Hypertrophie et fonction cardiaque <i>ex vivo</i> inchangées	β -OX diminuée	Glycolyse augmentée, OX-Glu inchangée	-
Dahl salt-sensitive (SP); rat ⁴¹⁸	Hypertrophie compensée ; dysfonction systolique	Captation d'AG et expression d'ARNm des gènes régulant l'utilisation sont diminuées dans la dysfonction systolique	Ut-Glu augmentée, l'expression d'ARNm des gènes régulant la glycolyse et l'OX-Glu sont diminuées; le flux des PP est augmenté dans la dysfonction systolique	L'expression d'ARNm et de protéines régulant la biogenèse mitochondriale sont diminuées dans la dysfonction systolique; le ratio PCr/ATP est diminué
Rats spontanément hypertendus (rat Sprague-Dawley comme contrôle) ²⁸⁴	Hypertrophie et fonction cardiaque <i>ex vivo</i> inchangées	Une faible β -OX (n.b : quelques SHR ont une mutation dans le CD36 qui peut moduler indépendamment la β -OX)	L'OX-G est accélérée	-
Rats spontanément hypertendus (rat Wistar comme contrôle) ⁴¹⁹	Hypertrophie, différences mineures dans les fonctions diastolique et systolique	-	Le flux via la PDH est accéléré	Le ratio PCr/ATP est similaire
Infarctus du myocarde; rat ⁴²⁰	Hypertrophie compensée ; dysfonction systolique	L'expression d'ARNm des gènes régulant l'utilisation d'AG est diminuée dans la dysfonction systolique	L'ARNm et la protéine de GLUT1 sont augmentés dans la dysfonction systolique	-
Infarctus du myocarde; rat ⁴²¹	Pas d'hypertrophie, dilatation VG, dysfonction systolique	La β -OX et expression d'ARNm des gènes régulant la β -OX sont diminuées	L'Ut-Glu et l'OX-Glu sont inchangées	L'expression d'ARNm de gènes régulant la biogenèse mitochondriale est diminuée

Infarctus du myocarde; rat ⁴²²	Hypertrophie modérée, dysfonction systolique	Utilisation d'AG diminuée, l'expression des protéines de transport d'AG diminuée	-	-
Infarctus du myocarde; rat ⁴²²	Hypertrophie modérée, dysfonction systolique	Utilisation d'AG diminuée, l'expression des protéines de transport d'AG diminuée	-	-
Patients avec IC avec IDCM ou maladie ischémique ²²⁶	Dysfonction systolique	Les ARNm de la MCAD et LCAD sont faibles	-	-
Patients avec IC avec IC avec IDCM ²⁸⁵	Hypertrophie, dysfonction systolique	Utilisation faible d'AG	L'Ut-Glu est accélérée	-
Patients avec IC avec HHA, AS ou DCM ⁴²⁴	Hypertrophie avec fonction systolique normale chez les patients avec HHD et SA; dilatation VG et dysfonction systolique chez les patients avec DCM	-	-	Le ratio PCr/ATP est similaire entre les groupes; le contenu en PCr est faible dans la SA et DCM; le contenu en ATP est faible dans les DCM

SA : sténose aortique, DCM : cardiomyopathie dilatative, CTE : chaîne de transport des électrons, OX-Glu : oxydation de glucose, Ut-Glu : utilisation de glucose, Glu : glucose, Gly : glycogène, H : hypertrophie, HHD : maladie cardiaque hypertensive, IDMC : cardiomyopathie dilatative idiopathique, SHR : rats ayant une hypertension spontanée, β -OX : β -oxydation des AG, - : analyses non faites dans l'étude.

Les connaissances actuelles relatives à l'IA étant très peu nombreuses, nous discuterons donc des résultats issus d'autres pathologies cardiaques. En effet, les adaptations métaboliques reliées à l'IA chronique ont été élaborées seulement par quatre études ⁴⁰⁵⁻⁴⁰⁸. Les principaux résultats de ces études sont : une diminution des réserves énergétiques cardiaques, la réduction de l'activité de la citrate synthase ainsi que l'élévation de l'expression de l'UCP-2, qui indiquent également une altération des capacités oxydatives mitochondriales ⁴⁰⁷. D'autres études devront évidemment être effectuées pour confirmer et approfondir ces résultats. Une étude à ce sujet a été récemment publiée par notre équipe ⁴⁰⁹. Nous avons observé une réduction de l'utilisation des AG ainsi que des capacités oxydatives du VG chez des rats IA par rapport à des rats contrôles qui se manifestent par une augmentation significative de l'activité de l'enzyme glycolytique ; la PFK avec la réduction de l'activité de l'enzyme clé de la β -oxydation d'AG ; la HADH. Nous avons ainsi démontré que, comme dans les autres modèles d'HVG, le cœur de notre modèle d'IA utilise préférentiellement le glucose pour répondre à ses besoins énergétiques. En plus, nous avons observé une importante baisse de l'activité de la CS et du complexe I de la chaîne respiratoire suggérant une altération dans leur capacité oxydative ⁴⁰⁹.

8.2.1. La régulation à la baisse du métabolisme des AG

La principale adaptation métabolique pendant l'hypertrophie cardiaque pathologique est la régulation à la baisse de l'oxydation des AG²¹⁵. L'équipe de Talibi et coll. a observé une altération dans le transport des AGCL chez des rats soumis à une SV⁴¹⁰⁻⁴¹². Dans cette étude, il a été proposé que la réduction de la quantité de carnitine réduise le transport et l'oxydation subséquente des AGCL à l'intérieur des mitochondries. Par contre, ils ont observé que l'oxydation des AG à chaînes courtes et/ou moyennes (AG qui ont la capacité d'entrer passivement dans la mitochondrie) n'est pas altérée chez leurs rats soumis à une SV. Il a été démontré dans la plupart des modèles expérimentaux d'hypertrophie et d'IC que la régulation à la baisse de PPAR α est reliée avec la déplétion de l'énergie cardiaque⁴¹³. De plus, le dernier stade de l'IC est aussi caractérisé par la régulation à la baisse des protéines impliquées dans le transport et l'oxydation des AG comme CPT-1 et MCAD respectivement⁴⁰³.

8.2.2. La régulation à la hausse du métabolisme du glucose

Le métabolisme glycolytique est augmenté à la hausse dans le cœur hypertrophié. Cette adaptation a lieu notamment pour remédier l'oxydation abaissée des AG (cycle de *Randle*). Les changements se présentent essentiellement par un transport basal du glucose accéléré via GLUT-1 (phénotype fœtal) alors que la réponse à l'insuline via GLUT-4 (phénotype normal) est diminuée. Bien que les mécanismes cellulaires impliqués dans le retour du métabolisme vers le phénotype fœtal ne soient pas connus, certaines études ont démontré que l'hypoxie pourrait être impliquée. En effet, dans le cœur hypertrophié, parmi les conséquences, nous pouvons observer une ischémie sous-endocardique, notamment en condition de SP où la densité capillaire dans le myocarde est réduite, causant, entre autres, une induction de HIF-1 α (facteur induit par l'hypoxie, isoforme 1 α)⁴¹⁴. Il a été démontré que ce dernier peut se lier à des séquences codantes pour divers gènes reliés à l'utilisation du glucose tels GLUT-1 et l'aldolase. En conséquence, l'augmentation de l'entrée et de l'utilisation du glucose observée va occasionner l'accélération de la glycolyse dans le cœur hypertrophié^{215,415}. Nous observons aussi une majoration de l'activité de PFK et de l'HK. Toutefois, le couplage entre la glycolyse et l'oxydation du glucose est altéré dans cette

condition. L'importante quantité de pyruvate cytosolique formée va activer donc le lactate déshydrogénase et le cœur hypertrophié devient alors un important producteur de lactate.

Les causes actuellement proposées pour expliquer l'altération du couplage entre la glycolyse et l'oxydation du glucose sont peu connues et controversées^{216,416,417}. Certains travaux démontrent que l'activité du PDC (complexe de la pyruvate déshydrogénase) est diminuée dans le cœur hypertrophié bien que d'autres n'observent aucun changement^{418,419}. Il a été proposé que l'efficacité des transporteurs du NADH à l'intérieur des mitochondries fût abaissée dans le cœur hypertrophié stimulant ainsi la transformation du pyruvate en lactate pour régénérer le NAD⁺ nécessaire à la glycolyse. En ce sens, le transfert vers l'utilisation du glucose semble être une adaptation bénéfique dans le cœur hypertrophié. Mais cette hypothèse n'est pas toujours validée.

En plus, nous savons que l'ATP produit via la glycolyse est préférentiellement utilisé par les pompes ioniques au niveau de la membrane et du RS⁴²⁰⁻⁴²². Par conséquent, cette accélération de la glycolyse observée dans le cœur hypertrophié pourrait permettre d'atténuer le dérèglement de l'homéostasie calcique. Il faut se rappeler aussi que le métabolisme du glucose consomme moins d'O₂ que les AG pour une même quantité produite d'ATP. Pour cela, l'utilisation de drogues favorisant l'utilisation du glucose (ranolazine et trimetazine) a permis d'améliorer la fonction cardiaque de patients IC⁴²³⁻⁴²⁵. De plus, il a été observé que la surexpression de GLUT-1 en condition de SP ralentit la progression vers l'IC⁴²⁶. Par contre, l'importante réduction d'ATP associée à l'utilisation du glucose peut éventuellement occasionner une carence énergétique cardiaque⁴²⁷. La diminution de l'oxydation des AG a d'ailleurs pour effet de limiter la capacité cardiaque pour soutenir une augmentation de travail. Ainsi, la préservation d'une flexibilité métabolique semble essentielle pour une fonction cardiaque adéquate.

8.2.3. L'altération de la capacité mitochondriale

La capacité énergétique basse dans l'hypertrophie cardiaque peut être aggravée par la dégénérescence mitochondriale. Schaper et coll. ont montré que le nombre, la taille et l'arrangement de structure des mitochondries sont changés pendant l'IC⁴²⁸. Les altérations mitochondriales ont été associées à des changements dans l'expression de gènes comme

TFAM et NRF-1, qui sont impliqués dans le maintien de l'intégrité structurelle et la biogenèse de la mitochondrie ⁴²⁹. L'expression de ces gènes en plus de PGC-1 α est aussi réduite dans quelques modèles d'IC ⁴³⁰ et ce, essentiellement au stade final ⁴³¹. Les réductions du niveau de la consommation d'oxygène mitochondrial et des activités des complexes I-IV de la chaîne respiratoire ont été démontrées aussi dans des modèles animaux d'IC ^{430,432}.

8.2.4. La diminution de la contribution à la production d'énergie

En plus du transfert dans l'utilisation de substrat des AG au glucose, des travaux effectués sur l'IA et l'insuffisance de la valve mitrale ont observé une diminution du ratio PCr/ATP cardiaque ⁴³³. De ce fait, la concentration d'ATP myocardique demeure généralement normale en phase compensée de l'hypertrophie alors que celle de la PCr diminue progressivement. Plusieurs autres études ont établi que le changement du statut métabolique pendant l'hypertrophie inclut une réduction des phosphates de haute énergie ^{2,434,435}.

Chez les patients IC, la diminution du ratio PCr/ATP est directement corrélée à la classe fonctionnelle du patient selon la *New York Heart Association* (NYHA) ⁴³⁶. De plus, il a été démontré que l'activité de la créatine kinase mitochondriale est réduite 20% chez ces patients alors que celle des myofibrilles est baissée de 50% ⁴³⁷. Ces changements dans le transfert énergétique conduit à une altération de la contractilité ainsi que de la relaxation diastolique du myocarde. Ceci est également associé à une réduction du rapport ATP/ADP qui peut aussi avoir des effets délétères sur la fonction cardiaque. En effet, elle peut affecter la fonction diastolique en ralentissant la dissociation entre les filaments d'actine et de myosine ⁴³⁸. D'ailleurs, il existe une relation entre la pression interne du VG en fin de diastole et le taux d'ADP. D'autre part, certaines études ont proposé que l'élévation de l'ADP occasionne l'ouverture des pores perméables de la membrane mitochondriale favorisant notamment l'apoptose des cardiomyocytes ⁴³⁹.

8.3. Le rôle de l'AMPK dans le cœur hypertrophié

Les rôles de l'AMPK dans la modulation de l'hypertrophie cardiaque et dans la régulation de la fonction physiologique du myocarde viennent d'être élucidés. Dans une étude réalisée par le groupe de Tian et coll., il a été démontré que l'activité de l'AMPK est augmentée dans les cœurs de rats avec une hypertrophie induite par une SP après 17 semaines de ligature aortique⁴⁴⁰. Ces cœurs ont démontré des changements énergétiques (augmentation du rapport AMP/ATP) et des conséquences métaboliques (augmentation de la glycolyse) compatibles avec l'activation de l'AMPK. Les cœurs démontrent également une régulation à la hausse de la glycolyse^{441,442}. Il demeure incertain que l'activation de l'AMPK se produit pendant la phase précoce de l'hypertrophie ou représente une adaptation plus tardive à la SP. Cependant, des cardiomyocytes isolés et traités avec la phényléphrine développent une hypertrophie mais n'ont pas démontré une activité augmentée de l'AMPK⁴⁴³. Ces résultats suggèrent que la réponse de l'AMPK au cours de l'hypertrophie puisse varier selon le modèle.

En plus de la modulation de la réponse métabolique dans une condition de SP, l'AMPK pourrait influencer le développement de l'hypertrophie cardiaque par le contrôle de la synthèse des protéines. L'AMPK inhibe à la fois l'initiation de la traduction de l'ARNm et l'élongation des protéines. L'AMPK phosphoryle et active la kinase eEF2, augmentant la phosphorylation d'eEF2, qui inhibe la synthèse des protéines^{444,445}. De plus, l'AMPK inhibe la voie de mTOR, ce qui réduit l'activité de la p70 S6K⁴⁴⁶. L'AMPK a été également impliquée dans les effets anti-hypertrophiques de l'adiponectine dans le cœur⁴⁴⁷. Le groupe de Walsh et coll. a montré que l'adiponectine active l'AMPK et inhibe l'hypertrophie des cardiomyocytes *in vitro*, et diminue également l'hypertrophie cardiaque *in vivo* induite par une ligature aortique⁴⁴⁷. De plus, des souris déficientes en adiponectine ont montré une phosphorylation réduite de l'AMPK et une hypertrophie cardiaque aggravée dans un modèle de SP⁴⁴⁷.

L'AMPK peut également empêcher la croissance hypertrophique pathologique par la réduction du NF- κ B et la calcineurine, ainsi que par la réduction des niveaux cardiaques de l'Ang II et d'ET-1^{448,449}. En revanche, l'AMPK ne semble pas avoir un rôle physiologique pour limiter l'hypertrophie, en se basant sur une observation que les cœurs de souris avec

activation altérée de l'AMPK ne sont pas hypertrophiés ^{450,451}. Des recherches supplémentaires aideront à élucider si l'activation de l'AMPK pourrait être une approche thérapeutique potentielle pour empêcher l'hypertrophie ventriculaire gauche pathologique.

8.3.1. L'activation de l'AMPK : une cible thérapeutique potentielle ?

Nous venons de voir que l'AMPK exerce des effets bénéfiques dans la régulation du métabolisme puisqu'elle permet de contrôler le métabolisme des AG et du glucose en conditions de stress. De plus l'activation de l'AMPK exerce des effets à long terme sur la régulation de gènes clés du métabolisme énergétique et de la biogenèse mitochondriale. Ainsi, l'AMPK représente une cible d'intérêt suggérant que son activation constitue une approche possible pour l'amélioration du statut énergétique du cœur hypertrophié ou défaillant ⁴⁵².

De nombreux composés ont été identifiés à la suite de la recherche de nouveaux activateurs pour l'AMPK. Bien qu'une grande variété d'agents active l'AMPK, dans certains cas, les mécanismes sont encore mal compris, et d'autant plus au niveau cardiaque. Certains agents interagissent directement avec l'une ou plusieurs des sous-unités protéiques de l'AMPK, tandis que d'autres influencent indirectement l'activation de l'AMPK par l'intermédiaire d'un certain nombre de médiateurs dans le métabolisme et les voies de signalisation. Les activateurs indirects de l'AMPK comprennent des agents pharmacologiques, la prise alimentaire, des hormones, des composés bioactifs naturels et des AGCL. Les activateurs directs sont des petites molécules sélectives. Certains agents pharmacologiques ^{453,454}, ou encore certaines hormones comme l'adiponectine et la leptine ⁴⁵⁵ activent l'AMPK. La metformine, les thiazolidinediones (TZD) et le 5-aminoimidazole-4-carboxamide-1-β-D-ribo nucléoside (AICAR) sont des agents activateurs de l'AMPK ⁴⁵⁶⁻⁴⁵⁹ alors que le composé C ou l'araA sont connus pour l'inhiber ⁴⁶⁰. Des données récentes suggèrent que l'activation pharmacologique de l'AMPK pourrait limiter le développement de l'hypertrophie cardiaque. Ce concept a été basé sur des études du groupe de Dyck et coll. ^{443,448}. Le traitement des cardiomyocytes de rats nouveau-nés avec la metformine, AICAR ou resvératrol active l'AMPK et inhibe le développement de l'hypertrophie induite par la phényléphrine ⁴⁴³. Un traitement de 7 semaines avec l'AICAR conduit à la régression

de l'hypertrophie induite par une ligature aortique⁴⁴⁹. Le traitement par le resvératrol inhibe l'hypertrophie dans le cœur de rat après ligature aortique, même si cette action peut être en partie médiée par ses propriétés antioxydantes⁴⁶¹.

Dans la section suivante, nous décrivons le mécanisme d'activation de l'AMPK par la metformine, l'agent pharmacologique que nous avons utilisé dans notre étude.

8.3.2. Le mécanisme d'action de la metformine

La metformine était le médicament le plus important pour le traitement du DT2 depuis des décennies. C'est l'agent anti-hyperglycémiant le plus largement utilisé et est actuellement recommandé comme traitement de première ligne pour tous les patients atteints de DT2 nouvellement diagnostiqués (*American Diabetes Association, 2014*)⁴⁶².

La metformine (N, N-diméthylbiguanide) appartient à la classe des antidiabétiques biguanides (contenant deux boucles liées de guanidine) dérivés originalement de la galégine (isoamylène guanidine), une substance active extraite du lilas français, *Galega officinalis*, une plante utilisée au Moyen Âge pour le traitement des symptômes attribués au DT2 (voir figure 8.2)^{462,463}.

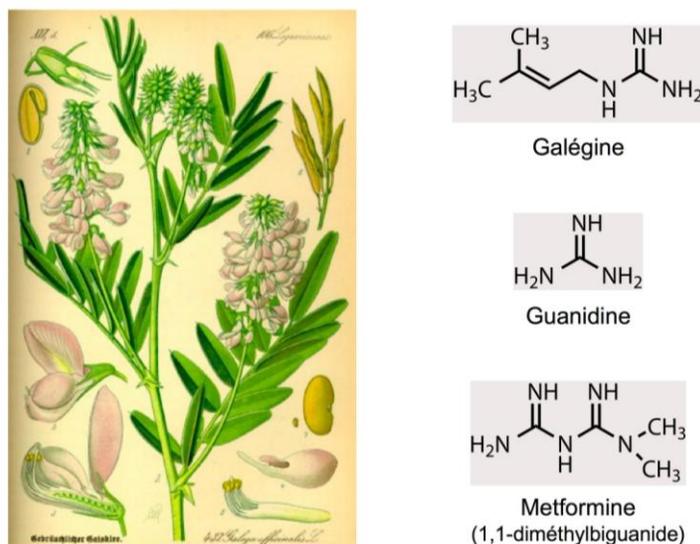


Figure 8.2 : Origine et structure de la metformine. La metformine est une biguanide dérivée de la galégine, extraite du lilas français (*Galega officinalis*), (Image tirée d'après Viollet et coll.⁴⁶²).

Parmi les trois biguanides développés pour le traitement du diabète, la metformine a un profil de tolérance supérieur. Deux autres biguanides, la phenformine et la buformine, ont été retirés dans le début des années 1970 en raison du risque d'acidose lactique et de mortalité cardiaque élevée. L'incidence de l'acidose lactique avec la metformine à des doses thérapeutiques est rare (moins de trois cas par 100 000 patients/année) ^{462,463}. La metformine a été largement utilisée depuis plus de 50 ans et a été jugée efficace à la fois en monothérapie et en combinaison avec d'autres agents antidiabétiques et l'insuline ⁴⁶³.

8.3.2.1. La metformine et effets cardiovasculaires

De nombreuses études ont proposé une action protectrice de la metformine contre plusieurs maladies cardiovasculaires liées au DT2, y compris l'infarctus du myocarde, l'hypertrophie et la cardiomyopathie diabétique. Les mécanismes moléculaires impliqués dans cette protection sont multiples, ciblant les (dys) fonctions de l'endothélium, des cardiomyocytes, et des fibroblastes ⁴⁶³. Dans l'étude UKPDS (*the U.K Prospective Diabetes Study*), il a été constaté que le traitement par metformine réduit significativement la mortalité toutes causes confondues et la mortalité liée au diabète ⁴⁶⁴. Cet effet de la metformine a été observé dans d'autres études et suggère des effets cardiovasculaires potentiels « hors glycémie » de ce composé ^{465,466}. Également, il a été montré, chez le rat avec un infarctus du myocarde et préalablement traité par la metformine, que cette molécule réduisait la taille du myocarde nécrosé associé avec une amélioration de la fonction ventriculaire gauche résiduelle et limitait la survenue d'une IC ⁴⁶⁷. Il a été suggéré que la metformine provoquerait l'apparition d'un phénomène de préconditionnement myocardique ⁴⁶⁸. Les bases moléculaires du préconditionnement sont encore mal connues. Par contre, l'intérêt d'obtenir un tel phénomène par la voie pharmacologique afin de réduire les séquelles fonctionnelles lors d'un infarctus du myocarde est bien réel ⁴⁶⁹. La metformine pourrait être un composé qui provoquerait un état plus ou moins permanent de préconditionnement myocardique. Elle est également capable de réduire la synthèse de facteurs proapoptotiques des cardiomyocytes, augmentant ainsi leur survie lors des situations d'hypoxie ⁴⁷⁰.

Des données récentes placent le métabolisme énergétique au centre du mécanisme

d'action de la metformine dans le diabète et peut également être d'une importance dans les maladies cardiovasculaires et le cancer ^{462,463}. L'effet fondamental serait que ce composé permettrait l'adaptation métabolique du myocarde lors des situations énergétiques critiques. Dans un modèle d'une IC chez le rongeur, la metformine favorise l'adaptation métabolique du myocarde altéré et modifie le ratio glucides/lipides en rapport avec l'activation de l'AMPK ⁹. En accord avec l'action anti-hypertrophique de l'AMPK, la metformine a pu inhiber l'hypertrophie cardiaque dans un modèle de rat de SP ⁴⁷¹.

L'activation induite de l'AMPK par la metformine est bien documentée, mais peut ne pas tenir compte de toutes les actions de la drogue. Ici, nous résumons les connaissances actuelles sur les différents mécanismes AMPK-dépendants et AMPK-indépendants de l'action de la metformine.

8.3.2.2. Le mécanisme d'activation de l'AMPK par la metformine

C'est l'équipe de Zhou et coll., qui a démontré pour la première fois que les effets anti-hyperglycémiques et anti-hyperlipidémiques de la metformine résultaient de l'activation tissulaire de l'AMPK ⁴⁵⁴. Au niveau du foie, la metformine inhiberait la néoglucogenèse via l'activation de l'AMPK par LKB1 et une inhibition des gènes et d'enzymes clés de cette voie ^{153,472}. Ensuite, deux autres équipes ont montré que la metformine active indirectement l'AMPK via l'inhibition du complexe I de la CR mitochondriale entraînant une augmentation du ratio AMP/ATP ^{473,474}. En effet, la néoglucogenèse est un processus très consommateur d'énergie et la diminution de l'apport d'ATP, dû à l'inhibition de la CR, apparaît alors comme la cause de l'inhibition du flux néoglucogénique ⁴⁷⁵. L'effet de la metformine sur la production de glucose peut être expliqué par une augmentation de l'AMP qui inhibe directement l'enzyme de la gluconéogenèse, la F2,6 BP.

Les effets de la metformine sur le métabolisme du glucose et des AG sont fortement réduits par un inhibiteur de l'AMPK ⁴⁵⁴. Elle inhibe également l'expression du facteur de transcription SREBP-1c (*sterol regulatory element binding protein 1c*) qui est impliqué dans la régulation de l'expression des gènes de la lipogénèse. De plus, un traitement de 14 jours avec la metformine augmente l'expression de PGC-1 α ainsi que l'activité des enzymes mitochondriales suggérant une amélioration de la capacité oxydative ⁴⁷⁶.

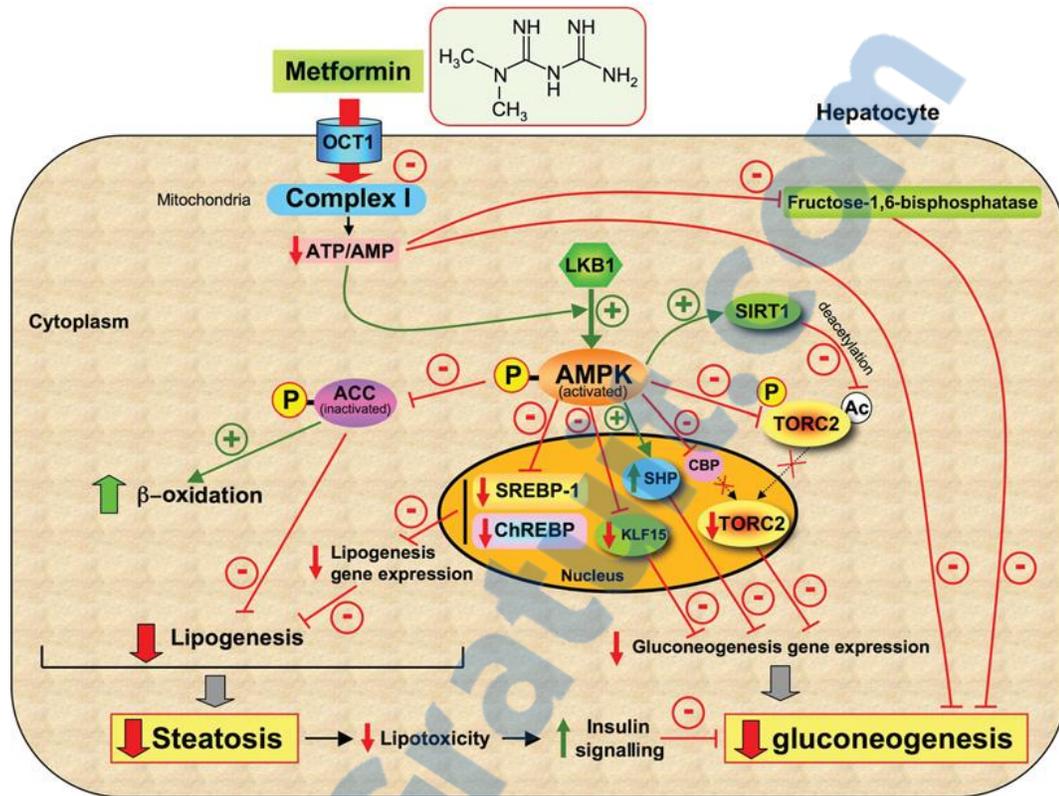


Figure 8.3 : Mécanismes moléculaires possibles de l'action de la metformine sur la néoglucogénèse hépatique (Image tirée d'après Viollet B et coll. ⁴⁶⁷).

8.3.2.3. Les effets AMPK-indépendants de la metformine

En plus de ses effets sur l'activation de l'AMPK, plusieurs études ont démontré que la metformine possède des actions indépendantes de l'AMPK ⁴⁷⁷. Elle peut exercer une variété d'actions cellulaires dans différents tissus et types cellulaires. Plusieurs mécanismes moléculaires ont été proposés, y compris la réduction de stress du réticulum endoplasmique, le stress oxydatif, l'apoptose et la synthèse des protéines, ainsi que la résistance à l'insuline dans les cellules endothéliales, les cardiomyocytes, et les fibroblastes par des voies dépendantes et indépendantes de l'AMPK ⁴⁶³ (voir figure 8.4).

Une étude très récente a indiqué que la metformine protège contre l'hypertrophie induite par une SP indépendamment de l'AMPK ⁴⁷⁸. La fibrose cardiaque est un autre élément de la cardiopathie diabétique, et plus généralement de l'IC. Fait intéressant, la metformine est capable d'atténuer la fibrose dans un modèle canin d'IC, vraisemblablement

via l'activation de l'AMPK et son action inhibitrice sur l'expression du TGF- β ¹⁰. Des résultats similaires ont été obtenus chez des souris soumises à une SP, même si, dans ce cas, l'AMPK ne semble pas être impliquée ⁴⁷⁹.

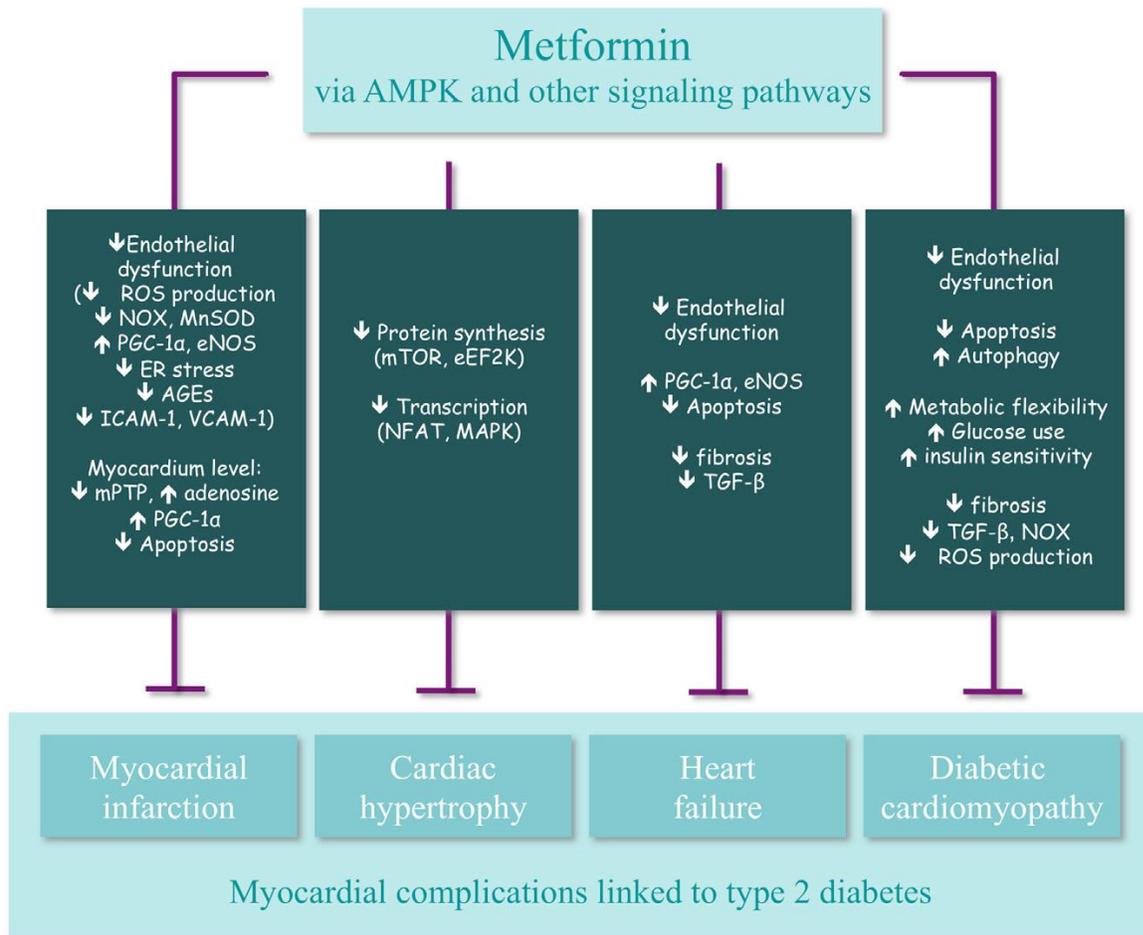


Figure 8.4 : Les principaux mécanismes moléculaires impliqués dans les effets cardioprotecteurs de la metformine (Image tirée d'après Foretz M et coll. ⁴⁶³).

8.4. Le rôle de PPAR α dans le cœur hypertrophié

Certaines études ont mis en évidence le lien entre PPAR α et les altérations métaboliques connues dans certaines conditions physiologiques, comme le jeûne ⁴⁸⁰, et pathologiques, comme l'hypertrophie cardiaque (SP et IC) et le diabète ^{51,481}. Il a été démontré que l'expression des PPARs était régulée à son niveau fœtal ²¹⁵ dans plusieurs

modèles d'hypertrophie pathologique^{217,397,416}. La diminution de PPAR α a été liée, en stade décompensé, à une modification dans le choix des substrats énergétiques du myocarde²¹⁴. Ceci a été associé avec une diminution de l'expression régulée par PPAR α de plusieurs gènes encodant pour des protéines de transport comme FAT/CD36 et CPT1/2, et des enzymes impliquées dans la β -oxydation mitochondriale des AG, comme MCAD. D'autres études n'ont, par contre, observé aucune modification, ce qui suggère que ce sont probablement l'étiologie, la sévérité et le stade d'avancement de la pathologie qui sont la cause de ces différences.

Le rôle important de PPAR α dans la régulation du métabolisme cardiaque a été également le sujet de nombreuses études utilisant différents modèles transgéniques⁴⁸². Des études conduites chez la souris montrent qu'une surexpression de PPAR α de manière cardio-spécifique induit une augmentation de la captation et de la β -oxydation des AG, une surcharge lipidique, ainsi qu'une diminution du métabolisme glucidique, qui s'expliquent par des modifications transcriptionnelles⁴⁸³. L'expression de PDK4 est augmentée en parallèle avec une diminution de l'expression de GLUT4 et de PFK1 dans les cœurs qui surexpriment PPAR α . En contrepartie des souris transgéniques déficientes pour PPAR α développent plus d'hypertrophie et avaient la fonction cardiaque détériorée par rapport à des souris sauvages soumises à une SP⁴⁸⁴. Ces études suggèrent que la régulation négative de PPAR (et par conséquent de l'oxydation des AG) contribue au développement de l'hypertrophie pathologique. L'utilisation d'un agoniste pour PPAR α était ainsi proposée par plusieurs études pour le traitement de l'HVG et/ou l'IC.

8.4.1. L'activation de PPAR α : une cible thérapeutique potentielle ?

Il est de plus en plus clair que les PPARs présentent un intérêt pharmacologique dans le traitement des désordres métaboliques et de leurs conséquences à long terme⁴⁸⁵. À présent, les interventions thérapeutiques qui augmentaient l'activité de PPAR α dans le cœur hypertrophié pourraient être avantageuses pour le maintien à long terme de la fonction myocardique en empêchant la déplétion en énergie et la lipotoxicité.

8.4.2. Mécanisme d'action général des fibrates

Les médicaments hypolipémiants de la famille des fibrates constituent une classe de molécules capables de se lier à PPAR α . Le WY-14643 et les fibrates tels le clofibrate, le fénofibrate, le bésafibrate, le ciprofibrate et le gemfibrozil furent développés comme des agents hypolipémiants chez les rongeurs⁴⁸⁶ (voir figure 8.5).

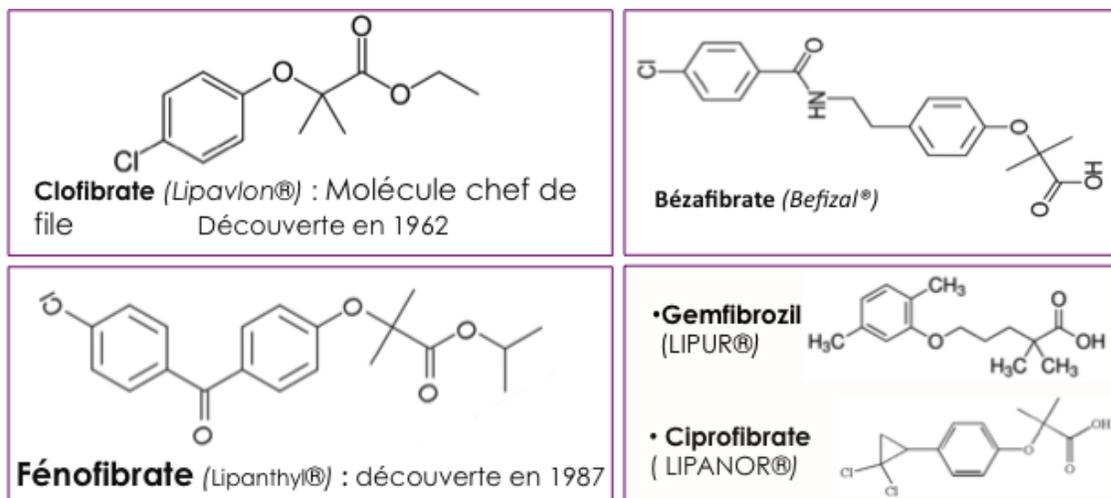


Figure 8.5 : Représentation de la structure moléculaire des cinq agents des fibrates (© WDH).

Ces ligands synthétiques de PPAR α sont capables de réduire les lipoprotéines riches en TG dans le sérum par une augmentation de l'expression des gènes impliqués dans la β -oxydation et une diminution de l'expression du gène de l'apolipoprotéine C-III⁴⁸⁷. Ils sont largement utilisés dans le traitement pharmacologique de l'hypertriglycéridémie. Les fibrates ne révèlent pas seulement un effet d'abaissement des TG, mais augmentent également le taux des lipoprotéines de forte densité (HDL-cholestérol), en partie en augmentant l'apolipoprotéine A-I et l'expression du gène A-II. Leur activité permet la diminution de la disponibilité systémique des AG pour la synthèse des TG⁴⁸⁸ et la réduction de leur absorption musculaire. Ils augmentent également la sensibilité à l'insuline et réduisent les niveaux plasmatiques du glucose⁴⁸⁹. En conséquence, ils peuvent ralentir la progression de l'artériosclérose et réduire les événements cardiovasculaires⁴⁹⁰.

8.4.2.1. Les fibrates et effets cardiovasculaires

Plusieurs études ont observé une réduction des facteurs de risque cardiovasculaire associés aux dyslipidémies chez les patients diabétiques suite à leur traitement aux fibrates. L'étude VA-HIT (*Veterans Affairs-High Density Lipoprotein Cholesterol Intervention Trial*), dans laquelle 25% des patients analysés sont diabétiques, montre une diminution du risque de MCV liée à une augmentation de cholestérol-HDL et une diminution des TG ⁴⁹¹. De plus, l'étude DAIS (*Diabetes Atherosclerosis Intervention Study*) a montré que le fénofibrate réduit la progression de l'athérosclérose des artères coronaires, ce qui peut être expliqué partiellement par la correction de la dyslipidémie diabétique ⁴⁹⁰. Ces résultats, ainsi que ceux observés dans d'autres études ^{492,493}, proposent qu'un traitement aux fibrates constitue une approche efficace pour réduire le risque de MCV associé à la dyslipidémie diabétique. Un résultat similaire a été également observé chez les patients atteints de DT2. Ces patients présentent une hypertriglycéridémie modérée et un taux de HDL-cholestérol bas. En plus, l'étude *St Mary's Ealing, Northwick Park Diabetes* (SENDCAP) montre que les fibrates diminuent la survenue des infarctus du myocarde chez les patients dyslipidémiques atteints de DT2 ⁴⁹⁴.

8.4.2.2. Les effets pléiotropes du fénofibrate

Des études récentes ont démontré de nombreux effets pléiotropes du fénofibrate sur le cœur fournissant une protection myocardique direct en plus de ses effets hypolipidémiants. Le fénofibrate a un potentiel supplémentaire pour empêcher la progression des lésions cardiaques hypertensives, l'hypertrophie cardiaque, l'IC, la myocardite, la cardiomyopathie de lipotoxicité et les anomalies cardiovasculaires associées à un dysfonctionnement endothéliale vasculaire ⁴⁹⁵. Dans une étude, il a été montré que l'activation de PPAR α par le fénofibrate atténue l'hypertrophie induite par l'aldostérone chez la souris ⁴⁹⁶ ainsi que dans deux modèles d'hypertrophie pathologique chez le rat ^{497,498}. L'activation de PPAR α peut aussi réguler à la hausse le processus anti-inflammatoire et antioxydant cardiaque ⁴⁹⁹. L'activation de PPAR α par le fénofibrate se traduit par une augmentation de la capture des AG par la cellule et de leur catabolisme intracellulaire.

En parallèle, de nombreuses études ont démontré la capacité du fénofibrate à inhiber l'hypertrophie indépendamment de la voie de PPAR α . En effet, il a été montré que le traitement au fénofibrate a pu atténuer le développement de l'hypertrophie cardiaque chez des rats soumis à une SP en réduisant l'expression de l'ET-1, du collagène de type I et III ainsi que de la fibrose interstitielle et périvasculaire ⁵⁰⁰. L'équipe de Liang et coll. a démontré qu'il a pu empêcher également l'augmentation de la synthèse protéique et de la taille des cardiomyocytes exposés à l'ET-1 ⁵⁰¹. Également, il a été montré que le fénofibrate a pu empêcher l'hypertrophie des cardiomyocytes en inhibant l'augmentation de l'expression de c-Jun et de la β -MHC ainsi que la phosphorylation de JNK ⁵⁰². De même, Li et coll. ont démontré que le fénofibrate a pu inhiber la GSK-3 β et la translocation nucléaire de NFATc4 ⁵⁰³.

8.5. La liaison métabolique entre l'activation de PPAR α et de l'AMPK

Il a été démontré que le fénofibrate et le WY14643 activent la voie de l'AMPK d'une manière indépendante de PPAR α au niveau du muscle squelettique ⁵⁰⁴. Le fénofibrate induit la phosphorylation et l'activation de l'AMPK via l'induction d'un récepteur nucléaire (SHP; *small heterodimer partner*) et l'expression de ses gènes cibles. Une étude réalisée sur des cellules endothéliales a également observé une activation de l'AMPK par le fénofibrate sans toutefois avoir un effet sur son activité transcriptionnelle ⁵⁰⁵. Le mécanisme responsable de cette activation demeure inconnu. De plus, l'activation de l'AMPK au niveau du muscle squelettique par AICAR permet l'augmentation de l'expression des gènes impliqués dans la β -oxydation, en particulier ; PPAR α , PGC-1 α et CPT-1 ⁵⁰⁶. Par contre, au niveau cardiaque, les effets du fénofibrate sur l'AMPK ou de la metformine sur PPAR α sont peu documentés.

Chapitre 9 : LE CŒUR, L'OBÉSITÉ ET L'IMPACT DE LA DIÈTE RICHE EN GRAS

9.1. L'obésité, la diète et retentissement cardiaque

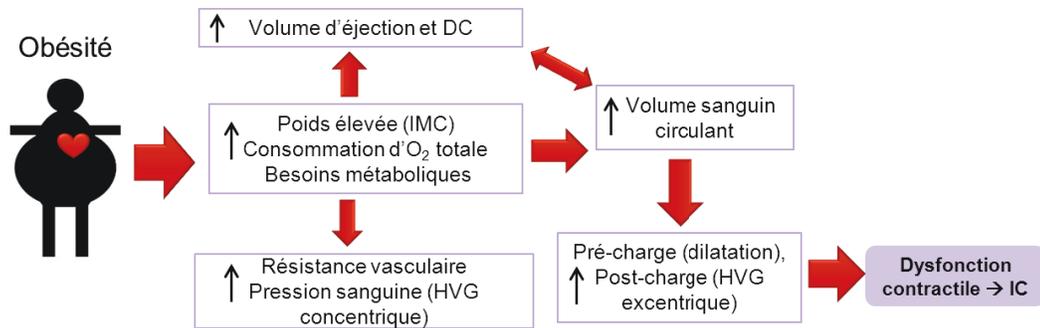
Le rôle de la consommation alimentaire dans la santé humaine a occupé un intérêt majeur. Le guide diététique depuis plus de 50 ans a recommandé la consommation d'une diète pauvre en gras saturé/riche en hydrates de carbone complexes pour réduire le risque des MCV⁵⁰⁷. Dès 1960, la prise alimentaire pauvre en gras était remplacée par des hydrates de carbone simples à partir, essentiellement, d'aliments hautement traités ou raffinés et de boissons sucrées. En même temps, avec ces modifications, la prévalence de l'obésité et du DT2 est augmentée, lesquels sont devenus des pandémies et ont augmenté le risque des MCV^{508,509}.

L'obésité est à la fois un facteur de risque direct de l'IC et est associée à une variété de changements hémodynamiques inadaptés qui prédisposent à un remodelage ventriculaire et une dysfonction cardiaque^{510,511} (voir figure 9.1). Ces modifications sont plus prononcées chez les personnes souffrant d'obésité grave et peuvent prédisposer au développement d'une IC, même en l'absence de comorbidités telles que la maladie coronarienne, la cardiopathie valvulaire, la maladie péricardique et congénitale⁵¹⁰. Dans l'étude de *Framingham*, et après ajustement pour les autres facteurs de risque, ils ont démontré que chaque augmentation d'un point de l'indice de la masse corporelle entraîne une majoration de développer une IC de 5% chez l'homme et de 7% chez la femme⁵¹². Le développement des complications cardiovasculaires dépend non seulement du degré d'excès de poids, mais aussi du gain de poids au cours de la vie, de la répartition du TA, des facteurs de risque vasculaire souvent associés et des conséquences de la sédentarité.

Récemment, une variété d'anomalies neurohormonales et métaboliques associées à l'obésité ont été identifiées qui peuvent contribuer au remodelage cardiaque, la dysfonction ventriculaire, et l'IC^{510,513,514}. Les mécanismes en cause sont complexes et intriqués. Les débats scientifiques actuels concernent ainsi l'association de ces altérations avec l'apparition

d'une dysfonction cardiaque chez les patients obèses et diabétiques. Les altérations fonctionnelles associées à un excès d'AG circulants et la modulation de leur métabolisme et la régulation des voies de signalisation intracellulaires, sont généralement les facteurs responsables du développement d'une cardiomyopathie de l'obésité (voir figure 9.1).

Altérations hémodynamiques



Altérations métaboliques

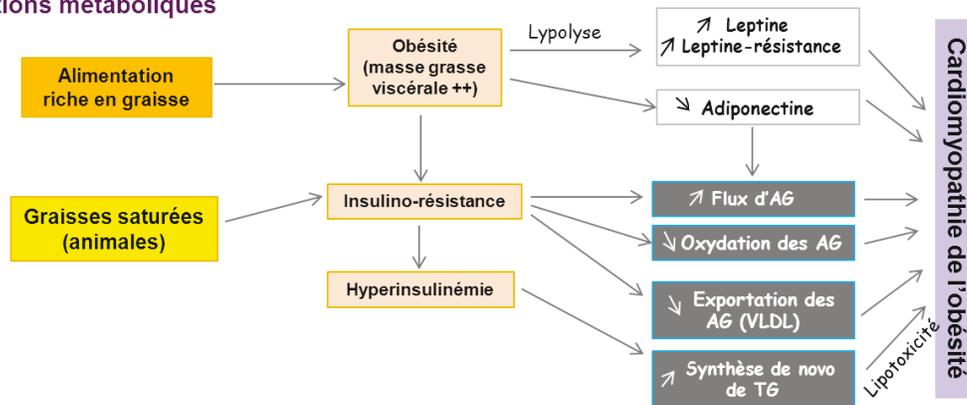


Figure 9.1 : Représentation des altérations hémodynamiques et métaboliques causées par l'obésité et la consommation de gras saturés et leur retentissement sur le cœur (Résumé ©WDH).

9.2. Les conséquences morphologiques et fonctionnelles cardiaques dans l'obésité

Les adaptations hémodynamiques sont déterminées par les modifications de la composition corporelle entraînant un état d'hypervolémie qui met en stress le cœur du sujet obèse. Quand ces adaptations sont dépassées, il se développe une cardiopathie spécifique de l'obésité. Ont été observées une HVG, plus rarement une hypertrophie ventriculaire droite, mais aussi une dilatation de l'OG et des anomalies valvulaires⁵¹³. Des observations convergentes, en particulier par imagerie non invasive, indiquent que l'obésité est associée à une HVG indépendamment de l'HTA et d'autres pathologies cardiaques. Ces études

montrent une augmentation de la cavité du VG et de l'épaisseur de la paroi par comparaison avec des témoins appariés pour l'âge. L'épaisseur de la paroi serait habituellement plus augmentée que les dimensions de la cavité, à l'origine d'une prédominance d'une HVG concentrique plutôt qu'excentrique. L'augmentation de la masse du VG résulte aussi d'une augmentation de graisse épicaudique et d'une infiltration graisseuse myocardique. Cette augmentation de graisse épicaudique est corrélée à la quantité de graisse viscérale abdominale et de l'importance de l'HVG ⁵¹⁵. Il existe peu de données sur l'effet direct de l'obésité sur les valves cardiaques, en partie du fait des difficultés techniques de l'échographie chez les patients obèses. Une étude, souvent citée, par échocardiographie dans la cohorte de Framingham montrait une moindre prévalence d'atteinte valvulaire chez les personnes obèses ²³¹.

De façon schématique, l'obésité entraîne une augmentation du volume sanguin circulant et du débit cardiaque du fait de l'augmentation des besoins métaboliques. Dans les situations d'une obésité modérée à sévère, il en résulte une dilatation du VG, une augmentation de la contrainte exercée sur la paroi du VG, une hypertrophie excentrique compensatrice du VG et un dysfonctionnement systolique (*voir figure 9.1*).

Le terme de «cardiomyopathie de l'obésité» s'applique quand les anomalies structurales et hémodynamiques aboutissent à une IC congestive ⁵¹⁶, typiquement dans les situations d'obésité massive et ancienne. Les autres conséquences potentielles de l'HVG de l'obésité concernent l'augmentation du risque de morbidité et de mortalité par coronopathie ischémique, mort subite et troubles de rythme. En particulier, l'HVG de l'obésité pourrait favoriser la survenue d'une ischémie myocardique par deux mécanismes: d'une part, l'augmentation du travail myocardique correspondant à l'augmentation des besoins en oxygène parallèle à l'accroissement de la masse myocardique et, d'autre part, la réduction de la réserve coronarienne résultante de l'augmentation des pressions et des contraintes diastoliques qui vont gêner la circulation de retour ⁵¹⁷.

Ce raisonnement physiopathologique centré sur le dysfonctionnement systolique du VG est cependant discuté. Les études plus récentes considèrent que, dans la majorité des cas chez les personnes obèses, la FE du VG peut être normale ou même supranormale ⁵¹³. La variabilité des données sur la fonction systolique tiendrait à l'hétérogénéité des

9.3.1. Les altérations dans le métabolisme des AG

9.3.1.1. L'apport cardiaque en AG

Généralement, lorsque la quantité des aliments consommée excède la dépense énergétique du corps, l'excès est stocké dans les adipocytes sous forme de TAG. Dans les conditions physiologiques normales, la libération des AGL à partir du tissu adipeux est hautement régulée de manière que, seulement la quantité nécessaire soit libérée afin de répondre aux besoins énergétiques des tissus y compris le cœur. Lorsque l'équilibre est perturbé, la taille des adipocytes est augmentée, conduisant à une élévation des AGL et des TAG circulants^{519,520}. Ces niveaux élevés d'AGL peuvent également accélérer la synthèse des VLDL-TAG dans le foie, contribuant à une hyperlipidémie⁵²¹. Parallèlement à l'augmentation des lipides en circulation, le contenu intramyocardique en TAG semble augmenter progressivement avec l'indice de masse corporelle⁵²². Il a été proposé que l'accumulation d'AG et de TAG dans le myocarde puisse contribuer au développement d'une dysfonction et une IC⁵²³⁻⁵²⁵. Cette augmentation de l'approvisionnement du cœur en AG peut accélérer leur captation et leur β -oxydation dans l'obésité et le diabète; cependant, d'autres mécanismes sont également présents.

9.3.1.2. La captation cardiaque d'AG dans l'obésité

L'utilisation accrue d'AG observée dans l'obésité et le diabète peut aussi dépendre de la surexpression et de la localisation membranaire des transporteurs d'AG. La captation cardiaque des AG est élevée chez des rats Zucker obèses résistants à l'insuline, associée à une plus grande expression membranaire de FAT/CD36 sans changement dans le contenu cellulaire total^{526,527}. L'augmentation de la translocation de FAT/CD36 vers la membrane a été également observée dans les cœurs de souris diabétiques (*db/db*)⁵²⁸. Il a été démontré que l'expression de FABPpm est également augmentée dans l'obésité¹⁶¹. En conséquence, une expression accrue et une localisation membranaire chronique de transporteurs d'AG pourraient partiellement accélérer leur captation et oxydation. Le mécanisme entraînant leur relocalisation à la membrane plasmique est inconnu. Il a été proposé que l'hyperinsulinémie associée à la résistance à l'insuline induite par l'obésité et le diabète pourrait stimuler la translocation de FAT/CD36 vers le sarcolemme dans les cardiomyocytes de rat^{174,529}.

Le CD36 est stocké dans le cœur dans des endosomes et des pools de stockage qui sont régulés par l'AMPK et la PI3K/Akt respectivement. L'activation de l'AMPK est critique pour la translocation de CD36 vers la membrane induite par la contraction, et l'activation de PI3K/Akt est critique pour la translocation de CD36 induite par l'insuline ⁸⁰.

9.3.1.3. Les réserves endogènes de TAG

Le contenu de TAG intramyocardique est très variable et augmente rapidement avec le jeûne à court terme ou la restriction alimentaire chez l'homme ⁵³⁰ et les rongeurs ⁵³¹, probablement en raison d'une augmentation des AGL et des corps cétoniques. L'obésité et le diabète augmentent les réserves intramyocardiques de TAG en partie, à cause des AGL et TAG circulants élevés ¹⁶⁶, l'augmentation de la captation des AG, et de la synthèse de TAG intramyocardique raison à l'augmentation du CoA et de la synthèse de l'acyl-CoA à chaîne longue ⁵³². Malgré l'accumulation de TAG dans le cœur diabétique, ces stocks peuvent être rapidement mobilisés en présence ou en l'absence de concentrations élevées d'AG ⁵³³. Fait intéressant, même si les cœurs de rats diabétiques sont perfusés en l'absence d'AG exogènes, l'oxydation du glucose fournit encore 20% du total d'ATP exigé du cœur ⁵³³, suggérant qu'en plus des concentrations circulantes élevées d'AGL, d'autres mécanismes contribuent également au ralentissement du métabolisme du glucose. Ces mécanismes peuvent inclure l'interaction entre le métabolisme d'AG et de glucose (cycle de *Randle*), les implications potentielles de la lipotoxicité sur la signalisation de l'insuline, ainsi que les changements dans le contrôle transcriptionnel de la β -oxydation ⁵³³.

9.3.1.4. La captation mitochondriale des AG

Les modifications dans la régulation du CPT-1 par le malonyl CoA et le transport des AG dans les mitochondries jouent un rôle important dans le taux accéléré de la β -oxydation trouvé dans l'obésité et le diabète. Il a été précédemment démontré que les cœurs des rats traités avec la streptozotocine (induit l'obésité) dépendent presque entièrement de la β -oxydation d'AG en tant que source d'acétyl-CoA pour le cycle de Krebs lorsque perfusés avec du glucose et le palmitate ⁵³⁴. Cette dépendance à l'égard de la β -oxydation d'AG n'a pas été associée avec des variations de l'activité d'AMPK ou de l'ACC; cependant,

l'expression et l'activité du MCD sont augmentées chez le groupe diabétique ⁵³⁴. Comme le MCD est l'enzyme responsable de la dégradation du malonyl-CoA dans le cœur, ceci suggère que la réduction des niveaux de malonyl CoA et la suppression de son inhibition de la CPT-1 peuvent contribuer à des taux accélérés de la β -oxydation dans le diabète. Des données préliminaires suggèrent également que MCD joue un rôle dans l'augmentation de la β -oxydation dans l'obésité ⁵¹⁴. En plus, une alimentation riche en gras ainsi que le jeûne, induisant une augmentation des concentrations d'AGL, entraînent une augmentation de l'expression de MCD en association avec l'activation de PPAR α ^{535,536}. En revanche, l'élévation de la β -oxydation myocardique observée chez les souris *db/db* est associée à une réduction de l'activité de l'AMPK et une augmentation de contenu en malonyl CoA ⁵³⁷.

9.3.1.5. La β -oxydation des AG

Il est encore incertain si l'accumulation observée de métabolites lipidiques intramyocardiques (TAG, acyl-CoA à chaîne longue, DAG, et céramides) dans l'obésité et le DT2 est due principalement à la consommation excessive d'AG ou à une capacité réduite du myocarde à oxyder les AG disponibles ^{514,524}. Récemment, un certain nombre d'études expérimentales ont suggéré que le taux diminué de la β -oxydation d'AG a un rôle majeur dans l'accumulation intramyocardique des métabolites lipidiques ^{523,524,538}.

9.3.2. Les altérations transcriptionnelles

Dans l'obésité et le diabète, l'augmentation des concentrations d'AGL circulants joue un rôle important dans la régulation du métabolisme des AG. Cependant, ces AG peuvent également modifier directement l'expression des enzymes du métabolisme, puisque les AG et leurs dérivés peuvent servir de ligands endogènes pour PPAR α et son co-activateur PGC-1 α ^{539,540}. L'activation de ces récepteurs nucléaires par des AG relie la capacité oxydative du cœur à l'apport en substrat ⁵⁴¹. Il semble que les changements métaboliques précoces de l'obésité et du diabète se produisent indépendamment des variations de PPAR α /PGC-1 α et leurs cibles de transcription en aval ^{513,542}. Cependant, la surconsommation chronique et l'obésité semblent activer la voie de signalisation PPAR α /PGC-1 α , entraînant une augmentation dans la transcription des gènes encodant pour les protéines qui contrôlent la

β -oxydation, y compris m-CPT1, FATP1, CD36, UCP2 et UCP3^{513,543}. Ceci peut également entraîner la répression du métabolisme du glucose observée dans l'obésité et le diabète. Des souris surexprimant PPAR α ont une réduction significative dans l'expression de l'ARNm et de la protéine de GLUT4⁵⁴³. L'activation de PPAR α peut également augmenter la transcription de PDK4, qui phosphoryle et inhibe le complexe PDH, altérant ainsi l'oxydation du glucose⁵⁴⁴. Toutefois, il a été proposé également que la régulation positive de l'expression de PDK4 dans le cœur et le muscle peut être due à un mécanisme dépendant des AG et indépendant de PPAR α ⁵⁴⁵.

9.3.3. Les modifications des adipokines circulants

Le tissu adipeux synthétise et sécrète un certain nombre d'hormones, comme la leptine (adipokine), l'adiponectine, la résistine, et visfatine, ainsi que des cytokines proinflammatoires qui comprennent l'IL-6 et la TNF⁵⁴⁶. Des altérations dans leurs concentrations et leur signalisation contribuent au phénotype métabolique dans l'obésité et le diabète. Les concentrations circulantes de la leptine⁵⁴⁷ et de l'adiponectine⁵⁴⁸ sont respectivement corrélées positivement, et négativement avec la masse adipeuse et l'accumulation de graisses dans le muscle squelettique et/ou le foie ainsi qu'à une résistance à l'insuline. En plus ces deux hormones peuvent avoir un impact sur le métabolisme énergétique du myocarde⁵⁴⁹.

9.3.3.1. Le rôle de la leptine

La leptine est connue principalement comme une substance qui, par interaction avec l'hypothalamus, diminue la prise alimentaire et augmente la dépense énergétique⁵⁵⁰. Malgré l'abondance de la littérature sur le rôle de la leptine dans la modulation du métabolisme de l'organisme en entier et du muscle squelettique, les données sur son rôle dans le métabolisme des AG dans le cœur sont limitées. Un traitement des cardiomyocytes *HL-1* avec la leptine pendant 1h augmente de façon significative la β -oxydation des AG, un effet associé avec une diminution de la teneur intracellulaire en lipides, tandis que l'exposition prolongée de 24h conduit à un effet inverse⁵⁵¹. Fait intéressant, cette réponse de l'action de la leptine est parallèle aux changements dans la phosphorylation de l'AMPK

et l'ACC, avec une augmentation de la phosphorylation à 1h et aucune différence à 24h. Ces observations sont en accord aux données obtenues dans le muscle squelettique, où l'augmentation de la β -oxydation induite par la leptine a été attribuée à la régulation de la voie de signalisation de l'AMPK/ACC/malonyl CoA^{552,553}. Le traitement de cœurs perfusés isolés de rat avec la leptine augmente également la β -oxydation des AG et est associé à une diminution des réserves intramyocardiques de TAG⁵⁵⁴. La dépendance accrue aux AG en tant que source du métabolisme oxydatif est associée avec une augmentation de la vitesse de consommation d'O₂ (MV_{O₂}) et une diminution de l'efficacité cardiaque⁵⁵⁴. Cependant, contrairement à ce qui était observé dans les cardiomyocytes *HL-1*, l'accélération de la β -oxydation des AG induite par la leptine se produit de façon indépendante aux changements cardiaque de l'AMPK ou l'ACC, mais peut être expliquée par une augmentation de l'activité des protéines de découplage mitochondriales.

9.3.3.2. Le rôle de l'adiponectine

L'adiponectine est l'adipokine la plus abondante sécrétée par le tissu adipeux et joue un rôle crucial dans la différenciation des adipocytes. Il a été suggéré qu'elle est impliquée également dans le couplage de la régulation de la sensibilité à l'insuline avec le métabolisme énergétique. Similairement à ce qui est observé avec la leptine, l'adiponectine stimule la β -oxydation des AG dans le muscle squelettique via la voie AMPK/ACC/malonyl CoA, et encore une fois, il existe peu de données qu'un mécanisme similaire se produit dans le cœur. L'adiponectine peut potentiellement stimuler la β -oxydation des AG dans les myocytes ventriculaires chez le rat néonatal via une activation de l'AMPK et de p38, entraînant à la fois une augmentation de l'activité CPT et une diminution de l'inhibition de la CPT-1 par le malonyl CoA⁵⁵⁵. L'importance des changements induits par l'adiponectine dans le métabolisme myocardique dans l'obésité et le diabète reste non claire. Probablement, la réduction de l'adiponectine associée à l'obésité peut contribuer au développement d'une pathologie cardiaque due à l'association de l'indice de la masse corporelle avec un certain nombre de troubles liés à l'obésité. L'adiponectine protège le cœur des lésions ischémiques *in vitro*⁵⁵⁶ et *in vivo*⁵⁵⁷, ainsi que pendant le développement de l'hypertrophie cardiaque concentrique en réponse à une SP⁴⁴⁷.

9.3.4. La contribution de la β -oxydation dans la signalisation de l'insuline et la pathologie cardiaque

Des études récentes suggèrent que dans l'obésité et le DT2, la stimulation de la β -oxydation pourrait améliorer la fonction cardiaque en empêchant l'accumulation intramyocardique des lipides ^{523,524,536}. Il a été montré que l'accumulation cytosolique de TAG, de l'acyl-CoA à chaîne longue, du DAG, et/ou de céramides est induite par l'altération de la capacité oxydative musculaire des AG, et que ces molécules inhibent par la suite la signalisation de l'insuline ^{558,559}. L'amélioration de la capacité du muscle squelettique à oxyder les AG, l'accumulation cytosolique de ces métabolites peut être atténuée, ce qui améliorera la signalisation de l'insuline et l'absorption du glucose ⁵⁵⁹.

9.3.4.1. La résistance à l'insuline cardiaque

La résistance systémique à l'insuline, comme observé dans le diabète, le syndrome métabolique, l'obésité, ou l'inactivité physique, augmente généralement les AGL, les TAG, le glucose et l'insuline circulants. Des études mesurant les effets de l'absorption du glucose sur l'hyperinsulinémie dans le cœur humain ont observé une résistance à l'insuline mineure ou pas chez les patients atteints de DT2 par rapport aux sujets témoins non diabétiques ⁵⁶⁰. Des résultats similaires ont été récemment rapportés dans un modèle génétique de DT2 murin ⁵⁶¹, suggérant ainsi que la réponse à l'insuline dans le cœur est relativement intacte dans le DT2 ⁵⁶². L'exposition chronique du cœur à un excès d'AG et de glucose pourrait exercer des effets toxiques par la génération de dérivés nocifs du métabolisme de glucose ^{563,564} et des lipides ^{565,566}. Ainsi, tandis que le cœur peut être moins sensible à l'insulino-résistance que les muscles squelettiques, la résistance systémique à l'insuline peut avoir un effet négatif sur le myocarde par les effets toxiques d'une surabondance de substrat ¹³.

9.3.4.2. La lipotoxicité cardiaque

L'accumulation intramyocardique de métabolites lipidiques (TAG et céramide) dans l'obésité et le diabète est aussi associée à une pathologie cardiaque, qui se manifeste par une augmentation de l'apoptose des cardiomyocytes, la fibrose myocardique, la dilatation du VG, le dysfonctionnement contractile, et des troubles dans le remplissage diastolique ^{566,567}.

Bien que ce phénomène a été observé dans plusieurs modèles génétiques chez la souris et le rat, et a été largement dénommé «lipotoxicité cardiaque» il reste mal défini en clinique. Il a été proposé qu'une régulation à la baisse de PPAR α et la diminution de l'expression des enzymes de la β -oxydation d'AG provoque l'accumulation intramyocardique de lipides qui contribue à la dysfonction cardiaque ⁵²³. La consommation d'une diète riche en gras augmente considérablement la masse corporelle, le contenu intramyocardique de TAG et de céramide chez les rats ayant une IC induite par un infarctus, mais n'a pas un effet négatif sur les dimensions, la pression, ou la masse du VG ⁵⁶⁸, ce qui suggère que l'accumulation de lipides dans le cœur n'est pas nuisible dans l'IC. Le contenu cellulaire accru de DAG peut mener à l'activation chronique de la PKC, qui a été associée à une cardiomyopathie ⁵⁶⁹. Les AGL peuvent avoir des effets directs sur la mitochondrie, probablement par une augmentation de la perméabilité membranaire et la libération du cytochrome c ⁵⁷⁰. L'excès des AGL peut aussi induire une réponse inflammatoire en activant le NF- κ B ⁵⁷¹.

9.3.5. L'efficacité cardiaque dans l'obésité et le diabète

Une augmentation de la consommation d'O₂ et une diminution de l'efficacité cardiaque dans l'obésité et le diabète ont été observées chez les animaux ^{572,573} et chez l'homme ^{574,575}, car comme nous savions, l'oxydation des AG consomme plus d'oxygène que le glucose. Bien qu'une diminution similaire de l'efficacité cardiaque ait été observée dans certaines études, le mécanisme par lequel l'efficacité est altérée n'est pas clair. Un mécanisme potentiel de l'inefficacité cardiaque dans l'obésité et le diabète est le gaspillage d'oxygène dû à l'utilisation de l'énergie dans d'autres processus non contractiles.

Une dysfonction mitochondriale a été identifiée dans de nombreux modèles d'obésité et de diabète, ce qui suggère que les mécanismes compensatoires deviennent inadaptés ^{576,577}. En effet, même si PGC-1 α et ses gènes cibles en aval qui régulent la β -oxydation ont été augmentés chez la souris *db/db*, il n'y a pas eu d'augmentation simultanée dans les gènes de la phosphorylation oxydative ⁵¹³. En plus, chez la souris *ob/ob* souris, les teneurs en protéines des complexes I, III et V sont réduits et les mitochondries isolées ont une capacité oxydative réduite ⁵¹³. Le découplage mitochondrial et les mesures de la fuite de protons, ont démontré une augmentation de la consommation d'oxygène ainsi que une

augmentation de la β -oxydation des AG dans un certain nombre de modèles d'obésité et de diabète ^{573,578}.

9.4. Impacts cardiaques de la diète riche en gras

Le lien entre le dysfonctionnement contractile et les altérations métaboliques au cours de l'obésité ou du DT2 a été généralement identifié grâce à l'utilisation de diètes spéciales riches en lipides ou en hydrates de carbone permettant de créer des modèles d'obésité et de diabète. Beaucoup d'études épidémiologiques ont montré que les diètes pauvres en AG saturés, en gras-*trans* et en cholestérol, diminuent significativement le risque des MCV ^{579,580}. Cependant, dans l'étude *Women's Health*, la réduction du gras total de la prise énergétique de base de 37,8% à 28,8% après 6 ans de suivi n'affecte pas le taux des événements de MCV ou l'attaque cardiaque par comparaison aux sujets non soumis à cette diète ⁵⁸¹. Une autre étude a montré une forte corrélation entre l'énergie alimentaire provenant des AG saturés et l'incidence des MCV ($r=0,80$) ainsi que les décès causés par les MCV ($r=0,84$) sur une période de 10 ans ⁵⁸². Les recommandations actuelles se concentrent sur la consommation élevée d'AG polyinsaturés et la réduction de la charge glycémique et la prise énergétique totale ^{507,583,584}. Il n'y a que peu de données expérimentales et cliniques qui examinent le rôle de la diète dans la pathogenèse de l'hypertrophie et de l'IC. Par conséquent, jusqu'à présent, il n'est pas clair si ce nouveau paradigme nutritionnel va être efficace dans le traitement de ces pathologies, comme dans le cas de l'HVG due à une SV.

Chapitre 10 : JUSTIFICATIONS DES ÉTUDES

10.1. Le métabolisme énergétique comme stratégie thérapeutique

Suite à cette revue de la littérature, nous arrivons à la conclusion que le métabolisme énergétique apparaît comme une composante essentielle à la fonction cardiaque. Le cœur adapte continuellement sa production énergétique en fonction de son travail. Le maintien de cette adéquation implique un contrôle fin et coordonné de l'ensemble de ces composantes.

D'actives recherches sont en cours pour mettre en place des thérapies métaboliques en vue d'améliorer la production énergétique et par conséquent la fonction cardiaque. Les stratégies en cours de développement concernant la mise en place d'une approche thérapeutique qui cible le métabolisme reposent en particulier sur l'amélioration de l'efficacité des systèmes énergétiques du myocarde tout en modulant sa flexibilité d'utilisation des substrats. Dans le cas de l'HVG causée par l'IA et aux stades précoces du développement de l'IC, étant donné que le cœur hypertrophié favorise la glycolyse au détriment de la β -OX, nos recherches ont alors tenté d'optimiser la production énergétique basée sur une réactivation de la β -OX par une modulation pharmacologique directe utilisant un agoniste de PPAR α , le fénofibrate et un stimulateur de l'AMPK, la metformine (*voir figure 10.1*).

Nous avons observé dans des études précédentes le même profil dans notre modèle d'IA^{585,586}. Pour ces raisons, modulant PPAR α par son activateur pharmacologique, le fénofibrate, pourrait être une cible intéressante pour améliorer le métabolisme et influencer le développement de l'HVG dans l'IA. Les résultats des études animales de modèles de SP de VG et dans un modèle d'IC porcin⁵⁻⁸ ont suggéré un avantage potentiel du fénofibrate sur l'hypertrophie et la fonction du VG. Également, des études récentes ont montré l'avantage d'activer l'AMPK avec la metformine dans deux modèles animaux d'IC^{9,10}. C'est une découverte intéressante puisque l'AMPK était déjà connue étant activée dans les modèles étudiés. La metformine dans les deux modèles a pu réduire l'HVG et améliorer la fonction. Nous avons précédemment observé que les niveaux de phosphorylation de

l'AMPK ont été diminués à 8 semaines dans notre modèle. Cette observation souligne le potentiel de l'activation de l'AMPK dans notre modèle pour maintenir un métabolisme cardiaque approprié.

10.1.1. Les hypothèses de travail

Nous proposons qu'un traitement pendant 8 semaines des animaux ayant subi une induction d'une IA sévère avec la metformine ou avec le fénofibrate améliore la fonction cardiaque et le métabolisme oxydatif, comparés aux animaux non traités.

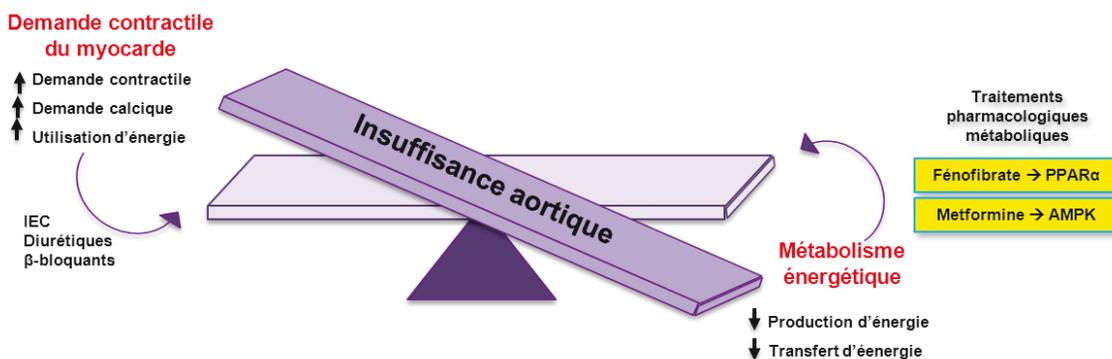


Figure 10.1: Schématisation de notre hypothèse d'une stratégie thérapeutique métabolique dans l'IA (©WDH).

10.1.2. Les objectifs

Pour tenter de répondre à notre hypothèse et pour avoir une meilleure compréhension des mécanismes de régulation du métabolisme énergétique dans l'IA, les aspects suivants seront évalués :

1. L'impact d'un traitement pendant 8 semaines avec le fénofibrate ou la metformine sur la fonction cardiaque,
2. L'effet sur l'hypertrophie ventriculaire gauche au niveau structural et sur la signalisation intracellulaire,
3. Les effets sur le métabolisme myocardique des AG et du glucose.

Objectif spécifique : Examiner *in vivo* le métabolisme énergétique myocardique par μ TEP chez les animaux IA pendant la phase compensatoire de l'HVG à 8 semaines. Ces expériences seront effectuées au Département de Médecine Nucléaire et Radiobiologie de l'Université de Sherbrooke avec la collaboration de docteur Roger Lecomte. En utilisant des traceurs liés d'isotope comme le ^{11}C -acétate, ^{18}F FDG et le ^{18}F -FTHA, une mesure *in vivo* de l'utilisation directe de substrat et la cinétique peut être obtenue avec précision et reproductibilité sur des rongeurs. De plus, la perfusion myocardique, les volumes et la fonction du VG peuvent être évalués.

10.2. La prévention nutritionnelle comme stratégie thérapeutique

L'influence de la diète pourrait se produire par plusieurs mécanismes; une détérioration du métabolisme énergétique par l'augmentation du stress oxydatif mitochondrial, l'altération des activités enzymatiques et des niveaux d'expression de plusieurs gènes impliqués dans le transport, l'utilisation et l'oxydation des AG et du glucose, l'activation du processus inflammatoire, des marqueurs de l'IC, ainsi que l'activation des voies d'hexosamines et des phosphates pentoses, la lipotoxicité et la glucotoxicité myocardique.

Nous sommes conscients que dans la réalité les patients ayant des problèmes cardiaques auront aussi et ce, dans une grande majorité des cas, d'autres facteurs de risques associés, comme le diabète et l'obésité. Nous ignorons cependant les effets sur la survie, la fonction cardiaque et le métabolisme énergétique suite à une SV, dans ces conditions de stress. La plupart des études sur les impacts de l'intervention diététique ont été faites sur des modèles animaux de SP et d'IC et il n'y a aucune étude qui combine l'analyse de l'HVG, due à une SV, avec les manipulations de la diète et qui évalue leurs effets sur la survie et sur le développement de cette maladie. Ce genre d'étude est primordial puisqu'en clinique, il est fréquent de traiter des patients obèses ou diabétiques, à cause de leurs habitudes alimentaires et ayant des maladies cardiaques.

10.2.1. L'hypothèse de travail

Nous proposons que l'évolution de la cardiomyopathie de SV et de l'HVG excentrique peut être modulée par la consommation d'une diète riche en gras en influençant directement (1)

la survie, (2) des voies de signalisation pro-HVG et (3) le métabolisme myocardique (voir figure 10.2).

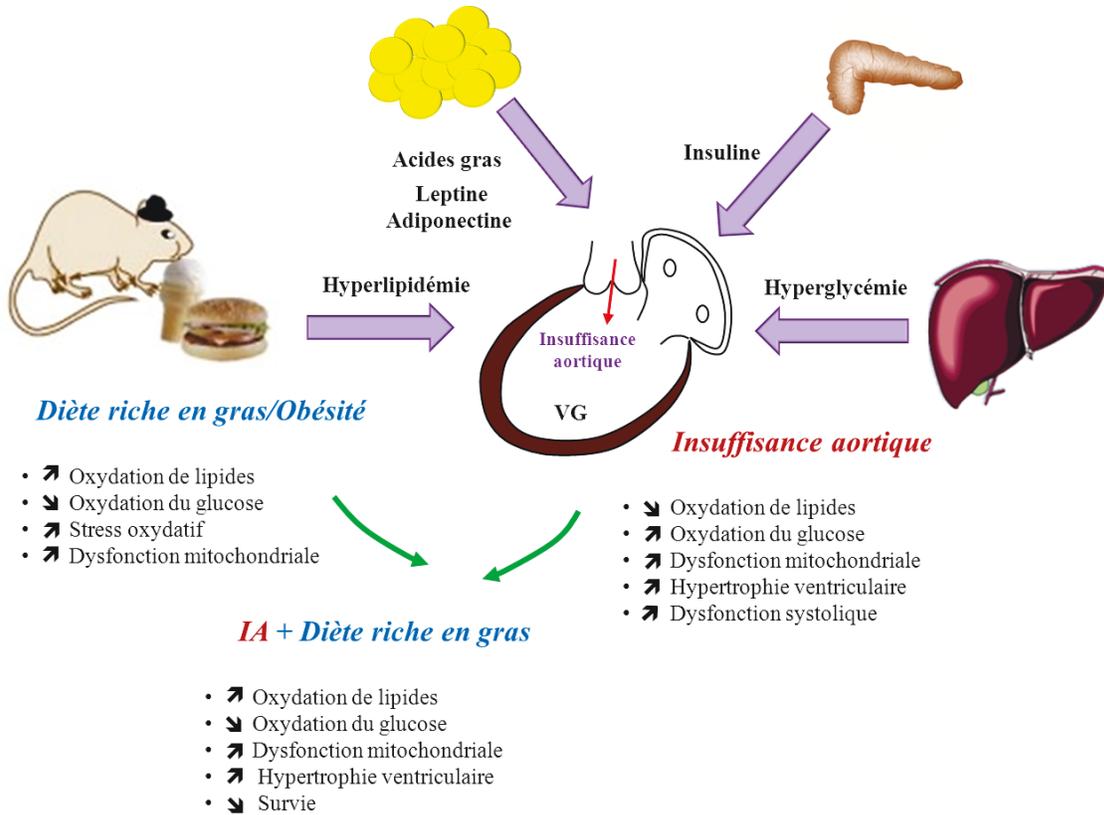


Figure 10.2 : Schématisation de notre l’hypothèse de l’impact de la diète riche en gras sur l’IA.

10.2.2. Les objectifs

Dans notre troisième présente étude, nous avons considéré les objectifs spécifiques suivants :

1. Examiner l’effet de la composition alimentaire en gras sur la survie,
2. Évaluer les impacts que peuvent avoir cette diète sur le développement de l’HVG, le remodelage et la dysfonction contractile,
3. Élucider les voies de signalisation sous-jacentes,
4. Caractériser les changements dans le métabolisme énergétique cardiaque.

10.2.3. Les diètes utilisées

10.2.3.1. Choix de la diète riche en AG saturés

Nous avons utilisé une diète riche en AG composée de 37% d'AGS, 47% d'AGMI et de 16,1% d'AGPI. Les AGCL sont difficilement métabolisables et ils nécessitent des transporteurs afin de traverser les différentes membranes cellulaires comme on a mentionné dans le chapitre 3. Suite à un apport trop important d'AG, ces derniers vont s'accumuler et entraîner le développement de l'obésité.

10.2.3.2. Choix de la diète contrôle

La diète contrôle utilisée dans cette étude est une diète standard constituée d'éléments permettant une croissance normale des animaux. Cette diète est riche en sucre complexe (l'amidon) et en gras (lard) et représente un bon contrôle pour la diète riche en gras.

Tableau 10.1 : Composition des différentes diètes utilisées dans la troisième étude.

Diète	Contrôle	Riche en gras
Énergie (Kcal/g)	3,6	5,1
Composition, g/Kg		
Caséine	140	265
Sucrose	100	90
Corn starch	465,7	---
Soybean oil	40	30
Mélange de vitamines	10	21
Mélange de minéraux	35	48
L-Cystine	1,8	4
Maltodextrine	155	160
Lard	---	310
Cellulose	50	65
Source d'énergie, % par poids (% kcal)		
Protéine	12,4 (13,8)	23,5 (18,4)
Hydrates de carbone	68,4 (76)	27,3 (21,3)
Gras	4,1 (10,8)	34,3 (60,3)

Chapitre 11 / Article 1: Fenofibrate reduces cardiac remodeling and improves cardiac function in a rat model of severe left ventricle volume overload

Life Sciences 92 (2013) 26–34.

Wahiba Dhahri, Jacques Couët, Élise Roussel, Marie-Claude Drolet, Marie Arsenault

Groupe de Recherche en Valvulopathies, Centre de Recherche, Institut universitaire de cardiologie et de pneumologie de Québec, Université Laval, Québec, Canada.

Article history:

Received : 18 June 2012

Accepted : 22 October 2012

Published : Novembre 2012

Résumé

Cette étude a été conçue pour explorer les effets du traitement par le fénofibrate dans un modèle de SV chez le rat causée par une régurgitation valvulaire aortique sévère en particulier sur le remodelage cardiaque et le métabolisme myocardique. Des rats mâles Wistar ont été divisés en quatre groupes: Sham traités avec le fénofibrate ou non et des rats ayant une régurgitation aortique sévère traités ou non avec le fénofibrate. Le fénofibrate n'a pas permis de réduire le poids du ventricule gauche, cependant, le remodelage excentrique et la dysfonction systolique ventriculaire ont été fortement réduits. Le fénofibrate a également augmenté l'activité des enzymes associés à l'oxydation des acides gras, tout en inhibant l'enzyme glycolytique ; la phosphofructokinase. Des études avec un suivi plus long seront nécessaires pour évaluer les effets à long terme de fénofibrate sur la SV provoquée par la régurgitation aortique.

Abstract

Aims: Fenofibrate is a peroxisome proliferator-associated receptor alpha agonist (PPAR α) used clinically for the management of dyslipidemia and is a myocardial fatty acid oxidation stimulator. It has also been shown to have cardiac anti-hypertrophic properties but the effects of fenofibrate on the development of eccentric left ventricular hypertrophy (LVH) and ventricular function in chronic left ventricular (LV) volume overload (VO) are unknown. This study was therefore designed to explore the effects of fenofibrate treatment in a VO rat model caused by severe aortic valve regurgitation (AR) with a focus on cardiac remodeling and myocardial metabolism.

Main methods: Male Wistar rats were divided in four groups (13–15 animals/group): Shams (S) treated with fenofibrate (F; 100 mg/kg/d PO) or not (C) and severe AR receiving or not fenofibrate. Treatment was started one week before surgery and the animals were sacrificed 9 weeks later.

Key findings: AR rats developed severe LVH (increased LV weight) during the course of the protocol. Fenofibrate did not reduce LV weight. However, eccentric LV remodeling was strongly reduced by fenofibrate in AR animals. Fractional shortening was significantly less affected in ARF compared to ARC group. Fenofibrate also increased the myocardial enzymatic activity of enzymes associated with fatty acid oxidation while inhibiting glycolytic enzyme phosphofructokinase.

Significance: Fenofibrate decreased LV eccentric remodeling associated with severe VO and helped maintain systolic function. Studies with a longer follow-up will be needed to assess the long-term effects of fenofibrate in chronic volume overload caused by aortic regurgitation.

Keywords:

Cardiomyopathy, volume overload, fenofibrate, hypertrophy.

11.1. Introduction

Chronic left ventricular volume overload (VO) causes severe left ventricular dilatation and eccentric hypertrophy. It is encountered mostly in subjects suffering from chronic heart valve diseases such as mitral (MR) or aortic valve regurgitation (AR). Untreated AR causes severe LV dilatation and hypertrophy (LVH) as well as slowly progressive systolic dysfunction and evolution towards heart failure (Bonow, 2000; Bonow et al., 1991). Chronic left ventricular (LV) volume overload diseases such as AR are well tolerated for many years before heart failure occurs. Unfortunately there is currently no treatment yet proven to be effective to decrease morbidity and mortality or to delay the evolution towards heart failure or decrease the need of heart valve surgery in these patients (Bonow et al., 2006). New treatment strategies need to be evaluated.

LVH induces severe alterations in myocardial energy metabolism. The normal heart displays a clear preference for fatty acids as its main substrate for ATP formation. In the hypertrophied heart, an increased reliance on glucose with an overall reduced oxidative metabolism is often observed. This could be explained in part by the down-regulation of the transcriptional cascades promoting gene expression for fatty acid oxidation and mitochondrial oxidative phosphorylation in adult hearts (Allard, 2004; Allard et al., 2007; Sambandam et al., 2002). Impaired myocardial energetics also activate AMP-activated protein kinase (AMPK), leading to increased glucose uptake and glycolysis. Several potential approaches to help the myocardium to maintain adequate energy production are under investigation. Restoring the normal preference and use of fatty acid oxidation (FAO) may be one of them.

The peroxisome proliferator-activated receptor-alpha (PPAR α) constitutes an interesting therapeutic target to reach such a goal since its activation can stimulate FAO (Barger and Kelly, 2000). Fibrates are a class of hypolipemic drugs acting on PPAR α activation. They have been shown in models of concentric hypertrophy due to pressure overload to have some anti-hypertrophic effects (Chen et al., 2007; Diep et al., 2004; Ogata et al., 2002; Iglarz et al., 2003; Lebrasseur et al., 2007; Li et al., 2009; Nishida et al., 2004; Purushothaman et al., 2011; Rose et al., 2007). Their effects on eccentric LVH caused by chronic VO have never been evaluated. This study was therefore designed to assess the

impact of a treatment with PPAR α agonist fenofibrate on the development of eccentric LVH and myocardial metabolism in rats with severe LV volume- overload caused by AR.

11.2. Methods

11.2.1. Animals

Adult male Wistar rats purchased from Charles River (Saint-Constant QC, Canada) were divided in 4 groups as follows: 1) Sham-operated control animals (SC; n=14); 2) AR controls (ARC; n=15), 3) Sham treated with fenofibrate (100 mg/kg/day PO in unsweetened fruit gelatin daily; SF; n=14) and AR treated with fenofibrate (ARF n=15). This dose of fenofibrate was similar to the one used by others in concentric LVH models in the rat (Chen et al., 2007; Diep et al., 2004; Ogata et al., 2002; Iglarz et al., 2003; Lebrasseur et al., 2007; Purushothaman et al., 2011).

The treatment was started one week before surgery in both SF and ARF groups and continued for 9 weeks until sacrifice. The protocol was approved by the Université Laval's Animal Protection Committee and followed the recommendations of the Canadian Council on Laboratory Animal Care.

11.2.2. Aortic regurgitation

Severe AR was induced by retrograde puncture of the aortic valve leaflets as previously described (Arsenault et al., 2002; Plante et al., 2003). A complete echocardiographic exam was performed two weeks after AR induction and the day before sacrifice 8 weeks later. At the end of the protocol, the animals were sacrificed, the hearts were quickly dissected and all cardiac chambers were weighed. LV was snap-frozen in liquid nitrogen and kept at – 80 °C for further analysis. All sacrifices were scheduled at similar times of the day in the fed state to avoid circadian or food-induced variations in myocardial metabolism. Lungs, liver and abdominal fat were rapidly collected and weighed.

11.2.3. Echocardiography

A complete M-mode, 2D, and Doppler echocardiogram was performed on the animals

under 1.5% inhaled isoflurane anesthesia using a 12 MHz probe with a Sonos 5500 echograph (Philips Medical Imaging, Andover, Mass). LV dimensions, wall thickness, ejection fraction, diastolic function, cardiac output (ejection volume in the LV outflow tract and heart rate) were evaluated as previously reported. Relative wall thickness was calculated as the ratio of the sum of septal and posterior wall thicknesses to LV internal cavity. Eccentric remodeling is defined as a decrease of RWT compared to normal vs. concentric remodeling is defined as an increase of RWT compared to normal (Lachance et al., 2009a; Plante et al., 2003, 2006, 2008).

11.2.4. Analysis of mRNA accumulation by quantitative RT-PCR

The analysis of LV mRNA levels by quantitative RT-PCR has been described in details elsewhere (Champetier et al., 2009).

11.2.5. Enzyme activity determinations

Left ventricle samples were kept at -80°C until assayed for maximal (V_{max}) enzyme activities. Small pieces of LV (20–30 mg) were homogenized in a glass-glass homogenizer with 9 or 39 volumes of ice-cold extracting medium pH 7.4 (250 mM sucrose, 10 mM Tris-HCl, 1 mM EGTA) depending on the enzyme activity assayed.

Enzymatic activities for hydroxyacyl-Coenzyme A dehydrogenase (HADH), phosphofructokinase (PFK) and citrate synthase (CS) were determined as previously described (Bouchard-Thomassin et al., 2011). Carnitine palmitoyl transferase (CPT) LV activity determination was based on a modification of a previously published method (Bieber and Markwell, 1981) and adapted for performing the assays in a 96-well ELISA plate. Briefly, small pieces of LV tissue were homogenized in 40 volumes of a phosphate 0.1 M, pH 7.2 buffer. The reaction buffer consisted of 0.5 M Tris-HCl pH 8, 50 mM EDTA 100 mM L-carnitine and 2.5 mM 5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid) (DTNB). The assay was started with the addition of 180 μl of the reaction buffer, 10 μl of the homogenate and 10 μl of 0.7 mM palmitoyl-CoA. The incubation was performed for 5 min at 25°C in an ELISA plate reader fixed at 412 nm length wave. A measure of the absorbance was made each 15 s during the incubation. The rate of CoA-SH produced by the reaction of the CPT activity

and reacting with DTNB and producing the yellow-colored TNB was then calculated.

Medium chain acyl-CoA dehydrogenase (MCAD) enzymatic activity determination was a modification of the previously described method (Djouadi et al., 1997) scaled down to allow the use of 96-well plates. Briefly, small LV tissue pieces were homogenized in 10 volumes of a 100 mM Hepes pH 7.6, 0.1 mM EDTA. The reaction buffer was as follows: 1 M Hepes, 0.5 mM EDTA, pH 7.5, 2 mM ferrocenium hexafluorophosphate and 10 mM Sodium tetrathionate. The reaction was performed at 37 °C in an ELISA microplate reader at 617 nM. In each well, 188 µl of the reaction buffer was pipetted, 12 µl of 1 mM octanoyl-CoA and then, the reaction was started with adding 20 µl of the homogenate. Readings were recorded each 15 s for 3 min.

Malonyl-CoA decarboxylase (MCD) enzymatic activity determination was a modification of the previously described method (Hamilton and Saggerson, 2000) scaled down to allow the use of 96-well plates. Briefly, small LV tissue pieces were homogenized in 10 volumes of 100 mM Tris-HCl, pH 8 + protease inhibitor buffer. The reaction buffer was as follows: 1 M Tris-HCl pH 8, 1 M sucrose, 10 mM NAD, 500 mM L- malate, 50 mM dithiothreitol, 170 U/ml malate dehydrogenase and 2.5 mM rotenone. The reaction was performed at 37 °C in an ELISA microplate reader at 340 nM. In each well, 170 µl of reaction buffer was pipetted, 10 µl of 86 U/ml citrate synthase, 10 µl of homogenate and then, the reaction was started with adding 10 µl of 6 mM malonyl-CoA. Readings were recorded each 15 s for 7 min.

11.2.6. Immunoblotting

Crude LV homogenates were separated by SDS-PAGE. Volumes of samples loaded on gel were corrected for the amount of protein. Immunoblotting was performed as described elsewhere (Plante et al., 2004a).

11.2.7. Statistical analysis

Results are presented as mean \pm SEM unless specified otherwise. Inter-group comparisons were done using two-way ANOVA and using Bonferroni post-test if necessary. Student t-

test was used when two groups were compared head to head. Statistical significance was set at $p < 0.05$. Data and statistical analysis were performed using Graph Pad Prism version 5.02 for Windows, Graph Pad Software (San Diego CA).

11.3. Results

11.3.1. Clinical data and measured heart weight (Table 1)

All animals were alive at the end of the protocol with the exception of one death in the ARC group. Fenofibrate was well tolerated in all animals. Total heart weight was greatly increased (severe eccentric LVH) in all rats with AR as expected. Fenofibrate treatment did not reduce total heart or LV weight in AR animals. Fenofibrate treatment did not affect LV weight in sham control animals.

Table 1

Sacrifice data.

Parameters	SC (14)	SF (14)	ARC (14)	ARF (15)
Body weight, g	562 ± 7.8	550 ± 8.1	548 ± 5.3	546 ± 7.1
Total heart weight, mg	1192 ± 41.5	1199 ± 27.5	1990 ± 58.0***	1958 ± 51.2***
LV weight, mg	867 ± 27.8	866 ± 14.8	1480 ± 51.7***	1478 ± 33.9***

LV: left ventricle. SC: sham controls; SF: sham treated with fenofibrate; ARC: AR controls; ARF: AR treated with fenofibrate. Values are expressed as mean ± SEM. Number of animals per group indicated in parenthesis. ***: $p < 0.001$ vs. sham animals.

11.3.2. Echocardiographic data

End-diastolic and end-systolic LV dimensions increased in AR animals as expected in this disease (Table 2). Fenofibrate treatment reduced LV dilatation (both diastolic and systolic diameters) and normalized relative wall thickness (less eccentric remodeling) in the ARF group (Fig. 1).

Table 2
Echocardiography data.

Parameters	SC (14)	SF (14)	ARC (14)	ARF (15)
EDD, mm	7.6 ± 0.09	7.3 ± 0.15	10.6 ± 0.17***	8.4 ± 0.19***, ^c
ESD, mm	3.5 ± 0.11	3.6 ± 0.12	6.6 ± 0.24***	4.4 ± 0.15***, ^c
SW, mm	1.2 ± 0.02	1.3 ± 0.03	1.2 ± 0.03	1.4 ± 0.04*
PW, mm	1.5 ± 0.04	1.6 ± 0.05*	1.4 ± 0.06	1.6 ± 0.04*
RWT	0.32 ± 0.008	0.35 ± 0.008 ^b	0.23 ± 0.006***	0.31 ± 0.008***, ^c
FS, %	54.0 ± 1.29	52.0 ± 0.99	38.5 ± 1.86***	47.2 ± 1.45***, ^c

EDD: end-diastolic diameter, ESD: end-systolic diameter, SW: septal wall thickness, PW: posterior wall thickness, RWT: relative wall thickness, FS: fractional shortening. Measurements obtained under 1.5% isoflurane anesthesia. Values are expressed as mean ± SEM. The number of animals per group is indicated in parenthesis. ***: $p < 0.001$ vs. sham animals. b: $p < 0.01$ and c: $p < 0.001$ vs. untreated corresponding group from Bonferroni post-test.

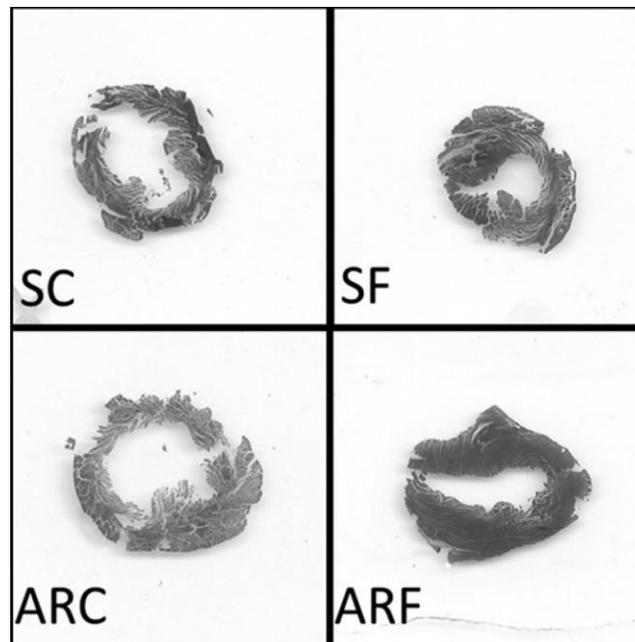


Fig. 1. Typical macroscopic examples of left ventricular hypertrophy and remodeling in specific groups. Representative midventricular sections of the left ventricle stained with trichrome-Masson are shown. SC: control sham group, SF: fenofibrate-treated sham group, ARC: untreated AR group and ARF: fenofibrate-treated AR group.



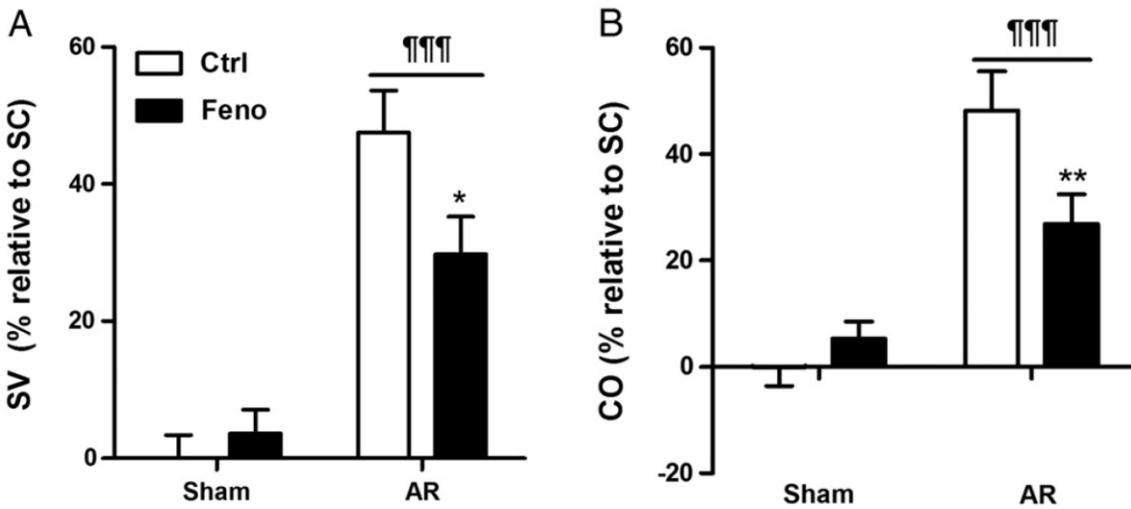


Fig. 2. Fenofibrate treatment effects on stroke volume (A) and cardiac output (B) as evaluated by echocardiography. Results are reported in % of change relative to the untreated control sham group (SC) as mean \pm SEM (n = 13–15/group). ****: p < 0.001 vs. sham animals. *: p < 0.05 and **: p < 0.01 vs. untreated corresponding group from Bonferroni post-test.

Relative wall thickness was also slightly increased in SF animals but measured LV weight remained normal as reported in the previous section. Systolic function evaluated in vivo by echocardiography (fractional shortening) was also clearly less affected in ARF compared to ARC. Stroke volume and cardiac output (calculated from the Doppler echocardiography data) were lower and closer to normal values in the ARF compared to ARC (Fig. 2).

Markers of elevated filling pressures as illustrated in Fig. 3, ANP and BNP gene expression was clearly increased in the LVs of AR animals. Fenofibrate treatment had no effect on ANP and BNP expression.

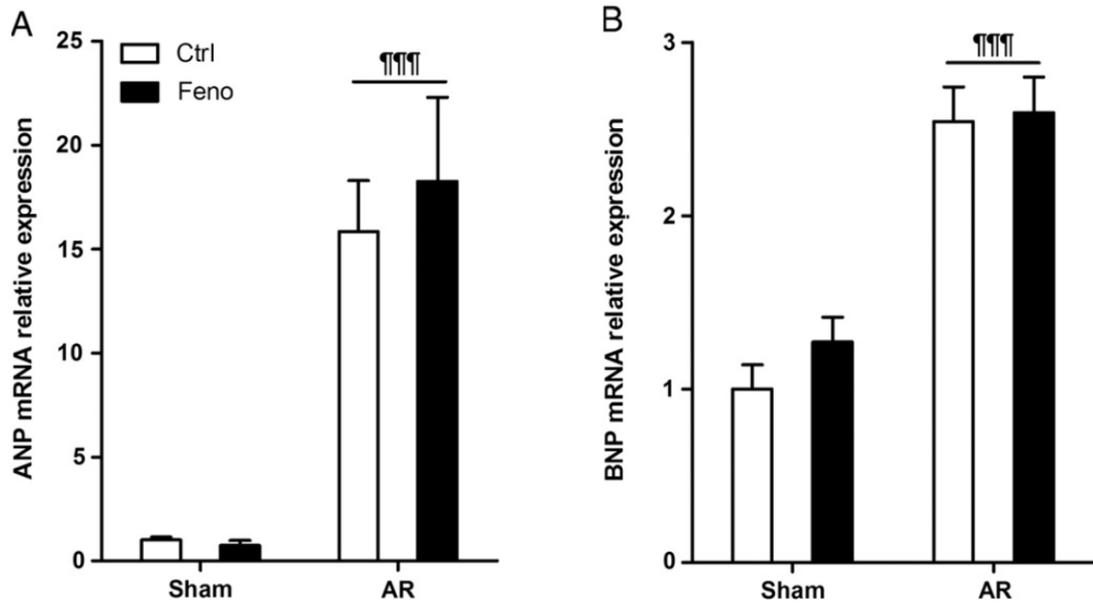


Fig. 3. Up-regulation of hypertrophy markers in AR animals. LV mRNA levels of (A) atrial natriuretic peptide (ANP), (B) brain natriuretic peptide (BNP) were evaluated as described in the Methods section. Results are reported in arbitrary units as mean \pm SEM (n=13–15/group). Untreated sham (sham operated animals) group mRNA levels were normalized to 1. ****: $p < 0.001$ vs. sham animals.

11.3.3. Level of activation of pro-hypertrophic myocardial kinases

The level of activation of classical pro-hypertrophic MAP kinases was evaluated. Results are shown in Fig. 4. A trend for ERK 1/2 activation was observed in AR animals which was not normalized by fenofibrate treatment. p38 activation was reduced by fenofibrate in AR animals as well as in controls. Jnk activation remained stable among the four groups (not shown). Akt phosphorylation was slightly reduced in AR animals and more markedly in those receiving fenofibrate. On the other hand, AR-induced LV hypertrophy was accompanied by a significant increase in the content of the phosphorylated form of AMPK α (Thr172) and this was completely normalized by fenofibrate treatment.

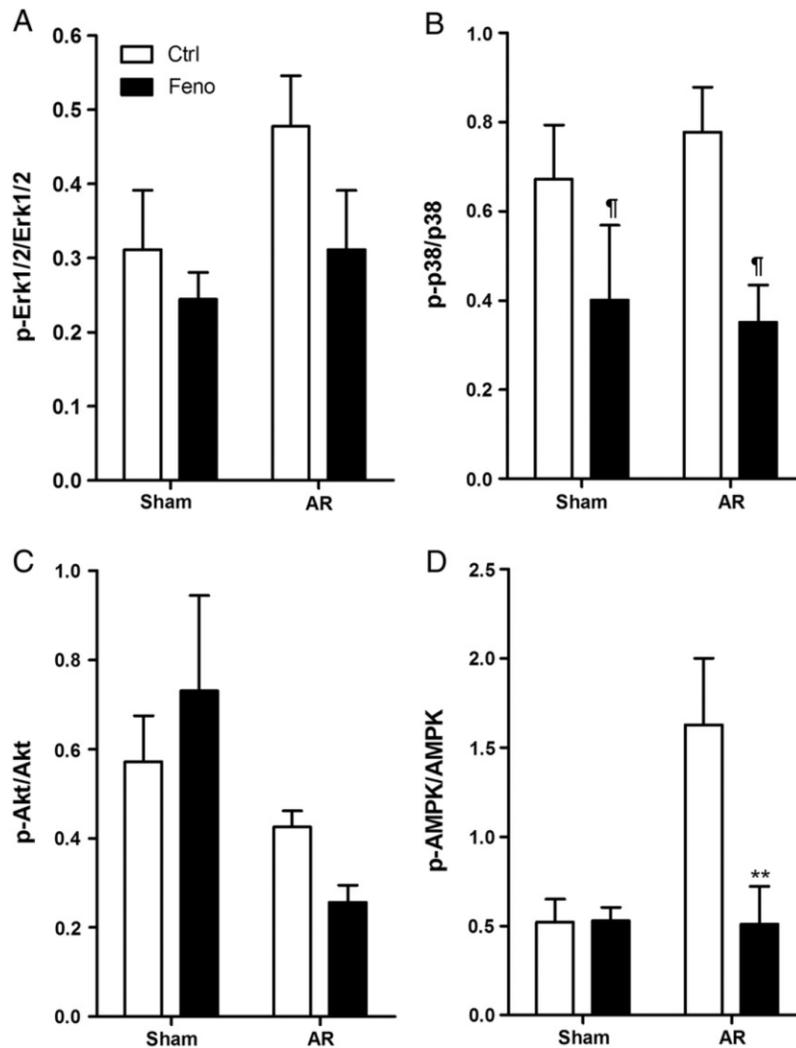


Fig. 4. MAP kinases and AMP kinase activation in AR rats treated or not with Fenofibrate. Evaluation of the phosphorylated and the total protein contents for each kinase were performed by immunoblotting as described in the Methods section. Results are reported in arbitrary units as mean \pm SEM (n=10–12/group) of the ratio of the phosphorylated content on the total protein content. Untreated sham (sham operated animals) group protein contents are expressed in arbitrary units (AU). Two-way ANOVA statistical analysis results are displayed below each graph. †: p < 0.05 vs. untreated animals. *: p < 0.05 and **: p < 0.01 vs. untreated corresponding group from Bonferroni post-test.

11.3.4. Myocardial energy metabolism

As expected, fenofibrate increased the LV content of PPAR α but most notably in AR animals (Fig. 5). The mRNA levels of PGC1 α were reduced in AR animals and fenofibrate did not restore to normal these levels.

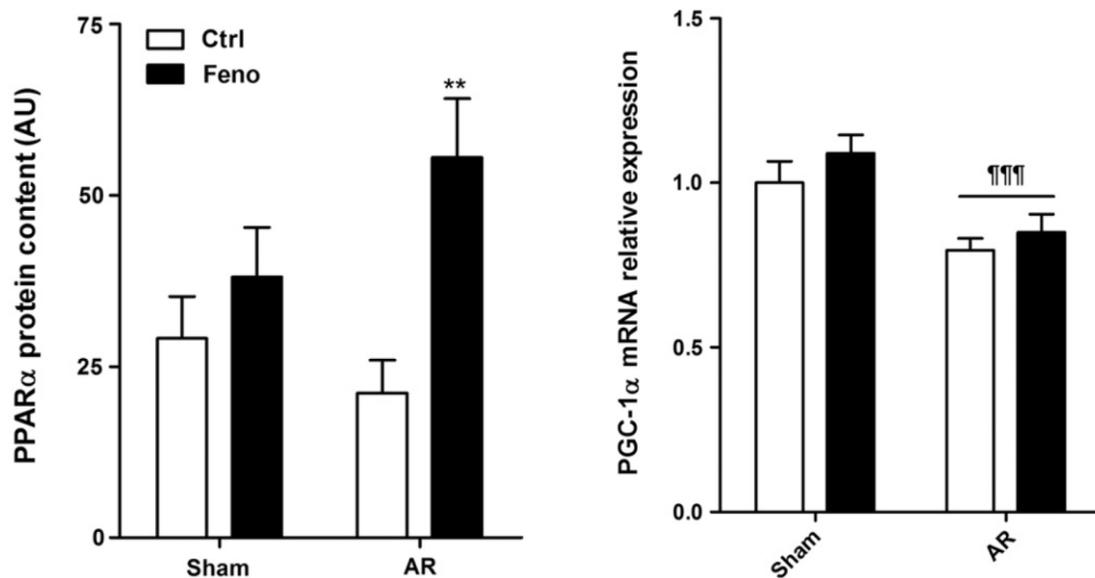


Fig. 5. Fenofibrate treatment effect on cardiac protein content of PPAR α and PGC1 α gene expression. Evaluation of PPAR α protein content was performed by immunoblotting as described in the Methods section while PGC1 α gene expression was evaluated by quantitative RT-PCR. Results are reported in arbitrary units as mean \pm SEM (n=10–12/group). Protein content and mRNA levels are expressed in arbitrary units (AU). Two-way ANOVA statistical analysis results are displayed below each graph. **: p < 0.01 vs. untreated corresponding group from Bonferroni post-test.

The activity levels of enzymes related to fatty acid metabolism in the LV were evaluated. HADH enzymatic activity was reduced in AR animals but partially restored in the fenofibrate group (Fig. 6). This was also observed for CPT and MCD enzymatic activities. MCAD activity remained relatively stable but tended to be increased in fenofibrate-treated animals. Gene expression of the FAT/ CD36 transporter was decreased in AR animals and fenofibrate treatment did not improve this parameter (Fig. 7).

Enzymes related to glucose metabolism were also evaluated (Fig. 6). Phosphofruktokinase (PFK) activity was reduced by fenofibrate treatment in both control and AR rats.

Glut4 and PDHa1 gene expressions remained stable while PDK4 expression was reduced in AR animals (Fig. 7). Fenofibrate had no effect on these parameters. At the mitochondrial level, CS, ANT1 and UCP3 were also evaluated. CS enzymatic activity was improved by fenofibrate in AR animals while ANT1 and UCP3 mRNA levels, although decreased in AR animals, were unaffected by the drug.

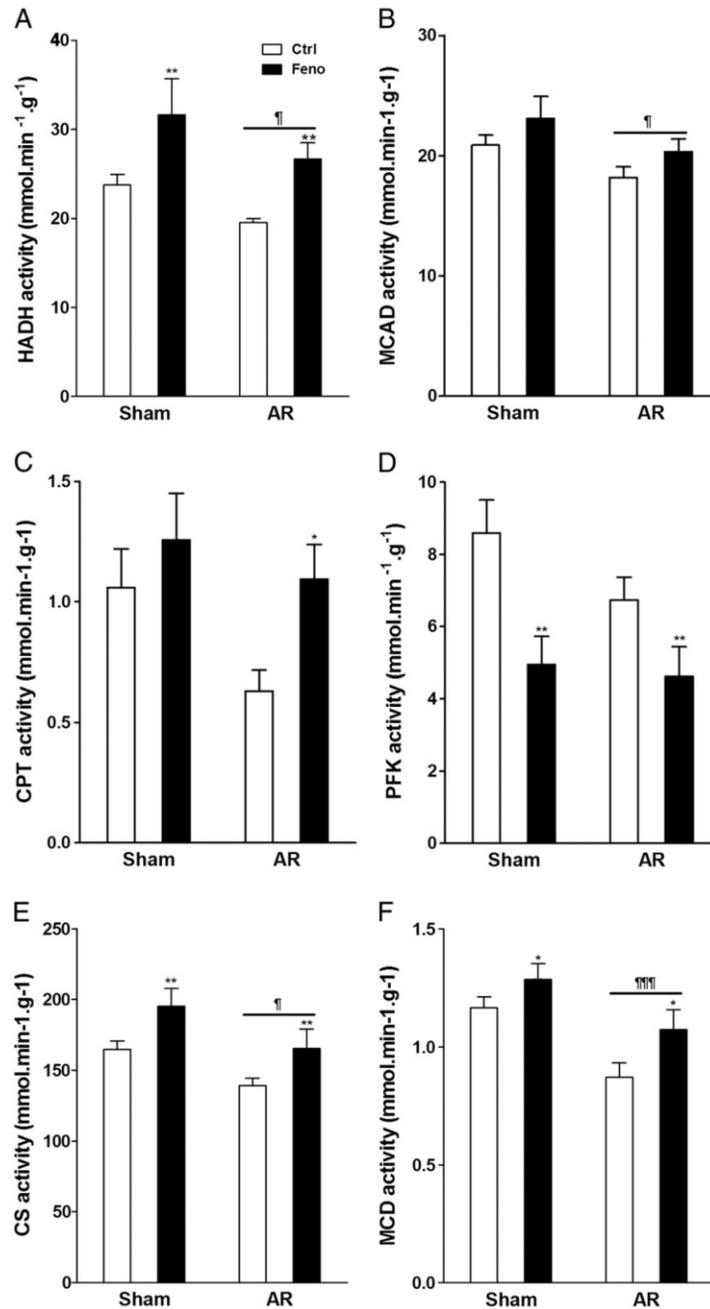


Fig. 6. Enzymatic activity of enzymes implicated in myocardial energy metabolism. (A) HADH (hydroxyacyl-Coenzyme A dehydrogenase), (B) medium chain acyl-CoA dehydrogenase (MCAD), (C) CPT (carnitine palmytoyltransferase), (D) PFK (phosphofruktokinase), (E) CS (citrate synthase), and (F) MCD (malonyl-CoA decarboxylase) enzymatic activities were measured in LV homogenates from at least 10 animals in each group as described in the Materials and Methods. Results are reported as mean \pm SEM (n=10-15/gr). Two-way ANOVA analyses are displayed below each panel. †: p < 0.05 and †††: p < 0.05 vs. sham animals. *: p < 0.05 and **: p < 0.01 vs. untreated corresponding group from Bonferroni post-test.

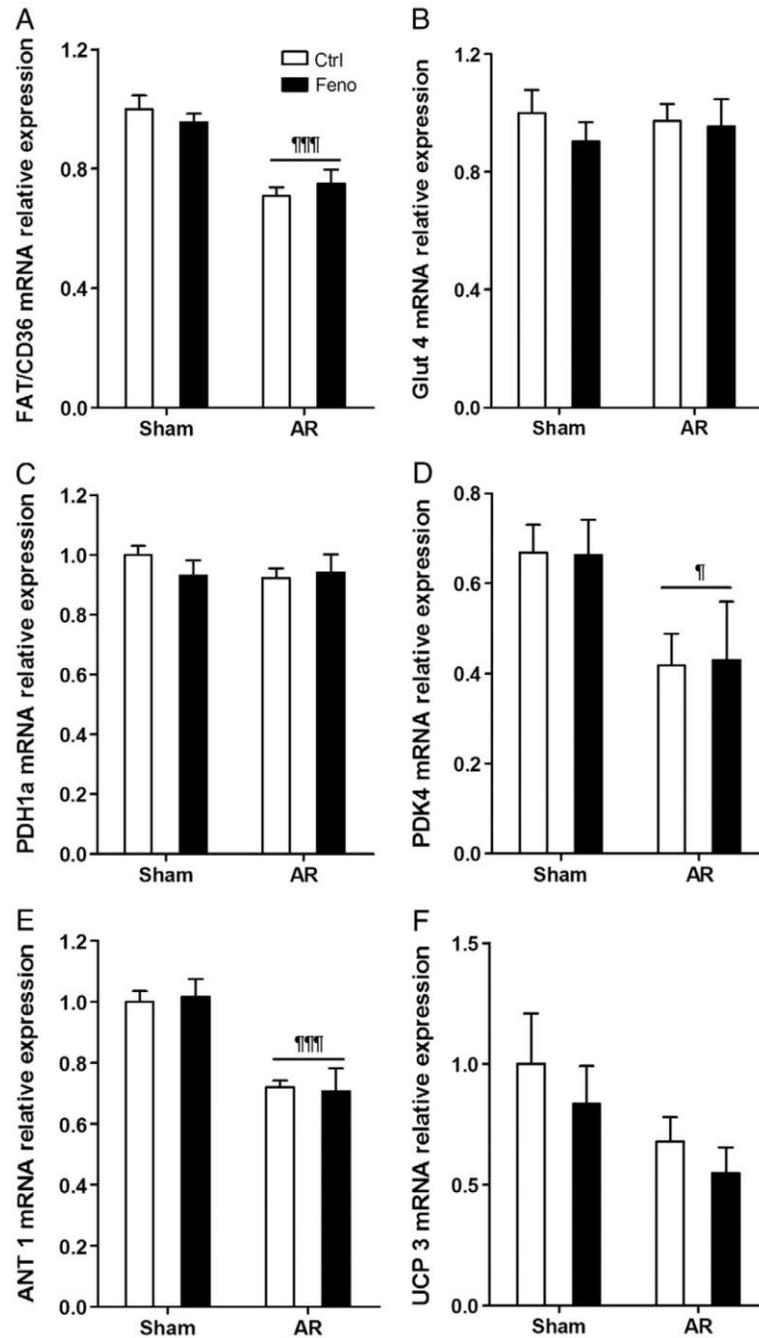


Fig. 7. Evaluation by real-time quantitative RT-PCR of the LV mRNA levels of genes related to cardiac metabolism. (A) Fatty acid transporter (FAT/CD36), (B) glucose transporter 4 (Glut4), (C) PDH1a (pyruvate dehydrogenase alpha1), (D) PDK4 (pyruvate dehydrogenase kinase 4), (E) Ant1 (adenine nucleotide transferase 1) and (F) UCP3 (uncoupling protein 3). Results are reported in arbitrary units as mean \pm SEM (n=10/group). Untreated sham (sham operated animals) group mRNA levels were normalized to 1. Two-way ANOVA statistical analysis results are displayed below each graph. * : p < 0.05 and **** : p < 0.0001 vs. sham animals.

11.4. Discussion

In this study we showed that fenofibrate had significant effects on LV eccentric remodeling and function as well as on myocardial energetic enzyme profile in rats with severe LV volume overload. Fenofibrate did not prevent left ventricular hypertrophy (no effect on measured LV weight) but it clearly decreased LV dilatation, eccentric remodeling and reduced the loss of systolic function caused by AR. To our knowledge it is the first report of a pharmacological treatment influencing LV remodeling in an animal model but with little influence on LV hypertrophy (Plante et al., 2004a,b, 2008, 2009; Zendaoui et al., 2011). However, considering the short duration of our study, it is not totally excluded that a preventive effect on LVH would appear after a longer follow-up. Our study showed that fenofibrate reduced the expected severe eccentric remodeling that is normally seen in severe VO-AR. LV sizes (diastolic and systolic diameters) as well as the ejection fraction are proven predictors of bad outcome in humans with aortic regurgitation and both were significantly improved by fenofibrate in our rats. Fenofibrate also affected LV morphology in normal rats (some concentric remodeling in the SF group) for a reason that remains unclear. It was however reassuring to find that LV weight was not increased in that group.

Whether the protective effect of fenofibrate against eccentric remodeling and LV dilatation will translate in clinical benefits in the long term remains unknown. In human clinical studies, subjects with AR with less LV dilatation fare better than those with severely enlarged ventricles (Bonow et al., 2006).

Our animals treated with fenofibrate also had a better fractional shortening than those who were untreated. Again in humans, a preserved systolic function usually translates with a better long-term prognosis (Bonow et al., 2006). Although we did not measure intra-cardiac pressures, the elevated ANP and BNP levels suggest that filling pressures were increased and remained so even in animals treated with fenofibrate. This is not surprising considering that the severe volume overload (regurgitant valve lesion) remains severe and unaffected by the drug. Fenofibrate obviously does not reduce the anatomic defect causing AR and is not known to have any significant hemodynamic effects. However, by preventing LV dilatation and eccentric remodeling and improving fractional shortening, fenofibrate probably indirectly helps the LV cope with the same volume overload.

We must keep in mind that this protocol was short-termed and was performed in the sub-acute phase of AR. It is possible that the left ventricle needs some capacity to dilate and adjust its compliance to acutely accommodate the sudden volume overload without increasing its filling pressures too much. It is reassuring to note that the ANP and BNP levels were not further increased in the fenofibrate group knowing that they are very sensitive markers of elevated filling pressures and impending heart failure (Plante et al., 2003; Lachance et al., 2009b).

Fenofibrate treatment was started 1 week before the surgical induction of AR in our protocol. This clearly does not reflect the clinical reality where the disease cannot be predicted and treated in advance. We intentionally chose to pre-treat the animals in our protocol to assess the role of fenofibrate in the early development of LVH with a mechanistic view in mind. Having obtained significant results with this approach, other more plausible clinical scenarios can now be studied with specific targets to evaluate.

Our results suggest that myocardial metabolism may have been modified by fenofibrate in AR animals. The effects of fenofibrate on HADH, CPT and MCD activities in AR rats suggest an adaptation in favor of fatty acid use by the myocardium while the decrease of PFK activity suggests an adaptation against glucose utilization. Cardiac hypertrophy is usually associated with a shift towards glucose use as a source of energy.

PPAR α has been shown to be down regulated in a number of cardiac hypertrophy models and thus the capacity to maintain normal fatty acid oxidation levels seems partly obliterated (Barger et al., 2000). It is still not clear whether blocking the shift towards glucose utilization in cardiac hypertrophy or heart failure is beneficial.

Our results suggest that fenofibrate restores PPAR α expression and an improvement in fatty acid preference as energetic fuel over glucose in rats with AR. This offers a hypothesis to explore to explain the improved systolic function. Although the metabolic evaluation in this study is far from comprehensive and complete, it did yield interesting results and those results warrant further investigation.

We observed in this study that fenofibrate was able to restore normal levels of a number of metabolic parameters and induced PPAR α . PPAR α agonist therapy has been evaluated in a number of experimental models of concentric hypertrophy and heart failure. However,

those studies have yielded conflicting results, some reporting beneficial effects while others have shown the opposite. For example, fenofibrate has been shown by others to help normalize cardiac metabolism but it was ineffective to slow the onset of decompensation in a heart failure model (Labinskyy et al., 2007). In an acute model of pressure overload, activation of PPAR α resulted in severe depression of cardiac power and efficiency in the hypertrophied heart (ex vivo) (Young et al., 2001). Adverse cardiac effects of fenofibrate have also been reported in PPAR α ^{-/-} mice. Exacerbated LV dilation and decreased cardiac function were observed after fenofibrate administration with pressure overload in these mice (Duhaney et al., 2007).

On the other hand, other studies have concluded that the effects of fibrate treatment on cardiac hypertrophy were mostly positive. Fenofibrate successfully prevent cardiac hypertrophy in a number of in vivo animal models including: high-fat/high-sucrose diet-induced (Fernandes-Santos et al., 2009), aldosterone-induced (Lebrasseur et al., 2007), partial abdominal aortic constriction induced (Rose et al., 2007) and pressure overload-induced cardiac hypertrophy (Duhaney et al., 2007). Our results suggest at least some beneficial effects by preventing LV dilatation, eccentric remodeling and preserving systolic function despite the absence of a clear anti-hypertrophic effect. Again, the absence of effect on LV mass may be due to the short duration of the study. This will need to be addressed in a longer protocol.

It is not clear how the known metabolic effects of fenofibrate could impact LV remodeling in our model. It is possible that reducing LV dilatation is a major contributing factor in maintaining a more normal myocardial metabolic profile. In addition to their metabolic role in the heart, fibrates such as fenofibrate are believed to exert a number of non-metabolic actions in myocardial tissue on inflammation, extracellular matrix remodeling, oxidative stress, and regulation of hypertrophy (Balakumar et al., 2011; Lockyer et al., 2010). Some of these actions were shown to be independent of PPAR α (Berger and Moller, 2002). We observed in our study that fenofibrate significantly reduced the activation of p38 and of AMPK in AR animals. It tended to the same for Erk 1/2, too Fenofibrate has been shown to inhibit stress-activated kinases such as p38 or Jnk in cardiac hypertrophy models in vitro (De Silva et al., 2009; Irukayama-Tomobe et al., 2004). Similar observations were also made for p38 in the kidneys of hypertensive rats treated with fenofibrate (Hou et al., 2010).

Nonetheless the role of stress-activated kinases in cardiac hypertrophy remains controversial. Although their activation seems to lead to a hypertrophic response in cultured isolated cardiac myocytes, some protective (anti-hypertrophic) role has also been suggested for these signaling pathways in the intact adult heart. They may also promote the transition from a compensated state to dilated cardiomyopathy (Liang and Molkenin, 2003; Nishida et al., 2004; Sadoshima et al., 2002).

AMPK is a sensor of cellular energy status. It is activated when the AMP/ATP ratio rises resulting in an activation of catabolic energy- generating pathways. An activation of AMPK in various models of cardiac hypertrophy has been reported and its role is still debated (Allard et al., 2007; Dyck and Lopaschuk, 2006). We observed that fenofibrate treatment strongly reduced the levels of AMPK phosphorylation in AR rats. This may reflect some normalization of the myocardial energy status in the hearts of our animals. But again it is difficult to pinpoint if this normalization is related more to the effects of fenofibrate on LV remodeling or to its effects on myocardial metabolism.

11.5. Study limitations

The results of this study have to be viewed in light of some limitations. This was a relatively short study in which fenofibrate was given as a pre-disease treatment. Eight weeks may be too short to assess the impact of fenofibrate treatment on systolic and diastolic functions and clinical evolution on the long term. Rodent heart metabolism may also differ in some aspects from humans. Detailed substrate utilization was not directly assessed in vivo.

11.6. Conclusions

In conclusion, an 8-week fenofibrate treatment was associated with less LV dilatation, less eccentric remodeling and improved systolic function in this experimental model of LV volume overload caused by severe AR. These beneficial effects may have been related to myocardial metabolic effects of the drug on the LV. The effects of fenofibrate on left ventricular hypertrophy, systolic function, myocardial metabolism and eventually occurrence of heart failure and overall survival should be evaluated in long-term protocols.

Considering the current lack of pharmacological treatment for AR, the results of this study opens a new therapeutic avenue to be explored in the treatment of this disease.

Conflict of interest statement; No conflict of interest to disclose for any of the authors.

Acknowledgements

This work was supported by operating grants to Dr Couet and Arsenault from the Canadian Institutes of Health Research (MOP-61818 and MOP-106479), the Quebec Heart and Stroke Foundation and the Quebec Heart Institute Corporation.

11.7. References

- Allard MF. Energy substrate metabolism in cardiac hypertrophy. *Curr Hypertens Rep* 2004;6:430–5.
- Allard MF, Parsons HL, Saeedi R, Wambolt RB, Brownsey R. AMPK and metabolic adaptation by the heart to pressure overload. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007;292:H140–8.
- Arsenault M, Plante E, Drolet MC, Couet J. Experimental aortic regurgitation in rats under echocardiographic guidance. *J Heart Valve Dis* 2002;11:128–34.
- Balakumar P, Rohilla A, Mahadevan N. Pleiotropic actions of fenofibrate on the heart. *Pharmacol Res* 2011;63:8-12.
- Barger PM, Kelly DP. PPAR signaling in the control of cardiac energy metabolism. *Trends Cardiovasc Med* 2000;10:238–45.
- Barger PM, Brandt JM, Leone TC, Weinheimer CJ, Kelly DP. Deactivation of peroxisome proliferator activated receptor-alpha during cardiac hypertrophic growth. *J Clin Invest* 2000;105:1723–30.
- Berger J, Moller DE. The mechanisms of action of PPARs. *Annu Rev Med* 2002;53: 409–35.
- Bieber LL, Markwell MA. Peroxisomal and microsomal carnitine acetyltransferases. *Methods Enzymol* 1981;71(Pt. C):351–8.
- Bonow RO. Aortic regurgitation. *Curr Treat Options Cardiovasc Med* 2000;2:125–32.
- Bonow RO, Lakatos E, Maron BJ, Epstein SE. Serial long-term assessment of the natural history of asymptomatic patients with chronic aortic regurgitation and normal left ventricular systolic function. *Circulation* 1991;84:1625–35.

- Bonow RO, Carabello BA, Kanu C, de Leon ACJ, Faxon DP, Freed MD, et al. ACC/AHA 2006 guidelines for the management of patients with valvular heart disease: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (writing committee to revise the 1998 Guidelines for the Management of Patients With Valvular Heart Disease): developed in collaboration with the Society of Cardiovascular Anesthesiologists: endorsed by the Society for Cardiovascular Angiography and Interventions and the Society of Thoracic Surgeons. *Circulation* 2006;114:e84-231.
- Bouchard-Thomassin AA, Lachance D, Drolet MC, Couet J, Arsenault M. A high fructose diet worsens eccentric left ventricular hypertrophy in experimental volume overload. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2011;300:H125–34.
- Champetier S, Bojmehrani A, Beaudoin J, Lachance D, Plante E, Roussel E, et al. Gene profiling of left ventricle eccentric hypertrophy in aortic regurgitation in rats: rationale for targeting the beta-adrenergic and renin-angiotensin systems. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2009;296:H669–77.
- Chen HJ, Chen JZ, Wang XX, Yu M. PPAR alpha activator fenofibrate regressed left ventricular hypertrophy and increased myocardium PPAR alpha expression in spontaneously hypertensive rats. *Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban* 2007;36:470–6.
- De Silva DS, Wilson RM, Hutchinson C, Ip PC, Garcia AG, Lancel S, et al. Fenofibrate inhibits aldosterone-induced apoptosis in adult rat ventricular myocytes via stress-activated kinase-dependent mechanisms. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2009;296: H1983–93.
- Diep QN, Benkirane K, Amiri F, Cohn JS, Endemann D, Schiffrin EL. PPAR alpha activator fenofibrate inhibits myocardial inflammation and fibrosis in angiotensin II-infused rats. *J Mol Cell Cardiol* 2004;36:295–304.
- Djouadi F, Riveau B, Merlet-Benichou C, Bastin J. Tissue-specific regulation of medium-chain acyl-CoA dehydrogenase gene by thyroid hormones in the developing rat. *Biochem J* 1997;324(Pt. 1):289–94.
- Duhaney TA, Cui L, Rude MK, Lebrasseur NK, Ngoy S, De Silva DS, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha-independent actions of fenofibrate exacerbates left ventricular dilation and fibrosis in chronic pressure overload. *Hypertension* 2007;49:1084–94.
- Dyck JR, Lopaschuk GD. AMPK alterations in cardiac physiology and pathology: enemy or ally? *J Physiol* 2006;574:95-112.
- Fernandes-Santos C, Carneiro RE, de Souza ML, Aguila MB, Mandarim-De-Lacerda CA. Pan-PPAR agonist beneficial effects in overweight mice fed a high-fat high-sucrose diet. *Nutrition* 2009;25:818–27.

- Hamilton C, Saggerson ED. Malonyl-CoA metabolism in cardiac myocytes. *Biochem J* 2000;350Pt 1:61–7.
- Hou X, Shen YH, Li C, Wang F, Zhang C, Bu P, et al. PPARalpha agonist fenofibrate protects the kidney from hypertensive injury in spontaneously hypertensive rats via inhibition of oxidative stress and MAPK activity. *Biochem Biophys Res Commun* 2010;394:653–9.
- Iglarz M, Touyz RM, Viel EC, Paradis P, Amiri F, Diep QN, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor-alpha and receptor-gamma activators prevent cardiac fibrosis in mineralocorticoid-dependent hypertension. *Hypertension* 2003;42:737–43.
- Irukayama-Tomobe Y, Miyauchi T, Kasuya Y, Sakai S, Goto K, Yamaguchi I. Activation of peroxisome proliferator-activated receptor-alpha decreases endothelin-1-induced p38 mitogen-activated protein kinase activation in cardiomyocytes. *J Cardiovasc Pharmacol* 2004;44(Suppl. 1):S358–61.
- Labinskyy V, Bellomo M, Chandler MP, Young ME, Lionetti V, Qanud K, et al. Chronic activation of peroxisome proliferator-activated receptor-alpha with fenofibrate prevents alterations in cardiac metabolic phenotype without changing the onset of decompensation in pacing-induced heart failure. *J Pharmacol Exp Ther* 2007;321:165–71.
- Lachance D, Champetier S, Plante E, Bouchard-Thomassin AA, Roussel E, Couet J, et al. Effects of exercise in volume overload: insights from a model of aortic regurgitation. *Med Sci Sports Exerc* 2009a;41:1230–8.
- Lachance D, Plante E, Bouchard-Thomassin AA, Champetier S, Roussel E, Drolet MC, et al. Moderate exercise training improves survival and ventricular remodeling in an animal model of left ventricular volume overload. *Circ Heart Fail* 2009b;2:437–45.
- Lebrasseur NK, Duhaney TA, De Silva DS, Cui L, Ip PC, Joseph L, Drolet MC, et al. Effects of fenofibrate on cardiac remodeling in aldosterone-induced hypertension. *Hypertension* 2007;50:489–96.
- Li CB, Li XX, Chen YG, Zhang C, Zhang MX, Zhao XQ, et al. Effects and mechanisms of PPARalpha activator fenofibrate on myocardial remodeling in hypertension. *J Cell Mol Med* 2009;13:4444–52.
- Liang Q, Molckentin JD. Redefining the roles of p38 and JNK signaling in cardiac hypertrophy: dichotomy between cultured myocytes and animal models. *J Mol Cell Cardiol* 2003;35: 1385–94.
- Lockyer P, Schisler JC, Patterson C, Willis MS. Minireview: Won't get fooled again: the nonmetabolic roles of peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) in the heart. *Mol Endocrinol* 2010;24:1111–9.

- Nishida K, Yamaguchi O, Hirotsu S, Hikoso S, Higuchi Y, Watanabe T, et al. p38alpha mitogen-activated protein kinase plays a critical role in cardiomyocyte survival but not in cardiac hypertrophic growth in response to pressure overload. *Mol Cell Biol* 2004;24:10611–20.
- Ogata T, Miyauchi T, Sakai S, Irukayama-Tomobe Y, Goto K, Yamaguchi I. Stimulation of peroxisome-proliferator-activated receptor alpha (PPAR alpha) attenuates cardiac fibrosis and endothelin-1 production in pressure-overloaded rat hearts. *Clin Sci (Lond)* 2002;103(Suppl. 48):284S–8S.
- Plante E, Couet J, Gaudreau M, Dumas MP, Drolet MC, Arsenault M. Left ventricular response to sustained volume overload from chronic aortic valve regurgitation in rats. *J Card Fail* 2003;9:128–40.
- Plante E, Gaudreau M, Lachance D, Drolet MC, Roussel E, Gauthier C, et al. Angiotensin-converting enzyme inhibitor captopril prevents volume overload cardiomyopathy in experimental chronic aortic valve regurgitation. *Can J Physiol Pharmacol* 2004a;82:191–9.
- Plante E, Lachance D, Gaudreau M, Drolet MC, Roussel E, Arsenault M, et al. Effectiveness of beta-blockade in experimental chronic aortic regurgitation. *Circulation* 2004b;110:1477–83.
- Plante E, Lachance D, Roussel E, Drolet MC, Arsenault M, Couet J. Impact of anesthesia on echocardiographic evaluation of systolic and diastolic function in rats. *J Am Soc Echocardiogr* 2006;19:1520–5.
- Plante E, Lachance D, Champetier S, Drolet MC, Roussel E, Arsenault M, et al. Benefits of long-term beta-blockade in experimental chronic aortic regurgitation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008;294:H1888–95.
- Plante E, Lachance D, Beaudoin J, Champetier S, Roussel E, Arsenault M, et al. Comparative study of vasodilators in an animal model of chronic volume overload caused by severe aortic regurgitation. *Circ Heart Fail* 2009;2:25–32.
- Purushothaman S, Sathik MM, Nair RR. Reactivation of peroxisome proliferator-activated receptor alpha in spontaneously hypertensive rat: age-associated paradoxical effect on the heart. *J Cardiovasc Pharmacol* 2011;58:254–62.
- Rose M, Balakumar P, Singh M. Ameliorative effect of combination of fenofibrate and rosiglitazone in pressure overload-induced cardiac hypertrophy in rats. *Pharmacology* 2007;80:177–84.
- Sadoshima J, Montagne O, Wang Q, Yang G, Warden J, Liu J, et al. The MEKK1-JNK pathway plays a protective role in pressure overload but does not mediate cardiac hypertrophy. *J Clin Invest* 2002;110:271–9.
- Sambandam N, Lopaschuk GD, Brownsey RW, Allard MF. Energy metabolism in the

hypertrophied heart. *Heart Fail Rev* 2002;7:161–73.

- Young ME, Laws FA, Goodwin GW, Taegtmeyer H. Reactivation of peroxisome proliferator-activated receptor alpha is associated with contractile dysfunction in hypertrophied rat heart. *J Biol Chem* 2001;276:44390–5.
- Zendaoui A, Lachance D, Roussel E, Couet J, Arsenault M. Usefulness of carvedilol in the treatment of chronic aortic valve regurgitation. *Circ Heart Fail* 2011;4: 207–13.

Chapitre 12 / Article 2: Metformin reduces left ventricular eccentric remodeling in experimental volume overload in the rat

Journal of Clinical and Experimental Cardiology, 03(11) (2012)

Wahiba Dhahri¹, Élise Roussel¹, Marie-Claude Drolet¹, Suzanne Gascon², Otman Sarrhini², Jacques A. Rousseau², Roger Lecomte², Jacques Couet^{2*} and Marie Arsenault^{1*}

¹Group valvulopathies Research, Research Center, Institute of Cardiology and Pneumology of Quebec, Laval University, Quebec, Canada, ²Centre Sherbrooke Molecular Imaging, Centre for Research Étienne-lebel, Centre Hospitalier Universitaire de Sherbrooke, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Canada.

Article history:

Received : July 16, 2012

Accepted : October 11, 2012

Published : October 13, 2012

Résumé

Cette étude a été conçue pour évaluer l'impact du traitement à la metformine dans un modèle de rat avec une SV causée par une régurgitation valvulaire aortique (AR). Des rats mâles Wistar ont été divisés en quatre groupes: Shams traités ou non (C) avec la metformine (M) et des rats ayant une AR sévère traités ou non avec la metformine. Le traitement avec la metformine n'a pas influencé le poids du cœur total. Cependant, le remodelage du VG était moins sévère chez les rats ARM que chez les rats ARC. La fraction de raccourcissement était significativement plus élevée dans le groupe ARM par rapport aux ARC. La metformine a également augmenté l'activité des enzymes associées à l'oxydation des AG, tout en inhibant la phosphofructokinase. À 2 mois de traitement, la metformine a réduit le remodelage excentrique du VG associé à une SV sévère et a permis de maintenir une meilleure fonction systolique.

Abstract

Left ventricular hypertrophy (LVH) is often associated with a change in myocardial energy substrate preference from fatty acids to glucose. A possible anti hypertrophic treatment strategy could aim at stimulating or restoring normal myocardial energy metabolism. Metformin, an adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK) activator used in the management of glucose metabolism in diabetes, is also a fatty acid oxidation stimulator. The effect of metformin on the development of eccentric LVH and ventricular function in chronic left ventricular (LV) volume overload (VO) is unknown.

This study was designed to study this question in a VO rat model caused by severe aortic valve regurgitation (AR). Male Wistar rats were divided in four groups (13-15 animals / group): Shams (S) treated or not (C) with metformin (M; 150 mg/kg/d PO) and severe AR receiving or not metformin. Treatment was started one week before surgery and the animals were sacrificed 9 weeks later.

As expected AR rats developed severe eccentric LVH during the course of the protocol. Metformin treatment did not influence the total heart weight. However, LV remodeling associated with the severe VO was severe in ARM than in ARC. Fractional shortening, a marker of systolic function, was significantly higher in ARM compared to ARC group. Metformin also increased the activity of enzymes associated with fatty acid oxidation while inhibiting phosphofructokinase, a glycolytic enzyme.

A 2 month treatment with metformin reduced LV eccentric remodeling associated with severe VO and helped maintain a better systolic function.

Keywords: Cardiomyopathy; Volume overload; Metformin; Hypertrophy

12.1. Introduction

Chronic left ventricular volume overload (VO) causes severe left ventricular dilatation and eccentric hypertrophy (LVH). LVH causes alterations in myocardial energy metabolism. The normal myocardium has a preference for fatty acids as the main substrate for ATP formation. In the hypertrophied heart, an increased reliance on glucose with an overall reduced oxidative metabolism is often observed [1-3]. Impaired myocardial energetics also activate AMP-activated protein kinase (AMPK), leading to increased glucose uptake and glycolysis [4]. AMPK activation can also stimulate fatty acid oxidation and block the mammalian target of rapamycin (mTOR) pro-hypertrophic pathway [5]. Metformin is an AMPK activator widely used for the management of type 2 diabetes but its potential to help maintain normal myocardial metabolism and/or prevent LVH is not well understood [6]. We have previously demonstrated that LV volume overload caused by aortic valve regurgitation causes severe eccentric LVH and also significantly impairs myocardial metabolism [7]. This study was therefore designed to assess the impact of a treatment with an AMPK activator, metformin, on the development of eccentric LVH from volume overload from severe AR in Wistar rats.

12.2. Methods

12.2.1. Animals

The animal protocol design was a 2×2 type study where animals were surgically induced with the aortic valve lesion of only sham operated and then received or not the metformin treatment. Adult male Wistar rats were purchased from Charles River (Saint-Constant QC, Canada) and divided in 4 groups as follows: 1) Sham-operated animals (SC; n=14); 2) AR (ARC; n=15), 3) Sham treated with metformin (M) (150 mg/kg/d PO in unsweetened fruit gelatin; SF; n=14) and AR on metformin (ARM n=15). The treatment was started one week before surgery in both S and AR groups and continued for 9 weeks until sacrifice. The animals were housed in a 12 hr light/dark cycle. Access to food and water was free. The protocol was approved by the Université Laval's Animal Protection Committee and followed the recommendations of the Canadian Council on Laboratory Animal Care.

12.2.2. Aortic regurgitation

Severe AR was induced by retrograde puncture of the aortic valve leaflets as previously described [8, 9]. A complete echo cardiographic exam was performed two weeks after AR induction and the day before sacrifice 8 weeks later. At the end of the protocol, animals were sacrificed, hearts were quickly dissected and all cardiac chambers were weighed. LV was snap-frozen in liquid nitrogen and kept at -80°C for further analysis. All sacrifices were scheduled at similar times of the day in the fed state to avoid circadian variations in metabolism. Lungs, liver and abdominal fat were rapidly collected and weighed.

12.2.3. Echocardiography

A complete M-mode, 2D, and Doppler echocardiogram was performed on the animals under 1.5% inhaled isoflurane anesthesia using a 12 MHz probe with a Sonos 5500 echograph (Philips Medical Imaging, Andover, Mass). LV dimensions, wall thickness, ejection fraction, cardiac output (ejection volume in the LV outflow tract and heart rate) were evaluated as previously reported [10-12].

12.2.4. Small animal PET protocol

Imaging experiments and data analysis were performed essentially as described before [13-16] on a LabPET™ avalanche photodiode-based small animal PET scanner (Gamma Medica, Northridge, CA) at the Sherbrooke Molecular Imaging Centre. [^{18}F]-fluorodeoxyglucose ([^{18}F]-FDG), [^{18}F]-fluorothioheptadecanoic acid ([^{18}F]-FTHA) or [^{11}C]-acetate (30–40 MBq, in 0.3 ml plus 0.1 ml flush of 0.9% NaCl, respectively) was injected via the caudal vein over 30 s. In one set of experiments, a 10-min dynamic acquisition with [^{11}C]-acetate and a 45-min dynamic acquisition with [^{18}F] FDG were done to determine myocardial oxidative metabolism [O₂ uptake (Vo₂)] and glucose utilization [myocardial metabolic rate of glucose (MMRG)]. In another experiment, a 45-min dynamic acquisition with [^{18}F] FTHA was used to determine myocardial non-esterified fatty acid (NEFA) uptake (Km) [14]. Blood samples were taken before and after the scans to determine an average blood glucose level. Image data analysis was performed as described previously [15]. Myocardial NEFA fractional uptake (Ki) was determined by a Patlak

graphical analysis of the [¹⁸F] FTHA data [14]. For [¹¹C] acetate, we used a three-compartment kinetic model that estimates the generation of CO₂ from the citric acid cycle in the myocardium using the K₂ value [16]. The myocardial metabolic rate of glucose (MMRG) was determined by multicompartmental analysis of the [¹⁸F] FDG data [13,14].

12.2.5. Analysis of mRNA accumulation by quantitative RT-PCR

The analysis of LV mRNA levels by quantitative RT-PCR has been described in details elsewhere [17]. Briefly, one µl RNA (500 ng) was converted to cDNA using the QuantiTect Reverse Transcription kit (Qiagen, Valencia, CA). The cDNA obtained was further diluted 11-fold with water prior to amplification. Five µl of diluted cDNA were amplified in duplicate by Q-PCR in a Rotor-Gene thermal cycler (Corbett Life Science, Sydney, Australia), using QuantiTect Primer Assays (pre-optimized specific primer pairs from Qiagen) and QuantiFast[®] SYBR Green PCR kits (Qiagen). Cyclophilin A as a housekeeping gene was used as a control. In (Table 1), the list of primers used in this study is illustrated.

Table 1: QuantiTect[®] Primer Assays used in Q-PCR analysis of gene expression.

mRNA	Symbol	Accession No.	Catalog No.	Amplicon (bp)
acyl-Coenzyme A dehydrogenase, C-4 to C-12 straight chain	MCAD	NM_016986	QT01081871	124
carnitine palmitoyltransferase 1b, muscle	Cpt1b	NM_013200	QT01084069	98
carnitine palmitoyltransferase 2	CPT2	NM_012930	QT00186473	150
Endothelin-1	Edn1	NM_012548	QT00371308	60
Fatty acid translocase/CD36	FAT/CD36	XM_575338	QT01702680	81
Fibronectin 1	Fn1	NM_019143	QT00179333	92
Lysyl oxidase	Lox	NM_017061	QT00185591	148
matrix metalloproteinase 2	Mmp2	NM_031054	QT00996254	103
Natriuretic peptide precursor A	ANP	NM_012612	QT00366170	107
Natriuretic peptide precursor B	BNP	NM_031545	QT00183225	94
osteosarcoma viral oncogene homolog	Fos	NM_022197	QT01576330	73
peroxisome proliferator activated receptor alpha	PPARalpha	NM_013196	QT00176575	66
PPAR gamma, coactivator 1 alpha	PGC1alpha	NM_031347	QT00189196	108
Procollagen-1 alpha-1	Coll	NM_053304	QT00370622	92
Procollagen-3 alpha-1	CollIII	NM_032085	QT01083537	111
Procollagen-4 alpha-1	CollIV	NM_001135009	QT00005250	119
Pyruvate dehydrogenase alpha 1	PDHa1	NM_001004072	QT01830220	93
Pyruvate dehydrogenase kinase, isozyme 4	Pdk4	NM_053551	QT00189287	145
solute carrier family 2 member 1	GLUT1	NM_138827	QT00178024	85
solute carrier family 2 member 4	GLUT4	NM_012751	QT00175931	146
solute carrier family 25, member 4	ANT1	NM_053515	QT01081633	143
Tissue inhibitor of metalloproteinase 1	Timp1	NM_053819	QT00185304	113
Transforming growth factor beta 1	Tgfbeta1	NM_021578	QT00187796	145
Uncoupling protein 3	UCP3	NM_013167	QT00176589	103

12.2.6. Enzyme activity determinations

Left ventricle samples were kept at -80°C until assayed for maximal (V_{max}) enzyme activities. Small pieces of LV (20-30mg) were homogenized in a glass-glass homogenizer with 9 or 39 volumes of ice-cold extracting medium pH 7.4 (250mM sucrose, 10mM Tris-HCl, 1mM EGTA) depending on the enzyme activity assayed. Enzymatic activities for hydroxyacyl-Coenzyme A dehydrogenase (HADH), phosphofructokinase (PFK) and citrate synthase (CS) were determined as previously described [7].

12.2.7. Immunoblotting

Crude LV homogenates were separated by SDS-PAGE. Volumes of samples loaded on gel were corrected for the amount of protein. Immunoblotting was performed as described elsewhere [18]. Membranes were hybridized with the indicated primary antibodies. All primary antibodies against the phosphorylated or the total form of the different signaling proteins (Erk 1/2, p38, Jnk, AMP kinase, LKB1 and Akt) were used at a 1:1000 dilution and were purchased from Cell Signaling Technology (Beverly, MA). Bands were visualized and quantified with a ChemiImager system (Alpha Innotech Corporation).

12.2.8. Statistical analysis

Results are presented as mean \pm SEM unless specified otherwise. Inter-group comparisons were done using two-way ANOVA and using Bonferroni post-test if necessary. Student t-test was used when two groups were compared head to head. Statistical significance was set at a $p < 0.05$. Data and statistical analysis were performed using Graph Pad Prism version 5.02 for Windows, Graph Pad Software (San Diego CA).

12.3. Results

12.3.1. Increased myocardial glucose and decreased fatty acid uptake in AR rat myocardium

We compared using μPET imaging the glucose and fatty acid uptake of left ventricles of AR animals 8 weeks post-induction to sham-operated animals. As illustrate in (Figure 1),

glucose uptake was increased in AR rats while fatty acid uptake was decreased. Interestingly, despite these changes, myocardial oxygen consumption remained normal between groups.

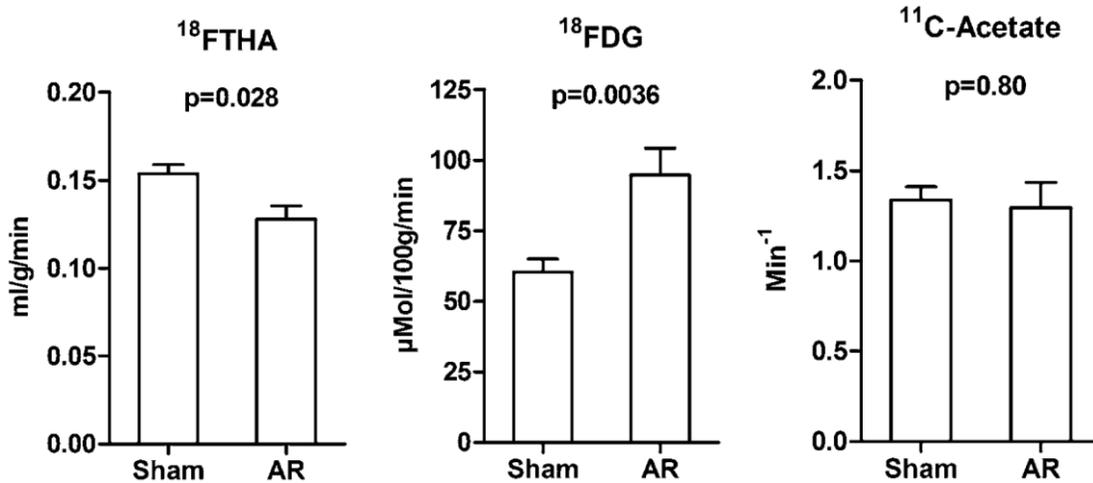


Figure 1: Myocardial glucose (top) and fatty acid (middle) uptakes as well as oxidative metabolism (bottom) modulation in the LV myocardium of AR rats as evaluated by μPET . Myocardial rate of glucose (MMRG) and FTHA uptake and myocardial oxidative metabolism using acetate were evaluated as described in the Materials and Methods section in both sham-operated and AR rats 8 weeks post-surgery ($n=4/\text{gr.}$) and are expressed as the mean \pm SEM. P values were calculated using the student t-test.

12.3.2. Clinical data and animal characteristics

At the end of the protocol, all animals were alive with the exception of one in the ARC group. Body weight and tibial length was equivalent in all experimental groups (Table 2). Total heart weight was greatly increased in rats with AR. Metformin had no effect on this parameter. The weight of both left and right ventricles were markedly increased in AR animals but again metformin had no effect on the weight of both ventricles respectively.

Table 2: Animals characteristics

Parameters	SC (14)	SM (13)	ARC (11)	ARM (16)	Disease	Treatment	D x T
Body weights, g	568 ± 9.9	580 ± 9.4	548 ± 5.4	552 ± 6.4	0.0047	0.34	0.69
Tibial length, mm	58 ± 0.5	58 ± 0.4	58 ± 0.4	58 ± 0.4	0.31	0.32	0.72
Heart, mg	1206 ± 42.0	1180 ± 30.7	1988 ± 58.2	1911 ± 31.4	<0.0001	0.22	0.54
LV, mg	875 ± 28.5	843 ± 19.4	1487 ± 55.4	1432 ± 26.9	<0.0001	0.22	0.75
RV, mg	231 ± 8.7	229 ± 7.0	340 ± 16.6	319 ± 7.9	<0.0001	0.28	0.36

SC: sham control (untreated), SM: sham metformin-treated animals, ARC, aortic regurgitation control group and ARM: aortic regurgitation metformin-treated animals. LV: left ventricle and RV: right ventricle. Values are expressed as mean ± SEM. The number of animals per group is indicated in parenthesis. P values from 2-way ANOVA analysis are shown on the right to evaluate separately the general impact of the disease or the metformin treatment and the interaction between disease and treatment (D x T).

12.3.3. Echocardiographic LV remodeling and hemodynamic data

End-diastolic and end-systolic LV dimensions were increased in AR animals as expected (Table 3). Metformin treatment reduced both systolic and diastolic LV dilatation in AR as shown by the reduced diastolic and systolic diameter in ARM vs. ARC group. Wall thicknesses were increased in the ARM group vs. ARC but similar to the shams treated with metformin. Relative wall thickness (RWT) was therefore normalized in ARM thereby confirming less eccentric remodeling in animals treated with metformin. Interestingly, RWT also increased in sham-operated animals on metformin suggesting that the drug has an impact on LV remodeling even in normal animals.

Table 3: Echocardiography data

Parameters	SC	SM	ARC	ARM	Disease P value	Treatment P value	D x T P value
EDD, mm	7.6 ± 0.09	6.9 ± 0.14	10.5 ± 0.19	9.1 ± 0.18	<0.0001	<0.0001	0.042
ESD, mm	3.5 ± 0.11	3.1 ± 0.08	6.4 ± 0.27	4.9 ± 0.29	<0.0001	<0.0001	0.0046
SW, mm	1.2 ± 0.02	1.4 ± 0.03	1.2 ± 0.04	1.4 ± 0.03	0.92	<0.0001	0.074
PW, mm	1.2 ± 0.04	1.3 ± 0.02	1.2 ± 0.05	1.3 ± 0.02	0.81	0.002	0.61
RWT	0.32 ± 0.008	0.39 ± 0.006	0.23 ± 0.006	0.30 ± 0.008	<0.0001	<0.0001	0.84
EF, %	78 ± 1.2	62 ± 2.2	62 ± 2.2	72 ± 2.4	<0.0001	0.017	0.017

SC: sham control (untreated), SM: sham metformin-treated animals, ARC, aortic regurgitation control group and ARM: aortic regurgitation metformin-treated animals. EDD: end-diastolic diameter, ESD: end-systolic diameter, SW: septal wall thickness, PW: posterior wall thickness, RWT: relative wall thickness, EF: ejection fraction. Measurements obtained under 1.5% isoflurane anesthesia. Values are expressed as mean ± SEM. The number of animals per group is indicated in parenthesis. P values from 2-way ANOVA analysis are shown on the right to evaluate separately the general impact of the disease or the metformin treatment and the interaction between disease and treatment (D x T). b: p<0.01 and c: p<0.001 vs. untreated corresponding group from Bonferroni post-test if P<0.05 for D x T.

As illustrated in (Figure 2) in Trans axial LV sections, AR was associated with larger LVs and metformin seemed to increase wall thickness. Systolic function evaluated by fractional shortening was clearly improved in ARM animals compared to the ARC.

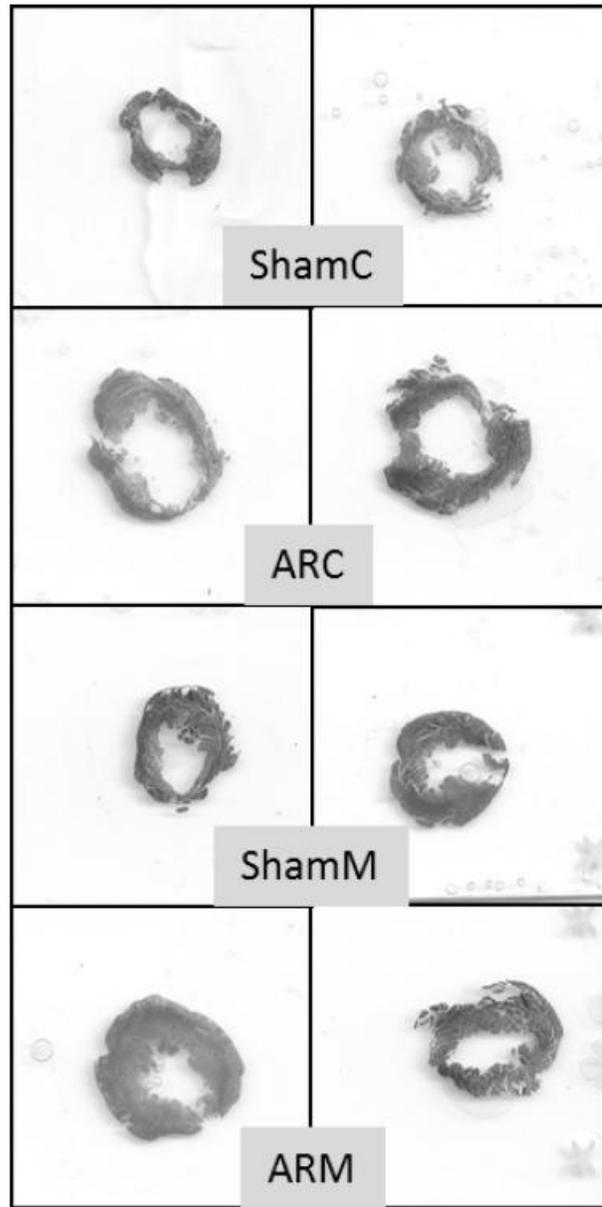


Figure 2: Typical macroscopic examples of left ventricular hypertrophy and remodeling in specific groups. Representative midventricular sections of the left ventricle stained with trichrome-Masson are shown. ShamC: control sham group, ShamM: metformin-treated sham group, ARC: untreated AR group and ARM: metformin-treated AR group. Scale bar at the bottom right of the figure: 1cm.

ARM rats had a lower (closer to normal) stroke volume in this group and a closer to normal calculated cardiac output (Figure 3). Pulse pressure increased in both ARM and ARC groups as expected and metformin did not have any effect on this parameter (results not shown).

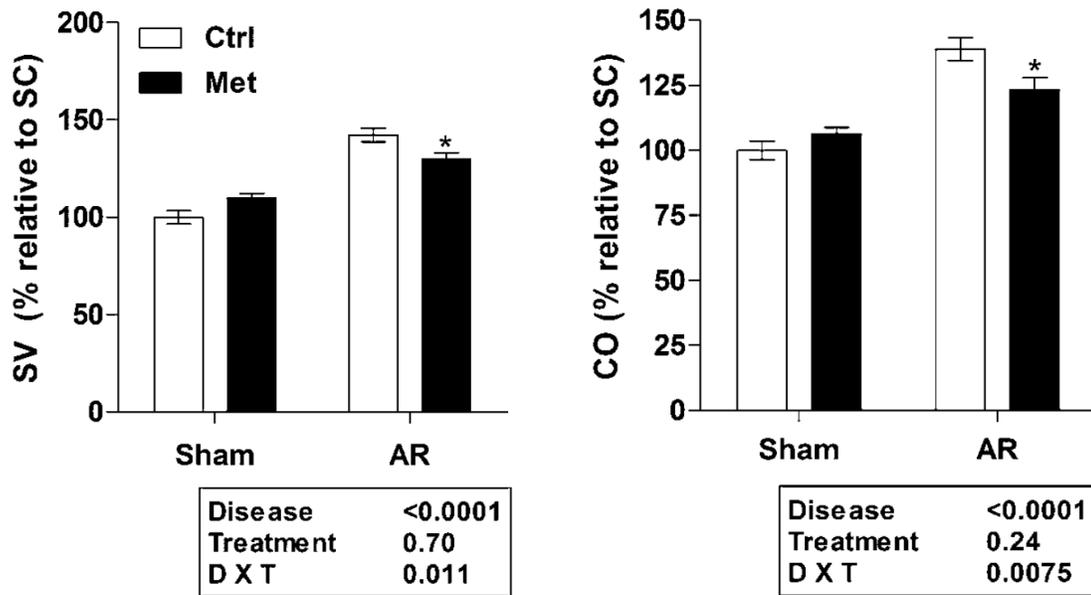


Figure 3: Metformin treatment effects on stroke volume and cardiac output as evaluated by echocardiography. Results are reported in % of change relative to the untreated control sham group (SC) as mean \pm SEM (n = 13–15/group). Two-way ANOVA statistical analysis results are displayed below each graph. D X T: disease and metformin treatment interaction *: p<0.05 vs. untreated corresponding group from Bonferroni post-test if P<0.05 for D x T.

12.3.4. Markers of LV stress and hypertrophy

As expected, ANP and BNP expressions in LV myocardium were increased in AR animals as a result of the important pro-hypertrophic hemodynamic stress caused by AR. Metformin did not decrease the level of expression of ANP or BNP. A similar pattern of expression was also observed for the endothelin-1 mRNA. Fos expression is also usually associated with hypertrophy in the myocardium. As expected, the level of Fos expression was increased in AR groups. Metformin treatment was associated with a strong trend to decrease Fos expression in ARM animals. This decrease in Fos expression by metformin was also present in the sham animals (Figure 4).

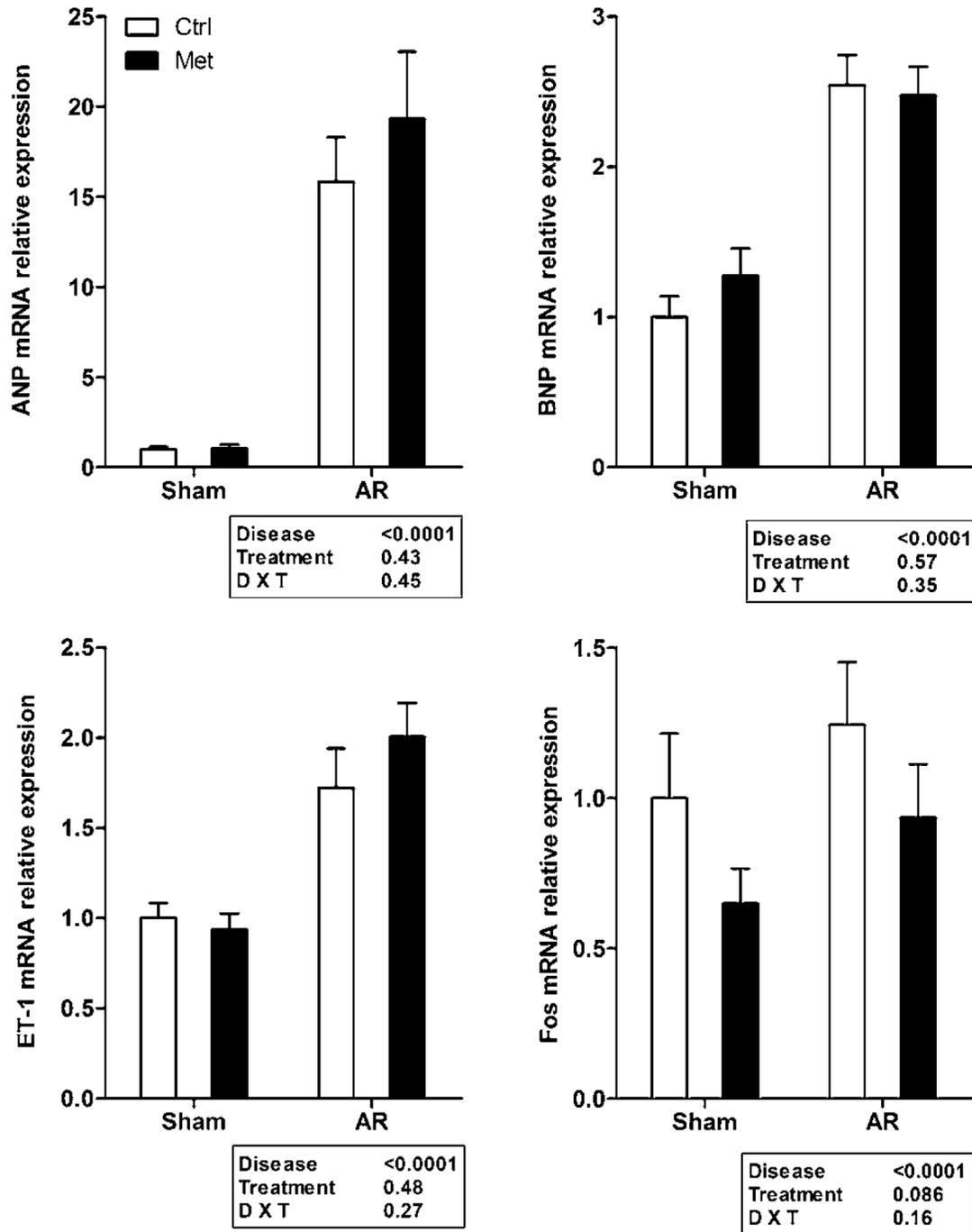
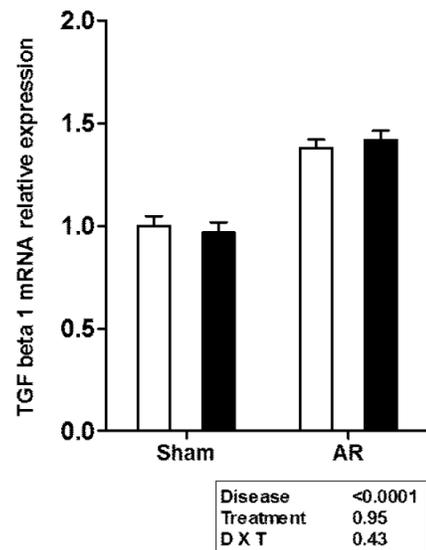
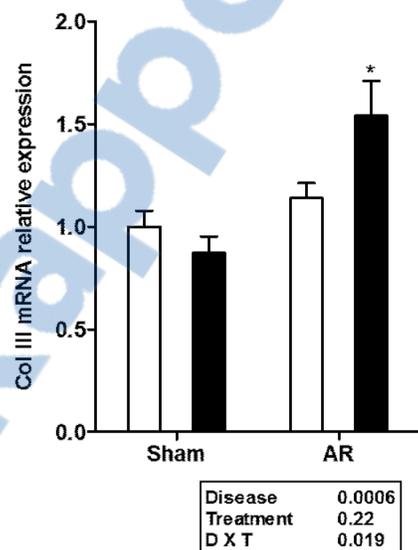
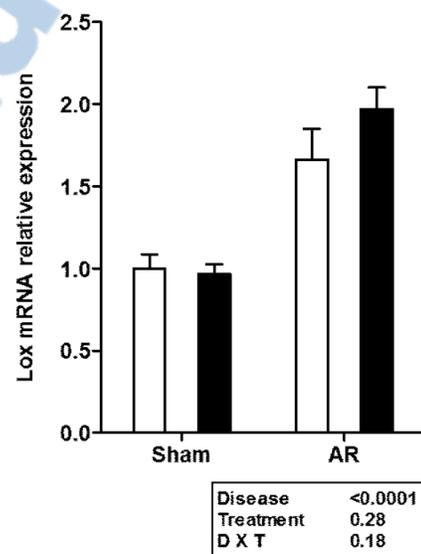
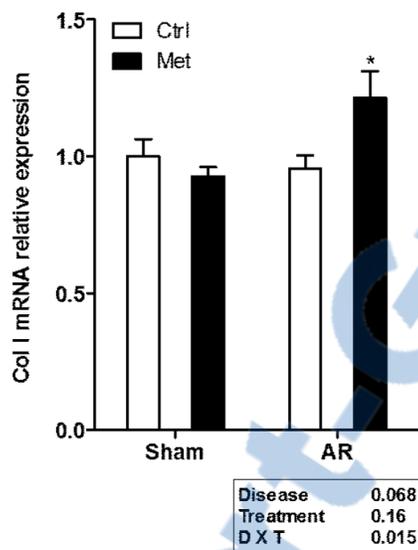


Figure 4: Up-regulation of hypertrophy markers in AR animals. LV mRNA levels of atrial natriuretic peptide (ANP), brain natriuretic peptide (BNP), endothelin-1 (ET-1) and c-Fos were evaluated as described in the Material and methods section. Results are reported in arbitrary units as mean \pm SEM (n = 13–15/group). Untreated sham (sham operated animals) group mRNA levels were normalized to 1. Two-way ANOVA statistical analysis results are displayed below each graph. D X T: disease and metformin treatment interaction.

12.3.5. Myocardial extracellular matrix remodeling

The expression of various markers involved in myocardial fibrosis was evaluated in LV myocardium. AR increased the expression of collagen III and IV as well as Lox and TGF β and fibronectin. The expression of collagen I remained normal in ARC. The expression of MMP2 and TIMP1 were also increased by AR. Metformin treatment in AR increased the expression of collagen I and III as well as fibronectin. It also tended to increase TIMP1 expression. However, we found no increase in fibrosis on direct LV tissue Trichrome-Masson staining (results not shown) (Figure 5).



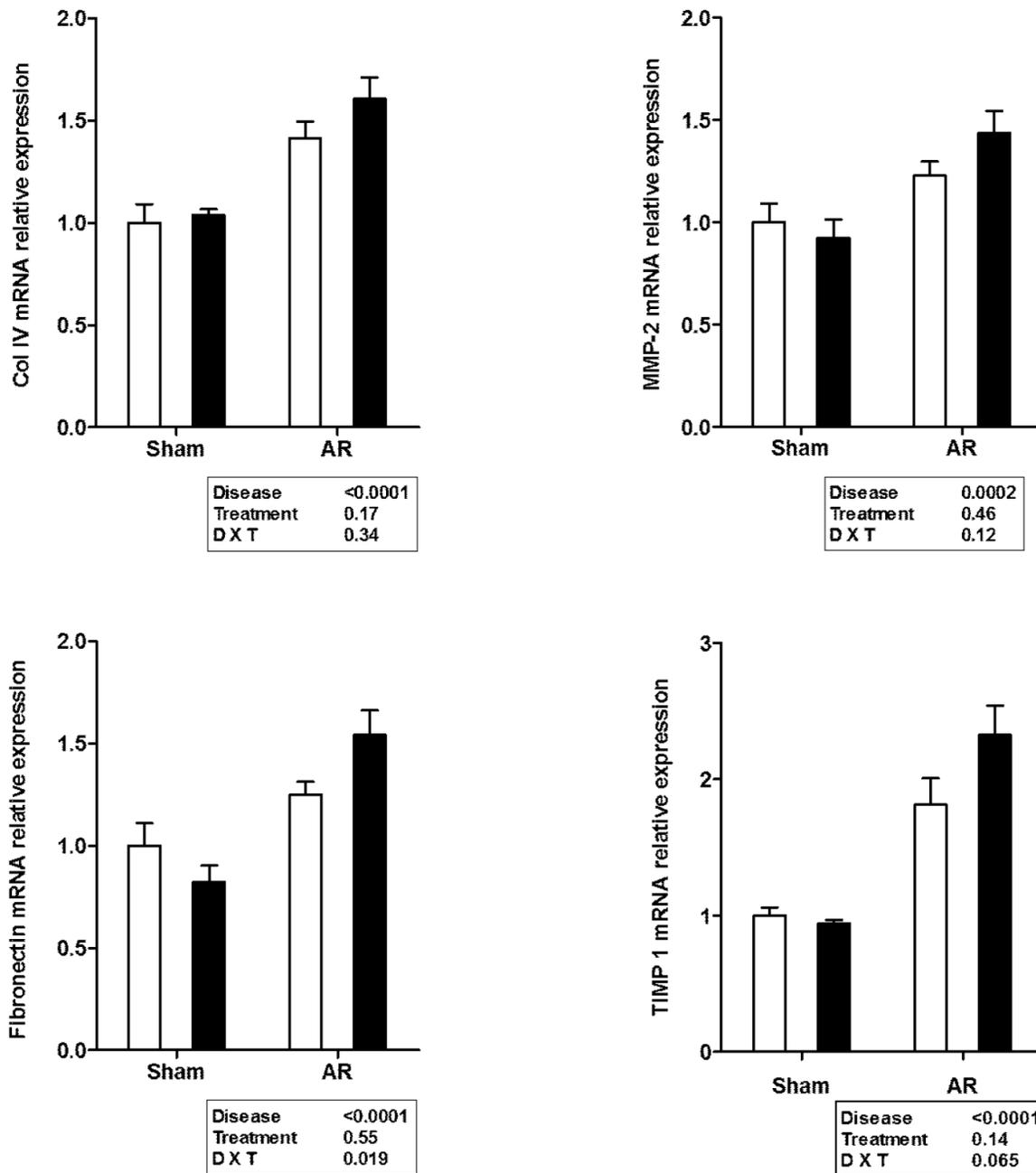


Figure 5: Evaluation by real-time quantitative RT-PCR of the LV mRNA levels of genes related to extracellular matrix remodeling. Results are reported as mean \pm SEM (n=10-15/gr). ColI: collagen I; ColIII: collagen III; ColIV Fn: fibronectin; LOX1: lysyl oxidase 1; TGFb1: transforming growth factor; MMP2: matrix metalloprotease 2 and TIMP-1: tissue inhibitor of metalloprotease 1. Two-way ANOVA statistical analysis results are displayed below each graph. D X T: disease and metformin treatment interaction *: p<0.05 vs. untreated corresponding group from Bonferroni post-test if P<0.05 for D x T.

12.3.6. Myocardial metabolism

Eight weeks after AR induction, changes in energy substrate uptake are observed in the myocardium as illustrated in (Figure 1). We measured the activity levels of various metabolic enzymes in LV tissue of all groups. Results are shown in (Figure 6). The HADH (hydroxyacyl-Coenzyme A dehydrogenase) responsible for fatty acid β -oxidation was less active in the AR group after 8 weeks compared to sham animals. Metformin treatment had no effect on this parameter. The first step of glycolysis is catalyzed by the hexokinase (HK). HK activity levels were significantly increased in all AR animals compared to the shams and metformin further increased this activity. The entry of acetyl-CoA in the citric acid cycle is catalyzed in the mitochondria by the citrate synthase (CS). CS activity levels were however significantly lower in AR animals. Metformin treatment increased CS activity levels in the LV of both sham and AR animals.

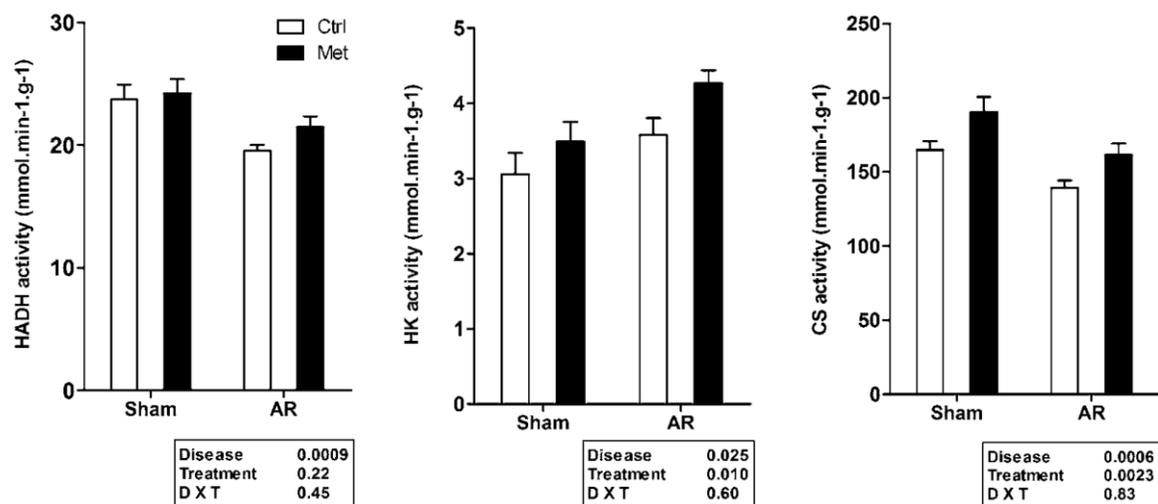


Figure 6: Activity levels of enzymes implicated in myocardial energy metabolism. HADH (hydroxyacyl-Coenzyme A dehydrogenase), HK (hexokinase) and CS (citrate synthase) enzymatic activities were measured in LV homogenates from at least 10 animals in each group as described in the Materials and Methods. Results are reported as mean \pm SEM (n=10-15/gr). Two-way ANOVA analyses are displayed below each panel. D X T: disease and metformin treatment interaction.

With the exception of Glut1 mRNA expression, metformin treatment did not modulate other genes related with the control of energy metabolism tested in this protocol (Figure 7).



Interestingly, the majority of them were down-regulated in AR animals.

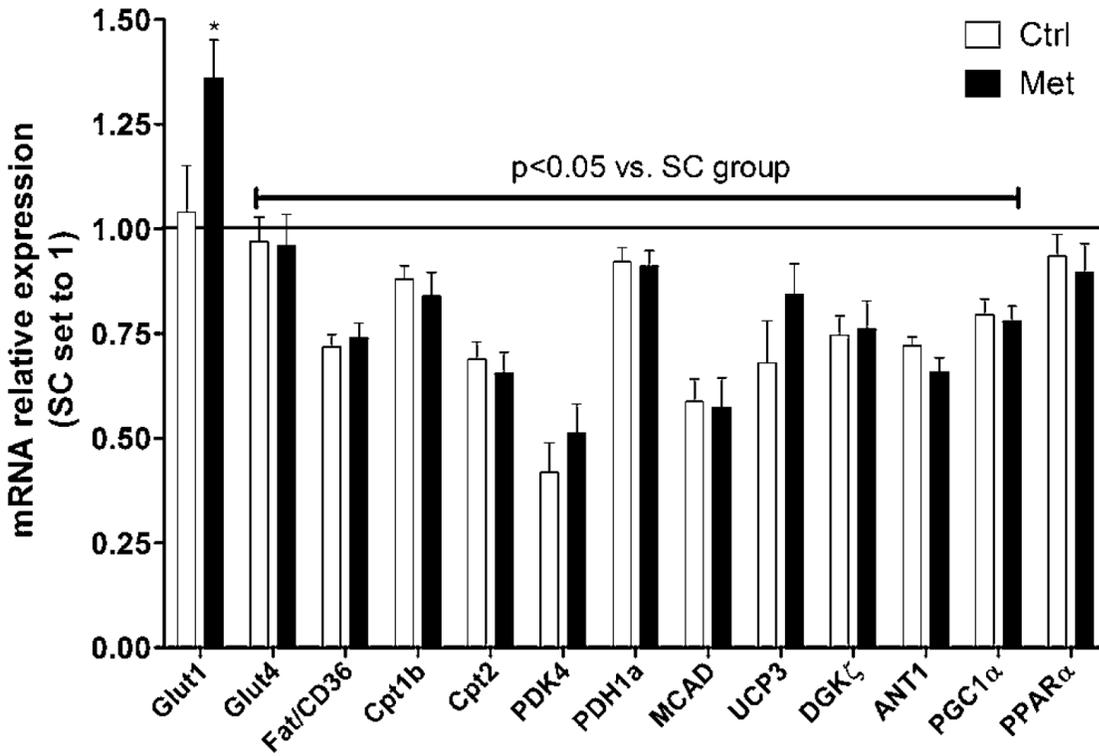


Figure 7: Evaluation by real-time quantitative RT-PCR of the LV mRNA levels of genes related to cardiac metabolism. Glucose transporters 1 and 4 (Glut1 and Glut4), fatty acid transporter (FAT/CD36), carnityl palmitoyl transferases (Cpt 1b and 2), PDK4 (pyruvate dehydrogenase kinase 4) PDH1a (pyruvate dehydrogenase 1alpha), MCAD (medium-chain acyl- CoA dehydrogenase), UCP3 (uncoupling protein 3), DGK ζ (diacylglycerol kinase ζ), Ant1 (adenine nucleotide transferase 1), PPAR α (peroxisome proliferator-activated receptor α) and PGC1 α (peroxisome proliferator activated receptor gamma coactivator-1 α). Results are reported in arbitrary units as mean \pm SEM (n = 10/group). Untreated sham (sham-operated animals; SC) group mRNA levels were normalized to 1 and are represented by the black lane. *: p<0.05 vs. ARC group.

12.3.7. Metformin treatment impact on signaling in AR rats

We measured the ratio of the phosphorylated form on the total content of a number of signaling molecules implicated in both hypertrophic and energy metabolism pathways. As illustrated in (Figure 8), activated Erk1/2 and Jnk1/2 are more abundant in AR LVs compared to sham-operated ones. Metformin treatment was associated with a decrease in the content of phosphorylated forms of p-38 and Jnk1/2 and an expected increase was observed for the AMP kinase.

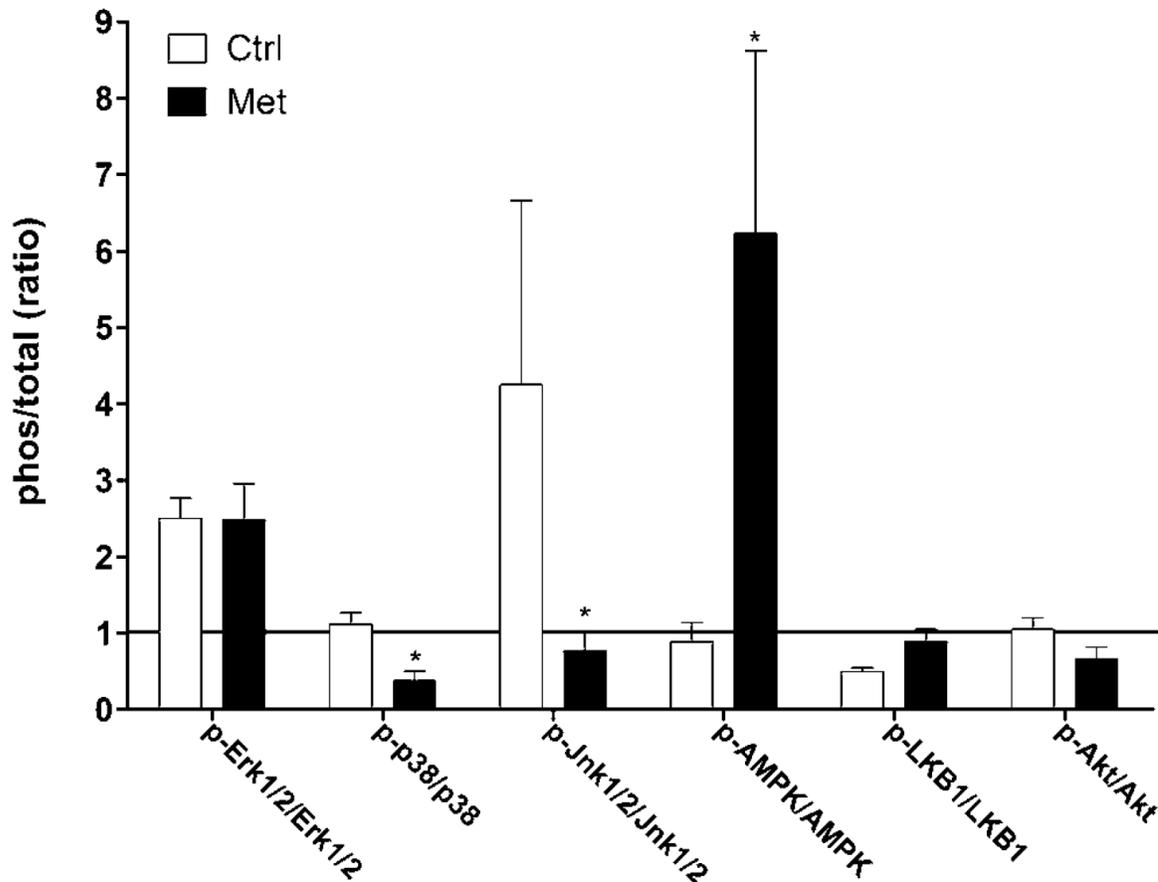


Figure 8: MAP kinases, LKB1, AMP kinase and Akt levels of activation in AR rats treated or not with metformin. Evaluation of the phosphorylated and the total protein contents for each signaling molecules were performed by immunoblotting as described in the Materials and methods section. Results are reported in arbitrary units as mean \pm SEM (n=10–12/group) of the ratio of the phosphorylated content on the total protein content. Untreated sham (sham-operated animals; SC) group protein contents were normalized to 1 and are represented by the black lane. *: $p < 0.05$ vs. ARC group.

12.4. Discussion

This study shows that an 8-week treatment with metformin reduces eccentric LV remodeling and dilatation in an experimental model of volume overload caused by severe aortic valve regurgitation. Metformin also helped maintain systolic function (ejection fraction). It also increased the activity of metabolic enzymes HK and CS. The treatment was not powerful enough however to prevent LV hypertrophy. This was expected considering the acute severe stress imposed to the LV. The fact that metformin was able to reduce LV dilatation and eccentric remodeling under such acute stress conditions, is in

itself remarkable and exciting. In line with the law of Laplace, we can suppose that wall stress was reduced in AR rats treated with metformin (less dilatation and thicker walls). Our results show that metformin has the potential to act as a protector of the LV in volume overload. Long term studies will answer the question whether this hypothesis remains true over time.

The main mechanism of action of metformin is believed to be via the activation of the AMPK [6]. Metformin does not bind directly to AMPK. One hypothesis is that it inhibits the respiratory chain Complex I causing an increase in the AMP/ATP ratio [19]. In our study, metformin treatment led to AMPK activation. After 8 weeks, AMPK levels of activation were similar to controls in the LV of AR rats. On the other hand, LKB1 phosphorylation was reduced in AR rats and metformin restored normal levels of LKB1 activation. LKB1 is a known AMPK kinase together with the calmodulin-dependent protein kinase (CamKK) which is expressed only at low levels in cardiac myocytes but other kinases have also been proposed to be responsible for the metformin-induced phosphorylation of the AMPK such as PKC ζ [20]. It has also been shown the metformin can exert beneficial metabolic effect independently from the AMPK in cardiac myocytes presumably via p38 or PKC-related signaling [21]. Metformin has been reported to decrease hypertrophy and slow the onset of heart failure in several animal models [22-24].

Cardiac hypertrophy is associated with the reappearance of a “fetal profile” of gene expression. We observed such a “fetal profile” in this study and previous ones using our AR model after a longer follow-up (> 6 months) with a modification in the expression of heart myosin heavy chains subtypes [12] and increased expression of Glut 1 and c-Fos. This profile is associated with increased glucose utilization and was at first considered maladaptive [4]. The observation that cardiac over expression of GLUT1 prevented the development of heart failure (and LV dilation) attributable to pressure overload in mice with little effects on overall LVH changed this perception [25]. It is now believed that glucose reliance in the adult heart is not harmful while reduced ability to utilize glucose could be detrimental in cardiac hypertrophy or heart failure [4]. In our study metformin treatment was associated with an increased expression of Glut1 and a raised activity of the hexokinase in AR animals with an already augmented glucose uptake in AR animals.

Increased AMPK activity was shown to promote the translocation of the glucose transporters [26].

It is not clear how metformin (via AMPK activation or not) can modulate LV remodeling caused by severe chronic VO. In a recent study in a model of global heart volume overload caused by aortocaval fistulae (ACF) in rats, metformin was shown to have no impact on the heart and LV weight in ACF rats while echo data showed a trend similar to ours (less dilatation). In that study the dose of metformin was twice the one we used [27]. In another study in rats post-myocardial infarction, metformin was shown to decrease heart dilatation while limiting LV wall thinning [28].

We observed that metformin decreased the protein content of the phosphorylated forms of both stress kinases p38 and Jnk. Both kinases have been shown in the past to have pro-hypertrophic action [29]. Inhibition of p38 in H9C2 cells was shown to decrease glycolysis [21]. Metformin has also been shown to inhibit Jnk activation in the past (Jung BBRC 2012). It is not clear whether metformin is acting on LV remodeling in our model via the inhibition of these pathways.

Metformin was shown in the past to slow the development of myocardial interstitial fibrosis [28]. Interstitial fibrosis is usually less present in VO-induced hypertrophy than in pressure overload situations. We have shown in the past that LV collagen content is still normal after 8 weeks in AR rats even though gene expression of many extracellular matrix (ECM) components is increased [10]. Here we observed that metformin further increased collagen type I and III gene expression in AR LVs. A trend for a higher expression of other ECM components was also present in metformin-treated animals. This suggests that metformin treatment could be associated with a higher turnover of ECM proteins. However this may also be an early sign of increased myocardial fibrosis in a more chronic state. Longer studies will be necessary to better characterize this observation.

The results of this study have to be viewed in light of some limitations. This was a relatively short study in which metformin was given as a pre-disease treatment. Eight weeks may be too short to assess the impact of metformin treatment on systolic and diastolic functions and clinical evolution on the long term. Rodent heart metabolism may also differ in some aspects from humans.

In conclusion, metformin treatment is associated with less eccentric remodeling, less LV dilatation and a better systolic function in an experimental model of LV volume overload caused from aortic valve regurgitation. Long-term studies evaluating the effects of such treatment on LV function and survival are mandated.

12.5. References

1. Allard MF (2004) Energy substrate metabolism in cardiac hypertrophy. *Curr Hypertens Rep* 6: 430-435.
2. Allard MF, Parsons HL, Saeedi R, Wambolt RB, Brownsey R (2007) AMPK and metabolic adaptation by the heart to pressure overload. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 292: H140-148.
3. Sambandam N, Lopaschuk GD, Brownsey RW, Allard MF (2002) Energy metabolism in the hypertrophied heart. *Heart Fail Rev* 7: 161-173.
4. Kolwicz Jr SC, Tian R (2011) Glucose metabolism and cardiac hypertrophy. *Cardiovas Res* 90: 194-201.
5. Hardie DG (2004) The AMP-activated protein kinase pathway--new players upstream and downstream. *J of Cell Sci* 117: 5479-5487.
6. Wong, AKF, Howie J, Petrie JR, Lang CC (2009) AMP-activated protein kinase pathway: a potential therapeutic target in cardiometabolic disease. *Clin Sci (Lond)* 116: 607-620.
7. Bouchard-Thomassin AA, Lachance D, Drolet MC, Couet J, et al. (2011) A high-fructose diet worsens eccentric left ventricular hypertrophy in experimental volume overload. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 300: 125-134.
8. Arsenault M, Plante E, Drolet MC, Couet J (2002) Experimental aortic regurgitation in rats under echocardiographic guidance. *J Heart Valve Dis* 11: 128-34.
9. Plante E, Couet J, Gaudreau M, Dumas MP, Drolet MC, et al. (2003) Left ventricular response to sustained volume overload from chronic aortic valve regurgitation in rats. *J Card Fail* 9: 128-140.
10. Lachance D, Plante E, Bouchard-Thomassin AA, Champetier S, Roussel E, et al. (2009) Moderate exercise training improves survival and ventricular remodeling in an animal model of left ventricular volume overload. *Circ Heart Fail* 2: 437-445.
11. Plante E, Lachance D, Beaudoin J, Champetier S, Roussel E, et al. (2009) Comparative study of vasodilators in an animal model of chronic volume overload caused by severe aortic regurgitation. *Circ Heart Fail* 2: 25-32.

12. Plante E, Lachance D, Champetier S, Drolet MC, Roussel E, et al. (2008) Benefits of long-term beta-blockade in experimental chronic aortic regurgitation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 294: 1888- 1895.
13. Ménard SL, Ci X, Frisch F, Normand-Lauzière F, Cadorette J, et al. (2009) Mechanism of reduced myocardial glucose utilization during acute hypertriglyceridemia in rats. *Mol Imaging Biol* 11: 6-14.
14. Ménard SL, Croteau E, Sarrhini O, Gélinas R, Brassard P, et al. (2010) Abnormal *in vivo* myocardial energy substrate uptake in diet-induced type 2 diabetic cardiomyopathy in rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 298: E1049-E1057.
15. Croteau E, Bénard F, Cadorette J, Gauthier ME, Aliaga A, et al. (2003) Quantitative gated PET for the assessment of left ventricular function in small animals. *J Nucl Med* 44: 1655-1661.
16. Croteau E, Gascon S, Bentourkia M, Langlois R, RousseauJA, et al. (2012) [¹¹C]Acetate rest–stress protocol to assess myocardial perfusion and oxygen consumption reserve in a model of congestive heart failure in rats. *Nucl Med Biol.* 39: 287-294.
17. Champetier S, Bojmehrani A, Beaudoin J, Lachance D, Plante E, et al. (2009) Gene profiling of left ventricle eccentric hypertrophy in aortic regurgitation in rats: rationale for targeting the beta-adrenergic and renin-angiotensin systems. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 296: 669-677.
18. Plante E, Lachance D, Gaudreau M, Drolet MC, Roussel E, et al. (2004). Effectiveness of beta-blockade in experimental chronic aortic regurgitation. *Circulation* 110: 1477-1483.
19. Owen MR, Doran E, Halestrap AP (2000) Evidence that metformin exerts its anti-diabetic effects through inhibition of complex I of the mitochondrial respiratory chain. *Biochem J* 348: 607-614.
20. Ussher JR, Jaswal JS, Wagg CS, Armstrong HE, Lopaschuk DG, et al. (2009) Role of the atypical protein kinase Czeta in regulation of 5'-AMP-activated protein kinase in cardiac and skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 297: E349-E357.
21. Saeedi R, Parsons HL, Wambolt RB, Paulson K, Sharma V, et al. (2008) Metabolic actions of metformin in the heart can occur by AMPK-independent mechanisms. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 294: H2497-2506.
22. Gundewar S, Calvert JW, Jha S, Toedt-Pingel I, Ji SY, et al. (2009) Activation of AMP-Activated Protein Kinase by Metformin Improves Left Ventricular Function and Survival in Heart Failure. *Circ Res* 104: 403-411.
23. Sasaki H, Asanuma H, Fujita M, Takahama H, Wakeno M, et al. (2009) Metformin

- prevents progression of heart failure in dogs: role of AMP-activated protein kinase. *Circulation* 119: 2568-2577.
24. Zhang CX, Pan SN, Meng RS, Peng CQ, Xiong ZJ, et al. (2011) Metformin attenuates ventricular hypertrophy by activating the AMP-activated protein kinase-endothelial nitric oxide synthase pathway in rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 38: 55-62.
 25. Liao R, Jain M, Cui L, D'Agostino J, Aiello F, et al. (2002) Cardiac-specific overexpression of GLUT1 prevents the development of heart failure attributable to pressure overload in mice. *Circulation* 106: 2125-2131.
 26. Nascimben L, Ingwall JS, Lorell BH, Pinz I, Schultz V, et al. (2004) Mechanisms for increased glycolysis in the hypertrophied rat heart. *Hypertension* 44: 662- 667.
 27. Benes J, Kazdova L, Drahota Z, Houstek J, Medrikova D, et al. (2011) Effect of metformin therapy on cardiac function and survival in a volume-overload model of heart failure in rats. *Clin Sci (Lond)* 121: 29-41.
 28. Yin M, van der Horst IC, van Melle JP, Qian C, van Gilst WH, et al. (2011) Metformin improves cardiac function in a nondiabetic rat model of post-MI heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 301: 459-468.
 29. Liang Q, Molkentin JD (2003) Redefining the roles of p38 and JNK signaling in cardiac hypertrophy: dichotomy between cultured myocytes and animal models. *J Mol Cell Cardiol* 35: 1385–1394.

Chapitre 13 / Article 3: Chronic high-fat diet-induced obesity decreased survival and increased hypertrophy of rats with experimental eccentric hypertrophy from chronic aortic regurgitation

BMC Cardiovascular Disorders 2014, 14:123

Wahiba Dhahri, Marie-Claude Drolet, Élise Roussel, Jacques Couet* and Marie Arsenaault.

Groupe de Recherche en Valvulopathies, Centre de Recherche, Institut universitaire de cardiologie et de pneumologie de Québec, Université Laval, Québec, Canada.

Article history:

Received : 11 July 2014

Accepted : 17 September 2014

Published : 24 September 2014

Résumé

Cette étude a examiné les effets de la consommation d'une diète riche en gras chez des rats avec une SV chronique causée par une régurgitation valvulaire aortique (AR), sur l'HVG, la fonction et le métabolisme du myocarde ainsi que sur la survie. Des rats mâles Wistar ont été divisés en quatre groupes : Shams (S) sous une diète contrôle (C) ou riche en gras (HF) et des rats AR nourris avec les mêmes diètes (ARC et ARHF respectivement). La consommation pendant 30 semaines d'une diète HF a diminué la survie des rats AR et a aggravé l'hypertrophie excentrique chez les survivants sans affecter la fonction systolique. L'adaptation prévue à la SV de l'énergétique du myocarde du VG chez les animaux AR semblait être compromise par la diète HF suggérant une flexibilité métabolique moindre.

Abstract

Background: The composition of a diet can influence myocardial metabolism and development of left ventricular hypertrophy (LVH). The impact of a high-fat diet in chronic left ventricular volume overload (VO) causing eccentric LVH is unknown. This study examined the effects of chronic ingestion of a high-fat diet in rats with chronic VO caused by severe aortic valve regurgitation (AR) on LVH, function and on myocardial energetics and survival.

Methods: Male Wistar rats were divided in four groups: Shams on control or high-fat (HF) diet (15 rats/group) and AR rats fed with the same diets (ARC (n=56) and ARHF (n=32)). HF diet was started one week before AR induction and the protocol was stopped 30 weeks later.

Results: As expected, AR caused significant LV dilation and hypertrophy and this was exacerbated in the ARHF group. Moreover, survival in the ARHF group was significantly decreased compared the ARC group. Although the sham animals on HF also developed significant obesity compared to those on control diet, this was not associated with heart hypertrophy. The HF diet in AR rats partially countered the expected shift in myocardial energy substrate preference usually observed in heart hypertrophy (from fatty acids towards glucose). Systolic function was decreased in AR rats but HF diet had no impact on this parameter. The response to HF diet of different fatty acid oxidation markers as well as the increase in glucose transporter-4 translocation to the plasma membrane compared to ARC was blunted in AR animals compared to those on control diet.

Conclusions: HF diet for 30 weeks decreased survival of AR rats and worsened eccentric hypertrophy without affecting systolic function. The expected adaptation of myocardial energetics to volume-overload left ventricle hypertrophy in AR animals seemed to be impaired by the high-fat diet suggesting less metabolic flexibility.

Key words: cardiomyopathy, volume overload, high-fat diet, hypertrophy

13.1. Introduction

Bad dietary habits have been linked to the obesity epidemic in industrialized countries. High fat (HF) diets were initially incriminated for this epidemic but this hypothesis is now being challenged. The direct cardiac toxicity of dietary sugar overabundance has been documented in animal models [1-3] but the effects of HF diets on the heart are still controversial [4]. This is probably due to the variability of the HF diets that have been studied in rodent models of heart diseases. For example, a “Western” diet (rich in both fat and carbohydrates) has been shown to cause contractile dysfunction [5] in Wistar rats while a high fat/low carbohydrate diet seemed less toxic for the heart even if its content in saturated fatty acids was high [6]. HF diets have mostly been shown to be either neutral or somewhat beneficial in rodents with LV pressure overload [7,8]. A neutral response to a HF diet on cardiac remodeling was also observed in a rat model of ischemic heart failure [9]. The impact of a HF diet on dilated cardiomyopathy and eccentric LVH resulting from chronic LV volume overload (VO) has never been studied.

Chronic LV-VO causes severe dilatation and eccentric hypertrophy. It is encountered mostly in patients suffering from heart valve regurgitation (mitral or aortic). Untreated regurgitation will result in severe LV dilatation and hypertrophy as well as slowly progressive systolic dysfunction and heart failure [10]. The obesity epidemics and the western diets have reached several developing countries worldwide [11]. It is thus important to determine if dietary habits can influence the evolution of LV VO diseases. This study was therefore designed to assess the impact of a chronic high saturated fat diet on the development of eccentric LV hypertrophy, function and survival in rats with severe and chronic LV VO from aortic valve regurgitation (AR).

13.2. Methods

13.2.1. Animals

Adult male Wistar rats were purchased from Charles River (Saint-Constant QC, Canada) and divided in 4 groups as follows: 1) Sham-operated animals on control diet (SC; n = 15); 2) AR control diet (ARC; n = 56), 3) Sham on High-Fat diet (Adjusted calories diet (60% calories from fat), Cat. No. TD.06414 Harlan Teklad Madison WI), (SHF; n = 12) and AR

on High-Fat diet (ARHF n = 32). The animals were maintained either on the control diet (Purina Rat Chow #5012) containing 13% calories from fat, 27% from protein and 60% from carbohydrate (39.5 g/kg from starch; 4.1kCal/g) or the highfat diet containing 60% calories from fat, 19% protein and 21% carbohydrate (34.3 g/kg from fat; 5.4 kCal/g). The fatty acid profile (% of total fat) was 37% saturated (control diet: 19%), 47% monounsaturated (control diet: 20%) and 16% polyunsaturated (control diet: 61%). The high-fat diet was started one week before surgery in both SHF and ARHF groups and continued for 30 weeks until sacrifice. A second protocol with similar groups of animals was also investigated but for a shorter period of 8 weeks (n = 10/gr.). The protocol was approved by the Université Laval's Animal Protection Committee and followed the recommendations of the Canadian Council on Laboratory Animal Care.

13.2.2. Aortic regurgitation

Severe AR was induced by retrograde puncture of the aortic valve leaflets as previously described [12]. A complete echocardiographic exam with a HD11XE echograph (Philips Medical Imaging, Andover, MA) was performed two weeks after AR induction and the day before sacrifice 30 weeks later. At the end of the protocol, hearts were quickly dissected and all cardiac chambers were weighed. LV was snap-frozen in liquid nitrogen and kept at -80°C for further analysis. Serum samples were kept for evaluation of lipids, glucose, insulin and adiponectin using commercial kits.

13.2.3. Analysis of mRNA accumulation by quantitative RT-PCR

The analysis of LV mRNA levels by quantitative RT-PCR has been described in details elsewhere [13].

13.2.4. Enzyme activity determinations

Left ventricle samples were assayed for maximal (V_{max}) enzyme activities. Small pieces of LV (20-30 mg) were homogenized in a glass-glass homogenizer with 9 or 39 volumes of ice-cold extracting medium pH7.4 (250 mM sucrose, 10 mM Tris-HCl, 1 mM EGTA)

depending on the enzyme activity assayed. Enzymatic activities were determined as previously described [14,15].

13.2.5. Immunoblotting

Crude LV homogenates were separated by SDS-PAGE. Preparation of membrane, nuclear and cytosolic fractions for the analysis of Glut4 and IRS1 translocation or AMPK subcellular localization were performed using protocols described in the following articles [16,17]. Immunoblotting was performed as described elsewhere [18]. All primary antibodies were used at a 1:1000 dilution and were purchased from Cell Signaling Technology (Beverly, MA) or from Santa Cruz Biotechnology (Santa Cruz, CA).

13.2.6. Statistical analysis

Results are presented as mean \pm SEM unless specified otherwise. Normality of the data was assessed by the Pearson test. Inter-group comparisons were done using two-way ANOVA and using Bonferroni post-test if necessary. Statistical significance was set at a $p < 0.05$. Data and statistical analysis were performed using Graph Pad Prism version 6.01 for Windows, (San Diego CA).

13.3. Results

13.3.1. Clinical data and animal characteristics

All animals were alive at the end of the 8-week protocol with the exception of two deaths in the ARHF group. In the longer 30-week protocol all control animals were alive at the end. Seventy percent of AR animals fed with the control chow were alive after 7 months compared to less than 50% in the one receiving the high-fat diet (Figure 1). Animals fed a high-fat diet (HF) were significantly heavier (Figure 2A). The retroperitoneal fat content was markedly increased in the HF groups and even more so in AR animals (Figure 2B). Caloric intake by the animals was also higher in the HF groups (Table 1). Glucose levels were slightly lower in HF animals.

Insulin levels remained unchanged with the diet but were slightly more elevated in AR animals. Leptin levels were strongly increased in HF groups. The disease status (AR or not) had no impact on these parameters except for adiponectin levels, which were lower in ARC animals compared to ARHF ones.

Heart weight was increased in rats with AR (Figure 2C). AR animals on the HF diet had a significantly higher heart weight than those on the control diet. Sham-operated animals fed with the HF diet had a similar heart weight to SC animals. When indexed for tibial length (Figure 2D), this difference in heart weight between ARC and ARHF animals was still significant. LV weights followed the same variations as for total heart weight (Table 1). Ejection fractions in the two AR groups were similarly decreased. Relative wall thickness (an index of LV remodeling) was similarly decreased in AR rats fed or not with the HF diet (Table 1).

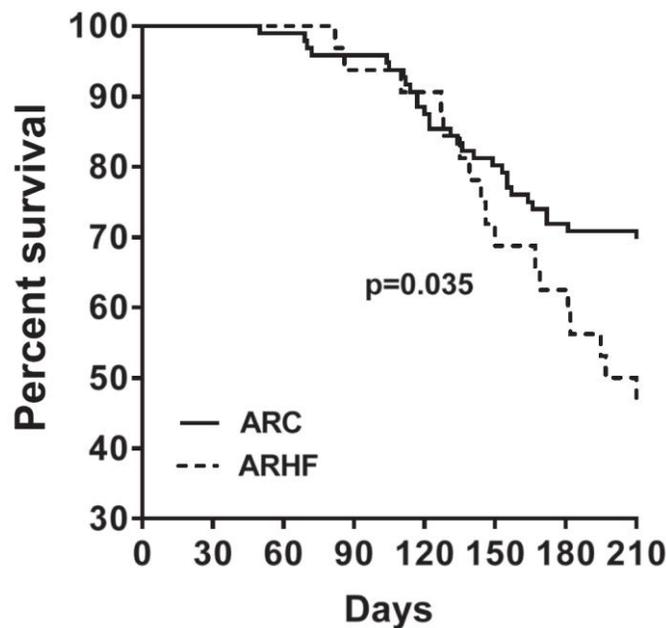


Figure 1: Survival Kaplan-Meier curves of rats with severe chronic aortic valve regurgitation. AR rats were fed control chow Untreated (ARC: solid line) or the high fat diet (ARHF: dotted line) for 7 months.

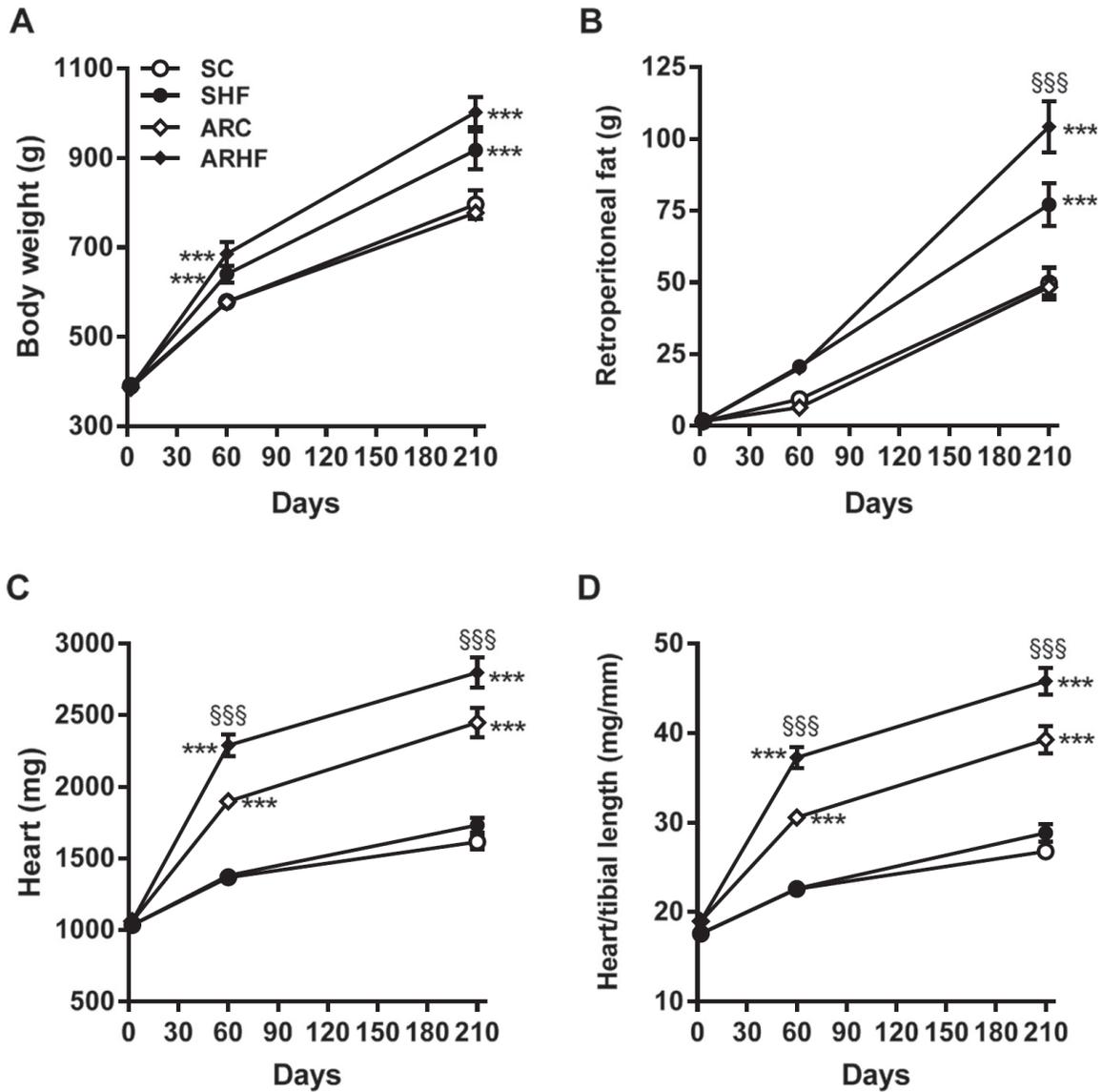


Figure 2: Heart hypertrophy is worsened by feeding AR rats with high-fat (HF) diet. Evolution of the body weight (A) and retroperitoneal fat deposit weight (B) was evaluated at 2 and 7 months. Heart weight (C) and indexed heart weight (D; for tibial length). Results are reported as mean \pm SEM. Two-way ANOVA analyses. ***: $p < 0.001$ versus sham-operated animals. If interaction between AR and diet was found to have a P value below 0.05, a Bonferroni post-test was conducted: §§§: $p < 0.001$ vs. control diet corresponding group.

Table 1 Biometric and echocardiographic parameters

	Sham Ctrl	Sham HF	AR Ctrl	AR HF
Tibia, mm	60.3 ± 0.64	61.4 ± 0.31	61.0 ± 0.43	61.0 ± 0.56
LV, mg	1163 ± 34.0	1225 ± 34.2	1823 ± 77.0a	2046 ± 69.9a, c
EDD, mm	8.4 ± 0.14	8.5 ± 0.17	11.4 ± 0.18a	11.6 ± 0.18a
ESD, mm	3.8 ± 0.22	3.8 ± 0.20	6.7 ± 0.17a	6.6 ± 0.22a
EF,%	78.6 ± 1.81	80.1 ± 1.52	64.8 ± 1.05a	67.9 ± 1.63a
RWT	0.30 ± 0.005	0.29 ± 0.005	0.23 ± 0.005a	0.21 ± 0.005a
kCal/day	126 ± 4.0	130 ± 4.0	126 ± 2.3	134 ± 4.1
TG, mmol/l	1.1 ± 0.12	1.1 ± 0.12	1.4 ± 0.14	1.0 ± 0.11
Chol., mmol/l	3.1 ± 0.46	2.9 ± 0.12	2.6 ± 0.13	3.1 ± 0.17
Gluc., mmol/l	17.4 ± 1.53	17.3 ± 1.72	15.9 ± 1.19	15.0 ± 1.05
Insulin, µg/l	1.4 ± 0.25	1.1 ± 0.19	1.6 ± 0.21a	2.4 ± 0.70a
Leptin, mg/l	1.1 ± 0.17	2.0 ± 0.22b	0.7 ± 0.13	2.1 ± 0.22b
Adiponectin, mg/l	10.4 ± 0.76	10.4 ± 0.69	7.7 ± 0.34	10.4 ± 0.76c

Echo measurements obtained under 1.5% isoflurane anesthesia. LV left ventricle, EDD end-diastolic diameter, ESD end-systolic diameter, EF ejection fraction and RWT relative wall thickness. Animal daily food intake (kCal/day) and plasma levels of glucose, triglycerides, insulin, leptin and adiponectin plasma levels were estimated in animals sacrificed at 60 days post-AR. a: $p < 0.001$ versus sham groups, b: $p < 0.01$ vs. control diet groups and c: $p < 0.01$ vs. corresponding AR group by Bonferroni post-test. HF: high-fat diet.

13.3.2. LV hypertrophy markers

As illustrated in Figure 3A, ANP and BNP gene expression were clearly increased in the LV of AR animals but the HF diet had no effect on these parameters. Myosin heavy chain subunits gene expression was also modulated similarly in both AR groups. AR mildly stimulated Erk1/2 phosphorylation but did not affect the activation p38 or Jnk (Figure 4A). The HF diet reversed the AR effect on pErk1/2 (Figure 4A-B).

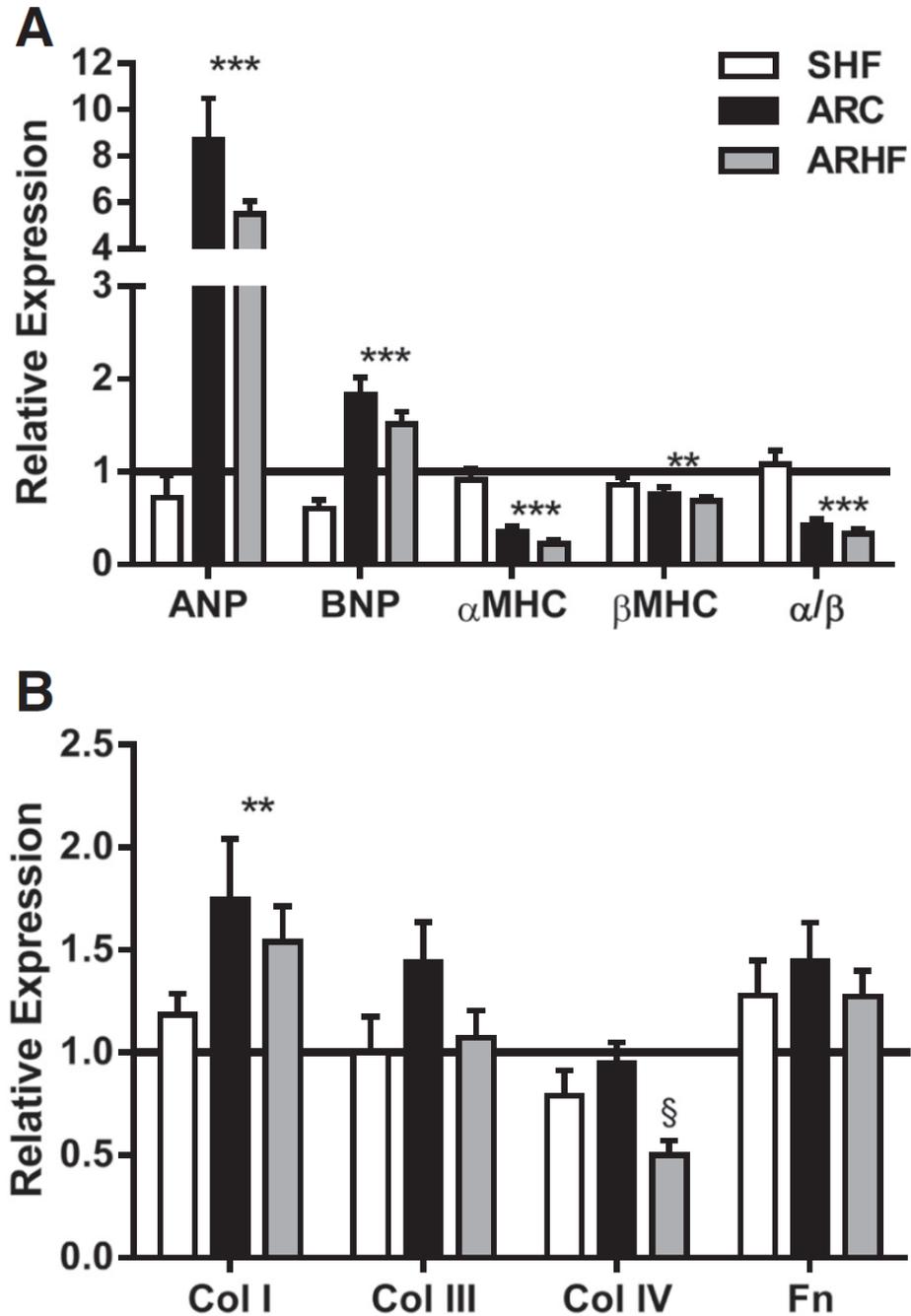
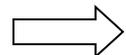
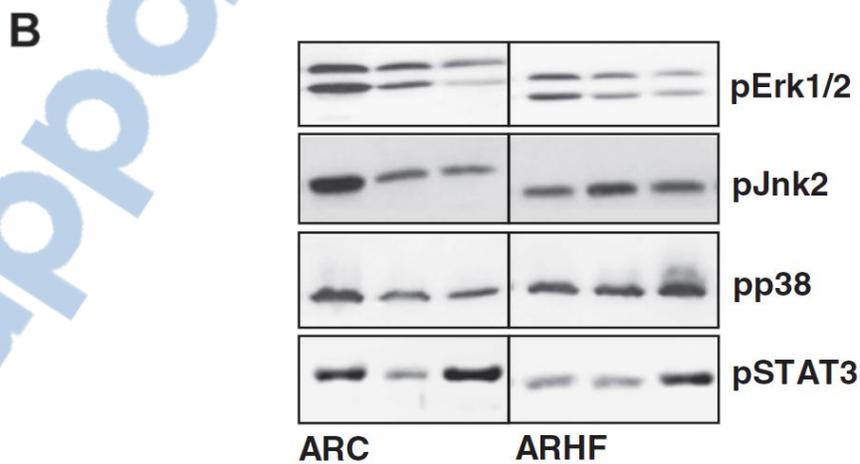
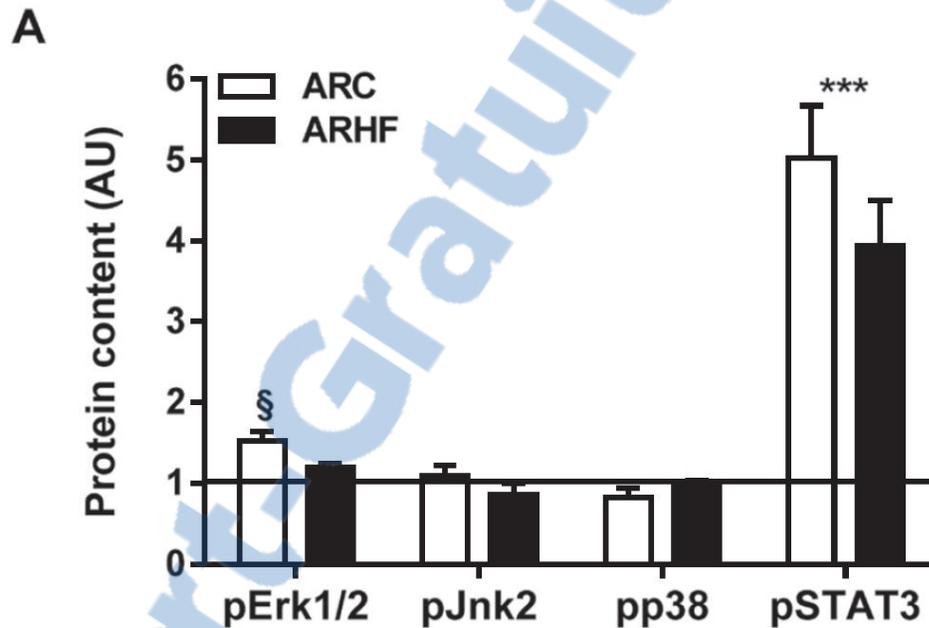


Figure 3: Evaluation by real-time quantitative RT-PCR of the LV mRNA levels of genes related to LV hypertrophy (A) and extracellular matrix remodeling (B). **: $p < 0.01$ and ***: $p < 0.001$ between sham and AR groups. §: $p < 0.05$ vs. corresponding group on control diet. Sham (sham-operated animals) group mRNA levels were normalized to 1 and are represented as a black line on the different graphs. ANP, atrial natriuretic peptide; BNP, brain natriuretic peptide; α MHC, myosin heavy chain alpha; β MHC, myosin heavy chain beta; α/β : ratio of the two MCH forms; Col I: collagen I; Col III: collagen III; Col IV: collagen IV; Fn: fibronectin.

Stat3 phosphorylation was strongly increased in AR rats but the high-fat diet did not influence this parameter. Phosphorylation of Akt, mTOR and S6 kinase were significantly increased in the LV of ARC animals whereas only a trend was observed for 4eBP1 (Figure 4C). The HF diet on the other hand reversed this effect on mTOR and the S6 kinase and reduced basal phosphorylation levels of 4eBP1 (Figure 4C-D). Myocardial interstitial and peri-vascular fibrosis was significantly increased in AR rat but the HF diet was not associated with additional fibrosis (Additional file 1: Figures S1 and S2).



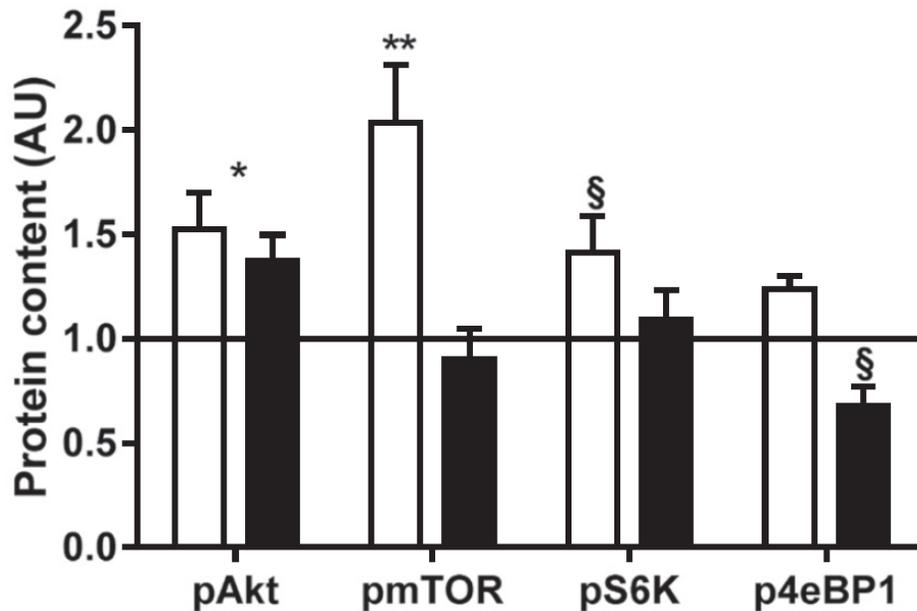
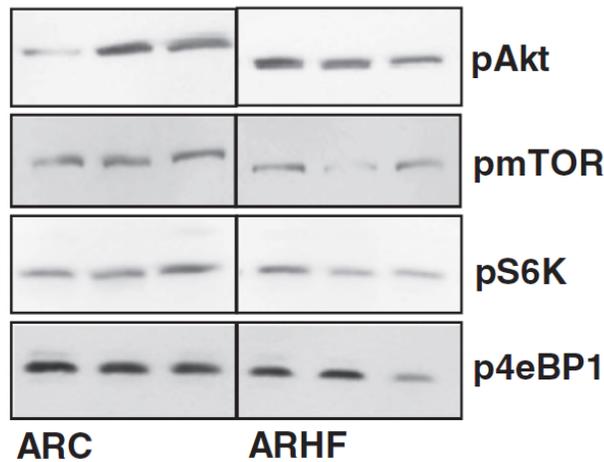
C**D**

Figure 4: The high fat diet impact on LV signaling in AR rats. Phosphorylated protein content of various signaling molecules implicated in cardiac growth and hypertrophy were evaluated by immunoblotting. SC protein levels were normalized to 1 and are represented as a black line on the different graphs (A and C). *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$ and ***: $p < 0.001$ between sham and AR groups. §: $p < 0.05$ vs. corresponding group on control diet. ARC animals are represented by the white columns and the ARHF the solid ones. Representative blots are also illustrated (B and D).

13.3.3. GSK3 β and FoxO inactivation by the HF diet in eccentric LVH

Phosphorylation of GSK3 β and of FoxO1 and 3a leads to their inactivation by inhibiting the kinase activity of the former and nuclear localization of FoxOs [19,20]. We observed that AR was associated with higher levels of FoxO 1 and 3a phosphorylation. On the other hand, the HF diet doubled phosphorylation levels of GSK3 β while decreasing those of FoxO1 and 3a (Figure 5E-F).

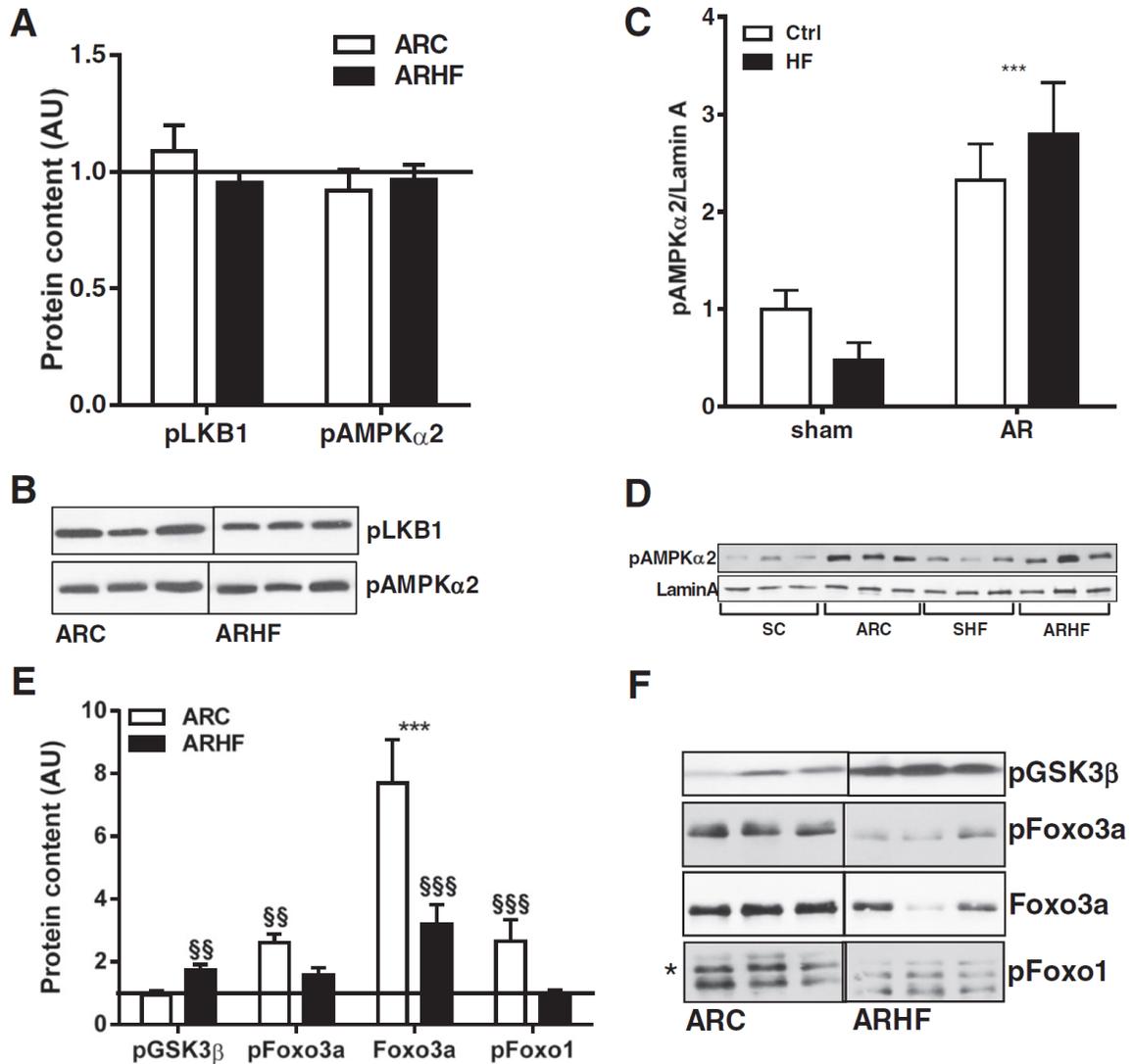


Figure 5: AMPK phosphorylation and cellular sub-localization, GSK3 β and FoxO phosphorylation. Phosphorylated protein contents of LKB1 and AMPK α 2 subunit remains unchanged in the LV myocardium of AR rats fed or not with a high fat diet. SC protein levels were normalized to 1 and are represented as a black line on the different graphs (A, C and E). ***: $p < 0.001$ between sham and AR groups. §§: $p < 0.01$ and §§§: $p < 0.001$ vs. corresponding group on control diet. Representative blots are also illustrated (B, D and F).

13.3.5. Cardiac metabolism

We have previously showed that eccentric LVH caused by severe AR was associated with a shift in energy substrates preference from fatty acids to glucose [14,15,21]. Hydroxyacyl-Coenzyme A dehydrogenase (HADH) was reduced in AR animals (Figure 6A). The HADH enzymatic activity was increased by the HF diet in sham and AR animals, normalizing this parameter in the latter group. The findings were similar for the malonyl-CoA decarboxylase (MCD) enzymatic activity (Figure 6B). We then measured mRNA levels of a set of genes related to FAO in the LV. As illustrated in Figure 6C, the HF diet was associated with an almost overall increase in gene expression of these genes in control animals whereas AR rats on the control diet displayed decreased levels. The administration of the HF diet to the AR animals failed to normalize the gene expression of all but one of these genes (Fat/CD36).

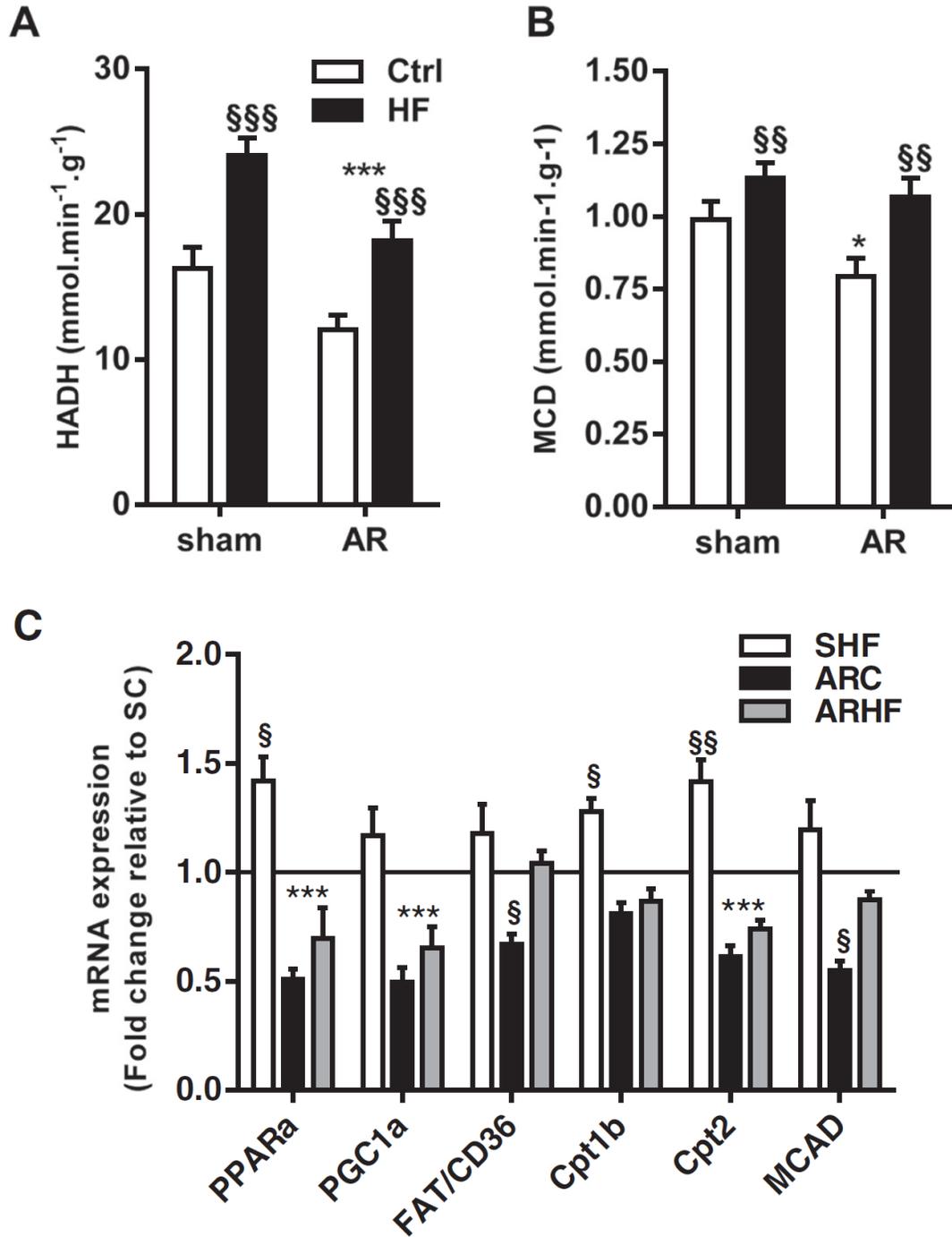


Figure 6: Impact of a high-fat diet on FAO in chronic eccentric LV hypertrophy. HADH (A; hydroxyacyl-Coenzyme A dehydrogenase) and MCD (B; malonyl-CoA decarboxylase) enzymatic activities were measured as described in the Materials and Methods. In panel C, evaluation by real-time quantitative RT-PCR of the LV mRNA levels of genes related to FAO. Sham group mRNA levels were normalized to 1 and are represented as a black line on the graph. *: $p < 0.05$ and ***: $p < 0.001$ between sham and AR groups. §: $p < 0.05$, §§: $p < 0.01$ and §§§: $p < 0.001$ vs. corresponding sham or AR group.

Hexokinase (HK) activity is increased in the LV myocardium of AR animals and the HF diet slightly decreased this parameter (Figure 7A). On the other hand, phosphofructokinase activity was increased to a similar extent in HF diet fed animals (Figure 7B). The HF diet was also associated with higher mRNA levels of the pyruvate dehydrogenase α 1 (PDH α 1), pyruvate dehydrogenase kinase 4 (PDK4) as well as of glucose transporter 1 (Glut1) (Figure 7C).

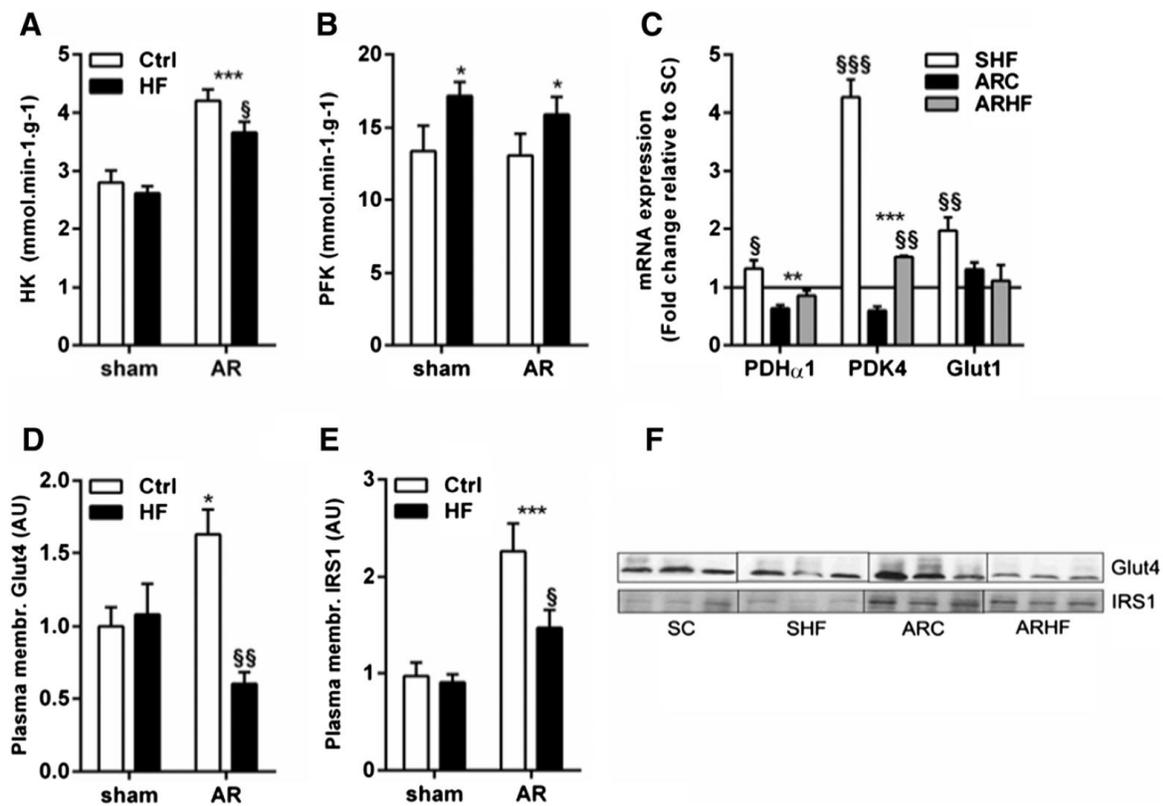


Figure 7: The high fat diet in AR rats seems to impair the switch from fatty acid to glucose as preferred myocardium energy substrate. HK (A; hexokinase) and PFK (B; phosphofructokinase) enzymatic activities were measured as described in the Materials and Methods. Evaluation by real-time quantitative RT-PCR of the LV mRNA levels of other genes related to glucose oxidation is illustrated in panel C. D, Increased Glut4 translocation to the plasma membrane is reversed by the high fat diet in AR rats as evaluated by immunoblotting. E, Recruitment of IRS1 to the membrane in the LVs of AR rats is partly reversed by the high fat diet. F, Representative blots are illustrated. *: $p < 0.05$ and ***: $p < 0.001$ between sham and AR groups. §: $p < 0.05$, §§: $p < 0.01$ and §§§: $p < 0.001$ vs. corresponding sham or AR group.

We also evaluated insulin-sensitive glucose transporter-4 (Glut4) translocation to the sarcomeric membrane (Figure 7D and F). AR increased this translocation compared to sham animals fed or not with the HF diet. The HF diet completely reversed this finding in AR and reduced Glut4 translocation to sub-normal levels. We also investigated if this finding could be explained by a variation in the insulin receptor signaling pathway activation by measuring the content of IRS1 recruitment to the plasma membrane (Figure 7E-F). As for Glut4, IRS1 was more present at the membrane in AR rats fed with the control chow. The HF diet decreased this parameter in AR rats.

Citrate synthase activity was reduced in AR animals but HF diet reversed this trend (Figure 8A). The complex 1 activity remained mostly unchanged but was increased in AR animals fed with the HF diet (Figure 8B). Succinate dehydrogenase activity was decreased in SHF and ARC animals but not in ARHF (Figure 8C). Total CK activity was slightly decreased in AR animals (not shown). Gene expression for the adenine nucleotide translocator-1 (ANT1) was reduced in both AR groups (Figure 8D). Uncoupling protein 3 (UCP3) mRNA levels were strongly increased in sham animals fed the HF diet. This was not case in AR animals where UCP3 expression remained unchanged.

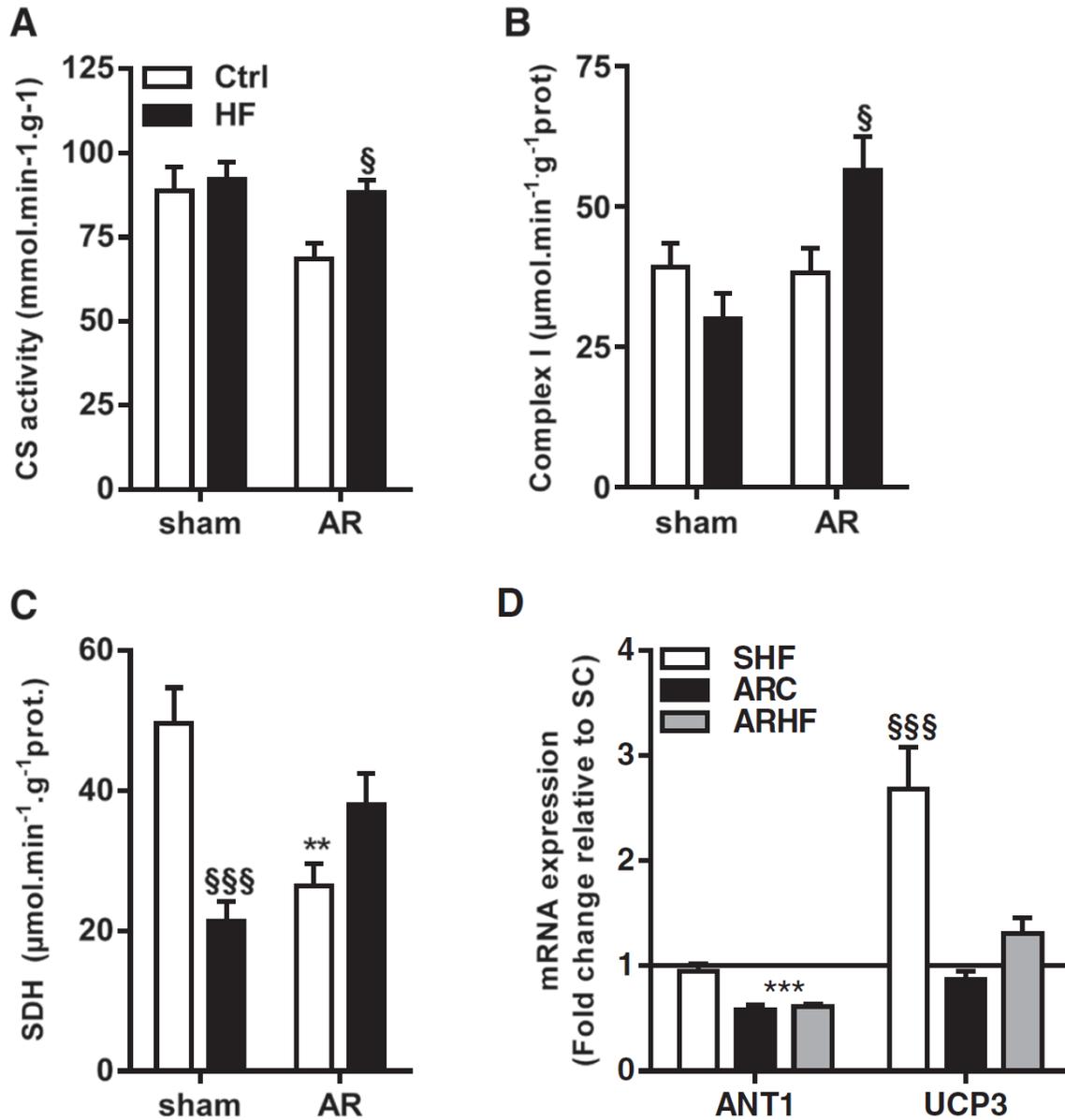


Figure 8: The high fat diet impact on myocardial mitochondria. HK (A; hexokinase), complex I (B) and SDH (C; succinate dehydrogenase) enzymatic activities were measured as described in the Materials and Methods. Evaluation by real-time quantitative RT-PCR of the LV mRNA levels of ANT1 (adenine nucleotide translocator-1) and UCP-3 (uncoupling protein-3) is illustrated in Panel D. **: $p < 0.01$ and ***: $p < 0.001$ between sham and AR groups. §: $p < 0.05$ and §§§: $p < 0.001$ vs. corresponding sham or AR group.

13.4. Discussion

Obesity has been known as an independent risk factor for cardiovascular disease [22] but the contribution of obesity-induced comorbidities such as dyslipidemia, hypertension or

type II diabetes has to be taken into account. In humans, however, “uncomplicated” isolated obesity has been shown to be linked with cardiac anomalies too [23,24]. Dietary habits clearly play a major role in the development of obesity and its associated complications.

Divergent results have been reported in experimental models of diet-induced obesity and heart disease depending on the composition of the abnormal diet. Some studies have suggested that diet-induced obesity does not alter cardiac function [6,25] while others reported various cardiac systolic and/or diastolic function anomalies [26-29]. Feeding animals with LV pressure overload with a HF diet had neutral effects in some studies [7,8,30] but adverse effects in another [31]. A HF diet suggested some benefits in a rat myocardial ischemia model [9,32].

In our model of LV volume overload from AR with severe eccentric LVH, the HF diet was associated with increased LVH and poorer survival. It could be argued that the increase in heart weight in ARHF could be related only to the increased body mass. However a similar increase in heart weight should have been observed in the overweight sham animals fed the HF diet. Excessive weight gain may have played a role but it clearly was not the main factor to explain the differences. It is possible that a synergy between hemodynamic overload, diet and hypertrophy which are all pro-hypertrophic factors exist but the mechanisms for the increased hypertrophy in AR rats fed with the HF diet remain unclear.

We observed in the past that the Erk 1/2 and Stat3 pathways are activated in AR [14,15,33]. We did not observe such an activation for the Akt/mTOR pathway in the short protocols (8 weeks) but we did in longer ones (current and [34]). Here, the HF diet returned the activation levels both Erk and mTOR pathways to normal suggesting that they were not responsible for the increased LVH observed in ARHF. Additional LVH may be caused by the inhibition of anti-hypertrophic molecules such as GSK3 β and FoxOs. We observed increased phosphorylation of these molecules in AR rats fed with the HF diet, likely leading to their inactivation. GSK3 β phosphorylation impairs its inhibition in various pathways linked to hypertrophy or cardiac growth including Wnt and NFAT signaling [35]. FoxO favors transcription of atrogin-1, an ubiquitin ligase that promotes calcineurin degradation and can prevent NFAT activation. Many myocardial metabolic enzymes were modulated both by the state of severe LV-VO and by the diet.

The activity level of HADH was increased in SHF animals but not in SC ones. The expression of the fatty acid transporters (Fat/CD36 and CPTs) were all increased in animals on the HF diet with the exception of Fat/CD36 in the ARHF group. HF diet seems to have a stimulating effect on FAO in sham animals but this effect was somewhat blunted in AR animals. We also measured the activity levels of two enzymes of the citric acid cycle. Citrate synthase levels remained relatively stable among groups but SDH activity was strongly reduced in ARC animals. A similar observation has been made previously in a pressure overload rat model [7]. In our model the HF diet helped restore normal levels of SDH activity.

The discrepancies between the impacts of HF diet in pressure versus volume overload models are interesting and raise some questions. Our results suggest that FAO capacity is not increased in AR animals fed a HF diet. The main source of fat in our HF diet was lard and the diet was started one week before AR induction. Unlike mice in Raheer et al. [31], our rats did not seem to develop any clear form of metabolic syndrome or overt diabetes despite an important increase in body mass. Our results are nevertheless in line with some of the observations made in their mouse pressure-overload model. We observed more LV hypertrophy in rats on the HF diet.

We also found an increase in circulating leptin in our animals. Leptin has been shown to promote the hypertrophy of cardiac myocytes [36]. A severe prohypertrophic stimulus suddenly imposed to a heart with preexisting elevated leptin levels could induce an excessive hypertrophic response. Therefore, the response to this pro-hypertrophic stress may have been amplified from the very start since the HF diet had been started before AR. The heart goes through a hyper-contractile phase to compensate for the acute volume overload in the first days following AR induction [12]. The heart has to maintain its contractile capacity and to simultaneously activate the remodeling process. These two processes both require additional energy and the HF diet could have caused enough metabolic derangements to alter them. In previous studies, PO rodent models the HF diet was started at the time of surgery. This may explain why the authors did not observe any increased LV hypertrophy in their model despite similar metabolic assessments at the end of their protocol [7,8].

The fatty acid composition of the HF diet may influence its effects on the heart. In our study, the content of saturated and monounsaturated fatty acids was in excess of 80% of total fat. A higher content in polyunsaturated fatty acids may have led to different results. It was shown that a diet rich in omega-3 polyunsaturated fatty acid and complex carbohydrates could confer a “lipo-protection” and decrease LV hypertrophy in an pressure overload mouse model [37,38]. This observation suggests that the composition of a HF diet specifically influence the hypertrophic response of the overloaded heart. These alternate high-fat diets with a “better” fat profile will need to be tested in upcoming protocols.

In addition to perturbing myocardial FAO, we observed that glycolysis seemed altered by the HF diet. AR LVH is associated with a shift in energy preference towards glucose [15]. We showed that Glut4 translocation to the membrane is increased in AR animals suggesting an increased glucose uptake capacity. The HF diet completely obliterated this increase thus probably impairing the expected metabolic switch. This, in addition of probably less efficient FAO in the myocardium of AR rats fed with the HF diet could lead to increased lipotoxicity and poorer survival.

The overall oxidative capacity of the AR myocardium did not seem to be negatively altered by the HF diet. It has been reported that a HF diet in healthy rats was associated with increased FAO and oxygen consumption without an increase in function and thus with a decrease in cardiac efficiency. Uncoupling was also increased in the mitochondria, maybe as a protective mechanism against reactive oxygen species (ROS) production [39,40]. Our results suggest a similar status in our SHF animals. In AR animals, uncoupling seems less active as suggested by the return to normal UCP3 expression. This could lessen the mitochondrial capacity to inhibit ROS production. The exact reason why survival was decreased in the AR-HF group cannot be determined with certainty. Survival in humans with AR is directly related to LV dilatation and hypertrophy which is in line with our animal findings. Larger, more hypertrophied hearts are obviously more fragile and may be prone to pro-arrhythmia and sudden death. We did not observe any clear morphological changes in the hearts of sham-operated animals fed with the HF diet even though they were clearly overweight compared to animal on the normal diet. Recently, another study on Wistar rats has shown that a HF diet caused LV hypertrophy in healthy normal animals after 15 weeks.

The investigators noticed an increase in body weight, circulatory insulin and leptin levels as well as an increase in myocardial collagen deposition in their animals [27]. They also observed an increase in the papillary muscle stiffness suggesting diastolic dysfunction. In a shorter study (12 weeks) using Sprague–Dawley rats, Carroll and collaborators did not report any cardiac abnormalities [25]. Longer studies may be necessary to reveal the true effects of a HF diet in those animals.

13.5. Conclusions

In conclusion, a HF diet rich in saturated fatty acids is associated with increased eccentric hypertrophy and poorer survival in a model of LV volume overload from severe AR. This suggests that dietary habits and obesity may influence the evolution of volume overload cardiomyopathy and may also possibly have an impact on survival. This could be explained in part, by the activation of pro-hypertrophic signals controlled by the GSK3 β and FoxOs and an improper metabolic adaptation of the myocardium. This hypothesis could be tested in humans and the impact of dietary counseling and weight management in patients with VO should be emphasized.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Authors' contributions

WD participated in the design of the study and carried out most of the experiments on the animals and on the tissues afterward. She did interpret the data and drafted the first version of the manuscript. MCD developed most of the techniques use for the animal studies as well as for the echocardiography analysis. ER set up the techniques for most of the tissue analysis in the manuscript and performed some of the gene expression studies. MA participated in the design of the study and helped to draft the manuscript. JC conceived the study, participated in its design and coordination and in the drafting of the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

Acknowledgements

This work was supported by operating grants to Dr. Couet and Arsenault from the Canadian Institutes of Health Research (MOP-61818 and MOP-106479) and the Quebec Heart and Lung University Institute Foundation.

13.5. References

1. Chess DJ, Lei B, Hoit BD, Azimzadeh AM, Stanley WC: Deleterious effects of sugar and protective effects of starch on cardiac remodeling, contractile dysfunction, and mortality in response to pressure overload. *Am J Physiol* 2007, 293:H1853-H1860.
2. Sharma N, Okere IC, Barrows BR, Lei B, Duda MK, Yuan CL, Previs SF, Sharov VG, Azimzadeh AM, Ernsberger P, Hoit BD, Sabbah H, Stanley WC: High-sugar diets increase cardiac dysfunction and mortality in hypertension compared to low-carbohydrate or high-starch diets. *J Hypertens* 2008, 26:1402-1410.
3. Sharma N, Okere IC, Duda MK, Johnson J, Yuan CL, Chandler MP, Ernsberger P, Hoit BD, Stanley WC: High fructose diet increases mortality in hypertensive rats compared to a complex carbohydrate or high fat diet. *Am J Hypertens* 2007, 20:403-409.
4. Chess DJ, Stanley WC: Role of diet and fuel overabundance in the development and progression of heart failure. *Cardiovasc Res* 2008, 79:269-278.
5. Wilson CR, Tran MK, Salazar KL, Young ME, Taegtmeyer H: Western diet, but not high fat diet, causes derangements of fatty acid metabolism and contractile dysfunction in the heart of wistar rats. *Biochem J* 2007, 406:457-467.
6. Okere IC, Chandler MP, McElfresh TA, Rennison JH, Sharov V, Sabbah HN, Tserng KY, Hoit BD, Ernsberger P, Young ME, Stanley WC: Differential effects of saturated and unsaturated fatty acid diets on cardiomyocyte apoptosis, adipose distribution, and serum leptin. *Am J Physiol* 2006, 291:H38-H44.
7. Chess DJ, Khairallah RJ, O'Shea KM, Xu W, Stanley WC: A high-fat diet increases adiposity but maintains mitochondrial oxidative enzymes without affecting development of heart failure with pressure overload. *Am J Physiol* 2009, 297:H1585-H1593.
8. Chess DJ, Lei B, Hoit BD, Azimzadeh AM, Stanley WC: Effects of a high saturated fat diet on cardiac hypertrophy and dysfunction in response to pressure overload. *J Card Fail* 2008, 14:82-88.
9. Rennison JH, McElfresh TA, Okere IC, Vazquez EJ, Patel HV, Foster AB, Patel KK, Chen Q, Hoit BD, Tserng KY, Hassan MO, Hoppel CL, Chandler MP: High-fat diet postinfarction

- enhances mitochondrial function and does not exacerbate left ventricular dysfunction. *Am J Physiol* 2007, 292:H1498-H1506.
10. Bonow RO: Aortic regurgitation. *Curr Treat Opt Cardiovasc Med* 2000, 2:125-132.
 11. van Dieren S, Beulens JW, van der Schouw YT, Grobbee DE, Neal B: The global burden of diabetes and its complications: An emerging pandemic. *Eur J Cardiovasc Prev Rehab* 2010, 17(Suppl 1):S3-S8.
 12. Plante E, Couet J, Gaudreau M, Dumas MP, Drolet MC, Arsenault M: Left ventricular response to sustained volume overload from chronic aortic valve regurgitation in rats. *J Card Fail* 2003, 9:128-140.
 13. Champetier S, Bojmehrani A, Beaudoin J, Lachance D, Plante E, Roussel E, Couet J, Arsenault M: Gene profiling of left ventricle eccentric hypertrophy in aortic regurgitation in rats: Rationale for targeting the beta-adrenergic and renin-angiotensin systems. *Am J Physiol* 2009, 296:H669-H677.
 14. Dhahri W, Couet J, Roussel E, Drolet MC, Arsenault M: Fenofibrate reduces cardiac remodeling and improves cardiac function in a rat model of severe left ventricle volume overload. *Life Sci* 2013, 92:26-34.
 15. Dhahri W, Roussel E, Drolet MC, Gascon S, Sarrhini O, Rousseau JA, Lecomte R, Couet J, Arsenault M: Metformin reduces left ventricular eccentric re-modeling in experimental volume overload in the rat. *J Clin Exp Cardiol* 2012, 13:8.
 16. Battiprolu PK, Lopez-Crisosto C, Wang ZV, Nemchenko A, Lavandero S, Hill JA: Diabetic cardiomyopathy and metabolic remodeling of the heart. *Life Sci* 2013, 92:609-615.
 17. Gu X, Bishop SP: Increased protein kinase c and isozyme redistribution in pressure-overload cardiac hypertrophy in the rat. *Circ Res* 1994, 75:926-931.
 18. Plante E, Lachance D, Gaudreau M, Drolet MC, Roussel E, Arsenault M, Couet J: Effectiveness of beta-blockade in experimental chronic aortic regurgitation. *Circulation* 2004, 110:1477-1483.
 19. Sugden PH, Fuller SJ, Weiss SC, Clerk A: Glycogen synthase kinase 3 (gsk3) in the heart: A point of integration in hypertrophic signalling and a therapeutic target? A critical analysis. *Br J Pharmacol* 2008, 153(Suppl 1):S137-S153.
 20. Ronnebaum SM, Patterson C: The foxo family in cardiac function and dysfunction. *Ann Rev Physiol* 2010, 72:81-94.
 21. Bouchard-Thomassin AA, Lachance D, Drolet MC, Couet J, Arsenault M: A high-fructose diet worsens eccentric left ventricular hypertrophy in experimental volume overload. *Am J Physiol* 2011, 300:H125-H134.

22. Hubert HB, Feinleib M, McNamara PM, Castelli WP: Obesity as an independent risk factor for cardiovascular disease: A 26-year follow-up of participants in the framingham heart study. *Circulation* 1983, 67:968-977.
23. Iacobellis G, Ribaldo MC, Leto G, Zappaterreno A, Vecci E, Di Mario U, Leonetti F: Influence of excess fat on cardiac morphology and function: Study in uncomplicated obesity. *Ob Res* 2002, 10:767-773.
24. Morricone L, Malavazos AE, Coman C, Donati C, Hassan T, Caviezel F: Echocardiographic abnormalities in normotensive obese patients: Relationship with visceral fat. *Obes Res* 2002, 10:489-498.
25. Carroll JF, Zenebe WJ, Strange TB: Cardiovascular function in a rat model of diet-induced obesity. *Hypertension* 2006, 48:65-72.
26. Carroll JF, Summers RL, Dzielak DJ, Cockrell K, Montani JP, Mizelle HL: Diastolic compliance is reduced in obese rabbits. *Hypertension* 1999, 33:811-815.
27. Leopoldo AS, Sugizaki MM, Lima-Leopoldo AP, do Nascimento AF, Luvizotto Rde A, de Campos DH, Okoshi K, Dal Pai-Silva M, Padovani CR, Cicogna AC: Cardiac remodeling in a rat model of diet-induced obesity. *Can J Cardiol* 2010, 26:423-429.
28. Ouwens DM, Boer C, Fodor M, de Galan P, Heine RJ, Maassen JA, Diamant M: Cardiac dysfunction induced by high-fat diet is associated with altered myocardial insulin signalling in rats. *Diabetologia* 2005, 48:1229-1237.
29. Relling DP, Esberg LB, Fang CX, Johnson WT, Murphy EJ, Carlson EC, Saari JT, Ren J: High-fat diet-induced juvenile obesity leads to cardiomyocyte dysfunction and upregulation of foxo3a transcription factor independent of lipotoxicity and apoptosis. *J Hypertens* 2006, 24:549-561.
30. Okere IC, Chess DJ, McElfresh TA, Johnson J, Rennison J, Ernsberger P, Hoit BD, Chandler MP, Stanley WC: High-fat diet prevents cardiac hypertrophy and improves contractile function in the hypertensive dahl salt-sensitive rat. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2005, 32:825-831.
31. Raher MJ, Thibault HB, Buys ES, Kuruppu D, Shimizu N, Brownell AL, Blake SL, Rieusset J, Kaneki M, Derumeaux G, Picard MH, Bloch KD, Scherrer-Crosbie M: A short duration of high-fat diet induces insulin resistance and predisposes to adverse left ventricular remodeling after pressure overload. *Am J Physiol* 2008, 295:H2495-H2502.
32. Rennison JH, McElfresh TA, Chen X, Anand VR, Hoit BD, Hoppel CL, Chandler MP: Prolonged exposure to high dietary lipids is not associated with lipotoxicity in heart failure. *J Mol Cell Cardiol* 2009, 46:883-890.

33. Lachance D, Plante E, Roussel E, Drolet MC, Couet J, Arsenault M: Early left ventricular remodeling in acute severe aortic regurgitation: Insights from an animal model. *J Heart Valve Dis* 2008, 17:300-308.
34. Arsenault M, Zendaoui A, Roussel E, Drolet MC, Dhahri W, Grenier A, Gascon S, Sarrhini O, Rousseau JA, Lecomte R, Couet J: Angiotensin II converting enzyme inhibition improves survival, ventricular remodeling and myocardial energetics in experimental aortic regurgitation. *Circ Heart Fail* 2013, 6:1021-1028.
35. Cheng H, Woodgett J, Maamari M, Force T: Targeting gsk-3 family members in the heart: A very sharp double-edged sword. *J Mol Cell Cardiol* 2011, 51:607-613.
36. Karmazyn M, Purdham DM, Rajapurohitam V, Zeidan A: Leptin as a cardiac hypertrophic factor: A potential target for therapeutics. *Trends Cardiovasc Med* 2007, 17:206-211.
37. O'Shea KM, Chess DJ, Khairallah RJ, Hecker PA, Lei B, Walsh K, Des Rosiers C, Stanley WC: Omega-3 polyunsaturated fatty acids prevent pressure overload-induced ventricular dilation and decrease in mitochondrial enzymes despite no change in adiponectin. *Lipids Health Dis* 2010, 9:95.
38. Taegtmeyer H, Stanley WC: Too much or not enough of a good thing? Cardiac glucolipotoxicity versus lipoprotection. *J Mol Cell Cardiol* 2011, 50:2-5.
39. Cole MA, Murray AJ, Cochlin LE, Heather LC, McAleese S, Knight NS, Sutton E, Jamil AA, Parassol N, Clarke K: A high fat diet increases mitochondrial fatty acid oxidation and uncoupling to decrease efficiency in rat heart. *Basic Res Cardiol* 2011, 106:447-457.
40. Toime LJ, Brand MD: Uncoupling protein-3 lowers reactive oxygen species production in isolated mitochondria. *Free Radical Biol Med* 2010, 49:606-611.

Data supplement

Methods:

Evaluation of LV fibrosis

Sections from paraffin-embedded mid-LV portions were stained using Trichrome Masson coloration. Three sub-endocardial sections/slide from all surviving animals were analyzed for the evaluation of the proportion of LV sub-endocardial fibrosis as the blue (fibrosis)/red (myocytes) ratio using a computerized image analysis system (Image-Pro Plus, Version 4.5, Media Cybernetics, Silver Springs, MD). The sub-endocardial sections were defined as the inner third of the LV wall facing the LV cavity. Peri-vascular fibrosis was evaluated separately from the myocardial fibrosis. The % of peri-vascular fibrosis was evaluated

similarly (fibrosis = blue) and is expressed as the ratio of total area of blue staining minus area of the vessel lumen divided by the total fibrosis area plus the blood vessel area. Results are expressed compared to sham control group.

Results: Levels of sub-endocardial fibrosis were elevated in AR animals compared to controls but no differences were observed in animals fed the HF diet compared to the ones receiving control chow (Fig. S1). A similar pattern was observed in terms of peri-vascular fibrosis where AR animals had an increased area of fibrosis surrounding blood vessels but the HF diet did not impact this parameter (Fig. S2 A-B).

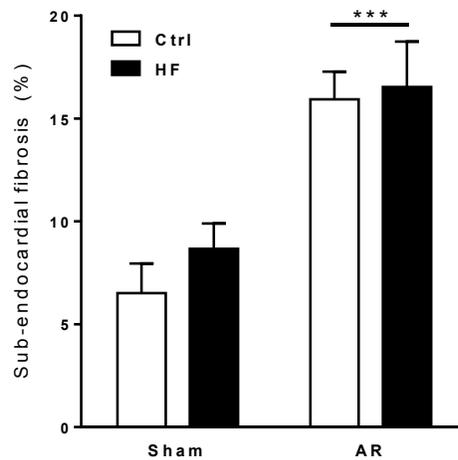
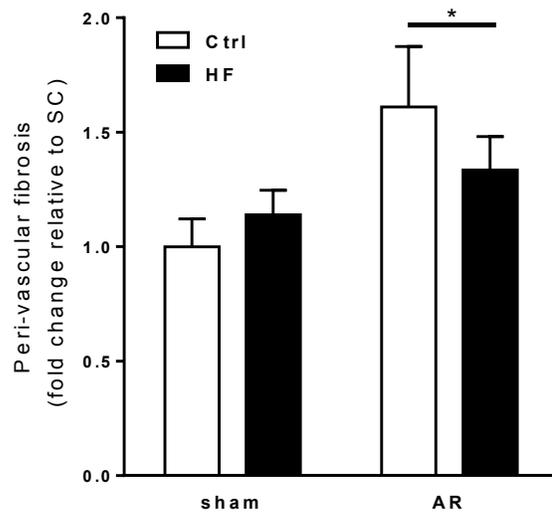


Figure S1: Left ventricular fibrosis, extra-cellular matrix (ECM) remodeling and after 7 months in AR rats fed or not with HF chow. Quantification of subendocardial fibrosis by blue/red ratio from trichrome-Masson stained LV sections. Results are reported in as mean \pm SEM (n=6). ***: $p < 0.001$ vs. sham groups.

A



B

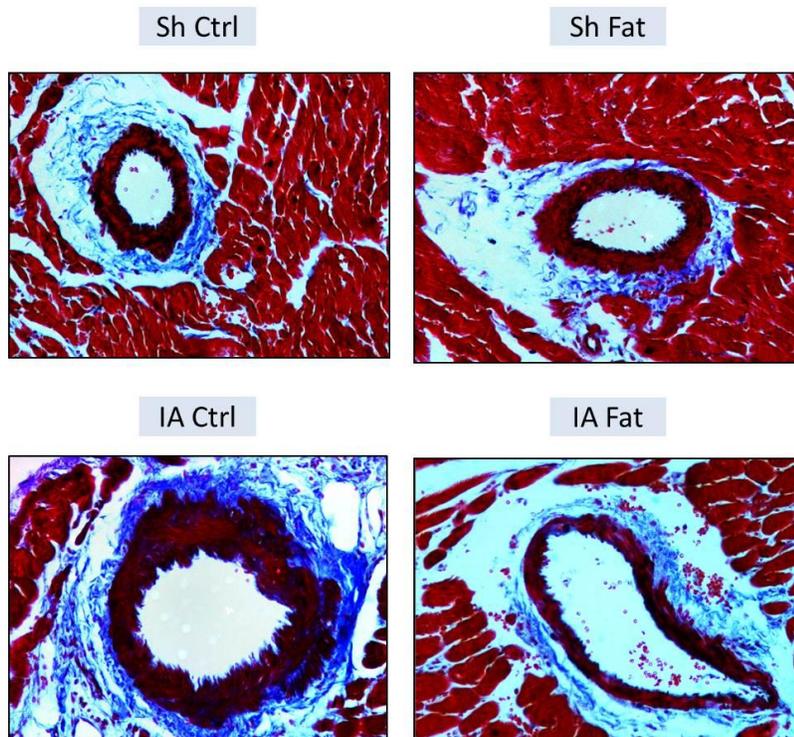


Figure S2: Myocardial peri-vascular fibrosis after 7 months in AR rats fed or not with HF chow. Quantification (A) of peri-vascular fibrosis was performed as described in the Methods section. Results are reported in as mean \pm SEM (n=6). *: $p < 0.05$ vs. sham groups. Representative views are illustrated below (B).

Chapitre 14 : DISCUSSION GÉNÉRALE

14.1. Le concept du remodelage myocardique et potentiels thérapeutiques métaboliques

L'activité contractile permanente du cœur et le rôle central de l'ATP dans le fonctionnement des myofibrilles et des pompes ioniques expliquent aisément le besoin d'une source constante d'énergie. Dans le cardiomyocyte, ce couplage entre la production d'énergie et la contraction est un système polyvalent capable de satisfaire une vaste gamme de charge de travail ^{39,51}. Toutefois, ce système peut atteindre ses limites quand un stress devient chronique comme dans les conditions d'hypertrophie pathologique. Cette dernière est caractérisée par une demande énergétique accrue et des adaptations métaboliques myocardiques significatives doivent être mises en place pour fournir l'énergie suffisante à la masse tissulaire accrue ^{435,587}.

Les changements métaboliques myocardiques ont été bien documentés dans les modèles animaux de l'HVG concentrique et les modèles d'IC ^{54,99,397,588}. L'augmentation des besoins est couverte par une extraction plus poussée de glucose, avec pour contrepartie une β -oxydation des AG réduite, et par un prélèvement sur les réserves glycogéniques. Il existe plusieurs mécanismes impliqués dans ce passage à un métabolisme plus fœtal qui affectent directement la captation des substrats et leur utilisation éventuelle ³⁸⁹⁻³⁹¹.

Nous ne savons pas lesquels de ces changements métaboliques sont adaptatifs ou non, de plus, il est également probable qu'ils affectent différemment le fonctionnement du cœur à différents stades de l'hypertrophie. Pour cela, la compréhension des mécanismes cellulaires impliqués dans les altérations au niveau du métabolisme énergétique est un enjeu majeur pour l'identification de nouvelles pistes préventives et thérapeutiques. Il nous faut donc, à l'heure actuelle et compte tenu de nos connaissances nouvelles, examiner les anomalies métaboliques et nous interroger sur l'opportunité de les contrôler et les moyens pour y prévenir ^{43,223,433,588,589}.

De nombreuses études physiologiques et biochimiques et plus récemment, les études protéomiques et transcriptomiques ont établi le concept d'un déficit énergétique du myocarde hypertrophié et/ou défaillant comme une composante majeure de la

physiopathologie de l'hypertrophie et de l'IC. Fait intéressant, une partie des effets bénéfiques des traitements actuels de l'IC peut être expliquée par des effets d'économie énergétique. En diminuant le volume sanguin circulant, les diurétiques diminuent la SV et donc la demande d'énergie. En réduisant la résistance périphérique et l'activation du système rénine-angiotensine, les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine diminuent la charge contre le cœur, réduisant ainsi la demande énergétique et la stimulation hormonale^{590,591}. Les β -bloquants, qui réduisent la stimulation adrénargique du cœur et la fréquence cardiaque, se traduisent également par des effets d'économie énergétique.

La thérapie métabolique de l'hypertrophie et de l'insuffisance cardiaques est donc un concept original qui a été récemment proposé comme une nouvelle piste de recherche prometteuse. Cette perspective thérapeutique visant à préserver la fonction oxydative et à optimiser le métabolisme énergétique des substrats semble être efficace pour arrêter la progression de plusieurs modèles d'hypertrophie et d'insuffisance cardiaque⁵⁸⁹.

14.2. L'intérêt de cibler le métabolisme énergétique dans l'IA

Très peu d'intérêt pour l'étude de l'IA chronique comme pathologie cardiaque a pu résulter en une absence de recommandation de classe I à la prise en charge médicale des patients dans le guide de pratique actuel de l'*American Heart Association*. Le seul moyen d'arrêter cette progression délétère de l'HVG est une opération de remplacement valvulaire. Il est donc nécessaire de cibler des nouvelles avenues thérapeutiques qui peuvent améliorer la fonction cardiaque chez ces patients et cette échéance chirurgicale.

Nous avons étudié par tomographie par émission de positron l'impact sur le métabolisme énergétique d'une cardiomyopathie dilatée causée par une IA sévère induite chirurgicalement chez des rats Wistar. Dans cette étude, nous avons observé que les cœurs hypertrophiés suite à une SV montrent un changement dans la préférence face aux substrats énergétiques en favorisant le glucose au détriment des AG (voir figure 14.1). De façon intéressante, ce phénomène touche surtout la paroi libre du VG probablement où une bonne partie de la dilatation du cœur a pris place pour accommoder la surcharge de sang à pomper et où les besoins énergétiques sont les plus importants. En effet, chez les animaux contrôles (Sham), la captation du ¹⁸F-FDG (glucose) et du ¹⁸F-FTHA (AG) est relativement homogène dans les parois du VG. Par contre, chez les rats ayant une cardiomyopathie

dilatée depuis 6 mois (phase de compensation), nous avons remarqué une augmentation de la captation du ^{18}F -FDG sur la paroi latéro-postérieure du VG tandis que ce paramètre reste relativement normal pour la paroi septale (inter-ventriculaire). Nous avons remarqué le phénomène inverse dans le cas du ^{18}F -FTHA où la captation des AG est réduite sur la paroi latéro-postérieure du VG (voir figure 14.1).

Cette observation vient en accord avec un autre modèle d'hypertrophie de rat, où la TEP avec le FDG a démontré que l'assimilation du glucose myocardique suit directement l'hypertrophie croissante confirmant ce changement dans la préférence de substrat *in vivo*⁵⁹². Des résultats semblables ont été trouvés chez l'humain, où l'utilisation du ^{11}C -palmitate a montré que la réduction de l'oxydation des AG est un prédicteur indépendant de la masse ventriculaire gauche dans l'hypertension⁵⁹³.

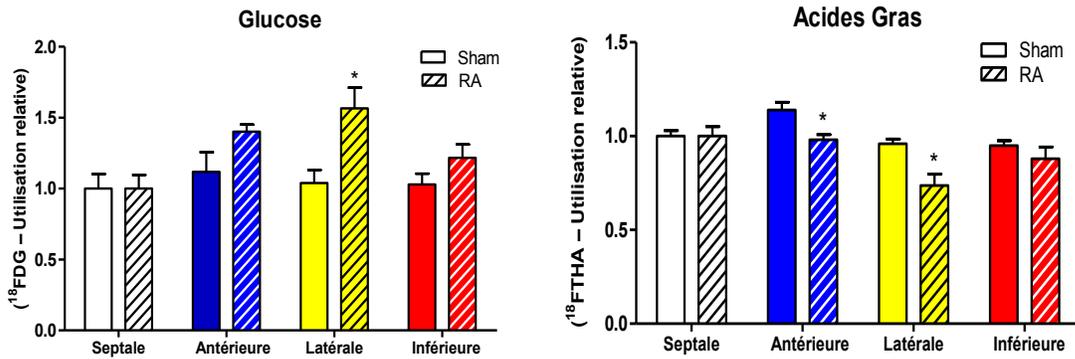
Ces altérations du métabolisme énergétique pourraient contribuer, en partie à la défaillance mécanique des cœurs surchargés tel que montré par la mesure de la fraction d'éjection qui est abaissée et les volumes diastolique et systolique augmentés (voir tableau 14.1).

Tableau 14.1 : Données de la fonction cardiaque évaluées par la μTEP chez les sham et les IA.

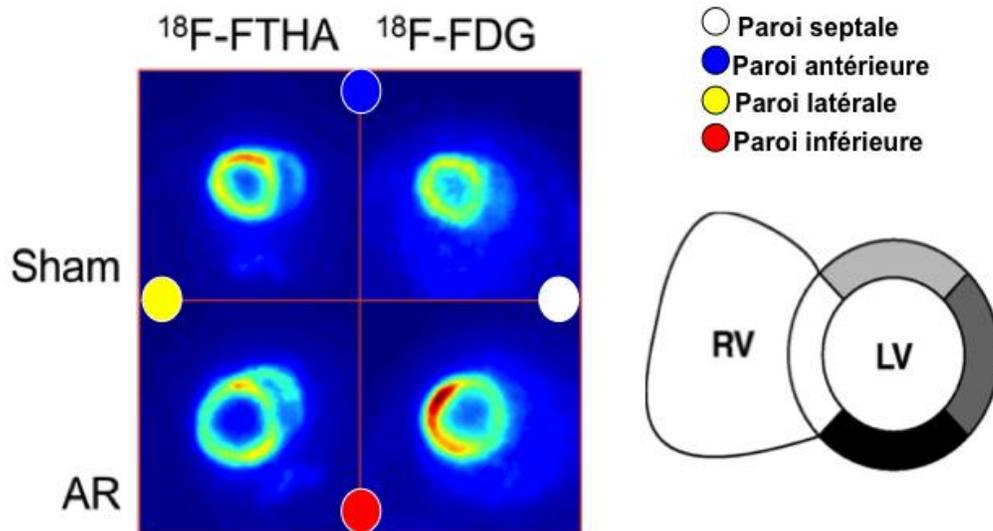
Paramètre	Traceur	Sham (n=5)	IA (n=5)	Valeur p
Volume diastolique, μl	^{18}F FDG	605 \pm 55,5	1426 \pm 167,7	<0,0001
	^{18}F FTHA	699 \pm 67,8	1677 \pm 210,8	<0,0001
Volume systolique, μl	^{18}F FDG	294 \pm 24,4	813 \pm 142,1	<0,0001
	^{18}F FTHA	338 \pm 30,0	1085 \pm 155,0	<0,0001
Volume d'éjection, μl	^{18}F FDG	312 \pm 36,0	613 \pm 43,2	<0,0001
	^{18}F FTHA	361 \pm 40,3	591 \pm 67,8	<0,0001
Fraction d'éjection, %	^{18}F FDG	51 \pm 2,4	45 \pm 3,9	0,196
	^{18}F FTHA	51 \pm 1,8	35 \pm 3,6	0,002

Par conséquent, cette étude étaye l'existence d'une composante métabolique dans la genèse des troubles contractiles dans le myocarde hypertrophié dans notre modèle d'IA. L'imagerie métabolique nous a donc permis de confirmer la présence d'un transfert dans l'utilisation des substrats des AG au glucose associé avec une dysfonction systolique et une hypertrophie ventriculaire.

(A)



(B)



(C)

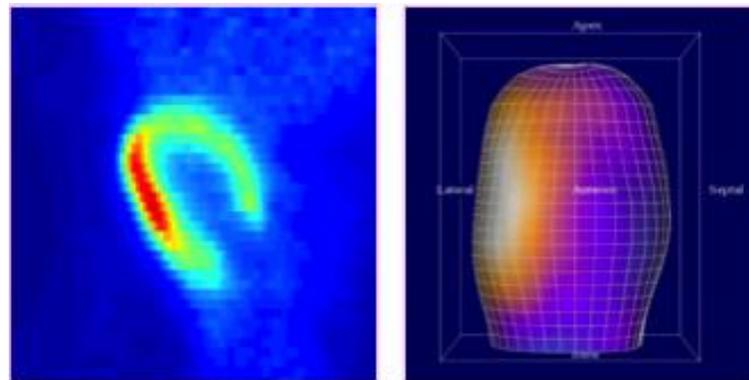


Figure 14.1 : (A) Quantification du niveau de captage du ^{18}F -FTHA et du ^{18}F -FDG dans les 4 parois ventriculaires. Les rats ayant une régurgitation aortique (RA) de 6 mois montrent un niveau d'utilisation d'AG significativement diminué au niveau des parois antérieure et latérale et une augmentation significative dans l'utilisation du glucose au niveau de la paroi latérale du myocarde comparés aux rats contrôles. * : $p < 0,05$ vs. sham. (B) Représentation du niveau de captage du ^{18}F -FTHA (AG) et du ^{18}F -FDG (glucose) au niveau du VG et de leur distribution dans les 4 parois ventriculaires. (C) Schéma du VG en long-axe démontrant le niveau de perfusion du ^{18}F -FDG.

Ces données sur le métabolisme et la fonction étudiés *in vivo* étaient d'ailleurs confirmées, dans nos récentes études ^{585,586,594,595}, par la diminution dans l'expression des principaux gènes impliqués dans le transport (FAT/CD36) et l'utilisation des AG (CPT-1b et PGC-1 α) qui peut être expliquée par la diminution significative de PPAR α connu comme le principal facteur de transcription des gènes de la β -oxydation. Également, nous avons obtenu des données récentes solides suggérant que des changements dans l'activité des enzymes métaboliques myocardiques soient présents dans la SV-HVG excentrique impliquant une oxydation des AG diminuée, un transport dysfonctionnel de substrats, des niveaux stables ou accrus de la glycolyse et une insuffisance mitochondriale ^{585,586}.

Par ces études nous venons de continuer à explorer ces aspects métaboliques d'utilisation de l'énergie myocardique dans notre modèle de SV chronique tout en se concentrant sur les voies de signalisation impliquées dans ce processus. Nous avons ainsi évalué l'impact de deux facteurs moléculaires impliqués dans le métabolisme myocardique en utilisant des médicaments stimulant le PPAR α (fénofibrate) ou l'AMPK (metformine) dans notre modèle d'IA pour examiner leurs rôles potentiels dans l'amélioration du métabolisme myocardique et de l'HVG.

14.3. Les impacts du traitement au fénofibrate dans l'IA

PPAR α est l'un des facteurs de transcription primaires qui agissent comme des capteurs d'AG et d'autres métabolites permettant à la cellule de s'adapter rapidement aux modifications environnementales par l'induction ou l'inhibition de gènes cibles et des voies métaboliques spécifiques. Également, PPAR α est le récepteur nucléaire pour le fénofibrate, un membre de la famille des fibrates initialement identifiés comme activateurs efficaces de la prolifération des peroxyosomes en plus de l'activation des gènes impliqués dans l'oxydation des AG et la réduction des taux de lipides chez les rongeurs.

Le fénofibrate a la capacité d'activer PPAR α ainsi que d'abaisser les taux élevés de TG et de LDL et d'augmenter les taux de HDL. En plus, il possède plusieurs actions pléiotropiques métaboliques et moléculaires dans le cœur permettant une cardioprotection myocardique directe. Il est plausible que les propriétés pléiotropiques du fénofibrate tels que les effets anti-inflammatoires, anti-oxydants et anti-fibrotiques du myocarde et

l'amélioration des performances métaboliques peuvent expliquer son effet cardioprotecteur direct plus que de son action hypolipémiante. Par conséquent, le fénofibrate en monothérapie peut être l'un des traitements de choix chez les patients dyslipidémiques avec des anomalies cardiaques comme l'HVG et l'IC.

Nous avons observé dans des études précédentes une réduction de l'expression de PPAR α chez les rats IA en accord avec d'autres modèles d'HVG et d'IC^{585,586}. Pour cela, cette étude avait comme objectif de cibler cette voie en stimulant PPAR α par son agoniste le fénofibrate et d'examiner l'effet sur la fonction systolique, les voies de signalisation hypertrophique et le métabolisme myocardique.

14.3.1. Le fénofibrate préserve la fonction systolique et empêche la dilatation du VG

Les dimensions cardiaques tels que le diamètre ventriculaire gauche en fin diastole et en fin systole, les épaisseurs de la paroi postérieure et de la paroi septale ont été obtenues à l'aide de l'échocardiographie et utilisées pour évaluer la structure et la fonction ventriculaire gauche. Comme attendu, 8 semaines après la chirurgie, les animaux ayant une IA ont développé une dilatation et une hypertrophie ventriculaire de type excentrique associées avec une dysfonction systolique (diminution de la FE). Le traitement au fénofibrate a clairement diminué la dilatation et le remodelage excentrique du VG et a réduit la dysfonction systolique provoqués par l'IA. À notre connaissance, il s'agit de la première étude qui a montré qu'un traitement pharmacologique a une influence sur le remodelage du VG dans ce modèle animal, mais avec peu d'influence sur l'HVG^{262,596-598}. De plus, la FE a été significativement améliorée chez nos rats.

Ceci est en accord avec d'autres études où le fénofibrate a empêché le remodelage cardiaque et a préservé la fonction systolique ventriculaire^{5,496,599}. Le fénofibrate a pu prévenir avec succès l'hypertrophie cardiaque dans un certain nombre de modèles *in vivo*, y compris celle induite par une diète riche en gras/riche en sucre⁶⁰⁰, par l'aldostérone⁴⁹⁶, par une ligature partielle de l'aorte abdominale⁶⁰¹ ou par une SP⁵⁹⁹. Nos résultats suggèrent la présence au moins de bénéfices en empêchant la dilatation du VG et en préservant la fonction systolique malgré l'absence d'un effet anti-hypertrophique clair. Il

n'est pas encore élucidé si ces effets bénéfiques du fénofibrate sont indirectement liés à l'activation de PPAR α . Cependant, il a été démontré que le fénofibrate est cardio-protecteur dans divers modèles d'IC en atténuant la production induite par l'Ang-II de facteurs pro-inflammatoires et en réduisant la fibrose par l'inhibition de TGF- β 1 et le dépôt de collagène^{5,602}. Le fénofibrate est également impliqué dans la régulation de la synthèse des protéines et empêche l'hypertrophie des cardiomyocytes induite par l'ET-1⁵⁰¹.

14.3.2. Le fénofibrate réduit l'activité des MAPK

L'HVG est souvent associée avec une activation de la cascade de signalisation des MAPK. Dans la plupart de nos études précédentes, nous avons démontré une augmentation de la phosphorylation d'ERK1/2 et de p38 8 semaines après l'induction de l'IA. Ici, nous avons également observé une activation d'ERK1/2 ainsi qu'une tendance pour la p38 chez les animaux IA contrôles par rapport aux rats normaux. Le traitement au fénofibrate a en partie, normalisé ceci. Il a été démontré précédemment qu'il inhibe les MAPK telles que p38 et JNK dans les modèles de l'hypertrophie cardiaque *in vitro*^{603,604 605}.

14.3.3. Le fénofibrate active PPAR α et restore le métabolisme des AG

Comme expliqué plus tôt, PPAR α joue un rôle clé dans le contrôle de la transcription des gènes responsables du transport, l'utilisation et le métabolisme des AG. Nous avons montré que le fénofibrate a restauré l'expression de PPAR α associée avec une amélioration de la préférence des substrats du glucose aux AG chez les rats IA. Nous suggérons ainsi que le fénofibrate protège contre les effets délétères du remodelage ventriculaire, en partie, par une régulation métabolique positive de l'activité des enzymes clés (HADH, MCAD, CPT1/2 et MCD) et des gènes (PPAR α , PGC-1 α et FAT/CD36) de la β -oxydation. Nos résultats suggèrent que la protection assurée par le fénofibrate contre la SV nécessite une régulation positive de l'expression de PPAR α /PGC-1 α . Nous avons également démontré que la cardio-protection assurée par le fénofibrate a été accompagnée par une régulation négative de l'activité de PFK.

L'AMPK, un régulateur clé de l'homéostasie métabolique énergétique cellulaire, est activée sous les conditions de stress énergétique et joue un rôle central dans la régulation du métabolisme cardiaque dans divers modèles de l'hypertrophie cardiaque. Nous avons observé une augmentation des niveaux de phosphorylation de l'AMPK chez les animaux IA par rapport aux contrôles non traités. La régulation négative de l'activité de l'AMPK par le fénofibrate indique que ce dernier pourrait inhiber le transfert vers le métabolisme du glucose, induit entre autre par l'activation de l'AMPK, en faveur du métabolisme des AG. Une telle observation est corroborée par l'association négative entre l'activité de l'AMPK et celle de PPAR α et l'expression de l'ARNm de PGC-1 α . Cela peut refléter une certaine normalisation de la situation énergétique du myocarde dans le cœur de nos animaux. Cependant, nous ne pouvons affirmer avec certitude que le fénofibrate inhibe directement l'expression de l'AMPK via un mécanisme PPAR-indépendant ou par un transfert métabolique comme indiquaient nos résultats. Il est aussi difficile de déterminer si cette normalisation est davantage liée aux effets du fénofibrate sur le remodelage du VG ou à ses effets sur le métabolisme myocardique.

Nous en savons peu sur le rôle de l'AMPK suite à l'administration d'un agoniste de PPAR α *in vivo*. Il a été montré que le fénofibrate augmente l'AMPK indépendamment de PPAR α dans des cellules endothéliales⁵⁰⁵. Un autre agoniste de PPAR α , WY-14643 stimule l'expression d'ARNm de l'AMPK dans des cellules d'hépatome⁶⁰⁶; cependant, il reste à déterminer par quels mécanismes cette stimulation se produit. Néanmoins, une augmentation de l'expression d'ARNm de l'AMPK a été associée à un ratio inchangé de l'AMP/ATP, ce qui suggère que l'augmentation dans l'AMPK induite par WY-14,643 peut être indépendante de l'activité de PPAR α ⁶⁰⁶. Dans notre étude, la normalisation de l'expression cardiaque de pAMPK/AMPK suite à l'administration *in vivo* du fénofibrate chez les rats IA a été associée à une augmentation de l'expression de PPAR α et PGC-1 α , soutenant ainsi l'idée d'un possible mécanisme de cardioprotection AMPK-indépendant.

Nous avons observé que l'activité de la PFK est davantage abaissée par le fénofibrate, une enzyme qui est connue être sous le contrôle de l'AMPK, plaidant en faveur de l'utilisation des AG chez ces animaux. Nous savons, que l'AMPK permet de faciliter le métabolisme du glucose via la translocation de GLUT4 et l'activation de la PFK2¹²⁹.

L'AMPK peut également augmenter l'oxydation des AG par la régulation de l'ACC β ⁹⁸. Bien que des études antérieures indiquent une association positive entre l'AMPK et PPAR α /PGC-1 α ^{506,607,608}, il est important d'indiquer que ces associations ont été établies dans le muscle squelettique et que le cœur peut réagir différemment aux changements structurels et fonctionnels.

Il n'est pas clair comment les effets métaboliques connus du fénofibrate pourraient avoir un impact sur le remodelage du VG dans notre modèle. Il est possible que la réduction de la dilatation du VG soit un facteur majeur contribuant au maintien d'un profil métabolique normal du myocarde. Nous devons aussi se rappeler qu'en plus de leur rôle métabolique dans le cœur, les fibrates sont censés exercer un certain nombre d'effets non-métaboliques dans le tissu myocardique en particulier, sur l'inflammation, le remodelage de la MEC, le stress oxydatif, et la régulation de l'hypertrophie ^{495,609}. Il est admis que certaines de ces actions comme étant indépendantes de PPAR α ¹⁹⁸.

Dans un modèle murin de SP, la réactivation de PPAR α par des agonistes a empêché le transfert vers l'utilisation du glucose mais a conduit à une baisse sévère de la puissance et de l'efficacité cardiaque dans le cœur hypertrophié ⁶¹⁰. La conclusion de cette étude était que la régulation à la baisse de PPAR α est essentielle pour le maintien de la fonction contractile du cœur hypertrophié. La signification de ces résultats pour l'hypertrophie cardiaque humaine n'est pas encore connue. À ce jour, il n'existe aucun rapport d'aggravation de la fonction cardiaque dans l'hypertrophie cardiaque humaine avec l'utilisation de fibrates.

14.4. Les impacts du traitement à la metformine dans l'IA

L'effet régulateur métabolique qu'exerce l'AMPK est particulièrement intéressant, puisque son activation repose sur une amélioration de l'état énergétique des cellules en stress, récemment validée dans de nombreuses études réalisées chez l'homme et les rongeurs. L'AMPK est identifiée comme un senseur métabolique incontournable permettant l'ajustement précis des besoins et la disponibilité énergétiques cellulaires et systémiques. Il a été suggéré que l'AMPK pourrait être impliquée dans la genèse des défauts métaboliques qui aboutissent au développement de l'hypertrophie cardiaque. Dans

ce contexte, l'AMPK, a été proposée comme une cible thérapeutique d'intérêt majeur. Plusieurs études ont observé une activation initiale de l'AMPK en réponse à l'hypertrophie cardiaque qui diminue au cours de la progression de la maladie. Nous avons émis l'hypothèse que l'AMPK pouvait être altérée en situation d'IA chronique, contribuant ainsi à des aberrations métaboliques. L'objectif de notre deuxième était alors d'éclaircir le rôle de l'AMPK cardiaque avec l'idée qu'elle pourrait être une cible thérapeutique pour l'IA.

En 2001, Zhou et coll. ont montré que les effets bénéfiques de la metformine sur la glycémie et la lipémie étaient AMPK-dépendants⁴⁵⁴. La metformine, un médicament ayant des propriétés de sensibilisation à l'insuline, est largement utilisé chez les patients atteints de DT2 et est connu comme un activateur de l'AMPK. Dans les essais cliniques à grande échelle, chez les patients atteints de diabète, la metformine réduit le risque à long terme de décès d'origine cardiovasculaire et ayant un infarctus myocardique⁶¹¹. Parce que l'activation de l'AMPK protège contre l'HVG induite par la SP et l'IC, nous avons testé l'hypothèse que la metformine exerce son effet protecteur également à travers l'AMPK dans notre modèle de SV-HVG excentrique.

14.4.1. La metformine améliore la fonction systolique et empêche la dilatation du VG

Le traitement avec la metformine (150 mg/kg) de huit semaines n'a pas permis de réduire la masse ventriculaire gauche mais semble avoir eu un effet sur le remodelage de celui-ci, un peu comme cela avait été le cas pour le fénofibrate. De plus, la metformine semble induire un remodelage de nature concentrique tant dans le VG normal que le VG dilaté, comme démontré par l'augmentation de l'épaisseur relative des parois. Il s'agit d'un résultat intrigant, car il s'accompagne d'une normalisation de la fonction systolique chez les animaux IA comme nous montrent les données échocardiographiques. Ici, et similairement à notre première étude avec le fénofibrate, il n'est pas clair comment la metformine (via l'activation de l'AMPK ou non) peut moduler le remodelage du VG dans notre modèle. Par contre, ce remodelage plus concentrique peut expliquer comment la fraction d'éjection puisse apparaître comme normalisée. En général, Le remodelage concentrique du VG n'est pas responsable de dysfonction systolique.

Dans une étude faite sur un modèle de SV causée par une fistule aorto-cave (SV) chez le rat, il a été démontré que la metformine n'a aucun effet sur le poids du cœur et du VG chez ces rats tandis que les données d'échocardiographie ont montré une tendance similaire à la nôtre (moins de dilatation). Dans cette étude, la dose de la metformine était deux fois celle que nous avons utilisé ⁶¹². Dans une autre étude chez le rat avec un post-infarctus du myocarde, la metformine a diminué la dilatation du cœur tout en limitant l'amincissement de la paroi ventriculaire ⁴⁶⁸. Nous pensons que cette observation est en rapport avec les effets AMPK-indépendants de la metformine sur le remodelage myocardique. Il a été montré que la metformine est capable de ralentir le développement de la fibrose interstitielle du myocarde ⁴⁶⁷. La fibrose interstitielle est généralement moins présente dans l'hypertrophie induite par la SV que dans des situations de SP. Notre équipe a démontré précédemment que la teneur du VG en collagène est encore normale après 8 semaines chez le rat IA, même si l'expression de nombreux gènes des composants de la MEC est augmentée ⁵⁸⁵. Ici, nous avons observé que la metformine augmente encore l'expression du gène de collagène de type I et III dans les VG des IA. Une tendance d'expression plus élevée d'autres composants de la MEC est également présente chez les animaux traités par la metformine. Ceci suggère que la metformine pourrait être associée à un remodelage important des protéines de la MEC. Cependant cela peut aussi être un signe précoce de l'augmentation de la fibrose myocardique dans un état plus chronique.

14.4.2. La metformine active l'AMPK et inhibe le signal pro-hypertrophique

Le principal mécanisme d'action de la metformine est censé être via l'activation de l'AMPK ⁶¹³. Après 8 semaines, les niveaux de phosphorylation de l'AMPK dans le VG étaient semblables à ceux des rats IA contrôles. Comme attendu, la metformine a augmenté significativement la phosphorylation de l'AMPK chez ces animaux.

Nous avons observé que la metformine a diminué chez les rats IA les niveaux de phosphorylation de p38 et de JNK. Les deux kinases ont été montrées pour avoir une action pro-hypertrophique ⁴⁶⁷. Ce résultat montre que la metformine peut exercer des effets métaboliques bénéfiques indépendamment de l'AMPK probablement via la signalisation liée à p38 et/ou à JNK ⁴⁷⁷. Egalement, il a été montré que la metformine inhibe l'activation

de JNK ⁶¹⁴. Cependant, nous ne savons pas si la metformine agit sur le remodelage du VG dans notre modèle par l'inhibition de ces voies. Il est à noter que plusieurs études ont démontré que la metformine exerce des effets biologiques et physiologiques par des voies moléculaires indépendantes de l'AMPK, et ces effets peuvent influencer également l'hypertrophie cardiaque. Il existe aussi des données indirectes que la metformine peut augmenter la production cardiaque de l'adénosine. Ce dernier protège contre l'hypertrophie et l'IC et, tout comme l'AMPK activée, atténue également la signalisation de mTOR, diminuant ainsi la consommation d'énergie ⁶¹⁵. D'autres études ont démontré que la metformine modifie l'activité de STAT3 indépendamment de l'AMPK ⁶¹⁶. STAT3 joue un rôle dans la stimulation de l'hypertrophie cardiaque, et son inactivation peut donc jouer un rôle dans les effets anti-hypertrophique de la metformine.

14.4.3. La metformine améliore le métabolisme myocardique dans l'IA

Nous avons observé que la metformine n'a pas pu augmenter les activités de la HADH, de la MCD et de la PFK chez les rats IA qui étaient significativement diminuées dans le groupe non traité. Par contre, les activités de la CPT et de la CS sont significativement augmentées par la metformine chez ces animaux. Il faut se rappeler que ces déterminations d'activités enzymatiques sont faites *in vitro* et ne sont possiblement un reflet tout à fait fidèle de la situation *in vivo*. Egalement, nous avons observé que le traitement avec la metformine a été associé avec une augmentation de l'expression de GLUT1 et une activité élevée de l'HK chez les IA ce qui prouve que l'AMPK activée stimule la glycolyse et induit la translocation des transporteurs de glucose ⁶¹⁷. La stimulation de la glycolyse est une autre activité établie de l'AMPK qui se réalise via un mécanisme insulino-indépendant. Des études récentes ont montré que l'activation de l'AMPK augmente l'expression des transporteurs de glucose, GLUT1 et GLUT4. L'AMPK stimule également la glycolyse directement par l'activation des PFK, catalysant la première étape régulatrice de la glycolyse. L'activation de l'AMPK peut influencer le métabolisme cardiaque par la régulation de l'utilisation et de la phosphorylation oxydative des AG, la source primaire de l'ATP dans le myocarde normal. L'AMPK phosphoryle l'ACC qui catalyse la formation du malonyl-CoA. Dans le cœur, le malonyl-CoA est un inhibiteur de la CPT-1 localisée au niveau de la MME et considérée comme étant l'étape limitante pour interioriser ou rendre

les AG comme substrats dans la phosphorylation oxydative. Il est possible que dans le VG des rats IA, l'ACC a été inhibée par l'AMPK activée et que son produit ; le malonyl-CoA a été réduit.

14.5. Exploration de l'impact de l'obésité sur l'IA ; rôles de la diète riche en gras

Plusieurs études ont montré les effets défavorables et les conséquences cliniques de l'accumulation intracardiaque des lipides sur la fonction cardiaque, particulièrement chez les patients diabétiques ou obèses^{524,618}. Les individus obèses se présentent fréquemment avec une hypertension, une HVG et une contractilité détériorée qui pourraient être en raison des effets toxiques des lipides dans le myocarde ou dans la circulation⁶¹⁹⁻⁶²¹. Les liens entre la diète, l'hypertrophie et des anomalies métaboliques myocardiques sont multiples. La consommation d'aliments riche en gras influence directement les niveaux d'insuline lesquels peuvent stimuler des voies pro-hypertrophiques comme Akt/mTOR^{214,224}. Les niveaux des adipokines (leptine et adiponectine) sont aussi directement sous l'influence de la diète et pourraient être impliqués dans la réponse hypertrophique du VG.

Nous avons ainsi exploré les effets à long terme de la consommation d'une diète riche en gras sur la survie, le développement de l'HVG ainsi que sur le remodelage du métabolisme énergétique cardiaque dans notre modèle de SV-HVG. La consommation pendant 30 semaines d'une diète riche en gras a contribué à augmenter le remodelage hypertrophique cardiaque des animaux IA sans toutefois affecter la fonction systolique. Nous avons alors tenté d'expliquer cette augmentation du remodelage cardiaque en vérifiant le niveau plasmatique des adipokines ainsi que l'activité de diverses voies connues pour induire l'hypertrophie en particulier celle d'Akt, et de mTOR. Nous avons observé une élévation de la concentration de la leptine sérique chez les IA sacrifiés 2 mois après l'induction de la chirurgie, ce qui fournit une explication de l'augmentation de l'hypertrophie chez ces animaux. La leptine a la capacité d'induire l'hypertrophie des cardiomyocytes⁶²². Une étude a aussi démontré que la sécrétion de cette hormone menait au développement d'une hypertrophie excentrique⁶²³. Nous avons aussi observé d'une part, une atténuation de l'activation de la voie pro-hypertrophique Akt/mTOR et une régulation négative de deux voies anti-hypertrophique soit la GSK-3 β et FoxO, d'autre part.

14.5.1. La diète riche en gras réduit la survie et amplifie l'HVG sans affecter la fonction systolique

La consommation d'une diète riche en gras pendant 30 semaines a été associée à une augmentation de la mortalité et de l'HVG chez les rats ayant une IA sévère comparés à ceux recevant la diète standard. La raison exacte ne peut pas être déterminée avec certitude mais nous savions que la survie chez l'humain ayant une IA est directement liée à la dilatation et l'hypertrophie du VG ce qui vient en accord avec les résultats chez nos animaux. Des cœurs plus dilatés et hypertrophiés sont évidemment plus fragiles et peuvent être sujets à une arythmie et une mort subite. Certaines études ont démontrés que la consommation d'une diète riche en gras ralentissait le remodelage hypertrophique cardiaque causée par une SP⁶²⁴⁻⁶²⁶ par une amélioration de la fraction d'éjection ainsi qu'une diminution de la masse du VG⁶²⁴. Dans notre étude, nous n'avons pas observé d'amélioration chez nos animaux nourrit avec la diète riche en gras.

Pour les animaux ayant l'IA, un stimulus pro-hypertrophique puissant (SV) imposé soudainement à un cœur avec des taux préexistants élevés de leptine pourrait induire une réponse hypertrophique excessive. Par conséquent, la réponse à ce stress pro-hypertrophique a pu être amplifiée dès le début puisque la consommation de la diète riche en gras a été commencée une semaine avant l'induction de la maladie. Le cœur passe par une phase d'hyper-contractilité pour compenser la SV aigüe dans les premiers jours suivant l'induction de l'IA⁶²⁷. Il doit maintenir sa capacité contractile et activer simultanément le processus de son remodelage. L'activation de ces deux processus à la fois nécessite de l'énergie supplémentaire et la diète riche en gras pourrait avoir causé assez de troubles métaboliques qu'elle l'a modifié. Dans des études précédentes, sur des modèles de SP de rongeurs, la diète riche en gras était commencée au moment de la chirurgie. Cela peut expliquer pourquoi les auteurs n'ont pas observé une augmentation de l'HVG dans leurs modèles malgré la similarité des données métaboliques à la fin de leurs protocoles^{625,626}.

Récemment, une étude réalisée sur des rats Wistar a montré que la consommation d'une diète riche en gras pendant 15 semaines a causé une HVG chez les animaux normaux en santé ainsi qu'une augmentation de poids du corps et des niveaux d'insuline et de leptine plasmatiques, ainsi qu'une augmentation de dépôt myocardique de collagène⁶²⁸. Ils ont

également observé une augmentation de la rigidité du muscle papillaire suggérant un dysfonctionnement diastolique. Dans une étude plus courte (12 semaines) chez des rats Sprague-Dawley, Carroll et coll., n'ont rapporté aucune anomalie cardiaque ⁶²⁹. Contrairement à la souris dans Raheer et coll. ⁶³⁰, nos rats ne semblent développer aucun signe d'un syndrome métabolique ou de diabète malgré une augmentation importante de la masse corporelle. Néanmoins, nos résultats sont en accord avec quelques observations faites dans leur modèle de souris avec une SP. Cette différence était expliquée dans plusieurs études qui ont montré chez le rat comme chez la souris que l'effet d'une diète hypercalorique sur l'apparition de l'obésité dépendait de la souche de l'animal ⁶³¹. Une variabilité importante dans la réponse à l'obésité induite par une diète existe également au sein d'une même souche.

14.5.2. La diète riche en gras module les voies de signalisation hypertrophiques

Comme nous l'avons déjà mentionné, la voie de mTOR est une protéine kinase qui joue un rôle critique dans la traduction des protéines pro-hypertrophiques et dans la croissance cellulaire mais également dans le métabolisme énergétique. Elle est donc, à la fois, activée par l'Akt pour exercer son rôle pro-hypertrophique et inhibée par l'AMPK par phosphorylation de TSC2 afin de s'adapter aux conditions de stress, ce qui corrèle parfaitement avec nos résultats. Ici nous avons montré que c'est plutôt l'effet inhibiteur de l'AMPK qui a été observé chez les animaux IA sous la diète riche en gras. En effet, malgré l'expression augmentée de l'Akt chez ce groupe, mTOR était normalisée. Ceci suggère que le signal pro-hypertrophique n'était pas transmis via cette voie chez ces animaux. Tout d'abord, nous avons pensé qu'elle aurait été plus activée chez les animaux nourris avec la diète riche en gras considérant qu'ils ont développé une HVG plus importante, par contre nous avons plutôt observé le contraire. p-mTOR, p-p70S6K ont été fortement exprimées chez les rats IA sous la diète contrôle et ont été normalisées chez les IA nourris avec la diète riche en gras, sauf celle du 4E-BP1 qui diminue. Ceci est probablement dû à l'action de l'AMPK qui s'est activée par la haute teneur en AG venant de la diète afin de stimuler leur oxydation. Il est déjà établi qu'une HVG augmentée peut être également causée par une inhibition de l'activité des protéines anti-hypertrophiques, comme la GSK-3 β et les FoxOs. Nous avons observé une augmentation de la phosphorylation de ces deux protéines

chez les rats IA nourris avec la diète riche en gras, suggérant leur inactivation. La phosphorylation de GSK-3 β altère son rôle inhibiteur de différentes voies liées à l'hypertrophie ou la croissance cardiaque, y compris les signalisations de Wnt et de NFAT⁶³². FoxO favorise la transcription de l'atrogin-1, une ubiquitine ligase qui favorise la dégradation de la calcineurine et peut empêcher l'activation de NFAT⁶³³.

Il est également établi que les facteurs de transcription FoxO sont de bons candidats régulés par l'AMPK. Les FoxO intègrent les signaux cellulaires issus de l'insuline, les facteurs de croissance, les cytokines, et le stress oxydatif. En réponse à l'insuline, l'Akt phosphoryle les protéines FoxO, les séquestrant ainsi dans le cytoplasme et inhibant leur fonction. Il a été démontré que des stimuli activant l'AMPK peuvent également inhiber la transcription des gènes FoxO1-dépendante⁶³⁴. Cependant, il n'est pas encore connu si les membres de la famille de FoxO sont les cibles directes de l'AMPK. Les voies d'Akt et de l'AMPK peuvent orchestrer une série de régulation transcriptionnelle (par FoxO) et post-transcriptionnelle (via mTOR) qui permettent au myocarde de s'adapter aux changements dans l'équilibre nutritif. Dans l'obésité ou le diabète, l'expression génique dépendante des FoxO favorise certaines des caractéristiques délétères associées à l'hyperglycémie, l'intolérance au glucose et la lipotoxicité⁶³⁵.

14.5.3. La diète riche en gras maintient le métabolisme myocardique

Notre étude nous a aussi permis de noter que, malgré la présence d'une importante HVG, les animaux IA consommant la diète riche en gras avaient maintenu une bonne fonction mitochondriale, un résultat également montré par d'autres études utilisant des modèles de SP et d'IC^{624-626,636}. Les activités des enzymes impliquées dans le métabolisme des AG, en particulier HADH et MCD, sont augmentées chez les IA consommant la diète riche en gras. De même, chez les animaux normaux, nous avons observé les mêmes effets de la diète au niveau enzymatique et aussi dans l'expression d'ARNm des gènes impliqués dans le transport et l'utilisation des AG. Par contre, le profil d'expression de ces gènes ne semble pas changer sous l'effet de la diète riche en gras, à l'exception de FAT/CD36 qui a été normalisée. Certaines études ont attribué les améliorations présentes chez des animaux nourris avec une diète riche en gras à une élévation du niveau de PPAR α ^{624,626}. Ici, nous

n'avons observé aucun changement dans l'expression de ce facteur, mais plutôt une tendance non significative, de même pour son co-activateur PGC-1 α . Cela dit, l'absence de cet effet au niveau de l'expression des autres gènes régulés par PPAR α est expliquée par l'inactivation de ce dernier chez ces animaux.

Les AG consommés à partir de l'alimentation peuvent principalement et préférentiellement activer PPAR α dans le foie permettant ainsi le catabolisme lipidique hépatique. Depuis que le PPAR α hépatique est un facteur de transcription qui régule les gènes métaboliques clés impliqués dans les voies d'utilisation des AG, une diminution de l'oxydation de ces derniers dans d'autres organes métaboliquement actifs comme le cœur pourraient donc s'expliquer soit par la nature des AGL circulants ou par le remodelage établie dans le métabolisme cardiaque et induit par l'HVG. La seule exception concerne l'expression du principal transporteur cardiaque d'AG ; FAT/CD36, qui a été normalisée chez les rats IA consommant la diète riche en gras. Il est connu que ce gène est également sous contrôle de l'AMPK qui est activée chez ces animaux. L'expression normalisée du gène FAT/CD36 pourrait expliquer ainsi une captation rétablie des AG par les cardiomyocytes et leur entrée dans les voies de la β -oxydation qui semble être stimulée par l'augmentation de l'activité de ces enzymes; HADH, MCD et une tendance dans l'expression de MCAD.

Nous avons observé aussi une faible diminution de l'activité de l'HK due à la diète riche en gras, mais reste toujours augmentée par rapport aux animaux contrôles. Ceci peut être expliqué, entre autre, par la régulation enzymatique selon le cycle de *Randle* ; l'activité augmentée des enzymes β -oxydatives exerce un contrôle négatif sur celle des enzymes de la glycolyse. Des taux élevés de l'oxydation des AG augmentent aussi la production de citrate. Ce dernier inhibe la glycolyse en inhibant l'une des enzymes clé ; la PFK. Cependant, nous avons observé que cette dernière a fortement augmenté d'activité sous l'effet de la diète, en même temps chez les animaux normaux que les IA. Chez les IA, ceci est probablement dû à l'action stimulatrice de l'AMPK augmentée. L'expression normalisée au niveau membranaire de GLUT4 et de l'IRS1 indique un retour à un niveau basal de l'entrée du glucose en présence d'une récapitulation du flux d'AG à travers FAT/CD36. De ces données, nous pouvons conclure que la consommation de la diète riche

en gras semble avoir un effet stimulateur sur la β -oxydation chez les animaux normaux ainsi que chez les animaux IA. Nous avons également évalué les enzymes impliquées dans le cycle de Krebs (CS) ainsi que dans la chaîne respiratoire (complexe I et SDH). L'activité de la CS diminuée chez les IA contrôles, a été également rétablie sous l'effet de la diète riche en gras. L'activité du complexe I ne semble pas être altérée chez les IA, mais elle a été significativement augmentée chez les animaux sous la diète riche en gras. Egalement, il y a une tendance d'augmentation de l'activité de la SDH chez ces animaux.

Nous pouvons déduire de ces résultats que la capacité oxydative générale du myocarde des rats IA ne semblait pas être modifiée négativement par la consommation de la diète riche en gras. Par contre, il a été rapporté que la consommation de cette diète par des rats sains était associée à une augmentation de la β -oxydation et de la consommation d'oxygène sans augmentation de la fonction, et donc à une diminution de l'efficacité cardiaque. Ceci a été corrélé avec une augmentation du découplage mitochondrial (UCP3), peut-être comme un mécanisme de protection contre la production des ROS^{637,638}. Nos résultats suggèrent un statut similaire chez nos animaux normaux. Chez les IA, le découplage semble moins actif comme observé par le retour à l'expression normale de l'UCP3. Cela pourrait diminuer la capacité des mitochondries à inhiber la production des ROS. En même temps, l'expression de la translocase d'adénosine (ANT) demeure réduite chez les deux groupes d'IA, plaidant en faveur d'une réduction de la synthèse mitochondriale d'ATP et dans le transfert d'énergie.

14.5.4. Recommandations diététiques pour la prévention et le traitement de l'IA

Les données de notre troisième étude présentée ci-dessus lèvent une question importante : dans une situation clinique, devrait une diète pauvre en gras saturés être recommandée aux patients ayant une IA établie ? La réponse n'est pas claire, cependant, nous avons pu montrer qu'une consommation augmentée de gras saturés est associée avec une diminution du taux de survie et une intensification de l'HVG chez nos animaux malades. Il est intéressant de confirmer ces données par une étude clinique pour valider nos résultats.

Chapitre 15 : CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

15.1. Conclusions générales

La flexibilité métabolique du cœur est cruciale à sa capacité d'adaptation aux différentes conditions physiologiques et pathologiques. L'hypertrophie ventriculaire gauche induite par une surcharge de volume et l'IC avancée sont caractérisées non seulement par une détérioration de la performance mécanique cardiaque, mais aussi par une altération du métabolisme myocardique par la réduction de l'expression des gènes impliqués dans l'oxydation des AG, ce qui pourrait contribuer à une diminution de la flexibilité métabolique et à une déficience énergétique qui favorise l'aggravation de la maladie.

Est-ce que le passage métabolique des AG au glucose est bénéfique ou nocif pour le cœur des IA ? Nous pensons que, à court terme, au moins pendant l'hypertrophie précoce, la réduction relative de la disponibilité de l'oxygène et de l'ATP peut exiger ce changement dans le métabolisme car il permettrait de réduire de façon significative la nécessité de l'oxygène. D'après les résultats de nos deux premières études, nous proposons que les interventions thérapeutiques qui augmentent l'activité de l'AMPK (metformine) et de PPAR α (fénofibrate) dans l'hypertrophie cardiaque puissent être bénéfiques pour la fonction myocardique à court terme afin de restaurer l'expression et les activités de certaines protéines et enzymes métaboliques. À long terme, le maintien de la fonction myocardique peut exiger également l'activation de PPAR α pour éviter l'épuisement en énergie et la lipotoxicité cardiaque. Autres que de prévenir l'épuisement de l'énergie et la lipotoxicité, l'activation PPAR α peut également réguler à la hausse les processus anti-inflammatoires et anti-oxydantes cardiaques.

Dans notre première étude ⁶³⁹, on a montré qu'un traitement au fénofibrate de 8 semaines a été associé à une diminution de la dilatation ventriculaire, à un remodelage moins excentrique et à une amélioration de la fonction systolique dans un modèle de la SV du VG causée par une IA sévère. Ces effets bénéfiques ont pu être liés à des effets métaboliques du myocarde exercés par le médicament sur le VG. Le récepteur nucléaire

PPAR α , suite à son activation par le fénofibrate, pourrait favoriser l'expression génique de nombreuses enzymes intervenant dans le métabolisme des AG et par conséquent, le métabolisme myocardique était généralement amélioré chez ces animaux (*voir figure 15.1*).

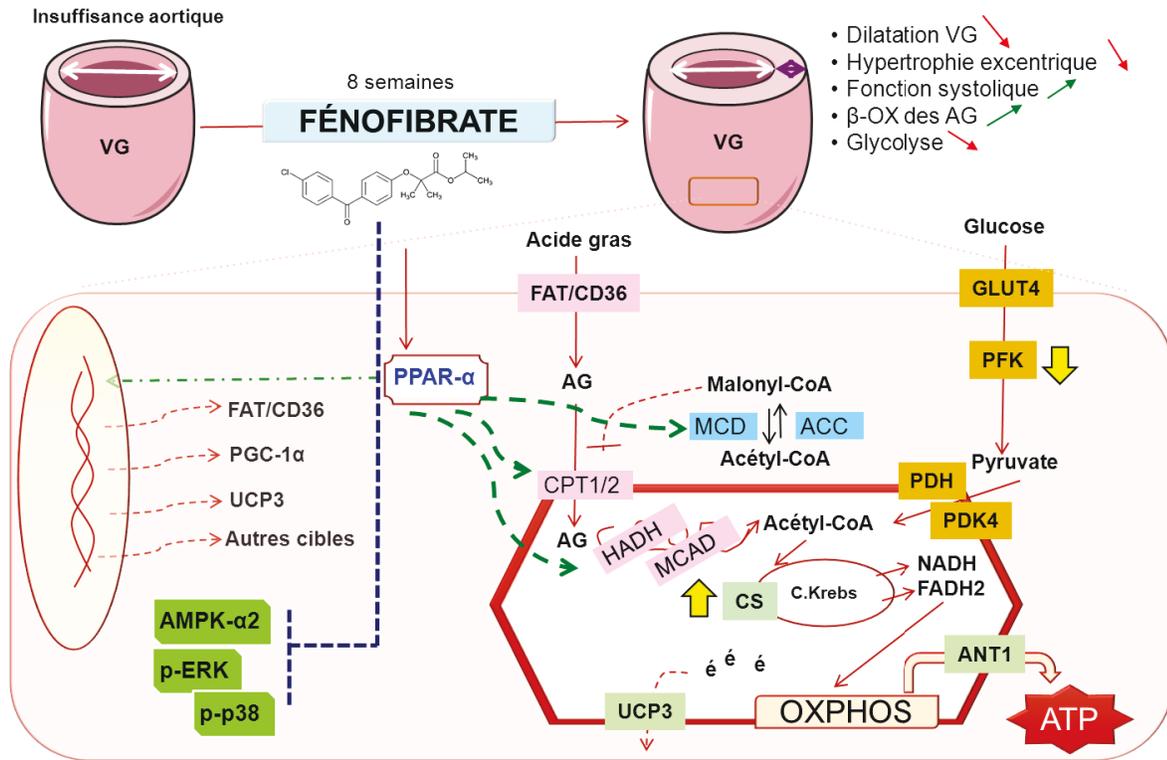


Figure 15.1 : Schéma de synthèse décrivant les effets du traitement au fénofibrate sur l'hypertrophie ventriculaire gauche et le métabolisme myocardique dans l'IA (©WDH).

La metformine a également aidé à maintenir la fonction systolique et à augmenter l'activité des enzymes métaboliques⁶⁴⁰. Cependant, ce traitement n'était pas assez puissant pour empêcher l'hypertrophie du VG (*voir figure 15.2*). Ce résultat était attendu compte tenu de la contrainte sévère et aiguë imposée au VG. Le fait que la metformine a été en mesure de réduire la dilatation du VG et le remodelage excentrique dans de telles conditions de stress aigu, est en soi remarquable et passionnant. Des études à long terme seront nécessaires pour répondre à la question si cet effet cardioprotecteur de la metformine persistait à une plus longue période de la maladie.

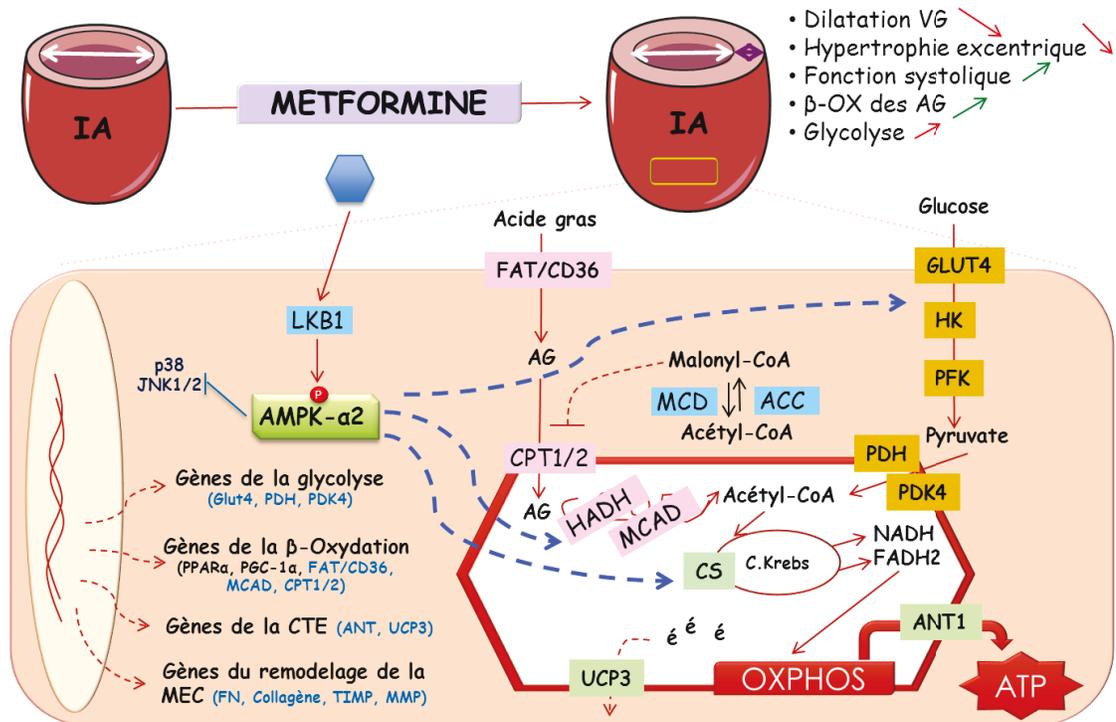


Figure 15.2 : Schéma de synthèse décrivant des effets du traitement à la metformine sur l'hypertrophie ventriculaire gauche et le métabolisme cardiaque l'IA (©WDH).

Notre troisième étude ⁶⁴¹ nous a permis de constater les effets de la consommation d'une diète riche en gras pendant une période de 30 semaines sur le développement de l'hypertrophie cardiaque et le maintien du métabolisme énergétique dans notre modèle d'IA. Nous avons noté que la consommation d'une diète riche en gras contribuait à accélérer le développement de l'hypertrophie excentrique normalement observée en situation de SV ainsi qu'à une mortalité élevée. Les effets connus de cette diète sur le développement de la résistance à l'insuline, l'obésité et le DT2 font de cette diète un facteur de risque important pour les MCV. Ceci suggère que les habitudes alimentaires peuvent influencer l'évolution de la cardiomyopathie de SV et, peut-être, peuvent avoir aussi un impact sur la survie. Cela pourrait s'expliquer en partie par l'activation des signaux prohypertrophiques contrôlés par la GSK3β et FoxO et une adaptation métabolique inappropriée du myocarde (voir figure 15.3).

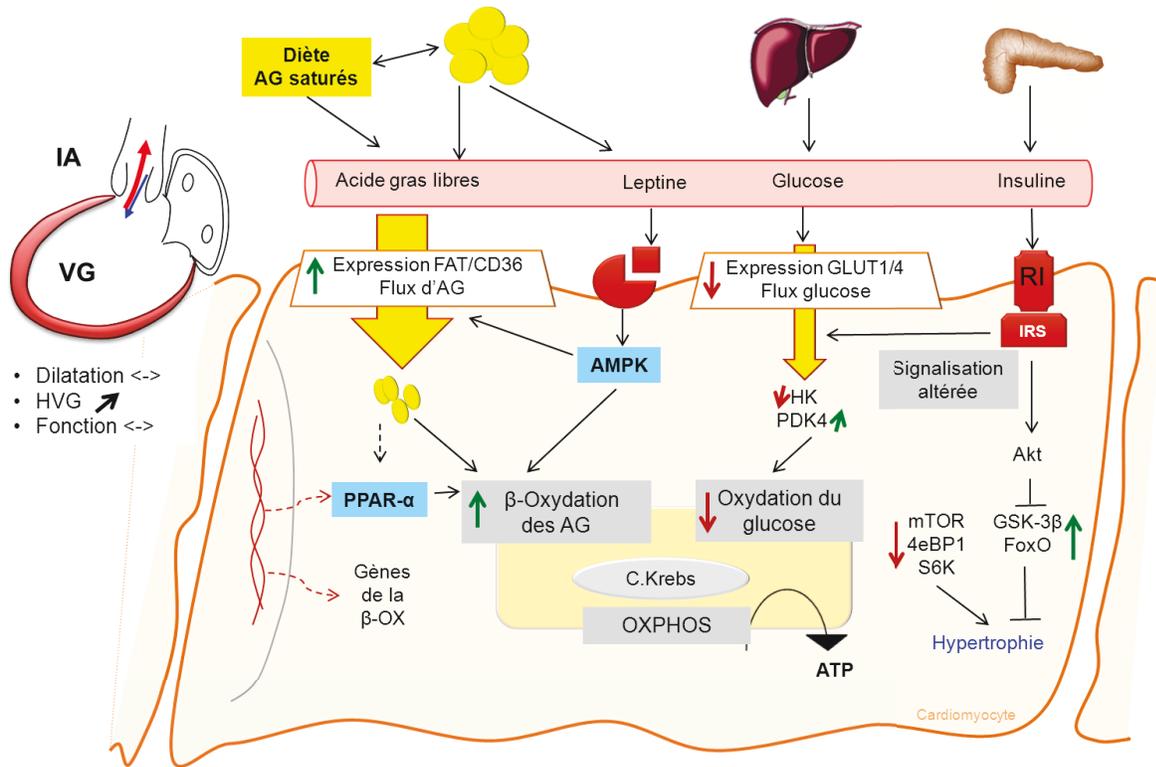


Figure 15.3 : Schéma de synthèse décrivant des effets de la consommation d'une diète riche en gras saturés sur l'hypertrophie ventriculaire gauche et le métabolisme cardiaque dans l'IA (©WDH).

15.2. Les limitations des études

Les projets présentés comportent quelques limitations au niveau de l'expérimentation. Pour les deux premières études, un traitement de huit semaines est peut-être trop court pour évaluer l'impact de ces deux traitements sur les fonctions systolique et diastolique et de l'évolution clinique à long terme. Certaines expériences auraient pu être intéressantes à réaliser; comme l'évaluation *in vivo* du métabolisme énergétique des autres groupes d'animaux traités avec le fénofibrate ou la metformine afin de déterminer si leurs effets positifs demeurent présents au cours de l'évolution de la maladie. Egalement, les informations sur d'autres enzymes et protéines de signalisations importantes du métabolisme et de l'homéostasie calcique manquaient dans ces études. La mesure des AG et de glucose circulants ainsi que l'insuline aurait pu être intéressante à prendre en compte puisqu'il est déjà établi qu'ils peuvent être changés par ces médicaments. De plus, nous n'avons pas évalué le niveau de stress oxydant (les ROS) chez les animaux consommant la

diète riche en gras, une information importante à savoir puisqu'une telle diète peut causer un déséquilibre du métabolisme oxydatif cardiaque. La mesure des niveaux de lipides accumulés dans le myocarde comme les céramides et les autres dérivés lipides aurait pu être également réalisée.

Il existe plusieurs limites à l'utilisation des rongeurs concernant les différences dans la fonction myocardique comparativement au cœur humain: (1) le myocarde du rat présente un potentiel d'action très court qui n'atteint pas normalement la phase plateau, (2) l'élimination du calcium du cytosol se fait plus par l'activité de la pompe de calcium du RS et par l'activité de l'échangeur $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ (3) la fréquence cardiaque au repos est cinq fois supérieure à celle de l'homme et le rapport force/fréquence est inversé, (4) le métabolisme cardiaque de rongeurs peut également différer dans certains aspects de celui de l'homme.

Il faut également prendre en compte qu'on a commencé les deux traitements une semaine avant l'induction chirurgicale de l'IA. Cela ne reflète évidemment pas la réalité clinique où la maladie ne peut pas être prédite et traitée à l'avance. Nous avons volontairement choisi de prétraiter les animaux dans notre protocole afin d'évaluer leur rôle dans le développement précoce de l'HVG.

15.3. Les perspectives pour des études futures

Quelques perspectives pour des études futures sont envisagées :

- Des expérimentations additionnelles doivent être réalisées dans le but d'obtenir des évidences directes appuyant le rôle des altérations du métabolisme énergétique dans l'apparition des troubles fonctionnels dans l'IA. Pour cela, nous proposons un suivi plus rigoureux au cours de l'évolution de l'HVG du profil d'expression des gènes, des activités des enzymes métaboliques *in vivo* et des protéines de signalisation impliquées dans l'hypertrophie. Nous pensons que certains changements peuvent avoir lieu précocement et d'autres se manifestent tardivement et que nous pouvons intervenir en fonction de cette adaptation.
- Selon nos résultats obtenus dans les deux premières études, des protocoles de plus longues périodes (6 et 9 mois) devront être introduits pour vérifier si les bénéfices

observés sur la fonction et le métabolisme cardiaques persistent après une longue durée de la maladie.

- Notre modèle animal peut être aussi utile pour l'étude de plusieurs autres traitements pharmacologiques ciblant d'autres voies importantes impliquées dans le métabolisme ou l'homéostasie calcique.
- Bien que des progrès considérables aient été accomplis dans la compréhension du rôle des PPARs dans l'homéostasie lipidique, il y a beaucoup de questions concernant les rôles de ces récepteurs nucléaires importants dans le cœur. D'autres études sur le rôle potentiel de PPAR γ en réponse à l'IA sont suggérées puisqu'il est également fortement exprimé dans le cœur.
- Nous avons aussi observé une forte expression dans la fraction nucléaire de l'isoforme $\alpha 2$ de l'AMPK dans le VG de nos animaux IA, ça serait ainsi intéressant de continuer à explorer cette voie puisque nous ne savons que peu quant à la régulation de l'activité de l'AMPK dépendamment de sa localisation cellulaire et d'autant plus au niveau du cœur hypertrophié.
- L'étude d'autres maladies multifactorielles telles que le syndrome métabolique est aussi une perspective importante dans l'analyse de l'HVG excentrique compte tenu la croissance de ces cardiomyopathies ces dernières années et leur forte relation avec le risque des MCV.
- Des études futures doivent démêler aussi la relation entre la consommation des AG polyinsaturés (huiles de poisson), les lipides et les glucides ensemble (diète Western) ainsi que des protéines diététiques avec le développement de l'HVG excentrique ainsi que le métabolisme myocardique.

Références bibliographiques

1. Gregor P, Línková H. [Aortic regurgitation]. *Vnitřní Lékařství*. 2013;59:99–104.
2. Van Bilsen M, van Nieuwenhoven FA, van der Vusse GJ. Metabolic remodelling of the failing heart: beneficial or detrimental? *Cardiovasc Res*. 2009;81:420–428.
3. Kolwicz SC, Purohit S, Tian R. Cardiac metabolism and its interactions with contraction, growth, and survival of cardiomyocytes. *Circ Res*. 2013;113:603–616.
4. Jaswal JS, Keung W, Wang W, Ussher JR, Lopaschuk GD. Targeting fatty acid and carbohydrate oxidation — A novel therapeutic intervention in the ischemic and failing heart. *Biochim Biophys Acta BBA - Mol Cell Res* [Internet]. 2011 [cited 2015 Feb 6];1813:1333–1350. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167488911000231>
5. Diep QN, Benkirane K, Amiri F, Cohn JS, Endemann D, Schiffrin EL. PPAR alpha activator fenofibrate inhibits myocardial inflammation and fibrosis in angiotensin II-infused rats. *J Mol Cell Cardiol*. 2004;36:295–304.
6. Labinskyy V, Bellomo M, Chandler MP, Young ME, Lionetti V, Qanud K, Bigazzi F, Sampietro T, Stanley WC, Recchia FA. Chronic activation of peroxisome proliferator-activated receptor-alpha with fenofibrate prevents alterations in cardiac metabolic phenotype without changing the onset of decompensation in pacing-induced heart failure. *J Pharmacol Exp Ther*. 2007;321:165–171.
7. Ogata T, Miyauchi T, Sakai S, Takanashi M, Irukayama-Tomobe Y, Yamaguchi I. Myocardial fibrosis and diastolic dysfunction in deoxycorticosterone acetate-salt hypertensive rats is ameliorated by the peroxisome proliferator-activated receptor-alpha activator fenofibrate, partly by suppressing inflammatory responses associated with the nuclear factor-kappa-B pathway. *J Am Coll Cardiol*. 2004;43:1481–1488.
8. Li C-B, Li X-X, Chen Y-G, Zhang C, Zhang M-X, Zhao X-Q, Hao M-X, Hou X-Y, Gong M-L, Zhao Y-X, Bu P-L, Zhang Y. Effects and mechanisms of PPARalpha activator fenofibrate on myocardial remodelling in hypertension. *J Cell Mol Med*. 2009;13:4444–4452.
9. Gundewar S, Calvert JW, Jha S, Toedt-Pingel I, Ji SY, Nunez D, Ramachandran A, Anaya-Cisneros M, Tian R, Lefer DJ. Activation of AMP-activated protein kinase by metformin improves left ventricular function and survival in heart failure. *Circ Res*. 2009;104:403–411.
10. Sasaki H, Asanuma H, Fujita M, Takahama H, Wakeno M, Ito S, Ogai A, Asakura M, Kim J, Minamino T, Takashima S, Sanada S, Sugimachi M, Komamura K, Mochizuki N, Kitakaze M. Metformin prevents progression of heart failure in dogs: role of AMP-activated protein kinase. *Circulation*. 2009;119:2568–2577.
11. Markey O, Vasilopoulou D, Givens DI, Lovegrove JA. Dairy and cardiovascular health: Friend or foe? *Nutr Bull BNF*. 2014;39:161–171.
12. Stratmann B, Worms J, Tschoepe D. [Diabetic cardiomyopathy/heart failure: news regarding etiology, diagnosis, therapy]. *Dtsch Med Wochenschr* 1946. 2014;139:2006–2009.
13. Chess DJ, Stanley WC. Role of diet and fuel overabundance in the development and progression of heart failure. *Cardiovasc Res*. 2008;79:269–278.
14. Klabunde R. *Cardiovascular Physiology Concepts*. Lippincott Williams & Wilkins; 2011.
15. Bers DM. *Excitation-Contraction Coupling and Cardiac Contractile Force*. Springer; 2001.
16. Soonpaa MH, Kim KK, Pajak L, Franklin M, Field LJ. Cardiomyocyte DNA synthesis and binucleation during murine development. *Am J Physiol*. 1996;271:H2183–2189.
17. Simmons CS, Petzold BC, Pruitt BL. Microsystems for biomimetic stimulation of cardiac cells. *Lab Chip*. 2012;12:3235–3248.
18. Estigoy CB, Pontén F, Odeberg J, Herbert B, Guilhaus M, Charleston M, Ho JWK, Cameron D, Remedios CG dos. Intercalated discs: multiple proteins perform multiple functions in non-failing and failing human hearts. *Biophys Rev* [Internet]. 2009 [cited 2014 Jan 2];1:43–49. Available from: <http://link.springer.com/article/10.1007/s12551-008-0007-y>
19. Curtis MW, Russell B. Micromechanical regulation in cardiac myocytes and fibroblasts: implications for tissue remodeling. *Pflug Arch Eur J Physiol*. 2011;462:105–117.

20. Rienks M, Papageorgiou A-P, Frangogiannis NG, Heymans S. Myocardial extracellular matrix: an ever-changing and diverse entity. *Circ Res*. 2014;114:872–888.
21. Bishop JE. Regulation of cardiovascular collagen deposition by mechanical forces. *Mol Med Today*. 1998;4:69–75.
22. Deschamps AM, Spinale FG. Matrix modulation and heart failure: new concepts question old beliefs. *Curr Opin Cardiol*. 2005;20:211–216.
23. Mao Y, Schwarzbauer JE. Fibronectin fibrillogenesis, a cell-mediated matrix assembly process. *Matrix Biol J Int Soc Matrix Biol*. 2005;24:389–399.
24. Jane-Lise S, Corda S, Chassagne C, Rappaport L. The extracellular matrix and the cytoskeleton in heart hypertrophy and failure. *Heart Fail Rev*. 2000;5:239–250.
25. Nagase H, Visse R, Murphy G. Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. *Cardiovasc Res*. 2006;69:562–573.
26. Bers DM. Calcium cycling and signaling in cardiac myocytes. *Annu Rev Physiol*. 2008;70:23–49.
27. Bers DM. Cardiac excitation-contraction coupling. *Nature*. 2002;415:198–205.
28. Ashrafian H, McKenna WJ, Watkins H. Disease pathways and novel therapeutic targets in hypertrophic cardiomyopathy. *Circ Res*. 2011;109:86–96.
29. Patterson SW, Starling EH. On the mechanical factors which determine the output of the ventricles. *J Physiol*. 1914;48:357–379.
30. Katz AM. Ernest Henry Starling, his predecessors, and the “Law of the Heart.” *Circulation*. 2002;106:2986–2992.
31. Delgado V, Bax JJ. Clinical topic: Nuclear imaging in hypertrophic cardiomyopathy. *J Nucl Cardiol Off Publ Am Soc Nucl Cardiol*. 2014;
32. Sheehan FH, Bolson EL, Dodge HT, Mathey DG, Schofer J, Woo HW. Advantages and applications of the centerline method for characterizing regional ventricular function. *Circulation*. 1986;74:293–305.
33. Cohen A, Guéret P. Manuel d'échocardiographie clinique. Lavoisier; 2012.
34. Croteau E, Bénard F, Cadorette J, Gauthier M-E, Aliaga A, Bentourkia M, Lecomte R. Quantitative gated PET for the assessment of left ventricular function in small animals. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med*. 2003;44:1655–1661.
35. Visser FC. Imaging of cardiac metabolism using radiolabelled glucose, fatty acids and acetate. *Coron Artery Dis*. 2001;12 Suppl 1:S12–18.
36. Tamaki N, Fujibayashi Y, Magata Y, Yonekura Y, Konishi J. Radionuclide assessment of myocardial fatty acid metabolism by PET and SPECT. *J Nucl Cardiol Off Publ Am Soc Nucl Cardiol*. 1995;2:256–266.
37. Opie LH. Metabolism of the heart in health and disease. II. *Am Heart J*. 1969;77:100–122 contd.
38. Neely JR, Morgan HE. Relationship between carbohydrate and lipid metabolism and the energy balance of heart muscle. *Annu Rev Physiol*. 1974;36:413–459.
39. Lopaschuk GD, Belke DD, Gamble J, Itoi T, Schönekeess BO. Regulation of fatty acid oxidation in the mammalian heart in health and disease. *Biochim Biophys Acta*. 1994;1213:263–276.
40. Opie LH. The heart: physiology, from cell to circulation. Lippincott-Raven; 1998.
41. Evans JR, Opie LH, Shipp JC. METABOLISM OF PALMITIC ACID IN PERFUSED RAT HEART. *Am J Physiol*. 1963;205:766–770.
42. Taegtmeyer H. Genetics of energetics: transcriptional responses in cardiac metabolism. *Ann Biomed Eng*. 2000;28:871–876.
43. Taegtmeyer H. Switching metabolic genes to build a better heart. *Circulation*. 2002;106:2043–2045.
44. Taegtmeyer H. Cardiac metabolism as a target for the treatment of heart failure. *Circulation*. 2004;110:894–896.
45. Shen W, Vatner DE, Vatner SF, Ingwall JS. Progressive loss of creatine maintains a near normal DeltaG approximately (ATP) in transgenic mouse hearts with cardiomyopathy caused by overexpressing Galpha. *J Mol Cell Cardiol*. 2010;48:591–599.
46. Randle PJ. Regulatory interactions between lipids and carbohydrates: the glucose fatty acid cycle after 35 years. *Diabetes Metab Rev*. 1998;14:263–283.
47. Lopaschuk GD, Barr R, Thomas PD, Dyck JRB. Beneficial effects of trimetazidine in ex vivo working ischemic hearts are due to a stimulation of glucose oxidation secondary to inhibition of long-chain 3-ketoacyl coenzyme a thiolase. *Circ Res*. 2003;93:e33–37.
48. Depré C, Rider MH, Hue L. Mechanisms of control of heart glycolysis. *Eur J Biochem FEBS*. 1998;258:277–290.

49. Depre C, Vanoverschelde JL, Taegtmeyer H. Glucose for the heart. *Circulation*. 1999;99:578–588.
50. Glatz JFC, Luiken JJFP, Bonen A. Membrane fatty acid transporters as regulators of lipid metabolism: implications for metabolic disease. *Physiol Rev*. 2010;90:367–417.
51. Lopaschuk GD, Ussher JR, Folmes CDL, Jaswal JS, Stanley WC. Myocardial fatty acid metabolism in health and disease. *Physiol Rev*. 2010;90:207–258.
52. Nagarajan V, Gopalan V, Kaneko M, Angeli V, Gluckman PD, Richards MA, Kuchel PW, Velan SS. Cardiac Function and Lipid Distribution in Rats Fed a High Fat Diet: In Vivo Magnetic Resonance Imaging and Spectroscopy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2013;
53. Stanley WC, Chandler MP. Energy metabolism in the normal and failing heart: potential for therapeutic interventions. *Heart Fail Rev*. 2002;7:115–130.
54. Stanley WC, Recchia FA, Lopaschuk GD. Myocardial substrate metabolism in the normal and failing heart. *Physiol Rev*. 2005;85:1093–1129.
55. Voet D, Voet JG. *Biochimie. De Boeck Supérieur*; 2005.
56. Hue L, Taegtmeyer H. The Randle cycle revisited: a new head for an old hat. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2009;297:E578–591.
57. Manchester J, Kong X, Nerbonne J, Lowry OH, Lawrence JC Jr. Glucose transport and phosphorylation in single cardiac myocytes: rate-limiting steps in glucose metabolism. *Am J Physiol*. 1994;266:E326–333.
58. Huang S, Czech MP. The GLUT4 glucose transporter. *Cell Metab*. 2007;5:237–252.
59. Kodde IF, van der Stok J, Smolenski RT, de Jong JW. Metabolic and genetic regulation of cardiac energy substrate preference. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*. 2007;146:26–39.
60. Bertrand L, Horman S, Beauloye C, Vanoverschelde J-L. Insulin signalling in the heart. *Cardiovasc Res*. 2008;79:238–248.
61. Depré C, Rider MH, Hue L. Mechanisms of control of heart glycolysis. *Eur J Biochem FEBS*. 1998;258:277–290.
62. Brownsey RW, Boone AN, Allard MF. Actions of insulin on the mammalian heart: metabolism, pathology and biochemical mechanisms. *Cardiovasc Res*. 1997;34:3–24.
63. Klein LJ, Visser FC. The effect of insulin on the heart : Part 1: Effects on metabolism and function. *Neth Heart J Mon J Neth Soc Cardiol Neth Heart Found*. 2010;18:197–201.
64. Ascutto RJ, Ross-Ascutto NT. Substrate metabolism in the developing heart. *Semin Perinatol*. 1996;20:542–563.
65. Wu P, Sato J, Zhao Y, Jaskiewicz J, Popov KM, Harris RA. Starvation and diabetes increase the amount of pyruvate dehydrogenase kinase isoenzyme 4 in rat heart. *Biochem J*. 1998;329 (Pt 1):197–201.
66. Goodwin GW, Arteaga JR, Taegtmeyer H. Glycogen turnover in the isolated working rat heart. *J Biol Chem*. 1995;270:9234–9240.
67. Chatham JC, Nöt LG, Fülöp N, Marchase RB. Hexosamine biosynthesis and protein O-glycosylation: the first line of defense against stress, ischemia, and trauma. *Shock Augusta Ga*. 2008;29:431–440.
68. Laczy B, Fülöp N, Onay-Besikci A, Des Rosiers C, Chatham JC. Acute regulation of cardiac metabolism by the hexosamine biosynthesis pathway and protein O-GlcNAcylation. *PLoS One*. 2011;6:e18417.
69. Kruger NJ, von Schaewen A. The oxidative pentose phosphate pathway: structure and organisation. *Curr Opin Plant Biol* [Internet]. 2003 [cited 2015 Feb 2];6:236–246. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1369526603000396>
70. Eaton S. Control of mitochondrial beta-oxidation flux. *Prog Lipid Res*. 2002;41:197–239.
71. Wanders RJ, Vreken P, den Boer ME, Wijburg FA, van Gennip AH, IJlst L. Disorders of mitochondrial fatty acyl-CoA beta-oxidation. *J Inher Metab Dis*. 1999;22:442–487.
72. Yang Q, Li Y. Roles of PPARs on regulating myocardial energy and lipid homeostasis. *J Mol Med Berl Ger*. 2007;85:697–706.
73. Lopaschuk GD. Abnormal mechanical function in diabetes: relationship to altered myocardial carbohydrate/lipid metabolism. *Coron Artery Dis*. 1996;7:116–123.
74. Kurien VA, Oliver MF. Free fatty acids during acute myocardial infarction. *Prog Cardiovasc Dis*. 1971;13:361–373.
75. BING RJ. The metabolism of the heart. *Trans Am Coll Cardiol*. 1955;5:8–14.
76. Niu Y-G, Hauton D, Evans RD. Utilization of triacylglycerol-rich lipoproteins by the working rat heart: routes of uptake and metabolic fates. *J Physiol*. 2004;558:225–237.

77. Pillutla P, Hwang YC, Augustus A, Yokoyama M, Yagyu H, Johnston TP, Kaneko M, Ramasamy R, Goldberg IJ. Perfusion of hearts with triglyceride-rich particles reproduces the metabolic abnormalities in lipotoxic cardiomyopathy. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2005;288:E1229–1235.
78. Schaffer JE. Fatty acid transport: the roads taken. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2002;282:E239–246.
79. Luiken JJ, Schaap FG, van Nieuwenhoven FA, van der Vusse GJ, Bonen A, Glatz JF. Cellular fatty acid transport in heart and skeletal muscle as facilitated by proteins. *Lipids.* 1999;34 Suppl:S169–175.
80. Glatz JFC, Luiken JJFP, Bonen A. Membrane fatty acid transporters as regulators of lipid metabolism: implications for metabolic disease. *Physiol Rev.* 2010;90:367–417.
81. Kuang M, Febbraio M, Wagg C, Lopaschuk GD, Dyck JRB. Fatty acid translocase/CD36 deficiency does not energetically or functionally compromise hearts before or after ischemia. *Circulation.* 2004;109:1550–1557.
82. Brinkmann JFF, Abumrad NA, Ibrahim A, van der Vusse GJ, Glatz JFC. New insights into long-chain fatty acid uptake by heart muscle: a crucial role for fatty acid translocase/CD36. *Biochem J.* 2002;367:561–570.
83. Luiken JJFP, Dyck DJ, Han X-X, Tandon NN, Arumugam Y, Glatz JFC, Bonen A. Insulin induces the translocation of the fatty acid transporter FAT/CD36 to the plasma membrane. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2002;282:E491–495.
84. Luiken JJFP, Coort SLM, Willems J, Coumans WA, Bonen A, van der Vusse GJ, Glatz JFC. Contraction-induced fatty acid translocase/CD36 translocation in rat cardiac myocytes is mediated through AMP-activated protein kinase signaling. *Diabetes.* 2003;52:1627–1634.
85. Madrazo JA, Kelly DP. The PPAR trio: regulators of myocardial energy metabolism in health and disease. *J Mol Cell Cardiol.* 2008;44:968–975.
86. Ellis JM, Frahm JL, Li LO, Coleman RA. Acyl-coenzyme A synthetases in metabolic control. *Curr Opin Lipidol.* 2010;21:212–217.
87. Luiken JJ, van Nieuwenhoven FA, America G, van der Vusse GJ, Glatz JF. Uptake and metabolism of palmitate by isolated cardiac myocytes from adult rats: involvement of sarcolemmal proteins. *J Lipid Res.* 1997;38:745–758.
88. Coleman RA, Lewin TM, Van Horn CG, Gonzalez-Baró MR. Do long-chain acyl-CoA synthetases regulate fatty acid entry into synthetic versus degradative pathways? *J Nutr.* 2002;132:2123–2126.
89. Wanders RJA, Ferdinandusse S, Brites P, Kemp S. Peroxisomes, lipid metabolism and lipotoxicity. *Biochim Biophys Acta.* 2010;1801:272–280.
90. Coleman RA, Lewin TM, Muoio DM. Physiological and nutritional regulation of enzymes of triacylglycerol synthesis. *Annu Rev Nutr.* 2000;20:77–103.
91. Saddik M, Lopaschuk GD. Myocardial triglyceride turnover and contribution to energy substrate utilization in isolated working rat hearts. *J Biol Chem.* 1991;266:8162–8170.
92. Corpeleijn E, Saris WHM, Blaak EE. Metabolic flexibility in the development of insulin resistance and type 2 diabetes: effects of lifestyle. *Obes Rev Off J Int Assoc Study Obes.* 2009;10:178–193.
93. Taegtmeyer H, Stanley WC. Too much or not enough of a good thing? Cardiac glucolipotoxicity versus lipoprotection. *J Mol Cell Cardiol.* 2011;50:2–5.
94. McGarry JD, Brown NF. The mitochondrial carnitine palmitoyltransferase system. From concept to molecular analysis. *Eur J Biochem FEBS.* 1997;244:1–14.
95. McGarry JD, Mannaerts GP, Foster DW. A possible role for malonyl-CoA in the regulation of hepatic fatty acid oxidation and ketogenesis. *J Clin Invest.* 1977;60:265–270.
96. Holm C. Molecular mechanisms regulating hormone-sensitive lipase and lipolysis. *Biochem Soc Trans.* 2003;31:1120–1124.
97. Ussher JR, Lopaschuk GD. The malonyl CoA axis as a potential target for treating ischaemic heart disease. *Cardiovasc Res.* 2008;79:259–268.
98. Kudo N, Barr AJ, Barr RL, Desai S, Lopaschuk GD. High rates of fatty acid oxidation during reperfusion of ischemic hearts are associated with a decrease in malonyl-CoA levels due to an increase in 5'-AMP-activated protein kinase inhibition of acetyl-CoA carboxylase. *J Biol Chem.* 1995;270:17513–17520.
99. Ventura-Clapier R, Garnier A, Veksler V. Energy metabolism in heart failure. *J Physiol.* 2004;555:1–13.
100. Salway JG. *Metabolism at a Glance.* John Wiley & Sons; 2013.
101. Desvergne B, Michalik L, Wahli W. Transcriptional regulation of metabolism. *Physiol Rev.* 2006;86:465–514.

102. Saddik M, Lopaschuk GD. The fate of arachidonic acid and linoleic acid in isolated working rat hearts containing normal or elevated levels of coenzyme A. *Biochim Biophys Acta*. 1991;1086:217–224.
103. Wisneski JA, Gertz EW, Neese RA, Mayr M. Myocardial metabolism of free fatty acids. Studies with ¹⁴C-labeled substrates in humans. *J Clin Invest*. 1987;79:359–366.
104. Fillmore N, Lopaschuk GD. Targeting mitochondrial oxidative metabolism as an approach to treat heart failure. *Biochim Biophys Acta*. 2013;1833:857–865.
105. Bessman SP, Geiger PJ. Transport of energy in muscle: the phosphorylcreatine shuttle. *Science*. 1981;211:448–452.
106. Wallimann T, Wyss M, Brdiczka D, Nicolay K, Eppenberger HM. Intracellular compartmentation, structure and function of creatine kinase isoenzymes in tissues with high and fluctuating energy demands: the “phosphocreatine circuit” for cellular energy homeostasis. *Biochem J* [Internet]. 1992 [cited 2015 Feb 4];281:21–40. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1130636/>
107. Saks VA, Ventura-Clapier R, Aliev MK. Metabolic control and metabolic capacity: two aspects of creatine kinase functioning in the cells. *Biochim Biophys Acta*. 1996;1274:81–88.
108. Jacobus WE, Diffley DM. Creatine kinase of heart mitochondria. Control of oxidative phosphorylation by the extramitochondrial concentrations of creatine and phosphocreatine. *J Biol Chem*. 1986;261:16579–16583.
109. Boudina S, Abel ED. Mitochondrial uncoupling: a key contributor to reduced cardiac efficiency in diabetes. *Physiol Bethesda Md*. 2006;21:250–258.
110. Chan CB, Harper M-E. Uncoupling Proteins: Role in Insulin Resistance and Insulin Insufficiency. *Curr Diabetes Rev* [Internet]. 2006 [cited 2015 Feb 4];2:271–283. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3060851/>
111. Casteilla L, Rigoulet M, Pénicaud L. Mitochondrial ROS metabolism: modulation by uncoupling proteins. *IUBMB Life*. 2001;52:181–188.
112. Teshima Y, Akao M, Jones SP, Marbán E. Uncoupling protein-2 overexpression inhibits mitochondrial death pathway in cardiomyocytes. *Circ Res*. 2003;93:192–200.
113. Rousset S, Alves-Guerra M-C, Mozo J, Miroux B, Cassard-Doulcier A-M, Bouillaud F, Ricquier D. The biology of mitochondrial uncoupling proteins. *Diabetes*. 2004;53 Suppl 1:S130–135.
114. Schrauwen P, Hoeks J, Schaart G, Kornips E, Binas B, Van De Vusse GJ, Van Bilsen M, Luiken JJFP, Coort SLM, Glatz JFC, Saris WHM, Hesselink MKC. Uncoupling protein 3 as a mitochondrial fatty acid anion exporter. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol*. 2003;17:2272–2274.
115. Dröge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev*. 2002;82:47–95.
116. Turrens JF. Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *J Physiol* [Internet]. 2003 [cited 2015 Feb 4];552:335–344. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2343396/>
117. Taverne YJHJ, Bogers AJJC, Duncker DJ, Merkus D. Reactive Oxygen Species and the Cardiovascular System. *Oxid Med Cell Longev* [Internet]. 2013 [cited 2015 Feb 4];2013:e862423. Available from: <http://www.hindawi.com/journals/omcl/2013/862423/abs/>
118. Tsutsui H, Kinugawa S, Matsushima S. Oxidative stress and heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2011;301:H2181–2190.
119. RANDLE PJ, GARLAND PB, HALES CN, NEWSHOLME EA. The glucose fatty-acid cycle. Its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. *Lancet*. 1963;1:785–789.
120. Saggerson D. Malonyl-CoA, a key signaling molecule in mammalian cells. *Annu Rev Nutr*. 2008;28:253–272.
121. Chang L, Chiang S-H, Saliel AR. Insulin signaling and the regulation of glucose transport. *Mol Med Camb Mass*. 2004;10:65–71.
122. Muniyappa R, Montagnani M, Koh KK, Quon MJ. Cardiovascular actions of insulin. *Endocr Rev*. 2007;28:463–491.
123. Watson RT, Pessin JE. Bridging the GAP between insulin signaling and GLUT4 translocation. *Trends Biochem Sci*. 2006;31:215–222.
124. Kramer HF, Witzcak CA, Taylor EB, Fujii N, Hirshman MF, Goodyear LJ. AS160 regulates insulin- and contraction-stimulated glucose uptake in mouse skeletal muscle. *J Biol Chem*. 2006;281:31478–31485.
125. Rider MH, Bertrand L, Vertommen D, Michels PA, Rousseau GG, Hue L. 6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-bisphosphatase: head-to-head with a bifunctional enzyme that controls glycolysis. *Biochem J*. 2004;381:561–579.

126. Donthi RV, Ye G, Wu C, McClain DA, Lange AJ, Epstein PN. Cardiac expression of kinase-deficient 6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-bisphosphatase inhibits glycolysis, promotes hypertrophy, impairs myocyte function, and reduces insulin sensitivity. *J Biol Chem.* 2004;279:48085–48090.
127. Coort SLM, Bonen A, van der Vusse GJ, Glatz JFC, Luiken JJFP. Cardiac substrate uptake and metabolism in obesity and type-2 diabetes: role of sarcolemmal substrate transporters. *Mol Cell Biochem.* 2007;299:5–18.
128. Glatz JFC, Bonen A, Ouwens DM, Luiken JJFP. Regulation of sarcolemmal transport of substrates in the healthy and diseased heart. *Cardiovasc Drugs Ther Spons Int Soc Cardiovasc Pharmacother.* 2006;20:471–476.
129. Beauloye C, Bertrand L, Horman S, Hue L. AMPK activation, a preventive therapeutic target in the transition from cardiac injury to heart failure. *Cardiovasc Res.* 2011;90:224–233.
130. Dyck JRB, Lopaschuk GD. AMPK alterations in cardiac physiology and pathology: enemy or ally? *J Physiol.* 2006;574:95–112.
131. Hardie DG. Minireview: the AMP-activated protein kinase cascade: the key sensor of cellular energy status. *Endocrinology.* 2003;144:5179–5183.
132. O'Neill BT, Abel ED. Akt1 in the cardiovascular system: friend or foe? *J Clin Invest.* 2005;115:2059–2064.
133. Chaanine AH, Hajjar RJ. AKT signalling in the failing heart. *Eur J Heart Fail.* 2011;13:825–829.
134. Vincent G, Khairallah M, Bouchard B, Des Rosiers C. Metabolic phenotyping of the diseased rat heart using ¹³C-substrates and ex vivo perfusion in the working mode. *Mol Cell Biochem.* 2003;242:89–99.
135. Hardie DG, Carling D. The AMP-activated protein kinase—fuel gauge of the mammalian cell? *Eur J Biochem FEBS.* 1997;246:259–273.
136. Hardie DG, Hawley SA, Scott JW. AMP-activated protein kinase—development of the energy sensor concept. *J Physiol.* 2006;574:7–15.
137. Hardie DG, Ross FA, Hawley SA. AMPK: a nutrient and energy sensor that maintains energy homeostasis. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2012;13:251–262.
138. Kahn BB, Alquier T, Carling D, Hardie DG. AMP-activated protein kinase: ancient energy gauge provides clues to modern understanding of metabolism. *Cell Metab.* 2005;1:15–25.
139. Carling D. The AMP-activated protein kinase cascade—a unifying system for energy control. *Trends Biochem Sci.* 2004;29:18–24.
140. Hurley RL, Barré LK, Wood SD, Anderson KA, Kemp BE, Means AR, Witters LA. Regulation of AMP-activated protein kinase by multisite phosphorylation in response to agents that elevate cellular cAMP. *J Biol Chem.* 2006;281:36662–36672.
141. Iseli TJ, Walter M, van Denderen BJW, Katsis F, Witters LA, Kemp BE, Michell BJ, Stapleton D. AMP-activated protein kinase beta subunit tethers alpha and gamma subunits via its C-terminal sequence (186-270). *J Biol Chem.* 2005;280:13395–13400.
142. Mahlapuu M, Johansson C, Lindgren K, Hjälm G, Barnes BR, Krook A, Zierath JR, Andersson L, Marklund S. Expression profiling of the gamma-subunit isoforms of AMP-activated protein kinase suggests a major role for gamma3 in white skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2004;286:E194–200.
143. Moffat C, Ellen Harper M. Metabolic functions of AMPK: aspects of structure and of natural mutations in the regulatory gamma subunits. *IUBMB Life.* 2010;62:739–745.
144. Sanchez AMJ, Candau RB, Csibi A, Pagano AF, Raibon A, Bernardi H. The role of AMP-activated protein kinase in the coordination of skeletal muscle turnover and energy homeostasis. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2012;303:C475–485.
145. Salt I, Celler JW, Hawley SA, Prescott A, Woods A, Carling D, Hardie DG. AMP-activated protein kinase: greater AMP dependence, and preferential nuclear localization, of complexes containing the alpha2 isoform. *Biochem J.* 1998;334 (Pt 1):177–187.
146. Warden SM, Richardson C, O'Donnell J, Stapleton D, Kemp BE, Witters LA. Post-translational modifications of the beta-1 subunit of AMP-activated protein kinase affect enzyme activity and cellular localization. *Biochem J.* 2001;354:275–283.
147. Polekhina G, Gupta A, Michell BJ, van Denderen B, Murthy S, Feil SC, Jennings IG, Campbell DJ, Witters LA, Parker MW, Kemp BE, Stapleton D. AMPK beta subunit targets metabolic stress sensing to glycogen. *Curr Biol CB.* 2003;13:867–871.
148. Towler MC, Hardie DG. AMP-activated protein kinase in metabolic control and insulin signaling. *Circ Res.* 2007;100:328–341.

149. Kim AS, Miller EJ, Wright TM, Li J, Qi D, Atsina K, Zaha V, Sakamoto K, Young LH. A small molecule AMPK activator protects the heart against ischemia-reperfusion injury. *J Mol Cell Cardiol.* 2011;51:24–32.
150. Moussa A, Li J. AMPK in myocardial infarction and diabetes: the yin/yang effect. *Acta Pharm Sin B* [Internet]. 2012 [cited 2015 Feb 6];2:368–378. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211383512000858>
151. Woods A, Johnstone SR, Dickerson K, Leiper FC, Fryer LGD, Neumann D, Schlattner U, Wallimann T, Carlson M, Carling D. LKB1 is the upstream kinase in the AMP-activated protein kinase cascade. *Curr Biol CB.* 2003;13:2004–2008.
152. Hawley SA, Boudeau J, Reid JL, Mustard KJ, Udd L, Mäkelä TP, Alessi DR, Hardie DG. Complexes between the LKB1 tumor suppressor, STRAD alpha/beta and MO25 alpha/beta are upstream kinases in the AMP-activated protein kinase cascade. *J Biol.* 2003;2:28.
153. Shaw RJ, Kosmatka M, Bardeesy N, Hurley RL, Witters LA, DePinho RA, Cantley LC. The tumor suppressor LKB1 kinase directly activates AMP-activated kinase and regulates apoptosis in response to energy stress. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004;101:3329–3335.
154. Woods A, Dickerson K, Heath R, Hong S-P, Momcilovic M, Johnstone SR, Carlson M, Carling D. Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase kinase-beta acts upstream of AMP-activated protein kinase in mammalian cells. *Cell Metab.* 2005;2:21–33.
155. Hawley SA, Pan DA, Mustard KJ, Ross L, Bain J, Edelman AM, Frenguelli BG, Hardie DG. Calmodulin-dependent protein kinase kinase-beta is an alternative upstream kinase for AMP-activated protein kinase. *Cell Metab.* 2005;2:9–19.
156. Sakamoto K, Zarrinpashneh E, Budas GR, Pouleur A-C, Dutta A, Prescott AR, Vanoverschelde J-L, Ashworth A, Jovanović A, Alessi DR, Bertrand L. Deficiency of LKB1 in heart prevents ischemia-mediated activation of AMPKalpha2 but not AMPKalpha1. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2006;290:E780–788.
157. Foretz M, Ancellin N, Andreelli F, Saintillan Y, Grondin P, Kahn A, Thorens B, Vaulont S, Viollet B. Short-term overexpression of a constitutively active form of AMP-activated protein kinase in the liver leads to mild hypoglycemia and fatty liver. *Diabetes.* 2005;54:1331–1339.
158. Lee J, Goldberg IJ. Lipoproteini lipase-derived fatty acids: physiology and dysfunction. *Curr Hypertens Rep.* 2007;9:462–466.
159. Hauton D, Bennett MJ, Evans RD. Utilisation of triacylglycerol and non-esterified fatty acid by the working rat heart: myocardial lipid substrate preference. *Biochim Biophys Acta.* 2001;1533:99–109.
160. An D, Kewalramani G, Qi D, Pulinilkunnil T, Ghosh S, Abrahani A, Wambolt R, Allard M, Innis SM, Rodrigues B. beta-Agonist stimulation produces changes in cardiac AMPK and coronary lumen LPL only during increased workload. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2005;288:E1120–1127.
161. Chabowski A, Coort SLM, Calles-Escandon J, Tandon NN, Glatz JFC, Luiken JJFP, Bonen A. The subcellular compartmentation of fatty acid transporters is regulated differently by insulin and by AICAR. *FEBS Lett.* 2005;579:2428–2432.
162. Luiken JJFP, Koonen DPY, Willems J, Zorzano A, Becker C, Fischer Y, Tandon NN, Van Der Vusse GJ, Bonen A, Glatz JFC. Insulin stimulates long-chain fatty acid utilization by rat cardiac myocytes through cellular redistribution of FAT/CD36. *Diabetes.* 2002;51:3113–3119.
163. Luiken JJFP, Coort SLM, Willems J, Coumans WA, Bonen A, Glatz JFC. Dipyridamole alters cardiac substrate preference by inducing translocation of FAT/CD36, but not that of GLUT4. *Mol Pharmacol.* 2004;65:639–645.
164. Ellis JM, Mentock SM, Depettrillo MA, Koves TR, Sen S, Watkins SM, Muoio DM, Cline GW, Taegtmeier H, Shulman GI, Willis MS, Coleman RA. Mouse cardiac acyl coenzyme a synthetase 1 deficiency impairs Fatty Acid oxidation and induces cardiac hypertrophy. *Mol Cell Biol.* 2011;31:1252–1262.
165. Liu Q, Gauthier M-S, Sun L, Ruderman N, Lodish H. Activation of AMP-activated protein kinase signaling pathway by adiponectin and insulin in mouse adipocytes: requirement of acyl-CoA synthetases FATP1 and Acs11 and association with an elevation in AMP/ATP ratio. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol.* 2010;24:4229–4239.
166. Atkinson LL, Kozak R, Kelly SE, Onay Besikci A, Russell JC, Lopaschuk GD. Potential mechanisms and consequences of cardiac triacylglycerol accumulation in insulin-resistant rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2003;284:E923–930.

167. Khairallah RJ, Khairallah M, Gélinas R, Bouchard B, Young ME, Allen BG, Lopaschuk GD, Deschepper CF, Des Rosiers C. Cyclic GMP signaling in cardiomyocytes modulates fatty acid trafficking and prevents triglyceride accumulation. *J Mol Cell Cardiol.* 2008;45:230–239.
168. Dyck JRB, Lopaschuk GD. AMPK alterations in cardiac physiology and pathology: enemy or ally? *J Physiol.* 2006;574:95–112.
169. Dyck JR, Kudo N, Barr AJ, Davies SP, Hardie DG, Lopaschuk GD. Phosphorylation control of cardiac acetyl-CoA carboxylase by cAMP-dependent protein kinase and 5'-AMP activated protein kinase. *Eur J Biochem FEBS.* 1999;262:184–190.
170. Kudo N, Gillespie JG, Kung L, Witters LA, Schulz R, Clanachan AS, Lopaschuk GD. Characterization of 5'AMP-activated protein kinase activity in the heart and its role in inhibiting acetyl-CoA carboxylase during reperfusion following ischemia. *Biochim Biophys Acta.* 1996;1301:67–75.
171. King KL, Okere IC, Sharma N, Dyck JRB, Reszko AE, McElfresh TA, Kerner J, Chandler MP, Lopaschuk GD, Stanley WC. Regulation of cardiac malonyl-CoA content and fatty acid oxidation during increased cardiac power. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2005;289:H1033–1037.
172. Nagendran J, Waller TJ, Dyck JRB. AMPK signalling and the control of substrate use in the heart. *Mol Cell Endocrinol.* 2013;366:180–193.
173. Jing M, Cheruvu VK, Ismail-Beigi F. Stimulation of glucose transport in response to activation of distinct AMPK signaling pathways. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2008;295:C1071–1082.
174. Luiken JJFP, Coort SLM, Koonen DPY, van der Horst DJ, Bonen A, Zorzano A, Glatz JFC. Regulation of cardiac long-chain fatty acid and glucose uptake by translocation of substrate transporters. *Pflug Arch Eur J Physiol.* 2004;448:1–15.
175. Coven DL, Hu X, Cong L, Bergeron R, Shulman GI, Hardie DG, Young LH. Physiological role of AMP-activated protein kinase in the heart: graded activation during exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2003;285:E629–636.
176. Till M, Ouwens DM, Kessler A, Eckel J. Molecular mechanisms of contraction-regulated cardiac glucose transport. *Biochem J.* 2000;346 Pt 3:841–847.
177. Gaidhu MP, Perry RLS, Noor F, Ceddia RB. Disruption of AMPK α 1 signaling prevents AICAR-induced inhibition of AS160/TBC1D4 phosphorylation and glucose uptake in primary rat adipocytes. *Mol Endocrinol Baltim Md.* 2010;24:1434–1440.
178. Treebak JT, Glund S, Deshmukh A, Klein DK, Long YC, Jensen TE, Jørgensen SB, Viollet B, Andersson L, Neumann D, Wallimann T, Richter EA, Chibalin AV, Zierath JR, Wojtaszewski JFP. AMPK-mediated AS160 phosphorylation in skeletal muscle is dependent on AMPK catalytic and regulatory subunits. *Diabetes.* 2006;55:2051–2058.
179. DeBosch B, Sambandam N, Weinheimer C, Courtois M, Muslin AJ. Akt2 regulates cardiac metabolism and cardiomyocyte survival. *J Biol Chem.* 2006;281:32841–32851.
180. Van Der Heide LP, Hoekman MFM, Smidt MP. The ins and outs of FoxO shuttling: mechanisms of FoxO translocation and transcriptional regulation. *Biochem J.* 2004;380:297–309.
181. Jeong JY, Jeoung NH, Park K-G, Lee I-K. Transcriptional regulation of pyruvate dehydrogenase kinase. *Diabetes Metab J.* 2012;36:328–335.
182. Sciarretta S, Volpe M, Sadoshima J. Mammalian target of rapamycin signaling in cardiac physiology and disease. *Circ Res.* 2014;114:549–564.
183. Gwinn DM, Shackelford DB, Egan DF, Mihaylova MM, Mery A, Vasquez DS, Turk BE, Shaw RJ. AMPK phosphorylation of raptor mediates a metabolic checkpoint. *Mol Cell.* 2008;30:214–226.
184. Wahli W, Braissant O, Desvergne B. Peroxisome proliferator activated receptors: transcriptional regulators of adipogenesis, lipid metabolism and more... *Chem Biol.* 1995;2:261–266.
185. Desvergne B, Wahli W. Peroxisome proliferator-activated receptors: nuclear control of metabolism. *Endocr Rev.* 1999;20:649–688.
186. Laudet V, Hänni C, Coll J, Catzeflis F, Stéhelin D. Evolution of the nuclear receptor gene superfamily. *EMBO J.* 1992;11:1003–1013.
187. Chinetti-Gbaguidi G, Fruchart JC, Staels B. Pleiotropic effects of fibrates. *Curr Atheroscler Rep.* 2005;7:396–401.
188. Issemann I, Green S. Activation of a member of the steroid hormone receptor superfamily by peroxisome proliferators. *Nature.* 1990;347:645–650.
189. Dreyer C, Krey G, Keller H, Givel F, Helftenbein G, Wahli W. Control of the peroxisomal beta-oxidation pathway by a novel family of nuclear hormone receptors. *Cell.* 1992;68:879–887.

190. Braissant O, Foufelle F, Scotto C, Dauça M, Wahli W. Differential expression of peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs): tissue distribution of PPAR-alpha, -beta, and -gamma in the adult rat. *Endocrinology*. 1996;137:354–366.
191. Fajas L, Auboeuf D, Raspé E, Schoonjans K, Lefebvre AM, Saladin R, Najib J, Laville M, Fruchart JC, Deeb S, Vidal-Puig A, Flier J, Briggs MR, Staels B, Vidal H, Auwerx J. The organization, promoter analysis, and expression of the human PPARgamma gene. *J Biol Chem*. 1997;272:18779–18789.
192. Green S, Chambon P. Nuclear receptors enhance our understanding of transcription regulation. *Trends Genet TIG*. 1988;4:309–314.
193. IJpenberg A, Jeannin E, Wahli W, Desvergne B. Polarity and specific sequence requirements of peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)/retinoid X receptor heterodimer binding to DNA. A functional analysis of the malic enzyme gene PPAR response element. *J Biol Chem*. 1997;272:20108–20117.
194. Mangelsdorf DJ, Evans RM. The RXR heterodimers and orphan receptors. *Cell*. 1995;83:841–850.
195. Krey G, Braissant O, L'Horset F, Kalkhoven E, Perroud M, Parker MG, Wahli W. Fatty acids, eicosanoids, and hypolipidemic agents identified as ligands of peroxisome proliferator-activated receptors by coactivator-dependent receptor ligand assay. *Mol Endocrinol Baltim Md*. 1997;11:779–791.
196. Xu HE, Lambert MH, Montana VG, Parks DJ, Blanchard SG, Brown PJ, Sternbach DD, Lehmann JM, Wisely GB, Willson TM, Kliewer SA, Milburn MV. Molecular recognition of fatty acids by peroxisome proliferator-activated receptors. *Mol Cell*. 1999;3:397–403.
197. Grygiel-Górniak B. Peroxisome proliferator-activated receptors and their ligands: nutritional and clinical implications--a review. *Nutr J*. 2014;13:17.
198. Berger J, Moller DE. The mechanisms of action of PPARs. *Annu Rev Med*. 2002;53:409–435.
199. Bugge A, Mandrup S. Molecular Mechanisms and Genome-Wide Aspects of PPAR Subtype Specific Transactivation. *PPAR Res*. 2010;2010.
200. Escher P, Wahli W. Peroxisome proliferator-activated receptors: insight into multiple cellular functions. *Mutat Res*. 2000;448:121–138.
201. Fournier T, Tsatsaris V, Handschuh K, Evain-Brion D. PPARs and the Placenta. *Placenta* [Internet]. 2007 [cited 2015 Feb 7];28:65–76. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0143400406001202>
202. Burns KA, Vanden Heuvel JP. Modulation of PPAR activity via phosphorylation. *Biochim Biophys Acta*. 2007;1771:952–960.
203. Blanquart C, Barbier O, Fruchart J-C, Staels B, Glineur C. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPARalpha) turnover by the ubiquitin-proteasome system controls the ligand-induced expression level of its target genes. *J Biol Chem*. 2002;277:37254–37259.
204. Plutzky J. Peroxisome proliferator-activated receptors in vascular biology and atherosclerosis: emerging insights for evolving paradigms. *Curr Atheroscler Rep*. 2000;2:327–335.
205. Sethi S, Ziouzenkova O, Ni H, Wagner DD, Plutzky J, Mayadas TN. Oxidized omega-3 fatty acids in fish oil inhibit leukocyte-endothelial interactions through activation of PPAR alpha. *Blood*. 2002;100:1340–1346.
206. Kliewer SA, Sundseth SS, Jones SA, Brown PJ, Wisely GB, Koble CS, Devchand P, Wahli W, Willson TM, Lenhard JM, Lehmann JM. Fatty acids and eicosanoids regulate gene expression through direct interactions with peroxisome proliferator-activated receptors alpha and gamma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997;94:4318–4323.
207. Lo Verme J, Fu J, Astarita G, La Rana G, Russo R, Calignano A, Piomelli D. The nuclear receptor peroxisome proliferator-activated receptor-alpha mediates the anti-inflammatory actions of palmitoylethanolamide. *Mol Pharmacol*. 2005;67:15–19.
208. Willson TM, Brown PJ, Sternbach DD, Henke BR. The PPARs: from orphan receptors to drug discovery. *J Med Chem*. 2000;43:527–550.
209. Forman BM, Chen J, Evans RM. Hypolipidemic drugs, polyunsaturated fatty acids, and eicosanoids are ligands for peroxisome proliferator-activated receptors alpha and delta. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997;94:4312–4317.
210. Reddy JK, Hashimoto T. Peroxisomal beta-oxidation and peroxisome proliferator-activated receptor alpha: an adaptive metabolic system. *Annu Rev Nutr*. 2001;21:193–230.
211. Schoonjans K, Martin G, Staels B, Auwerx J. Peroxisome proliferator-activated receptors, orphans with ligands and functions. *Curr Opin Lipidol*. 1997;8:159–166.

212. Vosper H, Khoudoli GA, Graham TL, Palmer CNA. Peroxisome proliferator-activated receptor agonists, hyperlipidaemia, and atherosclerosis. *Pharmacol Ther.* 2002;95:47–62.
213. Francis GA, Annicotte J-S, Auwerx J. PPAR-alpha effects on the heart and other vascular tissues. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2003;285:H1–9.
214. Finck BN, Kelly DP. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPARalpha) signaling in the gene regulatory control of energy metabolism in the normal and diseased heart. *J Mol Cell Cardiol.* 2002;34:1249–1257.
215. Sack MN, Rader TA, Park S, Bastin J, McCune SA, Kelly DP. Fatty acid oxidation enzyme gene expression is downregulated in the failing heart. *Circulation.* 1996;94:2837–2842.
216. Sack MN, Kelly DP. The energy substrate switch during development of heart failure: gene regulatory mechanisms (Review). *Int J Mol Med.* 1998;1:17–24.
217. Barger PM, Kelly DP. PPAR signaling in the control of cardiac energy metabolism. *Trends Cardiovasc Med.* 2000;10:238–245.
218. Gulick T, Cresci S, Caira T, Moore DD, Kelly DP. The peroxisome proliferator-activated receptor regulates mitochondrial fatty acid oxidative enzyme gene expression. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1994;91:11012–11016.
219. Disch DL, Rader TA, Cresci S, Leone TC, Barger PM, Vega R, Wood PA, Kelly DP. Transcriptional control of a nuclear gene encoding a mitochondrial fatty acid oxidation enzyme in transgenic mice: role for nuclear receptors in cardiac and brown adipose expression. *Mol Cell Biol.* 1996;16:4043–4051.
220. Brandt JM, Djouadi F, Kelly DP. Fatty acids activate transcription of the muscle carnitine palmitoyltransferase I gene in cardiac myocytes via the peroxisome proliferator-activated receptor alpha. *J Biol Chem.* 1998;273:23786–23792.
221. Huss JM, Kelly DP. Nuclear receptor signaling and cardiac energetics. *Circ Res.* 2004;95:568–578.
222. Young ME, Patil S, Ying J, Depre C, Ahuja HS, Shipley GL, Stepkowski SM, Davies PJ, Taegtmeier H. Uncoupling protein 3 transcription is regulated by peroxisome proliferator-activated receptor (alpha) in the adult rodent heart. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol.* 2001;15:833–845.
223. Huss JM, Kelly DP. Mitochondrial energy metabolism in heart failure: a question of balance. *J Clin Invest.* 2005;115:547–555.
224. Finck BN, Kelly DP. PGC-1 coactivators: inducible regulators of energy metabolism in health and disease. *J Clin Invest.* 2006;116:615–622.
225. Barger PM, Kelly DP. PPAR signaling in the control of cardiac energy metabolism. *Trends Cardiovasc Med.* 2000;10:238–245.
226. Lehman JJ, Barger PM, Kovacs A, Saffitz JE, Medeiros DM, Kelly DP. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 promotes cardiac mitochondrial biogenesis. *J Clin Invest.* 2000;106:847–856.
227. Finck BN, Kelly DP. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 (PGC-1) regulatory cascade in cardiac physiology and disease. *Circulation.* 2007;115:2540–2548.
228. De Gevigney G, Groupe de travail sur les valvulopathies de la Societe francaise de cardiologi. [The best of valvular heart disease in 2006]. *Arch Mal Coeur Vaiss.* 2007;100 Spec No 1:19–28.
229. Nishimura RA, Otto CM, Bonow RO, Carabello BA, Erwin JP 3rd, Guyton RA, O’Gara PT, Ruiz CE, Skubas NJ, Sorajja P, Sundt TM 3rd, Thomas JD. 2014 AHA/ACC Guideline for the Management of Patients With Valvular Heart Disease: Executive Summary: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation.* 2014;
230. Carabello BA. The relationship of left ventricular geometry and hypertrophy to left ventricular function in valvular heart disease. *J Heart Valve Dis.* 1995;4 Suppl 2:S132–138; discussion S138–139.
231. Singh JP, Evans JC, Levy D, Larson MG, Freed LA, Fuller DL, Lehman B, Benjamin EJ. Prevalence and clinical determinants of mitral, tricuspid, and aortic regurgitation (the Framingham Heart Study). *Am J Cardiol.* 1999;83:897–902.
232. Nkomo VT, Gardin JM, Skelton TN, Gottdiener JS, Scott CG, Enriquez-Sarano M. Burden of valvular heart diseases: a population-based study. *Lancet.* 2006;368:1005–1011.
233. Bonow RO, Lakatos E, Maron BJ, Epstein SE. Serial long-term assessment of the natural history of asymptomatic patients with chronic aortic regurgitation and normal left ventricular systolic function. *Circulation.* 1991;84:1625–1635.
234. Bekereditian R, Grayburn PA. Valvular Heart Disease Aortic Regurgitation. *Circulation* [Internet]. 2005 [cited 2014 Jan 9];112:125–134. Available from: <http://circ.ahajournals.org.access.bibl.ulaval.ca/content/112/1/125>

235. Bierig SM, Waggoner AD. Aortic Insufficiency Etiology, Pathophysiology, Natural History, and the Role of Echocardiography. *J Diagn Med Sonogr* [Internet]. 2001 [cited 2014 Jan 9];17:59–71. Available from: <http://jdm.sagepub.com.acces.bibl.ulaval.ca/content/17/2/59>
236. Opie LH. Heart Physiology: From Cell to Circulation. Lippincott Williams & Wilkins; 2004.
237. Gaasch WH, Carroll JD, Levine HJ, Criscitiello MG. Chronic aortic regurgitation: prognostic value of left ventricular end-systolic dimension and end-diastolic radius/thickness ratio. *J Am Coll Cardiol*. 1983;1:775–782.
238. Villari B, Hess OM, Kaufmann P, Krogmann ON, Grimm J, Krayenbuehl HP. Effect of aortic valve stenosis (pressure overload) and regurgitation (volume overload) on left ventricular systolic and diastolic function. *Am J Cardiol*. 1992;69:927–934.
239. Gupta A, Carter JN, Truter SL, Leer EH, Herrold EM, Borer JS. Cellular response of human cardiac fibroblasts to mechanically simulated aortic regurgitation. *Am J Ther*. 2006;13:8–11.
240. Wollmuth JR, Bree DR, Cupps BP, Krock MD, Pomerantz BJ, Pasque RP, Howells A, Moazami N, Kouchoukos NT, Pasque MK. Left ventricular wall stress in patients with severe aortic insufficiency with finite element analysis. *Ann Thorac Surg*. 2006;82:840–846.
241. Becker M, Kramann R, Dohmen G, Lückhoff A, Autschbach R, Kelm M, Hoffmann R. Impact of left ventricular loading conditions on myocardial deformation parameters: analysis of early and late changes of myocardial deformation parameters after aortic valve replacement. *J Am Soc Echocardiogr Off Publ Am Soc Echocardiogr*. 2007;20:681–689.
242. Piper C, Schultheiss H-P, Akdemir D, Rudolf J, Horstkotte D, Pauschinger M. Remodeling of the cardiac extracellular matrix differs between volume- and pressure-overloaded ventricles and is specific for each heart valve lesion. *J Heart Valve Dis*. 2003;12:592–600.
243. Villari B, Campbell SE, Hess OM, Mall G, Vassalli G, Weber KT, Krayenbuehl HP. Influence of collagen network on left ventricular systolic and diastolic function in aortic valve disease. *J Am Coll Cardiol*. 1993;22:1477–1484.
244. Bourdarias J-P, (médecin) PB, Cacoub P. Pathologie cardiaque et vasculaire: hémostasie et thrombose. Médecine Sciences Publications; 1998.
245. Goldberg SH, Halperin JL. Aortic regurgitation: disease progression and management. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med*. 2008;5:269–279.
246. Borer JS, Herrold EM, Hochreiter C, Roman M, Supino P, Devereux RB, Kligfield P, Nawaz H. Natural history of left ventricular performance at rest and during exercise after aortic valve replacement for aortic regurgitation. *Circulation*. 1991;84:III133–139.
247. Ardehali A, Segal J, Cheitlin MD. Coronary blood flow reserve in acute aortic regurgitation. *J Am Coll Cardiol*. 1995;25:1387–1392.
248. Zoghbi WA, Enriquez-Sarano M, Foster E, Grayburn PA, Kraft CD, Levine RA, Nihoyannopoulos P, Otto CM, Quinones MA, Rakowski H, Stewart WJ, Waggoner A, Weissman NJ, American Society of Echocardiography. Recommendations for evaluation of the severity of native valvular regurgitation with two-dimensional and Doppler echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr Off Publ Am Soc Echocardiogr*. 2003;16:777–802.
249. Bonow RO, Carabello BA, Chatterjee K, de Leon AC Jr, Faxon DP, Freed MD, Gaasch WH, Lytle BW, Nishimura RA, O’Gara PT, O’Rourke RA, Otto CM, Shah PM, Shanewise JS, Nishimura RA, Carabello BA, Faxon DP, Freed MD, Lytle BW, O’Gara PT, O’Rourke RA, Shah PM, American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. 2008 focused update incorporated into the ACC/AHA 2006 guidelines for the management of patients with valvular heart disease: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to revise the 1998 guidelines for the management of patients with valvular heart disease). Endorsed by the Society of Cardiovascular Anesthesiologists, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, and Society of Thoracic Surgeons. *J Am Coll Cardiol*. 2008;52:e1–142.
250. Oh JK, Seward JB, Tajik AJ. The Echo Manual. Lippincott Williams & Wilkins; 2006.
251. Vahanian A, Alfieri O, Andreotti F, Antunes MJ, Baron-Esquivias G, Baumgartner H, Borger MA, Carrel TP, De Bonis M, Evangelista A, Falk V, Jung B, Lancellotti P, Pierard L, Price S, Schafers H-J, Schuler G, Stepinska J, Swedberg K, Takkenberg J, Von Oppell UO, Windecker S, Zamorano JL, Zembala M, Joint Task Force on the Management of Valvular Heart Disease of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS). [Guidelines on the management of valvular heart disease (version 2012). The Joint Task Force on the Management of

- Valvular Heart Disease of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS)]. *G Ital Cardiol* 2006. 2013;14:167–214.
252. Lancellotti P, Tribouilloy C, Hagendorff A, Moura L, Popescu BA, Agricola E, Monin J-L, Pierard LA, Badano L, Zamorano JL, European Association of Echocardiography. European Association of Echocardiography recommendations for the assessment of valvular regurgitation. Part 1: aortic and pulmonary regurgitation (native valve disease). *Eur J Echocardiogr J Work Group Echocardiogr Eur Soc Cardiol*. 2010;11:223–244.
 253. Otto CM. Timing of aortic valve surgery. *Heart Br Card Soc*. 2000;84:211–218.
 254. Grayburn PA. Vasodilator therapy for chronic aortic and mitral regurgitation. *Am J Med Sci*. 2000;320:202–208.
 255. Levine HJ, Gaasch WH. Vasoactive drugs in chronic regurgitant lesions of the mitral and aortic valves. *J Am Coll Cardiol*. 1996;28:1083–1091.
 256. Shen WF, Roubin GS, Hirasawa K, Uren RF, Hutton BF, Harris PJ, Fletcher PJ, Kelly DT. Noninvasive assessment of acute effects of nifedipine on rest and exercise hemodynamics and cardiac function in patients with aortic regurgitation. *J Am Coll Cardiol*. 1984;4:902–907.
 257. Lin M, Chiang HT, Lin SL, Chang MS, Chiang BN, Kuo HW, Cheitlin MD. Vasodilator therapy in chronic asymptomatic aortic regurgitation: enalapril versus hydralazine therapy. *J Am Coll Cardiol*. 1994;24:1046–1053.
 258. Wisenbaugh T, Sinovich V, Dullabh A, Sareli P. Six month pilot study of captopril for mildly symptomatic, severe isolated mitral and isolated aortic regurgitation. *J Heart Valve Dis*. 1994;3:197–204.
 259. Scognamiglio R, Fasoli G, Ponchia A, Dalla-Volta S. Long-term nifedipine unloading therapy in asymptomatic patients with chronic severe aortic regurgitation. *J Am Coll Cardiol*. 1990;16:424–429.
 260. Banaszewski M, Rydlewska-Sadowska W, Rubkiewicz S. Captopril or nifedipine? Comparison of rest and exercise acute effects and long-term therapy in chronic isolated asymptomatic moderate to severe aortic regurgitation. *J Heart Valve Dis*. 1998;7:488–499.
 261. Francis GS, Cohn JN, Johnson G, Rector TS, Goldman S, Simon A. Plasma norepinephrine, plasma renin activity, and congestive heart failure. Relations to survival and the effects of therapy in V-HeFT II. The V-HeFT VA Cooperative Studies Group. *Circulation*. 1993;87:VI40–48.
 262. Plante E, Lachance D, Gaudreau M, Drolet M-C, Roussel E, Arsenault M, Couet J. Effectiveness of beta-blockade in experimental chronic aortic regurgitation. *Circulation*. 2004;110:1477–1483.
 263. Magid NM, Wallerson DC, Borer JS, Mukherjee A, Young MS, Devereux RB, Carter JN. Left ventricular diastolic and systolic performance during chronic experimental aortic regurgitation. *Am J Physiol*. 1992;263:H226–233.
 264. Swynghedauw B, Bouveret P, Durand M, Hatt PY, Lemaire F, Piguat V. Myofibrillar and actomyosin adenosine-tri-phosphatase in experimental aortic insufficiency. *Cardiovasc Res*. 1971;5:458–468.
 265. Hatt PY, Berjal G, Moravec J, Swynghedauw B. Heart failure: an electron microscopic study of the left ventricular papillary muscle in aortic insufficiency in the rabbit. *J Mol Cell Cardiol*. 1970;1:235–247.
 266. Arsenault M, Plante E, Drolet M-C, Couet J. Experimental aortic regurgitation in rats under echocardiographic guidance. *J Heart Valve Dis*. 2002;11:128–134.
 267. Cohn JN, Ferrari R, Sharpe N. Cardiac remodeling—concepts and clinical implications: a consensus paper from an international forum on cardiac remodeling. Behalf of an International Forum on Cardiac Remodeling. *J Am Coll Cardiol*. 2000;35:569–582.
 268. Gerdes AM. Remodeling of ventricular myocytes during cardiac hypertrophy and heart failure. *J Fla Med Assoc*. 1992;79:253–255.
 269. Gerdes AM. Cardiac myocyte remodeling in hypertrophy and progression to failure. *J Card Fail*. 2002;8:S264–268.
 270. Grossman W, Paulus WJ. Myocardial stress and hypertrophy: a complex interface between biophysics and cardiac remodeling. *J Clin Invest*. 2013;123:3701–3703.
 271. Leri A, Kajstura J, Anversa P. Myocyte proliferation and ventricular remodeling. *J Card Fail*. 2002;8:S518–525.
 272. Kong P, Christia P, Frangogiannis NG. The pathogenesis of cardiac fibrosis. *Cell Mol Life Sci CMLS*. 2014;71:549–574.
 273. Christie ME, Rodgers RL. Altered glucose and fatty acid oxidation in hearts of the spontaneously hypertensive rat. *J Mol Cell Cardiol*. 1994;26:1371–1375.

274. Dávila-Román VG, Vedala G, Herrero P, de las Fuentes L, Rogers JG, Kelly DP, Gropler RJ. Altered myocardial fatty acid and glucose metabolism in idiopathic dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*. 2002;40:271–277.
275. Poolman RA, Brooks G. Expressions and activities of cell cycle regulatory molecules during the transition from myocyte hyperplasia to hypertrophy. *J Mol Cell Cardiol*. 1998;30:2121–2135.
276. Liu SK, Magid NR, Fox PR, Goldfine SM, Borer JS. Fibrosis, myocyte degeneration and heart failure in chronic experimental aortic regurgitation. *Cardiology*. 1998;90:101–109.
277. Weber KT, Brilla CG. Pathological hypertrophy and cardiac interstitium. Fibrosis and renin-angiotensin-aldosterone system. *Circulation*. 1991;83:1849–1865.
278. Janicki JS. Myocardial collagen remodeling and left ventricular diastolic function. *Braz J Med Biol Res Rev Bras Pesqui Médicas E Biológicas Soc Bras Biofísica Al*. 1992;25:975–982.
279. Covell JW. Factors influencing diastolic function. Possible role of the extracellular matrix. *Circulation*. 1990;81:III155–158.
280. Kass DA, Bronzwaer JGF, Paulus WJ. What mechanisms underlie diastolic dysfunction in heart failure? *Circ Res*. 2004;94:1533–1542.
281. Jalil JE, Doering CW, Janicki JS, Pick R, Shroff SG, Weber KT. Fibrillar collagen and myocardial stiffness in the intact hypertrophied rat left ventricle. *Circ Res*. 1989;64:1041–1050.
282. Thum T, Galuppo P, Wolf C, Fiedler J, Kneitz S, van Laake LW, Doevendans PA, Mummery CL, Borlak J, Haverich A, Gross C, Engelhardt S, Ertl G, Bauersachs J. MicroRNAs in the human heart: a clue to fetal gene reprogramming in heart failure. *Circulation*. 2007;116:258–267.
283. Mahdavi V, Lompre AM, Chambers AP, Nadal-Ginard B. Cardiac myosin heavy chain isozymic transitions during development and under pathological conditions are regulated at the level of mRNA availability. *Eur Heart J*. 1984;5 Suppl F:181–191.
284. Morkin E. Control of cardiac myosin heavy chain gene expression. *Microsc Res Tech*. 2000;50:522–531.
285. Izumo S, Lompre AM, Matsuoka R, Koren G, Schwartz K, Nadal-Ginard B, Mahdavi V. Myosin heavy chain messenger RNA and protein isoform transitions during cardiac hypertrophy. Interaction between hemodynamic and thyroid hormone-induced signals. *J Clin Invest*. 1987;79:970–977.
286. Dorn GW 2nd, Robbins J, Ball N, Walsh RA. Myosin heavy chain regulation and myocyte contractile depression after LV hypertrophy in aortic-banded mice. *Am J Physiol*. 1994;267:H400–405.
287. Swynghedauw B. Molecular mechanisms of myocardial remodeling. *Physiol Rev*. 1999;79:215–262.
288. Lowes BD, Gilbert EM, Abraham WT, Minobe WA, Larrabee P, Ferguson D, Wolfel EE, Lindenfeld J, Tsvetkova T, Robertson AD, Quaipe RA, Bristow MR. Myocardial gene expression in dilated cardiomyopathy treated with beta-blocking agents. *N Engl J Med*. 2002;346:1357–1365.
289. Rosenkranz AC, Woods RL, Dusting GJ, Ritchie RH. Antihypertrophic actions of the natriuretic peptides in adult rat cardiomyocytes: importance of cyclic GMP. *Cardiovasc Res*. 2003;57:515–522.
290. Fiedler B, Lohmann SM, Smolenski A, Linnemuller S, Pieske B, Schroder F, Molkenin JD, Drexler H, Wollert KC. Inhibition of calcineurin-NFAT hypertrophy signaling by cGMP-dependent protein kinase type I in cardiac myocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99:11363–11368.
291. Gardner DG. Natriuretic peptides: markers or modulators of cardiac hypertrophy? *Trends Endocrinol Metab TEM*. 2003;14:411–416.
292. Richards AM. Natriuretic peptides: update on Peptide release, bioactivity, and clinical use. *Hypertension*. 2007;50:25–30.
293. Bernardo BC, Weeks KL, Pretorius L, McMullen JR. Molecular distinction between physiological and pathological cardiac hypertrophy: Experimental findings and therapeutic strategies. *Pharmacol Ther* [Internet]. 2010 [cited 2014 Jan 3];128:191–227. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0163725810000793>
294. Knöll R, Hoshijima M, Chien K. Cardiac mechanotransduction and implications for heart disease. *J Mol Med Berl Ger*. 2003;81:750–756.
295. Sadoshima J, Izumo S. The cellular and molecular response of cardiac myocytes to mechanical stress. *Annu Rev Physiol*. 1997;59:551–571.
296. Freitas RR de A, Lopes KL, Carillo BA, Bergamaschi CT, Carmona AK, Casarini DE, Furukawa L, Heimann JC, Campos RR, Dolnikoff MS. Sympathetic and renin-angiotensin systems contribute to increased blood pressure in sucrose-fed rats. *Am J Hypertens*. 2007;20:692–698.
297. Ito H, Hiroe M, Hirata Y, Fujisaki H, Adachi S, Akimoto H, Ohta Y, Marumo F. Endothelin ETA receptor antagonist blocks cardiac hypertrophy provoked by hemodynamic overload. *Circulation*. 1994;89:2198–2203.

298. Arai M, Yoguchi A, Iso T, Takahashi T, Imai S, Murata K, Suzuki T. Endothelin-1 and its binding sites are upregulated in pressure overload cardiac hypertrophy. *Am J Physiol*. 1995;268:H2084–2091.
299. O'Connell TD, Jensen BC, Baker AJ, Simpson PC. Cardiac alpha1-adrenergic receptors: novel aspects of expression, signaling mechanisms, physiologic function, and clinical importance. *Pharmacol Rev*. 2014;66:308–333.
300. Du X-J. Distinct role of adrenoceptor subtypes in cardiac adaptation to chronic pressure overload. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2008;35:355–360.
301. Campos LA, Iliescu R, Fontes MAP, Schlegel W-P, Bader M, Baltatu OC. Enhanced isoproterenol-induced cardiac hypertrophy in transgenic rats with low brain angiotensinogen. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2006;291:H2371–2376.
302. Shubeita HE, Martinson EA, Van Bilsen M, Chien KR, Brown JH. Transcriptional activation of the cardiac myosin light chain 2 and atrial natriuretic factor genes by protein kinase C in neonatal rat ventricular myocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1992;89:1305–1309.
303. Baker KM, Booz GW, Dostal DE. Cardiac actions of angiotensin II: Role of an intracardiac renin-angiotensin system. *Annu Rev Physiol*. 1992;54:227–241.
304. Lijnen P, Petrov V. Renin-angiotensin system, hypertrophy and gene expression in cardiac myocytes. *J Mol Cell Cardiol*. 1999;31:949–970.
305. Yamazaki T, Komuro I, Yazaki Y. Role of the renin-angiotensin system in cardiac hypertrophy. *Am J Cardiol*. 1999;83:53H–57H.
306. Yamazaki T, Yazaki Y. Is there major involvement of the renin-angiotensin system in cardiac hypertrophy? *Circ Res*. 1997;81:639–642.
307. Mogi M, Iwai M, Horiuchi M. New insights into the regulation of angiotensin receptors. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2009;18:138–143.
308. Baker KM, Chernin MI, Wixson SK, Aceto JF. Renin-angiotensin system involvement in pressure-overload cardiac hypertrophy in rats. *Am J Physiol*. 1990;259:H324–332.
309. Sadoshima J, Xu Y, Slayter HS, Izumo S. Autocrine release of angiotensin II mediates stretch-induced hypertrophy of cardiac myocytes in vitro. *Cell*. 1993;75:977–984.
310. Shirai H, Takahashi K, Katada T, Inagami T. Mapping of G protein coupling sites of the angiotensin II type 1 receptor. *Hypertension*. 1995;25:726–730.
311. Bernstein KE, Ali MS, Sayeski PP, Semeniuk D, Marrero MB. New insights into the cellular signaling of seven transmembrane receptors: the role of tyrosine phosphorylation. *Lab Invest J Tech Methods Pathol*. 1998;78:3–7.
312. Balakumar P, Jagadeesh G. Multifarious molecular signaling cascades of cardiac hypertrophy: can the muddy waters be cleared? *Pharmacol Res Off J Ital Pharmacol Soc*. 2010;62:365–383.
313. Barry SP, Davidson SM, Townsend PA. Molecular regulation of cardiac hypertrophy. *Int J Biochem Cell Biol*. 2008;40:2023–2039.
314. Hunter JJ, Chien KR. Signaling pathways for cardiac hypertrophy and failure. *N Engl J Med*. 1999;341:1276–1283.
315. Lips DJ, deWindt LJ, van Kraaij DJW, Doevendans PA. Molecular determinants of myocardial hypertrophy and failure: alternative pathways for beneficial and maladaptive hypertrophy. *Eur Heart J*. 2003;24:883–896.
316. Piano MR, Bondmass M, Schwertz DW. The molecular and cellular pathophysiology of heart failure. *Heart Lung J Crit Care*. 1998;27:3–19; quiz 20–21.
317. Sugden PH, Clerk A. Activation of the small GTP-binding protein Ras in the heart by hypertrophic agonists. *Trends Cardiovasc Med*. 2000;10:1–8.
318. Zeidan A, Javadov S, Chakrabarti S, Karmazyn M. Leptin-induced cardiomyocyte hypertrophy involves selective caveolae and RhoA/ROCK-dependent p38 MAPK translocation to nuclei. *Cardiovasc Res*. 2008;77:64–72.
319. Oudit GY, Crackower MA, Eriksson U, Sarao R, Kozieradzki I, Sasaki T, Irie-Sasaki J, Gidrewicz D, Rybin VO, Wada T, Steinberg SF, Backx PH, Penninger JM. Phosphoinositide 3-kinase gamma-deficient mice are protected from isoproterenol-induced heart failure. *Circulation*. 2003;108:2147–2152.
320. Crackower MA, Oudit GY, Kozieradzki I, Sarao R, Sun H, Sasaki T, Hirsch E, Suzuki A, Shioi T, Irie-Sasaki J, Sah R, Cheng H-YM, Rybin VO, Lembo G, Fratta L, Oliveira-dos-Santos AJ, Benovic JL, Kahn CR, Izumo S, Steinberg SF, Wymann MP, Backx PH, Penninger JM. Regulation of myocardial contractility and cell size by distinct PI3K-PTEN signaling pathways. *Cell*. 2002;110:737–749.

321. Zhang W, Liu HT. MAPK signal pathways in the regulation of cell proliferation in mammalian cells. *Cell Res.* 2002;12:9–18.
322. Nicol RL, Frey N, Pearson G, Cobb M, Richardson J, Olson EN. Activated MEK5 induces serial assembly of sarcomeres and eccentric cardiac hypertrophy. *EMBO J.* 2001;20:2757–2767.
323. Cook SA, Sugden PH, Clerk A. Activation of c-Jun N-terminal kinases and p38-mitogen-activated protein kinases in human heart failure secondary to ischaemic heart disease. *J Mol Cell Cardiol.* 1999;31:1429–1434.
324. Bogoyevitch MA, Gillespie-Brown J, Ketterman AJ, Fuller SJ, Ben-Levy R, Ashworth A, Marshall CJ, Sugden PH. Stimulation of the stress-activated mitogen-activated protein kinase subfamilies in perfused heart. p38/RK mitogen-activated protein kinases and c-Jun N-terminal kinases are activated by ischemia/reperfusion. *Circ Res.* 1996;79:162–173.
325. Ramirez MT, Sah VP, Zhao XL, Hunter JJ, Chien KR, Brown JH. The MEKK-JNK pathway is stimulated by alpha1-adrenergic receptor and ras activation and is associated with in vitro and in vivo cardiac hypertrophy. *J Biol Chem.* 1997;272:14057–14061.
326. Choukroun G, Hajjar R, Fry S, del Monte F, Haq S, Guerrero JL, Picard M, Rosenzweig A, Force T. Regulation of cardiac hypertrophy in vivo by the stress-activated protein kinases/c-Jun NH(2)-terminal kinases. *J Clin Invest.* 1999;104:391–398.
327. Wang Y, Su B, Sah VP, Brown JH, Han J, Chien KR. Cardiac hypertrophy induced by mitogen-activated protein kinase kinase 7, a specific activator for c-Jun NH2-terminal kinase in ventricular muscle cells. *J Biol Chem.* 1998;273:5423–5426.
328. Lemke LE, Bloem LJ, Fouts R, Esterman M, Sandusky G, Vlahos CJ. Decreased p38 MAPK activity in end-stage failing human myocardium: p38 MAPK alpha is the predominant isoform expressed in human heart. *J Mol Cell Cardiol.* 2001;33:1527–1540.
329. Braz JC, Bueno OF, Liang Q, Wilkins BJ, Dai Y-S, Parsons S, Braunwart J, Glascock BJ, Kleivitsky R, Kimball TF, Hewett TE, Molkentin JD. Targeted inhibition of p38 MAPK promotes hypertrophic cardiomyopathy through upregulation of calcineurin-NFAT signaling. *J Clin Invest.* 2003;111:1475–1486.
330. Liao P, Georgakopoulos D, Kovacs A, Zheng M, Lerner D, Pu H, Saffitz J, Chien K, Xiao RP, Kass DA, Wang Y. The in vivo role of p38 MAP kinases in cardiac remodeling and restrictive cardiomyopathy. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001;98:12283–12288.
331. Petrich BG, Wang Y. Stress-activated MAP kinases in cardiac remodeling and heart failure; new insights from transgenic studies. *Trends Cardiovasc Med.* 2004;14:50–55.
332. Baines CP, Molkentin JD. STRESS signaling pathways that modulate cardiac myocyte apoptosis. *J Mol Cell Cardiol.* 2005;38:47–62.
333. Wang Y. Mitogen-activated protein kinases in heart development and diseases. *Circulation.* 2007;116:1413–1423.
334. Pellegrini S, Dusanter-Fourt I. The structure, regulation and function of the Janus kinases (JAKs) and the signal transducers and activators of transcription (STATs). *Eur J Biochem FEBS.* 1997;248:615–633.
335. Pan J, Fukuda K, Kodama H, Sano M, Takahashi T, Makino S, Kato T, Manabe T, Hori S, Ogawa S. Involvement of gp130-mediated signaling in pressure overload-induced activation of the JAK/STAT pathway in rodent heart. *Heart Vessels.* 1998;13:199–208.
336. Sandberg EM, Wallace TA, Godeny MD, VonDerLinden D, Sayeski PP. Jak2 tyrosine kinase: a true jak of all trades? *Cell Biochem Biophys.* 2004;41:207–232.
337. Sheng Z, Knowlton K, Chen J, Hoshijima M, Brown JH, Chien KR. Cardiotrophin 1 (CT-1) inhibition of cardiac myocyte apoptosis via a mitogen-activated protein kinase-dependent pathway. Divergence from downstream CT-1 signals for myocardial cell hypertrophy. *J Biol Chem.* 1997;272:5783–5791.
338. Pan J, Fukuda K, Kodama H, Makino S, Takahashi T, Sano M, Hori S, Ogawa S. Role of angiotensin II in activation of the JAK/STAT pathway induced by acute pressure overload in the rat heart. *Circ Res.* 1997;81:611–617.
339. Sussman MA, Völkers M, Fischer K, Bailey B, Cottage CT, Din S, Gude N, Avitabile D, Alvarez R, Sundararaman B, Quijada P, Mason M, Konstandin MH, Malhowski A, Cheng Z, Khan M, McGregor M. Myocardial AKT: the omnipresent nexus. *Physiol Rev.* 2011;91:1023–1070.
340. DeBosch B, Treskov I, Lupu TS, Weinheimer C, Kovacs A, Courtois M, Muslin AJ. Akt1 is required for physiological cardiac growth. *Circulation.* 2006;113:2097–2104.
341. Matsui T, Rosenzweig A. Convergent signal transduction pathways controlling cardiomyocyte survival and function: the role of PI 3-kinase and Akt. *J Mol Cell Cardiol.* 2005;38:63–71.

342. Webster KA. Aktion in the nucleus. *Circ Res*. 2004;94:856–859.
343. Takaishi H, Konishi H, Matsuzaki H, Ono Y, Shirai Y, Saito N, Kitamura T, Ogawa W, Kasuga M, Kikkawa U, Nishizuka Y. Regulation of nuclear translocation of forkhead transcription factor AFX by protein kinase B. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999;96:11836–11841.
344. Miyamoto T, Takeishi Y, Takahashi H, Shishido T, Arimoto T, Tomoike H, Kubota I. Activation of distinct signal transduction pathways in hypertrophied hearts by pressure and volume overload. *Basic Res Cardiol*. 2004;99:328–337.
345. Donker DW, Maessen JG, Verheyen F, Ramaekers FC, Spätjens RLHMG, Kuijpers H, Ramakers C, Schiffers PMH, Vos MA, Crijns HJGM, Volders PGA. Impact of acute and enduring volume overload on mechanotransduction and cytoskeletal integrity of canine left ventricular myocardium. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2007;292:H2324–2332.
346. Dent MR, Das S, Dhalla NS. Alterations in both death and survival signals for apoptosis in heart failure due to volume overload. *J Mol Cell Cardiol*. 2007;43:726–732.
347. Crabtree GR, Olson EN. NFAT signaling: choreographing the social lives of cells. *Cell*. 2002;109 Suppl:S67–79.
348. Tu VC, Sun H, Bowden GT, Chen QM. Involvement of oxidants and AP-1 in angiotensin II-activated NFAT3 transcription factor. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2007;292:C1248–1255.
349. Haq S, Choukroun G, Lim H, Tymitz KM, del Monte F, Gwathmey J, Grazette L, Michael A, Hajjar R, Force T, Molkentin JD. Differential activation of signal transduction pathways in human hearts with hypertrophy versus advanced heart failure. *Circulation*. 2001;103:670–677.
350. Li J, Wang J, Russell FD, Molenaar P. Activation of calcineurin in human failing heart ventricle by endothelin-1, angiotensin II and urotensin II. *Br J Pharmacol*. 2005;145:432–440.
351. Lim HW, De Windt LJ, Steinberg L, Taigen T, Witt SA, Kimball TR, Molkentin JD. Calcineurin expression, activation, and function in cardiac pressure-overload hypertrophy. *Circulation*. 2000;101:2431–2437.
352. Zou Y, Hiroi Y, Uozumi H, Takimoto E, Toko H, Zhu W, Kudoh S, Mizukami M, Shimoyama M, Shibasaki F, Nagai R, Yazaki Y, Komuro I. Calcineurin plays a critical role in the development of pressure overload-induced cardiac hypertrophy. *Circulation*. 2001;104:97–101.
353. Saito T, Fukuzawa J, Osaki J, Sakuragi H, Yao N, Haneda T, Fujino T, Wakamiya N, Kikuchi K, Hasebe N. Roles of calcineurin and calcium/calmodulin-dependent protein kinase II in pressure overload-induced cardiac hypertrophy. *J Mol Cell Cardiol*. 2003;35:1153–1160.
354. Wilkins BJ, Dai Y-S, Bueno OF, Parsons SA, Xu J, Plank DM, Jones F, Kimball TR, Molkentin JD. Calcineurin/NFAT coupling participates in pathological, but not physiological, cardiac hypertrophy. *Circ Res*. 2004;94:110–118.
355. Woodgett JR. Molecular cloning and expression of glycogen synthase kinase-3/factor A. *EMBO J*. 1990;9:2431–2438.
356. Proud CG. Signalling to translation: how signal transduction pathways control the protein synthetic machinery. *Biochem J*. 2007;403:217–234.
357. Yoeli-Lerner M, Chin YR, Hansen CK, Tokar A. Akt/protein kinase b and glycogen synthase kinase-3beta signaling pathway regulates cell migration through the NFAT1 transcription factor. *Mol Cancer Res MCR*. 2009;7:425–432.
358. Antos CL, McKinsey TA, Frey N, Kutschke W, McAnally J, Shelton JM, Richardson JA, Hill JA, Olson EN. Activated glycogen synthase-3 beta suppresses cardiac hypertrophy in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99:907–912.
359. Morisco C, Seta K, Hardt SE, Lee Y, Vatner SF, Sadoshima J. Glycogen synthase kinase 3beta regulates GATA4 in cardiac myocytes. *J Biol Chem*. 2001;276:28586–28597.
360. Badorff C, Seeger FH, Zeiher AM, Dimmeler S. Glycogen synthase kinase 3beta inhibits myocardium-dependent transcription and hypertrophy induction through site-specific phosphorylation. *Circ Res*. 2005;97:645–654.
361. Miura T, Tanno M. Mitochondria and GSK-3beta in cardioprotection against ischemia/reperfusion injury. *Cardiovasc Drugs Ther Spons Int Soc Cardiovasc Pharmacother*. 2010;24:255–263.
362. Morisco C, Zebrowski D, Condorelli G, Tschlis P, Vatner SF, Sadoshima J. The Akt-glycogen synthase kinase 3beta pathway regulates transcription of atrial natriuretic factor induced by beta-adrenergic receptor stimulation in cardiac myocytes. *J Biol Chem*. 2000;275:14466–14475.

363. Haq S, Choukroun G, Kang ZB, Ranu H, Matsui T, Rosenzweig A, Molkentin JD, Alessandrini A, Woodgett J, Hajjar R, Michael A, Force T. Glycogen synthase kinase-3beta is a negative regulator of cardiomyocyte hypertrophy. *J Cell Biol.* 2000;151:117–130.
364. Hardt SE, Sadoshima J. Glycogen synthase kinase-3beta: a novel regulator of cardiac hypertrophy and development. *Circ Res.* 2002;90:1055–1063.
365. Papanicolaou KN, Izumiya Y, Walsh K. Forkhead transcription factors and cardiovascular biology. *Circ Res.* 2008;102:16–31.
366. Kops GJPL, Dansen TB, Polderman PE, Saarloos I, Wirtz KWA, Coffey PJ, Huang T-T, Bos JL, Medema RH, Burgering BMT. Forkhead transcription factor FOXO3a protects quiescent cells from oxidative stress. *Nature.* 2002;419:316–321.
367. Puigserver P, Rhee J, Donovan J, Walkey CJ, Yoon JC, Oriente F, Kitamura Y, Altomonte J, Dong H, Accili D, Spiegelman BM. Insulin-regulated hepatic gluconeogenesis through FOXO1-PGC-1alpha interaction. *Nature.* 2003;423:550–555.
368. Medema RH, Kops GJ, Bos JL, Burgering BM. AFX-like Forkhead transcription factors mediate cell-cycle regulation by Ras and PKB through p27kip1. *Nature.* 2000;404:782–787.
369. Stahl M, Dijkers PF, Kops GJPL, Lens SMA, Coffey PJ, Burgering BMT, Medema RH. The forkhead transcription factor FoxO regulates transcription of p27Kip1 and Bim in response to IL-2. *J Immunol Baltim Md 1950.* 2002;168:5024–5031.
370. Greer EL, Oskoui PR, Banko MR, Maniar JM, Gygi MP, Gygi SP, Brunet A. The energy sensor AMP-activated protein kinase directly regulates the mammalian FOXO3 transcription factor. *J Biol Chem.* 2007;282:30107–30119.
371. Dixit M, Bess E, Fisslthaler B, Härtel FV, Noll T, Busse R, Fleming I. Shear stress-induced activation of the AMP-activated protein kinase regulates FoxO1a and angiotensin-2 in endothelial cells. *Cardiovasc Res.* 2008;77:160–168.
372. Philip-Couderc P, Tavares NI, Roatti A, Lerch R, Montessuit C, Baertschi AJ. Forkhead transcription factors coordinate expression of myocardial KATP channel subunits and energy metabolism. *Circ Res.* 2008;102:e20–35.
373. Daitoku H, Yamagata K, Matsuzaki H, Hatta M, Fukamizu A. Regulation of PGC-1 promoter activity by protein kinase B and the forkhead transcription factor FKHR. *Diabetes.* 2003;52:642–649.
374. Zhang Y, Ma K, Sadana P, Chowdhury F, Gaillard S, Wang F, McDonnell DP, Unterman TG, Elam MB, Park EA. Estrogen-related receptors stimulate pyruvate dehydrogenase kinase isoform 4 gene expression. *J Biol Chem.* 2006;281:39897–39906.
375. Dreyer C, Sablin M-P, Faivre S, Raymond E. [Topics in mTOR pathway and its inhibitors]. *Bull Cancer (Paris).* 2009;96:87–94.
376. Laplante M, Sabatini DM. mTOR signaling in growth control and disease. *Cell.* 2012;149:274–293.
377. Gingras AC, Gygi SP, Raught B, Polakiewicz RD, Abraham RT, Hoekstra MF, Aebersold R, Sonenberg N. Regulation of 4E-BP1 phosphorylation: a novel two-step mechanism. *Genes Dev.* 1999;13:1422–1437.
378. Simm A, Schlüter K, Diez C, Piper HM, Hoppe J. Activation of p70(S6) kinase by beta-adrenoceptor agonists on adult cardiomyocytes. *J Mol Cell Cardiol.* 1998;30:2059–2067.
379. Sadoshima J, Izumo S. Rapamycin selectively inhibits angiotensin II-induced increase in protein synthesis in cardiac myocytes in vitro. Potential role of 70-kD S6 kinase in angiotensin II-induced cardiac hypertrophy. *Circ Res.* 1995;77:1040–1052.
380. Lavandero S, Foncea R, Pérez V, Sapag-Hagar M. Effect of inhibitors of signal transduction on IGF-1-induced protein synthesis associated with hypertrophy in cultured neonatal rat ventricular myocytes. *FEBS Lett.* 1998;422:193–196.
381. Zhang D, Contu R, Latronico MVG, Zhang J, Zhang JL, Rizzi R, Catalucci D, Miyamoto S, Huang K, Ceci M, Gu Y, Dalton ND, Peterson KL, Guan K-L, Brown JH, Chen J, Sonenberg N, Condorelli G. MTORC1 regulates cardiac function and myocyte survival through 4E-BP1 inhibition in mice. *J Clin Invest.* 2010;120:2805–2816.
382. Shende P, Plaisance I, Morandi C, Pellieux C, Berthonneche C, Zorzato F, Krishnan J, Lerch R, Hall MN, Rüegg MA, Pedrazzini T, Brink M. Cardiac raptor ablation impairs adaptive hypertrophy, alters metabolic gene expression, and causes heart failure in mice. *Circulation.* 2011;123:1073–1082.
383. Kemi OJ, Ceci M, Wisloff U, Grimaldi S, Gallo P, Smith GL, Condorelli G, Ellingsen O. Activation or inactivation of cardiac Akt/mTOR signaling diverges physiological from pathological hypertrophy. *J Cell Physiol.* 2008;214:316–321.

384. Shioi T, McMullen JR, Tarnavski O, Converso K, Sherwood MC, Manning WJ, Izumo S. Rapamycin attenuates load-induced cardiac hypertrophy in mice. *Circulation*. 2003;107:1664–1670.
385. Barger PM, Kelly DP. Fatty acid utilization in the hypertrophied and failing heart: molecular regulatory mechanisms. *Am J Med Sci*. 1999;318:36–42.
386. Doenst T, Pytel G, Schrepper A, Amorim P, Färber G, Shingu Y, Mohr FW, Schwarzer M. Decreased rates of substrate oxidation ex vivo predict the onset of heart failure and contractile dysfunction in rats with pressure overload. *Cardiovasc Res*. 2010;86:461–470.
387. Sambandam N, Lopaschuk GD, Brownsey RW, Allard MF. Energy metabolism in the hypertrophied heart. *Heart Fail Rev*. 2002;7:161–173.
388. Allard MF, Schönekeess BO, Henning SL, English DR, Lopaschuk GD. Contribution of oxidative metabolism and glycolysis to ATP production in hypertrophied hearts. *Am J Physiol*. 1994;267:H742–750.
389. Heiss HW, Wink K, Barmeyer J, Keul J, Reindell H. Myocardial oxygen consumption and substrate uptake in man during physiological and pathological volume load. *Basic Res Cardiol*. 1977;72:293–298.
390. Kissling G. Oxygen consumption and substrate uptake of the hypertrophied rat heart in situ. *Basic Res Cardiol*. 1980;75:185–192.
391. Kagaya Y, Kanno Y, Takeyama D, Ishide N, Maruyama Y, Takahashi T, Ido T, Takishima T. Effects of long-term pressure overload on regional myocardial glucose and free fatty acid uptake in rats. A quantitative autoradiographic study. *Circulation*. 1990;81:1353–1361.
392. Saks V, Dzeja P, Schlattner U, Vendelin M, Terzic A, Wallimann T. Cardiac system bioenergetics: metabolic basis of the Frank-Starling law. *J Physiol*. 2006;571:253–273.
393. Bugger H, Schwarzer M, Chen D, Schrepper A, Amorim PA, Schoepe M, Nguyen TD, Mohr FW, Khalimonchuk O, Weimer BC, Doenst T. Proteomic remodelling of mitochondrial oxidative pathways in pressure overload-induced heart failure. *Cardiovasc Res*. 2010;85:376–384.
394. Riehle C, Wende AR, Zaha VG, Pires KM, Wayment B, Olsen C, Bugger H, Buchanan J, Wang X, Moreira AB, Doenst T, Medina-Gomez G, Litwin SE, Lelliott CJ, Vidal-Puig A, Abel ED. PGC-1 β deficiency accelerates the transition to heart failure in pressure overload hypertrophy. *Circ Res*. 2011;109:783–793.
395. Zhabyeyev P, Gandhi M, Mori J, Basu R, Kassiri Z, Clanachan A, Lopaschuk GD, Oudit GY. Pressure-overload-induced heart failure induces a selective reduction in glucose oxidation at physiological afterload. *Cardiovasc Res*. 2013;97:676–685.
396. Degens H, de Brouwer KFJ, Gilde AJ, Lindhout M, Willemsen PHM, Janssen BJ, van der Vusse GJ, van Bilsen M. Cardiac fatty acid metabolism is preserved in the compensated hypertrophic rat heart. *Basic Res Cardiol*. 2006;101:17–26.
397. Akki A, Smith K, Seymour A-ML. Compensated cardiac hypertrophy is characterised by a decline in palmitate oxidation. *Mol Cell Biochem*. 2008;311:215–224.
398. Kato T, Niizuma S, Inuzuka Y, Kawashima T, Okuda J, Tamaki Y, Iwanaga Y, Narazaki M, Matsuda T, Soga T, Kita T, Kimura T, Shioi T. Analysis of metabolic remodeling in compensated left ventricular hypertrophy and heart failure. *Circ Heart Fail*. 2010;3:420–430.
399. Dodd MS, Ball DR, Schroeder MA, Le Page LM, Atherton HJ, Heather LC, Seymour A-M, Ashrafian H, Watkins H, Clarke K, Tyler DJ. In vivo alterations in cardiac metabolism and function in the spontaneously hypertensive rat heart. *Cardiovasc Res*. 2012;95:69–76.
400. Rosenblatt-Velin N, Montessuit C, Papageorgiou I, Terrand J, Lerch R. Postinfarction heart failure in rats is associated with upregulation of GLUT-1 and downregulation of genes of fatty acid metabolism. *Cardiovasc Res*. 2001;52:407–416.
401. Amorim PA, Nguyen TD, Shingu Y, Schwarzer M, Mohr FW, Schrepper A, Doenst T. Myocardial infarction in rats causes partial impairment in insulin response associated with reduced fatty acid oxidation and mitochondrial gene expression. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2010;140:1160–1167.
402. Heather LC, Cole MA, Lygate CA, Evans RD, Stuckey DJ, Murray AJ, Neubauer S, Clarke K. Fatty acid transporter levels and palmitate oxidation rate correlate with ejection fraction in the infarcted rat heart. *Cardiovasc Res*. 2006;72:430–437.
403. Osorio JC, Stanley WC, Linke A, Castellari M, Diep QN, Panchal AR, Hintze TH, Lopaschuk GD, Recchia FA. Impaired myocardial fatty acid oxidation and reduced protein expression of retinoid X receptor-alpha in pacing-induced heart failure. *Circulation*. 2002;106:606–612.
404. Beer M, Seyfarth T, Sandstede J, Landschütz W, Lipke C, Köstler H, von Kienlin M, Harre K, Hahn D, Neubauer S. Absolute concentrations of high-energy phosphate metabolites in normal, hypertrophied,

- and failing human myocardium measured noninvasively with (31)P-SLOOP magnetic resonance spectroscopy. *J Am Coll Cardiol.* 2002;40:1267–1274.
405. Jung WI, Dietze GJ. 31P nuclear magnetic resonance spectroscopy: a noninvasive tool to monitor metabolic abnormalities in left ventricular hypertrophy in human. *Am J Cardiol.* 1999;83:19H–24H.
 406. Sylvén C, Jansson E, Böök K. Key enzymes of myocardial energy metabolism in patients with valvular heart disease: relation to left ventricular function. *Acta Physiol Scand.* 1988;132:267–270.
 407. Noma T, Nishiyama A, Mizushige K, Murakami K, Tsuji T, Kohno M, Rahman M, Fukui T, Abe Y, Kimura S. Possible role of uncoupling protein in regulation of myocardial energy metabolism in aortic regurgitation model rats. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol.* 2001;15:1206–1208.
 408. Klein HH, Spaar U, Schleppe H, Wiegand V, Kreuzer H. Comparative analysis of myocardial enzyme activities of the energy-supplying metabolism in patients with dilative cardiomyopathies and valve diseases. *Clin Cardiol.* 1986;9:197–202.
 409. Lachance D, Dhahri W, Drolet M-C, Roussel É, Gascon S, Sarrhini O, Rousseau JA, Lecomte R, Arsenaault M, Couet J. Endurance training or beta-blockade can partially block the energy metabolism remodeling taking place in experimental chronic left ventricle volume overload. *BMC Cardiovasc Disord.* 2014;14:190.
 410. El Alaoui-Talibi Z, Landormy S, Loireau A, Moravec J. Fatty acid oxidation and mechanical performance of volume-overloaded rat hearts. *Am J Physiol.* 1992;262:H1068–1074.
 411. El Alaoui-Talibi Z, Guendouz A, Moravec M, Moravec J. Control of oxidative metabolism in volume-overloaded rat hearts: effect of propionyl-L-carnitine. *Am J Physiol.* 1997;272:H1615–1624.
 412. Moravec J, El Alaoui-Talibi Z, Moravec M, Guendouz A. Control of oxidative metabolism in volume-overloaded rat hearts: effect of pretreatment with propionyl-L-carnitine. *Adv Exp Med Biol.* 1996;388:205–212.
 413. Finck BN, Lehman JJ, Barger PM, Kelly DP. Regulatory networks controlling mitochondrial energy production in the developing, hypertrophied, and diabetic heart. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol.* 2002;67:371–382.
 414. Kim J, Tchernyshyov I, Semenza GL, Dang CV. HIF-1-mediated expression of pyruvate dehydrogenase kinase: a metabolic switch required for cellular adaptation to hypoxia. *Cell Metab.* 2006;3:177–185.
 415. Park S-Y, Cho Y-R, Finck BN, Kim H-J, Higashimori T, Hong E-G, Lee M-K, Danton C, Deshmukh S, Cline GW, Wu JJ, Bennett AM, Rothermel B, Kalinowski A, Russell KS, Kim Y-B, Kelly DP, Kim JK. Cardiac-specific overexpression of peroxisome proliferator-activated receptor- α causes insulin resistance in heart and liver. *Diabetes.* 2005;54:2514–2524.
 416. Lehman JJ, Kelly DP. Gene regulatory mechanisms governing energy metabolism during cardiac hypertrophic growth. *Heart Fail Rev.* 2002;7:175–185.
 417. Lehman JJ, Kelly DP. Transcriptional activation of energy metabolic switches in the developing and hypertrophied heart. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2002;29:339–345.
 418. Lei B, Lionetti V, Young ME, Chandler MP, d'Agostino C, Kang E, Altarejos M, Matsuo K, Hintze TH, Stanley WC, Recchia FA. Paradoxical downregulation of the glucose oxidation pathway despite enhanced flux in severe heart failure. *J Mol Cell Cardiol.* 2004;36:567–576.
 419. Lydell CP, Chan A, Wambolt RB, Sambandam N, Parsons H, Bondy GP, Rodrigues B, Popov KM, Harris RA, Brownsey RW, Allard MF. Pyruvate dehydrogenase and the regulation of glucose oxidation in hypertrophied rat hearts. *Cardiovasc Res.* 2002;53:841–851.
 420. Zima AV, Kockskämper J, Blatter LA. Cytosolic energy reserves determine the effect of glycolytic sugar phosphates on sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ release in cat ventricular myocytes. *J Physiol.* 2006;577:281–293.
 421. Xu KY, Zweier JL, Becker LC. Functional coupling between glycolysis and sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ transport. *Circ Res.* 1995;77:88–97.
 422. Dhar-Chowdhury P, Malester B, Rajacic P, Coetzee WA. The regulation of ion channels and transporters by glycolytically derived ATP. *Cell Mol Life Sci CMLS.* 2007;64:3069–3083.
 423. Bristow M. Etomoxir: a new approach to treatment of chronic heart failure. *Lancet.* 2000;356:1621–1622.
 424. Chandler MP, Stanley WC, Morita H, Suzuki G, Roth BA, Blackburn B, Wolff A, Sabbah HN. Short-term treatment with ranolazine improves mechanical efficiency in dogs with chronic heart failure. *Circ Res.* 2002;91:278–280.

425. Sabbah HN, Chandler MP, Mishima T, Suzuki G, Chaudhry P, Nass O, Biesiadecki BJ, Blackburn B, Wolff A, Stanley WC. Ranolazine, a partial fatty acid oxidation (pFOX) inhibitor, improves left ventricular function in dogs with chronic heart failure. *J Card Fail.* 2002;8:416–422.
426. Liao R, Jain M, Cui L, D'Agostino J, Aiello F, Luptak I, Ngoy S, Mortensen RM, Tian R. Cardiac-specific overexpression of GLUT1 prevents the development of heart failure attributable to pressure overload in mice. *Circulation.* 2002;106:2125–2131.
427. Neglia D, De Caterina A, Marraccini P, Natali A, Ciardetti M, Vecoli C, Gastaldelli A, Ciociaro D, Pellegrini P, Testa R, Menichetti L, L'Abbate A, Stanley WC, Recchia FA. Impaired myocardial metabolic reserve and substrate selection flexibility during stress in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2007;293:H3270–3278.
428. Schaper J, Froede R, Hein S, Buck A, Hashizume H, Speiser B, Friedl A, Bleese N. Impairment of the myocardial ultrastructure and changes of the cytoskeleton in dilated cardiomyopathy. *Circulation.* 1991;83:504–514.
429. Fosslie E. Review: Mitochondrial medicine--cardiomyopathy caused by defective oxidative phosphorylation. *Ann Clin Lab Sci.* 2003;33:371–395.
430. Zoll J, Monassier L, Garnier A, N'Guessan B, Mettaufer B, Veksler V, Piquard F, Ventura-Clapier R, Geny B. ACE inhibition prevents myocardial infarction-induced skeletal muscle mitochondrial dysfunction. *J Appl Physiol Bethesda Md 1985.* 2006;101:385–391.
431. Murray AJ, Cole MA, Lygate CA, Carr CA, Stuckey DJ, Little SE, Neubauer S, Clarke K. Increased mitochondrial uncoupling proteins, respiratory uncoupling and decreased efficiency in the chronically infarcted rat heart. *J Mol Cell Cardiol.* 2008;44:694–700.
432. Scheubel RJ, Tostlebe M, Simm A, Rohrbach S, Prondzinsky R, Gellerich FN, Silber RE, Holtz J. Dysfunction of mitochondrial respiratory chain complex I in human failing myocardium is not due to disturbed mitochondrial gene expression. *J Am Coll Cardiol.* 2002;40:2174–2181.
433. Kalsi KK, Smolenski RT, Pritchard RD, Khaghani A, Seymour AM, Yacoub MH. Energetics and function of the failing human heart with dilated or hypertrophic cardiomyopathy. *Eur J Clin Invest.* 1999;29:469–477.
434. Neubauer S. The failing heart--an engine out of fuel. *N Engl J Med.* 2007;356:1140–1151.
435. Ingwall JS, Weiss RG. Is the failing heart energy starved? On using chemical energy to support cardiac function. *Circ Res.* 2004;95:135–145.
436. Neubauer S, Horn M, Cramer M, Harre K, Newell JB, Peters W, Pabst T, Ertl G, Hahn D, Ingwall JS, Kochsiek K. Myocardial phosphocreatine-to-ATP ratio is a predictor of mortality in patients with dilated cardiomyopathy. *Circulation.* 1997;96:2190–2196.
437. Zhang J. Myocardial energetics in cardiac hypertrophy. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2002;29:351–359.
438. Tian R, Nascimben L, Ingwall JS, Lorell BH. Failure to maintain a low ADP concentration impairs diastolic function in hypertrophied rat hearts. *Circulation.* 1997;96:1313–1319.
439. Marcil M, Ascah A, Matas J, Bélanger S, Deschepper CF, Burelle Y. Compensated volume overload increases the vulnerability of heart mitochondria without affecting their functions in the absence of stress. *J Mol Cell Cardiol.* 2006;41:998–1009.
440. Tian R, Musi N, D'Agostino J, Hirshman MF, Goodyear LJ. Increased adenosine monophosphate-activated protein kinase activity in rat hearts with pressure-overload hypertrophy. *Circulation.* 2001;104:1664–1669.
441. Allard MF, Parsons HL, Saeedi R, Wambolt RB, Brownsey R. AMPK and metabolic adaptation by the heart to pressure overload. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2007;292:H140–148.
442. Dolinsky VW, Dyck JRB. Role of AMP-activated protein kinase in healthy and diseased hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2006;291:H2557–2569.
443. Chan AYM, Soltys C-LM, Young ME, Proud CG, Dyck JRB. Activation of AMP-activated protein kinase inhibits protein synthesis associated with hypertrophy in the cardiac myocyte. *J Biol Chem.* 2004;279:32771–32779.
444. Browne GJ, Finn SG, Proud CG. Stimulation of the AMP-activated protein kinase leads to activation of eukaryotic elongation factor 2 kinase and to its phosphorylation at a novel site, serine 398. *J Biol Chem.* 2004;279:12220–12231.
445. Horman S, Beauvoys C, Vertommen D, Vanoverschelde J-L, Hue L, Rider MH. Myocardial ischemia and increased heart work modulate the phosphorylation state of eukaryotic elongation factor-2. *J Biol Chem.* 2003;278:41970–41976.

446. Tee AR, Fingar DC, Manning BD, Kwiatkowski DJ, Cantley LC, Blenis J. Tuberous sclerosis complex-1 and -2 gene products function together to inhibit mammalian target of rapamycin (mTOR)-mediated downstream signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99:13571–13576.
447. Shibata R, Ouchi N, Ito M, Kihara S, Shiojima I, Pimentel DR, Kumada M, Sato K, Schiekofer S, Ohashi K, Funahashi T, Colucci WS, Walsh K. Adiponectin-mediated modulation of hypertrophic signals in the heart. *Nat Med*. 2004;10:1384–1389.
448. Chan AYM, Dolinsky VW, Soltys C-LM, Viollet B, Baksh S, Light PE, Dyck JRB. Resveratrol inhibits cardiac hypertrophy via AMP-activated protein kinase and Akt. *J Biol Chem*. 2008;283:24194–24201.
449. Li H-L, Yin R, Chen D, Liu D, Wang D, Yang Q, Dong Y-G. Long-term activation of adenosine monophosphate-activated protein kinase attenuates pressure-overload-induced cardiac hypertrophy. *J Cell Biochem*. 2007;100:1086–1099.
450. Xing Y, Musi N, Fujii N, Zou L, Luptak I, Hirshman MF, Goodyear LJ, Tian R. Glucose metabolism and energy homeostasis in mouse hearts overexpressing dominant negative alpha2 subunit of AMP-activated protein kinase. *J Biol Chem*. 2003;278:28372–28377.
451. Russell RR 3rd, Li J, Coven DL, Pypaert M, Zechner C, Palmeri M, Giordano FJ, Mu J, Birnbaum MJ, Young LH. AMP-activated protein kinase mediates ischemic glucose uptake and prevents posts ischemic cardiac dysfunction, apoptosis, and injury. *J Clin Invest*. 2004;114:495–503.
452. Kim TT, Dyck JRB. Is AMPK the savior of the failing heart? *Trends Endocrinol Metab TEM*. 2015;26:40–48.
453. Fryer LG, Hajdich E, Rencurel F, Salt IP, Hundal HS, Hardie DG, Carling D. Activation of glucose transport by AMP-activated protein kinase via stimulation of nitric oxide synthase. *Diabetes*. 2000;49:1978–1985.
454. Zhou G, Myers R, Li Y, Chen Y, Shen X, Fenyk-Melody J, Wu M, Ventre J, Doebber T, Fujii N, Musi N, Hirshman MF, Goodyear LJ, Moller DE. Role of AMP-activated protein kinase in mechanism of metformin action. *J Clin Invest*. 2001;108:1167–1174.
455. Yamauchi T, Kamon J, Minokoshi Y, Ito Y, Waki H, Uchida S, Yamashita S, Noda M, Kita S, Ueki K, Eto K, Akanuma Y, Froguel P, Foufelle F, Ferre P, Carling D, Kimura S, Nagai R, Kahn BB, Kadowaki T. Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nat Med*. 2002;8:1288–1295.
456. Fryer LGD, Foufelle F, Barnes K, Baldwin SA, Woods A, Carling D. Characterization of the role of the AMP-activated protein kinase in the stimulation of glucose transport in skeletal muscle cells. *Biochem J*. 2002;363:167–174.
457. Longnus SL, Ségalen C, Giudicelli J, Sajan MP, Farese RV, Van Obberghen E. Insulin signalling downstream of protein kinase B is potentiated by 5'AMP-activated protein kinase in rat hearts in vivo. *Diabetologia*. 2005;48:2591–2601.
458. Ryder JW, Long YC, Nilsson E, Mahlapuu M, Zierath JR. Effects of calcineurin activation on insulin-, AICAR- and contraction-induced glucose transport in skeletal muscle. *J Physiol*. 2005;567:379–386.
459. Lee H, Kang R, Bae S, Yoon Y. AICAR, an activator of AMPK, inhibits adipogenesis via the WNT/ β -catenin pathway in 3T3-L1 adipocytes. *Int J Mol Med*. 2011;28:65–71.
460. LaRosa C, Downs SM. Stress stimulates AMP-activated protein kinase and meiotic resumption in mouse oocytes. *Biol Reprod*. 2006;74:585–592.
461. Juric D, Wojciechowski P, Das DK, Neticadan T. Prevention of concentric hypertrophy and diastolic impairment in aortic-banded rats treated with resveratrol. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2007;292:H2138–2143.
462. Viollet B, Guigas B, Sanz Garcia N, Leclerc J, Foretz M, Andreelli F. Cellular and molecular mechanisms of metformin: an overview. *Clin Sci Lond Engl 1979*. 2012;122:253–270.
463. Foretz M, Guigas B, Bertrand L, Pollak M, Viollet B. Metformin: From Mechanisms of Action to Therapies. *Cell Metab* [Internet]. 2014 [cited 2015 Feb 5];20:953–966. Available from: <http://www.cell.com/article/S1550413114004410/abstract>
464. Effect of intensive blood-glucose control with metformin on complications in overweight patients with type 2 diabetes (UKPDS 34). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. *Lancet*. 1998;352:854–865.
465. Eurich DT, Weir DL, Majumdar SR, Tsuyuki RT, Johnson JA, Tjosvold L, Vanderloo SE, McAlister FA. Comparative safety and effectiveness of metformin in patients with diabetes mellitus and heart failure: systematic review of observational studies involving 34,000 patients. *Circ Heart Fail*. 2013;6:395–402.

466. Hong J, Zhang Y, Lai S, Lv A, Su Q, Dong Y, Zhou Z, Tang W, Zhao J, Cui L, Zou D, Wang D, Li H, Liu C, Wu G, Shen J, Zhu D, Wang W, Shen W, Ning G, SPREAD-DIMCAD Investigators. Effects of metformin versus glipizide on cardiovascular outcomes in patients with type 2 diabetes and coronary artery disease. *Diabetes Care*. 2013;36:1304–1311.
467. Yin M, van der Horst ICC, van Melle JP, Qian C, van Gilst WH, Silljé HHW, de Boer RA. Metformin improves cardiac function in a nondiabetic rat model of post-MI heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2011;301:H459–468.
468. Kravchuk E, Grineva E, Bairamov A, Galagudza M, Vlasov T. The effect of metformin on the myocardial tolerance to ischemia-reperfusion injury in the rat model of diabetes mellitus type II. *Exp Diabetes Res*. 2011;2011:907496.
469. Legtenberg RJ, Houston RJF, Oeseburg B, Smits P. Metformin improves cardiac functional recovery after ischemia in rats. *Horm Metab Res Horm Stoffwechselforschung Horm Métabolisme*. 2002;34:182–185.
470. Yeh C-H, Chen T-P, Wang Y-C, Lin Y-M, Fang S-W. AMP-activated protein kinase activation during cardioplegia-induced hypoxia/reoxygenation injury attenuates cardiomyocytic apoptosis via reduction of endoplasmic reticulum stress. *Mediators Inflamm*. 2010;2010:130636.
471. Zhang C-X, Pan S-N, Meng R-S, Peng C-Q, Xiong Z-J, Chen B-L, Chen G-Q, Yao F-J, Chen Y-L, Ma Y-D, Dong Y-G. Metformin attenuates ventricular hypertrophy by activating the AMP-activated protein kinase-endothelial nitric oxide synthase pathway in rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2011;38:55–62.
472. Shaw RJ, Lamia KA, Vasquez D, Koo S-H, Bardeesy N, Depinho RA, Montminy M, Cantley LC. The kinase LKB1 mediates glucose homeostasis in liver and therapeutic effects of metformin. *Science*. 2005;310:1642–1646.
473. Owen MR, Doran E, Halestrap AP. Evidence that metformin exerts its anti-diabetic effects through inhibition of complex 1 of the mitochondrial respiratory chain. *Biochem J*. 2000;348 Pt 3:607–614.
474. El-Mir MY, Nogueira V, Fontaine E, Avéret N, Rigoulet M, Leverve X. Dimethylbiguanide inhibits cell respiration via an indirect effect targeted on the respiratory chain complex I. *J Biol Chem*. 2000;275:223–228.
475. Foretz M, Hébrard S, Leclerc J, Zarrinpashneh E, Soty M, Mithieux G, Sakamoto K, Andreelli F, Viollet B. Metformin inhibits hepatic gluconeogenesis in mice independently of the LKB1/AMPK pathway via a decrease in hepatic energy state. *J Clin Invest*. 2010;120:2355–2369.
476. Suwa M, Egashira T, Nakano H, Sasaki H, Kumagai S. Metformin increases the PGC-1 α protein and oxidative enzyme activities possibly via AMPK phosphorylation in skeletal muscle in vivo. *J Appl Physiol Bethesda Md 1985*. 2006;101:1685–1692.
477. Saeedi R, Parsons HL, Wambolt RB, Paulson K, Sharma V, Dyck JRB, Brownsey RW, Allard MF. Metabolic actions of metformin in the heart can occur by AMPK-independent mechanisms. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2008;294:H2497–2506.
478. Xu X, Lu Z, Fassett J, Zhang P, Hu X, Liu X, Kwak D, Li J, Zhu G, Tao Y, Hou M, Wang H, Guo H, Viollet B, McFalls EO, Bache RJ, Chen Y. Metformin protects against systolic overload-induced heart failure independent of AMP-activated protein kinase α 2. *Hypertension*. 2014;63:723–728.
479. Xiao H, Ma X, Feng W, Fu Y, Lu Z, Xu M, Shen Q, Zhu Y, Zhang Y. Metformin attenuates cardiac fibrosis by inhibiting the TGF β 1-Smad3 signalling pathway. *Cardiovasc Res*. 2010;87:504–513.
480. Kersten S, Seydoux J, Peters JM, Gonzalez FJ, Desvergne B, Wahli W. Peroxisome proliferator-activated receptor α mediates the adaptive response to fasting. *J Clin Invest*. 1999;103:1489–1498.
481. Duncan JG. Peroxisome proliferator activated receptor- α (PPAR α) and PPAR γ coactivator-1 α (PGC-1 α) regulation of cardiac metabolism in diabetes. *Pediatr Cardiol*. 2011;32:323–328.
482. Robinson E, Grieve DJ. Significance of peroxisome proliferator-activated receptors in the cardiovascular system in health and disease. *Pharmacol Ther*. 2009;122:246–263.
483. Finck BN. Effects of PPAR α on cardiac glucose metabolism: a transcriptional equivalent of the glucose-fatty acid cycle? *Expert Rev Cardiovasc Ther*. 2006;4:161–171.
484. Smeets PJH, Teunissen BEJ, Willemsen PHM, van Nieuwenhoven FA, Brouns AE, Janssen BJA, Cleutjens JPM, Staels B, van der Vusse GJ, van Bilsen M. Cardiac hypertrophy is enhanced in PPAR α -/- mice in response to chronic pressure overload. *Cardiovasc Res*. 2008;78:79–89.
485. Staels B, Fruchart J-C. Therapeutic Roles of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Agonists. *Diabetes* [Internet]. 2005 [cited 2015 Mar 8];54:2460–2470. Available from: <http://diabetes.diabetesjournals.org.access.bibl.ulaval.ca/content/54/8/2460>

486. Wayman NS, Hattori Y, McDonald MC, Mota-Filipe H, Cuzzocrea S, Pisano B, Chatterjee PK, Thiemermann C. Ligands of the peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR-gamma and PPAR-alpha) reduce myocardial infarct size. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol.* 2002;16:1027–1040.
487. McKeage K, Keating GM. Fenofibrate: a review of its use in dyslipidaemia. *Drugs.* 2011;71:1917–1946.
488. Barbier O, Torra IP, Duguay Y, Blanquart C, Fruchart J-C, Glineur C, Staels B. Pleiotropic actions of peroxisome proliferator-activated receptors in lipid metabolism and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002;22:717–726.
489. Neschen S, Morino K, Dong J, Wang-Fischer Y, Cline GW, Romanelli AJ, Rossbacher JC, Moore IK, Regittnig W, Munoz DS, Kim JH, Shulman GI. n-3 Fatty acids preserve insulin sensitivity in vivo in a peroxisome proliferator-activated receptor-alpha-dependent manner. *Diabetes.* 2007;56:1034–1041.
490. Effect of fenofibrate on progression of coronary-artery disease in type 2 diabetes: the Diabetes Atherosclerosis Intervention Study, a randomised study. *Lancet.* 2001;357:905–910.
491. Rubins HB, Robins SJ, Collins D, Fye CL, Anderson JW, Elam MB, Faas FH, Linares E, Schaefer EJ, Schectman G, Wilt TJ, Wittes J. Gemfibrozil for the secondary prevention of coronary heart disease in men with low levels of high-density lipoprotein cholesterol. Veterans Affairs High-Density Lipoprotein Cholesterol Intervention Trial Study Group. *N Engl J Med.* 1999;341:410–418.
492. Bezafibrate Infarction Prevention (BIP) study. Secondary prevention by raising HDL cholesterol and reducing triglycerides in patients with coronary artery disease. *Circulation.* 2000;102:21–27.
493. Tenkanen L, Mänttari M, Manninen V. Some coronary risk factors related to the insulin resistance syndrome and treatment with gemfibrozil. Experience from the Helsinki Heart Study. *Circulation.* 1995;92:1779–1785.
494. Elkeles RS, Diamond JR, Poulter C, Dhanjil S, Nicolaidis AN, Mahmood S, Richmond W, Mather H, Sharp P, Feher MD. Cardiovascular outcomes in type 2 diabetes. A double-blind placebo-controlled study of bezafibrate: the St. Mary's, Ealing, Northwick Park Diabetes Cardiovascular Disease Prevention (SEND CAP) Study. *Diabetes Care.* 1998;21:641–648.
495. Balakumar P, Rohilla A, Mahadevan N. Pleiotropic actions of fenofibrate on the heart. *Pharmacol Res Off J Ital Pharmacol Soc.* 2011;63:8–12.
496. Lebrasseur NK, Duhaney T-AS, De Silva DS, Cui L, Ip PC, Joseph L, Sam F. Effects of fenofibrate on cardiac remodeling in aldosterone-induced hypertension. *Hypertension.* 2007;50:489–496.
497. Ichihara S, Obata K, Yamada Y, Nagata K, Noda A, Ichihara G, Yamada A, Kato T, Izawa H, Murohara T, Yokota M. Attenuation of cardiac dysfunction by a PPAR-alpha agonist is associated with down-regulation of redox-regulated transcription factors. *J Mol Cell Cardiol.* 2006;41:318–329.
498. Linz W, Wohlfart P, Baader M, Breitschopf K, Falk E, Schäfer H-L, Gerl M, Kramer W, Rütten H. The peroxisome proliferator-activated receptor-alpha (PPAR-alpha) agonist, AVE8134, attenuates the progression of heart failure and increases survival in rats. *Acta Pharmacol Sin.* 2009;30:935–946.
499. Guellich A, Damy T, Lecarpentier Y, Conti M, Claes V, Samuel J-L, Quillard J, Hébert J-L, Pineau T, Coirault C. Role of oxidative stress in cardiac dysfunction of PPARalpha^{-/-} mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2007;293:H93–H102.
500. Ogata T, Miyauchi T, Sakai S, Irukayama-Tomobe Y, Goto K, Yamaguchi I. Stimulation of peroxisome-proliferator-activated receptor alpha (PPAR alpha) attenuates cardiac fibrosis and endothelin-1 production in pressure-overloaded rat hearts. *Clin Sci Lond Engl 1979.* 2002;103 Suppl 48:284S–288S.
501. Liang F, Wang F, Zhang S, Gardner DG. Peroxisome proliferator activated receptor (PPAR)alpha agonists inhibit hypertrophy of neonatal rat cardiac myocytes. *Endocrinology.* 2003;144:4187–4194.
502. Irukayama-Tomobe Y, Miyauchi T, Sakai S, Kasuya Y, Ogata T, Takanashi M, Iemitsu M, Sudo T, Goto K, Yamaguchi I. Endothelin-1-induced cardiac hypertrophy is inhibited by activation of peroxisome proliferator-activated receptor-alpha partly via blockade of c-Jun NH2-terminal kinase pathway. *Circulation.* 2004;109:904–910.
503. Li R, Zheng W, Pi R, Gao J, Zhang H, Wang P, Le K, Liu P. Activation of peroxisome proliferator-activated receptor-alpha prevents glycogen synthase 3beta phosphorylation and inhibits cardiac hypertrophy. *FEBS Lett.* 2007;581:3311–3316.
504. Lee WH, Kim SG. AMPK-Dependent Metabolic Regulation by PPAR Agonists. *PPAR Res.* 2010;2010.
505. Murakami H, Murakami R, Kambe F, Cao X, Takahashi R, Asai T, Hirai T, Numaguchi Y, Okumura K, Seo H, Murohara T. Fenofibrate activates AMPK and increases eNOS phosphorylation in HUVEC. *Biochem Biophys Res Commun.* 2006;341:973–978.

506. Lee WJ, Kim M, Park H-S, Kim HS, Jeon MJ, Oh KS, Koh EH, Won JC, Kim M-S, Oh GT, Yoon M, Lee K-U, Park J-Y. AMPK activation increases fatty acid oxidation in skeletal muscle by activating PPARalpha and PGC-1. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006;340:291–295.
507. Hu FB, Willett WC. Optimal diets for prevention of coronary heart disease. *JAMA J Am Med Assoc*. 2002;288:2569–2578.
508. Saltiel AR. New perspectives into the molecular pathogenesis and treatment of type 2 diabetes. *Cell*. 2001;104:517–529.
509. King H, Aubert RE, Herman WH. Global burden of diabetes, 1995-2025: prevalence, numerical estimates, and projections. *Diabetes Care*. 1998;21:1414–1431.
510. Lavie CJ, Alpert MA, Arena R, Mehra MR, Milani RV, Ventura HO. Impact of obesity and the obesity paradox on prevalence and prognosis in heart failure. *JACC Heart Fail*. 2013;1:93–102.
511. Alpert MA, Omran J, Mehra A, Ardhanari S. Impact of obesity and weight loss on cardiac performance and morphology in adults. *Prog Cardiovasc Dis*. 2014;56:391–400.
512. Kenchaiah S, Evans JC, Levy D, Wilson PWF, Benjamin EJ, Larson MG, Kannel WB, Vasan RS. Obesity and the risk of heart failure. *N Engl J Med*. 2002;347:305–313.
513. Abel ED, Litwin SE, Sweeney G. Cardiac remodeling in obesity. *Physiol Rev*. 2008;88:389–419.
514. Lopaschuk GD, Folmes CDL, Stanley WC. Cardiac energy metabolism in obesity. *Circ Res*. 2007;101:335–347.
515. Gastaldelli A, Basta G. Ectopic fat and cardiovascular disease: what is the link? *Nutr Metab Cardiovasc Dis NMC*. 2010;20:481–490.
516. Alpert MA. Management of obesity cardiomyopathy. *Am J Med Sci*. 2001;321:237–241.
517. Messerli FH. Cardiovascular effects of obesity and hypertension. *Lancet*. 1982;1:1165–1168.
518. Boudina S, Abel ED. Diabetic cardiomyopathy revisited. *Circulation*. 2007;115:3213–3223.
519. Boden G. Obesity and free fatty acids. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2008;37:635–646, viii–ix.
520. Koutsari C, Jensen MD. Thematic review series: patient-oriented research. Free fatty acid metabolism in human obesity. *J Lipid Res*. 2006;47:1643–1650.
521. Lewis GF, Uffelman KD, Szeto LW, Weller B, Steiner G. Interaction between free fatty acids and insulin in the acute control of very low density lipoprotein production in humans. *J Clin Invest*. 1995;95:158–166.
522. Szczepaniak LS, Dobbins RL, Metzger GJ, Sartoni-D'Ambrosia G, Arbique D, Vongpatanasin W, Unger R, Victor RG. Myocardial triglycerides and systolic function in humans: in vivo evaluation by localized proton spectroscopy and cardiac imaging. *Magn Reson Med Off J Soc Magn Reson Med Soc Magn Reson Med*. 2003;49:417–423.
523. Young ME, McNulty P, Taegtmeyer H. Adaptation and maladaptation of the heart in diabetes: Part II: potential mechanisms. *Circulation*. 2002;105:1861–1870.
524. Sharma S, Adroge JV, Golfman L, Uray I, Lemm J, Youker K, Noon GP, Frazier OH, Taegtmeyer H. Intramyocardial lipid accumulation in the failing human heart resembles the lipotoxic rat heart. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol*. 2004;18:1692–1700.
525. Chiu HC, Kovacs A, Ford DA, Hsu FF, Garcia R, Herrero P, Saffitz JE, Schaffer JE. A novel mouse model of lipotoxic cardiomyopathy. *J Clin Invest*. 2001;107:813–822.
526. Luiken JJ, Arumugam Y, Dyck DJ, Bell RC, Pelsers MM, Turcotte LP, Tandon NN, Glatz JF, Bonen A. Increased rates of fatty acid uptake and plasmalemmal fatty acid transporters in obese Zucker rats. *J Biol Chem*. 2001;276:40567–40573.
527. Coort SLM, Hasselbaink DM, Koonen DPY, Willems J, Coumans WA, Chabowski A, van der Vusse GJ, Bonen A, Glatz JFC, Luiken JJFP. Enhanced sarcolemmal FAT/CD36 content and triacylglycerol storage in cardiac myocytes from obese Zucker rats. *Diabetes*. 2004;53:1655–1663.
528. Campbell SE, Tandon NN, Woldegiorgis G, Luiken JJFP, Glatz JFC, Bonen A. A novel function for fatty acid translocase (FAT)/CD36: involvement in long chain fatty acid transfer into the mitochondria. *J Biol Chem*. 2004;279:36235–36241.
529. Koonen DPY, Glatz JFC, Bonen A, Luiken JJFP. Long-chain fatty acid uptake and FAT/CD36 translocation in heart and skeletal muscle. *Biochim Biophys Acta*. 2005;1736:163–180.
530. Hammer S, van der Meer RW, Lamb HJ, Schär M, de Roos A, Smit JWA, Romijn JA. Progressive caloric restriction induces dose-dependent changes in myocardial triglyceride content and diastolic function in healthy men. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93:497–503.
531. OPIE LH, EVANS JR, SHIPP JC. EFFECT OF FASTING ON GLUCOSE AND PALMITATE METABOLISM OF PERFUSED RAT HEART. *Am J Physiol*. 1963;205:1203–1208.

532. Lopaschuk GD, Tsang H. Metabolism of palmitate in isolated working hearts from spontaneously diabetic "BB" Wistar rats. *Circ Res*. 1987;61:853–858.
533. Saddik M, Lopaschuk GD. Triacylglycerol turnover in isolated working hearts of acutely diabetic rats. *Can J Physiol Pharmacol*. 1994;72:1110–1119.
534. Sakamoto J, Barr RL, Kavanagh KM, Lopaschuk GD. Contribution of malonyl-CoA decarboxylase to the high fatty acid oxidation rates seen in the diabetic heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2000;278:H1196–1204.
535. Lee GY, Kim NH, Zhao Z-S, Cha BS, Kim YS. Peroxisomal-proliferator-activated receptor alpha activates transcription of the rat hepatic malonyl-CoA decarboxylase gene: a key regulation of malonyl-CoA level. *Biochem J*. 2004;378:983–990.
536. Young ME, Goodwin GW, Ying J, Guthrie P, Wilson CR, Laws FA, Taegtmeier H. Regulation of cardiac and skeletal muscle malonyl-CoA decarboxylase by fatty acids. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2001;280:E471–479.
537. Carley AN, Atkinson LL, Bonen A, Harper M-E, Kunnathu S, Lopaschuk GD, Severson DL. Mechanisms responsible for enhanced fatty acid utilization by perfused hearts from type 2 diabetic db/db mice. *Arch Physiol Biochem*. 2007;113:65–75.
538. How O-J, Aasum E, Kunnathu S, Severson DL, Myhre ESP, Larsen TS. Influence of substrate supply on cardiac efficiency, as measured by pressure-volume analysis in ex vivo mouse hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2005;288:H2979–2985.
539. Gilde AJ, van der Lee KAJM, Willemsen PHM, Chinetti G, van der Leij FR, van der Vusse GJ, Staels B, van Bilsen M. Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) alpha and PPARbeta/delta, but not PPARgamma, modulate the expression of genes involved in cardiac lipid metabolism. *Circ Res*. 2003;92:518–524.
540. Murray AJ, Panagia M, Hauton D, Gibbons GF, Clarke K. Plasma free fatty acids and peroxisome proliferator-activated receptor alpha in the control of myocardial uncoupling protein levels. *Diabetes*. 2005;54:3496–3502.
541. Carley AN, Severson DL. Fatty acid metabolism is enhanced in type 2 diabetic hearts. *Biochim Biophys Acta*. 2005;1734:112–126.
542. An D, Rodrigues B. Role of changes in cardiac metabolism in development of diabetic cardiomyopathy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2006;291:H1489–1506.
543. Finck BN, Lehman JJ, Leone TC, Welch MJ, Bennett MJ, Kovacs A, Han X, Gross RW, Kozak R, Lopaschuk GD, Kelly DP. The cardiac phenotype induced by PPARalpha overexpression mimics that caused by diabetes mellitus. *J Clin Invest*. 2002;109:121–130.
544. Hopkins TA, Sugden MC, Holness MJ, Kozak R, Dyck JRB, Lopaschuk GD. Control of cardiac pyruvate dehydrogenase activity in peroxisome proliferator-activated receptor-alpha transgenic mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2003;285:H270–276.
545. Holness MJ, Smith ND, Bulmer K, Hopkins T, Gibbons GF, Sugden MC. Evaluation of the role of peroxisome-proliferator-activated receptor alpha in the regulation of cardiac pyruvate dehydrogenase kinase 4 protein expression in response to starvation, high-fat feeding and hyperthyroidism. *Biochem J*. 2002;364:687–694.
546. Waki H, Tontonoz P. Endocrine functions of adipose tissue. *Annu Rev Pathol*. 2007;2:31–56.
547. Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, Ohannesian JP, Marco CC, McKee LJ, Bauer TL. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med*. 1996;334:292–295.
548. Arita Y, Kihara S, Ouchi N, Takahashi M, Maeda K, Miyagawa J, Hotta K, Shimomura I, Nakamura T, Miyaoka K, Kuriyama H, Nishida M, Yamashita S, Okubo K, Matsubara K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Funahashi T, Matsuzawa Y. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem Biophys Res Commun*. 1999;257:79–83.
549. Karmazyn M, Purdham DM, Rajapurohitam V, Zeidan A. Signalling mechanisms underlying the metabolic and other effects of adipokines on the heart. *Cardiovasc Res*. 2008;79:279–286.
550. Van de Voorde J, Pauwels B, Boydens C, Decaluwé K. Adipocytokines in relation to cardiovascular disease. *Metabolism*. 2013;62:1513–1521.
551. Palanivel R, Eguchi M, Shuralyova I, Coe I, Sweeney G. Distinct effects of short- and long-term leptin treatment on glucose and fatty acid uptake and metabolism in HL-1 cardiomyocytes. *Metabolism*. 2006;55:1067–1075.

552. Minokoshi Y, Kim Y-B, Peroni OD, Fryer LGD, Müller C, Carling D, Kahn BB. Leptin stimulates fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nature*. 2002;415:339–343.
553. Minokoshi Y, Kahn BB. Role of AMP-activated protein kinase in leptin-induced fatty acid oxidation in muscle. *Biochem Soc Trans*. 2003;31:196–201.
554. Atkinson LL, Fischer MA, Lopaschuk GD. Leptin activates cardiac fatty acid oxidation independent of changes in the AMP-activated protein kinase-acetyl-CoA carboxylase-malonyl-CoA axis. *J Biol Chem*. 2002;277:29424–29430.
555. Li L, Wu L, Wang C, Liu L, Zhao Y. Adiponectin modulates carnitine palmitoyltransferase-1 through AMPK signaling cascade in rat cardiomyocytes. *Regul Pept*. 2007;139:72–79.
556. Gonon AT, Widegren U, Bulhak A, Salehzadeh F, Persson J, Sjöquist P-O, Pernow J. Adiponectin protects against myocardial ischaemia-reperfusion injury via AMP-activated protein kinase, Akt, and nitric oxide. *Cardiovasc Res*. 2008;78:116–122.
557. Shibata R, Sato K, Pimentel DR, Takemura Y, Kihara S, Ohashi K, Funahashi T, Ouchi N, Walsh K. Adiponectin protects against myocardial ischemia-reperfusion injury through AMPK- and COX-2-dependent mechanisms. *Nat Med*. 2005;11:1096–1103.
558. Choi CS, Fillmore JJ, Kim JK, Liu Z-X, Kim S, Collier EF, Kulkarni A, Distefano A, Hwang Y-J, Kahn M, Chen Y, Yu C, Moore IK, Reznick RM, Higashimori T, Shulman GI. Overexpression of uncoupling protein 3 in skeletal muscle protects against fat-induced insulin resistance. *J Clin Invest*. 2007;117:1995–2003.
559. Petersen KF, Shulman GI. Etiology of insulin resistance. *Am J Med*. 2006;119:S10–16.
560. Utriainen T, Takala T, Luotolahti M, Rönnemaa T, Laine H, Ruotsalainen U, Haaparanta M, Nuutila P, Yki-Järvinen H. Insulin resistance characterizes glucose uptake in skeletal muscle but not in the heart in NIDDM. *Diabetologia*. 1998;41:555–559.
561. Hafstad AD, Solevåg GH, Severson DL, Larsen TS, Aasum E. Perfused hearts from Type 2 diabetic (db/db) mice show metabolic responsiveness to insulin. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2006;290:H1763–1769.
562. McNulty PH. Metabolic responsiveness to insulin in the diabetic heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2006;290:H1749–1751.
563. Gupte RS, Vijay V, Marks B, Levine RJ, Sabbah HN, Wolin MS, Recchia FA, Gupte SA. Upregulation of glucose-6-phosphate dehydrogenase and NAD(P)H oxidase activity increases oxidative stress in failing human heart. *J Card Fail*. 2007;13:497–506.
564. Gupte SA, Levine RJ, Gupte RS, Young ME, Lionetti V, Labinsky V, Floyd BC, Ojaimi C, Bellomo M, Wolin MS, Recchia FA. Glucose-6-phosphate dehydrogenase-derived NADPH fuels superoxide production in the failing heart. *J Mol Cell Cardiol*. 2006;41:340–349.
565. Smyth MJ, Obeid LM, Hannun YA. Ceramide: a novel lipid mediator of apoptosis. *Adv Pharmacol San Diego Calif*. 1997;41:133–154.
566. Schaffer JE. Lipotoxicity: when tissues overeat. *Curr Opin Lipidol*. 2003;14:281–287.
567. McGarry JD, Dobbins RL. Fatty acids, lipotoxicity and insulin secretion. *Diabetologia*. 1999;42:128–138.
568. Morgan EE, Rennison JH, Young ME, McElfresh TA, Kung TA, Tserng K-Y, Hoit BD, Stanley WC, Chandler MP. Effects of chronic activation of peroxisome proliferator-activated receptor-alpha or high-fat feeding in a rat infarct model of heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2006;290:H1899–1904.
569. Wakasaki H, Koya D, Schoen FJ, Jirousek MR, Ways DK, Hoit BD, Walsh RA, King GL. Targeted overexpression of protein kinase C beta2 isoform in myocardium causes cardiomyopathy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997;94:9320–9325.
570. Furuno T, Kanno T, Arita K, Asami M, Utsumi T, Doi Y, Inoue M, Utsumi K. Roles of long chain fatty acids and carnitine in mitochondrial membrane permeability transition. *Biochem Pharmacol*. 2001;62:1037–1046.
571. Kong JY, Rabkin SW. Palmitate-induced cardiac apoptosis is mediated through CPT-1 but not influenced by glucose and insulin. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2002;282:H717–725.
572. Boudina S, Sena S, O'Neill BT, Tathireddy P, Young ME, Abel ED. Reduced mitochondrial oxidative capacity and increased mitochondrial uncoupling impair myocardial energetics in obesity. *Circulation*. 2005;112:2686–2695.

573. Boudina S, Sena S, Theobald H, Sheng X, Wright JJ, Hu XX, Aziz S, Johnson JI, Bugger H, Zaha VG, Abel ED. Mitochondrial energetics in the heart in obesity-related diabetes: direct evidence for increased uncoupled respiration and activation of uncoupling proteins. *Diabetes*. 2007;56:2457–2466.
574. Peterson LR, Herrero P, Schechtman KB, Racette SB, Waggoner AD, Kisrieva-Ware Z, Dence C, Klein S, Marsala J, Meyer T, Gropler RJ. Effect of obesity and insulin resistance on myocardial substrate metabolism and efficiency in young women. *Circulation*. 2004;109:2191–2196.
575. Peterson LR, Waggoner AD, Schechtman KB, Meyer T, Gropler RJ, Barzilai B, Dávila-Román VG. Alterations in left ventricular structure and function in young healthy obese women: assessment by echocardiography and tissue Doppler imaging. *J Am Coll Cardiol*. 2004;43:1399–1404.
576. Shen X, Zheng S, Thongboonkerd V, Xu M, Pierce WM, Klein JB, Epstein PN. Cardiac mitochondrial damage and biogenesis in a chronic model of type 1 diabetes. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2004;287:E896–905.
577. Turko IV, Murad F. Quantitative protein profiling in heart mitochondria from diabetic rats. *J Biol Chem*. 2003;278:35844–35849.
578. Duncan JG, Fong JL, Medeiros DM, Finck BN, Kelly DP. Insulin-resistant heart exhibits a mitochondrial biogenic response driven by the peroxisome proliferator-activated receptor-alpha/PGC-1alpha gene regulatory pathway. *Circulation*. 2007;115:909–917.
579. Kris-Etherton PM, Harris WS, Appel LJ, Nutrition Committee. Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003;23:e20–30.
580. Liu S, Stampfer MJ, Hu FB, Giovannucci E, Rimm E, Manson JE, Hennekens CH, Willett WC. Whole-grain consumption and risk of coronary heart disease: results from the Nurses' Health Study. *Am J Clin Nutr*. 1999;70:412–419.
581. Howard BV, Van Horn L, Hsia J, Manson JE, Stefanick ML, Wassertheil-Smoller S, Kuller LH, LaCroix AZ, Langer RD, Lasser NL, Lewis CE, Limacher MC, Margolis KL, Mysiw WJ, Ockene JK, Parker LM, Perri MG, Phillips L, Prentice RL, Robbins J, Rossouw JE, Sarto GE, Schatz IJ, Snetselaar LG, Stevens VJ, Tinker LF, Trevisan M, Vitolins MZ, Anderson GL, Assaf AR, Bassford T, Beresford SAA, Black HR, Brunner RL, Brzyski RG, Caan B, Chlebowski RT, Gass M, Granek I, Greenland P, Hays J, Heber D, Heiss G, Hendrix SL, Hubbell FA, Johnson KC, Kotchen JM. Low-fat dietary pattern and risk of cardiovascular disease: the Women's Health Initiative Randomized Controlled Dietary Modification Trial. *JAMA J Am Med Assoc*. 2006;295:655–666.
582. Keys A, Menotti A, Karvonen MJ, Aravanis C, Blackburn H, Buzina R, Djordjevic BS, Dontas AS, Fidanza F, Keys MH. The diet and 15-year death rate in the seven countries study. *Am J Epidemiol*. 1986;124:903–915.
583. Hu FB. Diet and cardiovascular disease prevention the need for a paradigm shift. *J Am Coll Cardiol*. 2007;50:22–24.
584. Halton TL, Willett WC, Liu S, Manson JE, Albert CM, Rexrode K, Hu FB. Low-carbohydrate-diet score and the risk of coronary heart disease in women. *N Engl J Med*. 2006;355:1991–2002.
585. Lachance D, Plante E, Bouchard-Thomassin A-A, Champetier S, Roussel E, Drolet M-C, Arsenault M, Couet J. Moderate exercise training improves survival and ventricular remodeling in an animal model of left ventricular volume overload. *Circ Heart Fail*. 2009;2:437–445.
586. Lachance D, Champetier S, Plante E, Bouchard-Thomassin A-A, Roussel E, Couet J, Arsenault M. Effects of exercise in volume overload: insights from a model of aortic regurgitation. *Med Sci Sports Exerc*. 2009;41:1230–1238.
587. Ingwall JS. Energy metabolism in heart failure and remodelling. *Cardiovasc Res*. 2009;81:412–419.
588. Van Bilsen M, Smeets PJH, Gilde AJ, van der Vusse GJ. Metabolic remodelling of the failing heart: the cardiac burn-out syndrome? *Cardiovasc Res*. 2004;61:218–226.
589. Stanley WC, Hoppel CL. Mitochondrial dysfunction in heart failure: potential for therapeutic interventions? *Cardiovasc Res*. 2000;45:805–806.
590. Sanbe A, Tanonaka K, Kobayashi R, Takeo S. Effects of long-term therapy with ACE inhibitors, captopril, enalapril and trandolapril, on myocardial energy metabolism in rats with heart failure following myocardial infarction. *J Mol Cell Cardiol*. 1995;27:2209–2222.
591. Garnier A, Zoll J, Fortin D, N'Guessan B, Lefebvre F, Geny B, Mettauer B, Veksler V, Ventura-Clapier R. Control by circulating factors of mitochondrial function and transcription cascade in heart failure: a role for endothelin-1 and angiotensin II. *Circ Heart Fail*. 2009;2:342–350.
592. Handa N, Magata Y, Mukai T, Nishina T, Konishi J, Komeda M. Quantitative FDG-uptake by positron emission tomography in progressive hypertrophy of rat hearts in vivo. *Ann Nucl Med*. 2007;21:569–576.

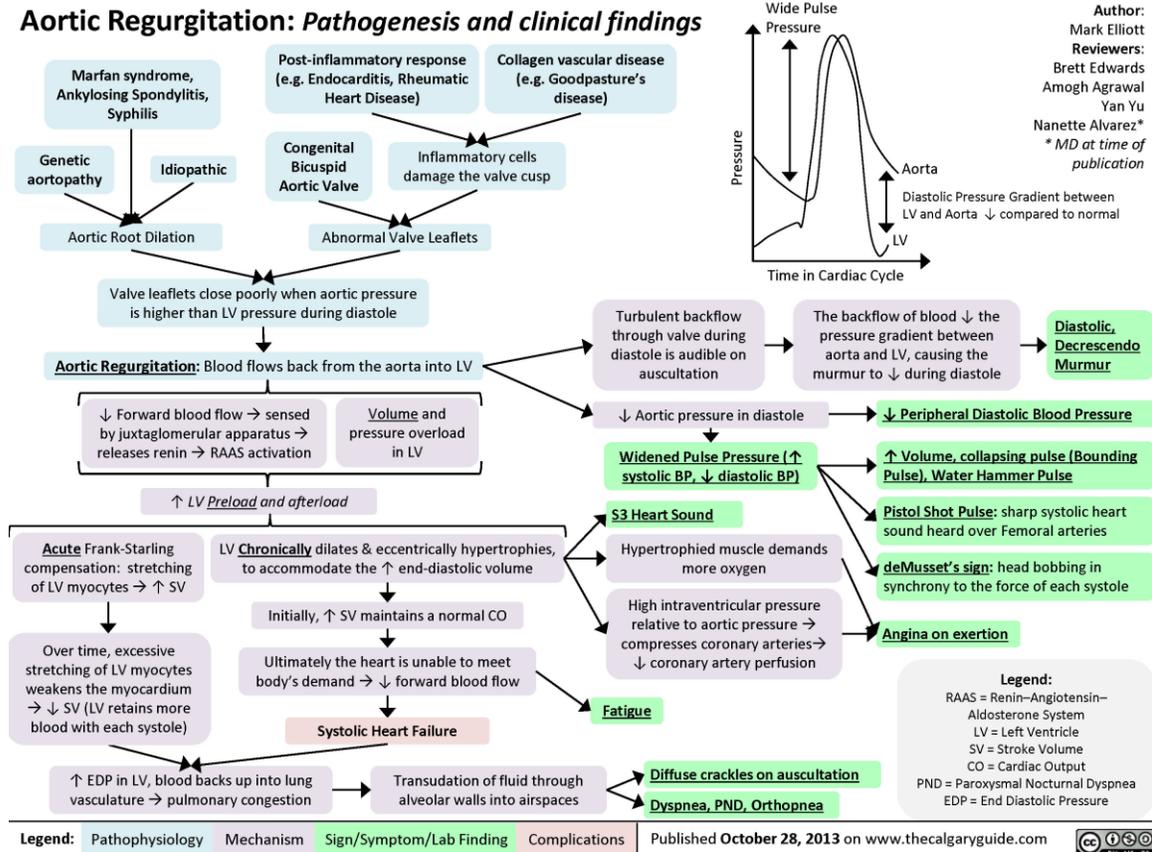
593. De las Fuentes L, Herrero P, Peterson LR, Kelly DP, Gropler RJ, Dávila-Román VG. Myocardial fatty acid metabolism: independent predictor of left ventricular mass in hypertensive heart disease. *Hypertension*. 2003;41:83–87.
594. Bouchard-Thomassin A-A, Lachance D, Drolet M-C, Couet J, Arsenault M. A high-fructose diet worsens eccentric left ventricular hypertrophy in experimental volume overload. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2011;300:H125–134.
595. Arsenault M, Zendaoui A, Roussel E, Drolet M-C, Dhahri W, Grenier A, Gascon S, Sarrhini O, Rousseau JA, Lecomte R, Couet J. Angiotensin II-converting enzyme inhibition improves survival, ventricular remodeling, and myocardial energetics in experimental aortic regurgitation. *Circ Heart Fail*. 2013;6:1021–1028.
596. Plante E, Lachance D, Champetier S, Drolet M-C, Roussel E, Arsenault M, Couet J. Benefits of long-term beta-blockade in experimental chronic aortic regurgitation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2008;294:H1888–1895.
597. Plante E, Lachance D, Beaudoin J, Champetier S, Roussel E, Arsenault M, Couet J. Comparative study of vasodilators in an animal model of chronic volume overload caused by severe aortic regurgitation. *Circ Heart Fail*. 2009;2:25–32.
598. Zendaoui A, Lachance D, Roussel E, Couet J, Arsenault M. Usefulness of carvedilol in the treatment of chronic aortic valve regurgitation. *Circ Heart Fail*. 2011;4:207–213.
599. Duhaney T-AS, Cui L, Rude MK, Lebrasseur NK, Ngoy S, De Silva DS, Siwik DA, Liao R, Sam F. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha-independent actions of fenofibrate exacerbates left ventricular dilation and fibrosis in chronic pressure overload. *Hypertension*. 2007;49:1084–1094.
600. Fernandes-Santos C, Carneiro RE, de Souza Mendonca L, Aguila MB, Mandarim-de-Lacerda CA. Pan-PPAR agonist beneficial effects in overweight mice fed a high-fat high-sucrose diet. *Nutr Burbank Los Angel Cty Calif*. 2009;25:818–827.
601. Rose M, Balakumar P, Singh M. Ameliorative effect of combination of fenofibrate and rosiglitazone in pressure overload-induced cardiac hypertrophy in rats. *Pharmacology*. 2007;80:177–184.
602. Smeets PJH, Teunissen BEJ, Planavila A, de Vogel-van den Bosch H, Willemsen PHM, van der Vusse GJ, van Bilsen M. Inflammatory pathways are activated during cardiomyocyte hypertrophy and attenuated by peroxisome proliferator-activated receptors PPARalpha and PPARdelta. *J Biol Chem*. 2008;283:29109–29118.
603. De Silva DS, Wilson RM, Hutchinson C, Ip PC, Garcia AG, Lancel S, Ito M, Pimentel DR, Sam F. Fenofibrate inhibits aldosterone-induced apoptosis in adult rat ventricular myocytes via stress-activated kinase-dependent mechanisms. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2009;296:H1983–1993.
604. Irukayama-Tomobe Y, Miyauchi T, Kasuya Y, Sakai S, Goto K, Yamaguchi I. Activation of peroxisome proliferator-activated receptor-alpha decreases endothelin-1-induced p38 mitogen-activated protein kinase activation in cardiomyocytes. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2004;44 Suppl 1:S358–361.
605. Hou X, Shen YH, Li C, Wang F, Zhang C, Bu P, Zhang Y. PPARalpha agonist fenofibrate protects the kidney from hypertensive injury in spontaneously hypertensive rats via inhibition of oxidative stress and MAPK activity. *Biochem Biophys Res Commun*. 2010;394:653–659.
606. Liangpunsakul S, Wou S-E, Wineinger KD, Zeng Y, Cyganek I, Jayaram HN, Crabb DW. Effects of WY-14,643 on the phosphorylation and activation of AMP-dependent protein kinase. *Arch Biochem Biophys*. 2009;485:10–15.
607. Baar K. Involvement of PPAR gamma co-activator-1, nuclear respiratory factors 1 and 2, and PPAR alpha in the adaptive response to endurance exercise. *Proc Nutr Soc*. 2004;63:269–273.
608. Zong H, Ren JM, Young LH, Pypaert M, Mu J, Birnbaum MJ, Shulman GI. AMP kinase is required for mitochondrial biogenesis in skeletal muscle in response to chronic energy deprivation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99:15983–15987.
609. Lockyer P, Schisler JC, Patterson C, Willis MS. Minireview: Won't get fooled again: the nonmetabolic roles of peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) in the heart. *Mol Endocrinol Baltim Md*. 2010;24:1111–1119.
610. Young ME, Laws FA, Goodwin GW, Taegtmeyer H. Reactivation of peroxisome proliferator-activated receptor alpha is associated with contractile dysfunction in hypertrophied rat heart. *J Biol Chem*. 2001;276:44390–44395.
611. Masoudi FA, Inzucchi SE, Wang Y, Havranek EP, Foody JM, Krumholz HM. Thiazolidinediones, metformin, and outcomes in older patients with diabetes and heart failure: an observational study. *Circulation*. 2005;111:583–590.

612. Benes J, Kazdova L, Drahota Z, Houstek J, Medrikova D, Kopecky J, Kovarova N, Vrbacky M, Sedmera D, Strnad H, Kolar M, Petrak J, Benada O, Skaroupkova P, Cervenka L, Melenovsky V. Effect of metformin therapy on cardiac function and survival in a volume-overload model of heart failure in rats. *Clin Sci Lond Engl 1979*. 2011;121:29–41.
613. Wong AKF, Howie J, Petrie JR, Lang CC. AMP-activated protein kinase pathway: a potential therapeutic target in cardiometabolic disease. *Clin Sci Lond Engl 1979*. 2009;116:607–620.
614. Jung TW, Lee MW, Lee YJ, Kim SM. Metformin prevents endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis through AMPK-PI3K-c-Jun NH2 pathway. *Biochem Biophys Res Commun*. 2012;417:147–152.
615. Paiva M, Riksen NP, Davidson SM, Hausenloy DJ, Monteiro P, Gonçalves L, Providência L, Rongen GA, Smits P, Mocanu MM, Yellon DM. Metformin prevents myocardial reperfusion injury by activating the adenosine receptor. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2009;53:373–378.
616. Lin C-C, Yeh H-H, Huang W-L, Yan J-J, Lai W-W, Su W-P, Chen HHW, Su W-C. Metformin enhances cisplatin cytotoxicity by suppressing signal transducer and activator of transcription-3 activity independently of the liver kinase B1-AMP-activated protein kinase pathway. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2013;49:241–250.
617. Nascimben L, Ingwall JS, Lorell BH, Pinz I, Schultz V, Tornheim K, Tian R. Mechanisms for increased glycolysis in the hypertrophied rat heart. *Hypertension*. 2004;44:662–667.
618. McGavock JM, Lingvay I, Zib I, Tillery T, Salas N, Unger R, Levine BD, Raskin P, Victor RG, Szczepaniak LS. Cardiac steatosis in diabetes mellitus: a 1H-magnetic resonance spectroscopy study. *Circulation*. 2007;116:1170–1175.
619. Alpert MA, Hashimi MW. Obesity and the heart. *Am J Med Sci*. 1993;306:117–123.
620. Alpert MA, Lambert CR, Panayiotou H, Terry BE, Cohen MV, Massey CV, Hashimi MW, Mukerji V. Relation of duration of morbid obesity to left ventricular mass, systolic function, and diastolic filling, and effect of weight loss. *Am J Cardiol*. 1995;76:1194–1197.
621. Alpert MA, Lambert CR, Terry BE, Cohen MV, Mukerji V, Massey CV, Hashimi MW, Panayiotou H. Interrelationship of left ventricular mass, systolic function and diastolic filling in normotensive morbidly obese patients. *Int J Obes Relat Metab Disord J Int Assoc Study Obes*. 1995;19:550–557.
622. Karmazyn M, Purdham DM, Rajapurohitam V, Zeidan A. Leptin as a cardiac hypertrophic factor: a potential target for therapeutics. *Trends Cardiovasc Med*. 2007;17:206–211.
623. Abe Y, Ono K, Kawamura T, Wada H, Kita T, Shimatsu A, Hasegawa K. Leptin induces elongation of cardiac myocytes and causes eccentric left ventricular dilatation with compensation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2007;292:H2387–2396.
624. Okere IC, Young ME, McElfresh TA, Chess DJ, Sharov VG, Sabbah HN, Hoit BD, Ernsberger P, Chandler MP, Stanley WC. Low carbohydrate/high-fat diet attenuates cardiac hypertrophy, remodeling, and altered gene expression in hypertension. *Hypertension*. 2006;48:1116–1123.
625. Chess DJ, Khairallah RJ, O'Shea KM, Xu W, Stanley WC. A high-fat diet increases adiposity but maintains mitochondrial oxidative enzymes without affecting development of heart failure with pressure overload. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2009;297:H1585–1593.
626. Chess DJ, Lei B, Hoit BD, Azimzadeh AM, Stanley WC. Effects of a high saturated fat diet on cardiac hypertrophy and dysfunction in response to pressure overload. *J Card Fail*. 2008;14:82–88.
627. Plante E, Couet J, Gaudreau M, Dumas M-P, Drolet M-C, Arsenault M. Left ventricular response to sustained volume overload from chronic aortic valve regurgitation in rats. *J Card Fail*. 2003;9:128–140.
628. Leopoldo AS, Sugizaki MM, Lima-Leopoldo AP, do Nascimento AF, Luvizotto R de AM, de Campos DHS, Okoshi K, Dal Pai-Silva M, Padovani CR, Cicogna AC. Cardiac remodeling in a rat model of diet-induced obesity. *Can J Cardiol*. 2010;26:423–429.
629. Carroll JF, Zenebe WJ, Strange TB. Cardiovascular function in a rat model of diet-induced obesity. *Hypertension*. 2006;48:65–72.
630. Raheer MJ, Thibault HB, Buys ES, Kuruppu D, Shimizu N, Brownell A-L, Blake SL, Rieusset J, Kaneki M, Derumeaux G, Picard MH, Bloch KD, Scherrer-Crosbie M. A short duration of high-fat diet induces insulin resistance and predisposes to adverse left ventricular remodeling after pressure overload. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2008;295:H2495–2502.
631. West DB, York B. Dietary fat, genetic predisposition, and obesity: lessons from animal models. *Am J Clin Nutr*. 1998;67:505S–512S.
632. Cheng H, Woodgett J, Maamari M, Force T. Targeting GSK-3 family members in the heart: a very sharp double-edged sword. *J Mol Cell Cardiol*. 2011;51:607–613.

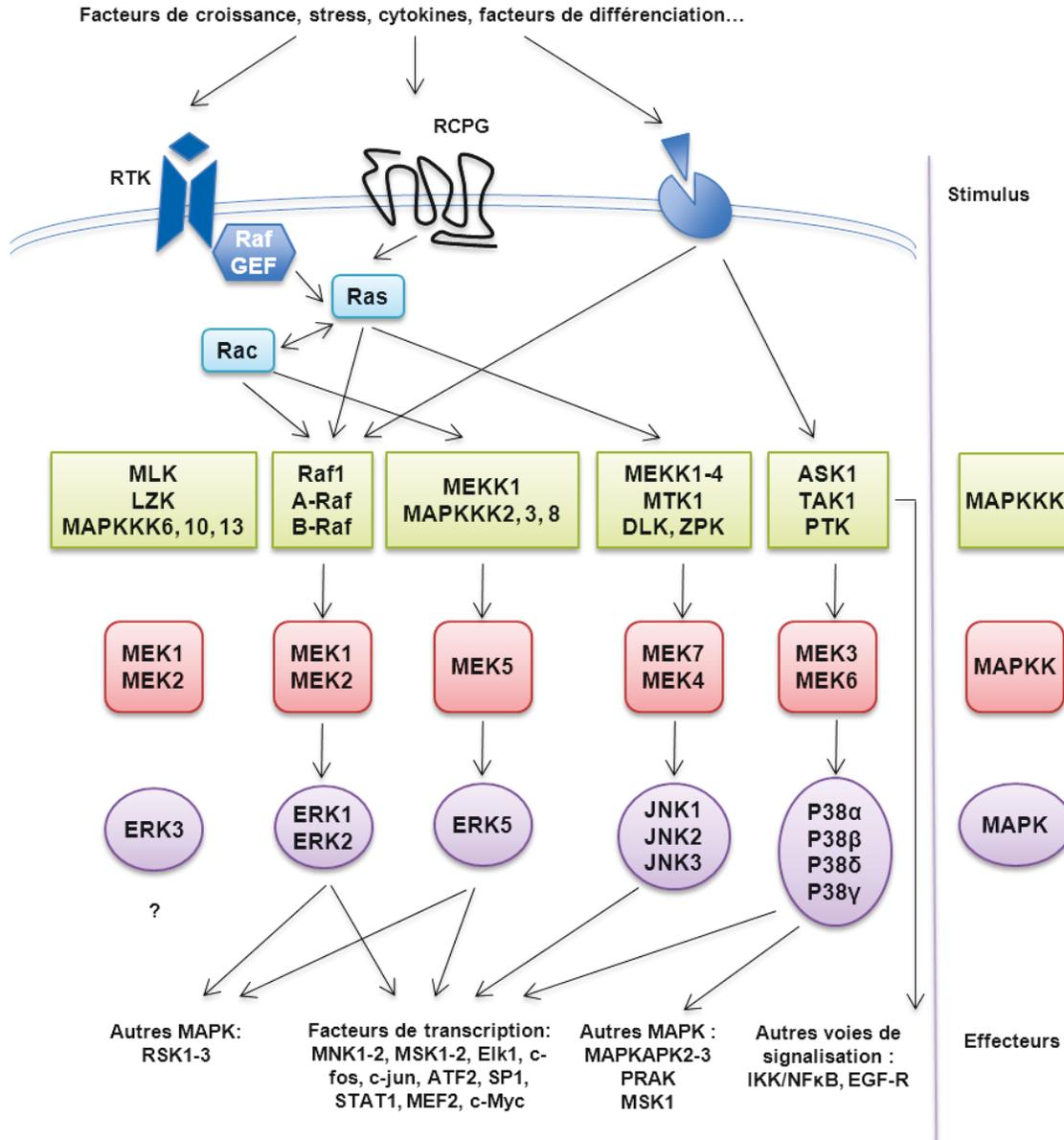
633. Ni YG, Berenji K, Wang N, Oh M, Sachan N, Dey A, Cheng J, Lu G, Morris DJ, Castrillon DH, Gerard RD, Rothermel BA, Hill JA. Foxo transcription factors blunt cardiac hypertrophy by inhibiting calcineurin signaling. *Circulation*. 2006;114:1159–1168.
634. Barthel A, Schmoll D, Krüger K-D, Roth RA, Joost H-G. Regulation of the forkhead transcription factor FKHR (FOXO1a) by glucose starvation and AICAR, an activator of AMP-activated protein kinase. *Endocrinology*. 2002;143:3183–3186.
635. Gross DN, Wan M, Birnbaum MJ. The role of FOXO in the regulation of metabolism. *Curr Diab Rep*. 2009;9:208–214.
636. Chess DJ, Lei B, Hoit BD, Azimzadeh AM, Stanley WC. Deleterious effects of sugar and protective effects of starch on cardiac remodeling, contractile dysfunction, and mortality in response to pressure overload. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2007;293:H1853–1860.
637. Cole MA, Murray AJ, Cochlin LE, Heather LC, McAleese S, Knight NS, Sutton E, Jamil AA, Parassol N, Clarke K. A high fat diet increases mitochondrial fatty acid oxidation and uncoupling to decrease efficiency in rat heart. *Basic Res Cardiol*. 2011;106:447–457.
638. Toime LJ, Brand MD. Uncoupling protein-3 lowers reactive oxygen species production in isolated mitochondria. *Free Radic Biol Med*. 2010;49:606–611.
639. Dhahri W, Couet J, Roussel É, Drolet M-C, Arsenault M. Fenofibrate reduces cardiac remodeling and improves cardiac function in a rat model of severe left ventricle volume overload. *Life Sci*. 2013;92:26–34.
640. Dhahri W. Metformin Reduces Left Ventricular Eccentric Re-modeling In Experimental volume Overload in the Rat. *J Clin Exp Cardiol* [Internet]. 2012 [cited 2013 Oct 30];03. Available from: <http://www.omicsonline.org/2155-9880/2155-9880-3-217.php>
641. Dhahri W, Drolet M-C, Roussel E, Couet J, Arsenault M. Chronic high-fat diet-induced obesity decreased survival and increased hypertrophy of rats with experimental eccentric hypertrophy from chronic aortic regurgitation. *BMC Cardiovasc Disord*. 2014;14:123.

Annexes

Aortic Regurgitation: Pathogenesis and clinical findings



Annexe A : Récapitulation schématique de la physiopathologie de l'insuffisance aortique (Source : <http://calgaryguide.ucalgary.ca/slide.aspx?slide=Aortic%20Regurgitation.jpg>).



Annexe B : Représentation des principales protéines impliquées dans la cascade des MAPK et leurs effecteurs respectifs (©WDH).