

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL

L'EFFET DU BAGAGE GÉNÉTIQUE
DES SOURIS C57BL/6 ET SJL SUR LES NIVEAUX
D'ADIPOKINES PAR LES DIFFÉRENTS DÉPOTS DU TISSU ADIPEUX

MÉMOIRE
PRÉSENTÉ
COMME EXIGENCE PARTIELLE
DE LA MAÎTRISE EN CHIMIE

MYRIAM COURTOIS-ALLARD

FÉVRIER 2010

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL

Service des bibliothèques

Avertissement

La diffusion de ce mémoire se fait dans le respect des droits de son auteur, qui a signé le formulaire *Autorisation de reproduire et de diffuser un travail de recherche de cycles supérieurs* (SDU-522 -Rév.01-2006). Cette autorisation stipule que «conformément à l'article **11** du Règlement no 8 des études de cycles supérieurs, [l'auteur] concède à l'Université du Québec à Montréal une licence non exclusive d'utilisation et de publication de la totalité ou d'une partie importante de [son] travail de recherche pour des fins pédagogiques et non commerciales. Plus précisément, [l'auteur] autorise l'Université du Québec à Montréal à reproduire, diffuser, prêter, distribuer ou vendre des copies de [son] travail de recherche à des fins non commerciales sur quelque support que ce soit, y compris l'Internet. Cette licence et cette autorisation n'entraînent pas une renonciation de [la] part [de l'auteur] à [ses] droits moraux ni à [ses] droits de propriété intellectuelle. Sauf entente contraire, [l'auteur] conserve la liberté de diffuser et de commercialiser ou non ce travail dont [il] possède un exemplaire.»

REMERCIEMENTS

D'abord, je tiens à remercier mon directeur de programme qui m'a donné la chance de m'investir dans un projet de recherche. Roland m'a laissé une très grande liberté dans mes démarches scientifiques, ce qui m'a permis de développer une très grande débrouillardise ainsi qu'une très grande autonomie. Il m'a permis aussi de me rendre compte de la valeur de mon travail. Au cours de ma maîtrise certains résultats allaient à l'encontre de la théorie, il a donc fallu que j'apprenne à faire confiance à mes résultats. Cette nouvelle aptitude me servira pendant longtemps.

Je tiens aussi à remercier le Dr. Lucie Lamontagne et le Dr. Tatiana Scorza pour leur soutien. Je tiens aussi à souligner la patience de Christian Bleau lorsqu'il m'apprenait de nouvelles techniques de laboratoire.

Je tiens à remercier aussi tout le personnel de l'animalerie qui était toujours prêt à répondre à mes questions.

Je voudrais remercier aussi tous mes collègues étudiants, qu'ils soient biologistes, biochimistes ou chimistes. Ils m'ont apporté beaucoup de soleil lorsque le temps était gris.

Finalement, je tiens à remercier ma famille et tous mes proches pour leur soutien.

TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES FIGURES	vii
LISTE DES TABLEAUX	viii
LISTE DES ABRÉVIATIONS	ix
RÉSUMÉ	xi
CHAPITRE 1	
INTRODUCTION	1
1.1 L'excès de poids	1
1.1.1 Définition de l'excès de poids	1
1.1.2 Statistiques reliées à l'excès de poids	2
1.2 Les effets physiologiques et les maladies reliées à l'excès de poids	3
1.2.1 Le syndrome métabolique	3
1.2.2 Le diabète type II	3
1.2.3 Maladies cardiovasculaires	5
1.2.4 L'inflammation	5
1.3 Le tissu adipeux et les cellules qui le composent	8
1.3.1 Macrophages	8
1.3.2 L'adipocyte	9
1.3.3 Les préadipocytes	12
1.4 Les principales adipokines	14
1.4.1 Le Tumor Nécrosis Factor alpha	14
1.4.2 L'Interleukine 6	16
1.4.3 La leptine	18
1.4.4 L'Adiponectine	19
1.4.5 L'Interleukine 10	20
1.4.6 Le Transforming growth factor β 1	22
1.4.7 Prostaglandine E ₂ , Ciliary neurotrophic factor et VEGF	23

1.5 Les mécanismes de l'inflammation du tissu adipeux	25
1.5.1 Infiltration des macrophages	25
1.5.2 Les Adipocytes	27
1.5.3 Les préadipocytes	28
1.6 Localisation des tissus adipeux	29
1.7 La génétique et l'obésité	32
1.8 Souris	33
1.9 Hypothèses	34
 CHAPITRE 2	
MÉTHODOLOGIE	35
2.1 Souris	35
2.1.1 Souris utilisées pour comparer les profils d'adipokines du PARA	35
2.2.2 Souris témoins	36
2.2.3 Souris nourries avec un régime riche en lipides	36
2. 2 Homogénéisation des tissus adipeux	37
2.3 Dosages des adipokines par LUMINEX	37
2.4 Dosages des Adipokines par ELISA et dosages des protéines	38
2.5 Extraction des lipides du foie	38
2.6 Isolation des adipocytes et de la fraction stroma vasculaire	38
2.7 Cytométrie de flux	39
2.7.1 Marquage au Rouge de Nil	39
2.7.2 Marque de F4/80	39
2.8 Diamètres cellulaires	40
2.9 Statistiques	40
 CHAPITRE 3	
RÉSULTATS	42
3.1 Caractérisation des profils d'adipokines du tissu PARA de B6 et SJL	42
3.1.1 Les profils d'adipokines du tissu paramétrial	42

3.1.2 Comparaison des quantités relatives des adipokines entre B6 et SJL dans le tissu PARA.....	44
3. 2 Caractérisation des tissus ING, MES et PARA des souches B6 et SJL.....	47
3.2.1 Population cellulaire des tissus ING, MES et PARA.....	47
3.2.2 Profils d'adipokines des différents tissus.....	49
3.2.3 Comparaison de la production de chacune des adipokines entre les tissus ING, MES et PARA.....	49
3.3 Comparaison des paramètres physiologiques entre les souches B6 et SJL.....	52
3.3.1 Prise alimentaire.....	52
3.3.2 Gain de poids.....	52
3.3.3 Populations cellulaires.....	54
3.4 Comparaison des profils d'adipokines entre les souches B6 et SJL.....	55
3.4.1 Production des adipokines.....	55
3.4.2 Comparaison des ratios.....	57
3.5. Effets de la nourriture HTL sur les souches B6 et SJL.....	63
3.5.1 Prise alimentaire.....	63
3.5.1 Gain de poids.....	63
3.5.2 Les adipocytes.....	64
3.5.3 Pourcentage de lipides dans le foie et la glycémie.....	68
3.5.4 Effets de la nourriture HTL sur les adipokines pro-inflammatoires.....	69
3.5.5 Les adipokines anti-inflammatoires.....	71
3.5.6 Macrophages.....	73
 CHAPITRE 4	
DISCUSSION.....	74
4.1 Caractérisation des profils d'adipokines chez B6 et SJL du tissu PARA.....	74
4.2 Comparaison entre les tissus ING, MES et PARA entre les souches B6 et SJL.....	79
4.2.1 Population cellulaire.....	79
4.2.2 Comparaison des adipokines entre les 3 tissus adipeux.....	80
4.3 Comparaison entre les souches B6 et SJL.....	83
4.3.1 Poids et prise alimentaire.....	83

4.3.2 Population cellulaire.....	84
4.3.3 Comparaison des niveaux d'adipokines entre les souches B6 et SJL.....	84
4.4 Effet de la nourriture HTL sur les souches B6 et SJL.....	88
4.4.1 Prise alimentaire et le poids.....	88
4.4.2 Effet de la nourriture HTL sur la taille de l'adipocyte.....	89
4.4.3 Effet de la nourriture HTL sur les adipokines pour la souche B6.....	90
4.4.4 Effet de la nourriture HTL sur la souris SJL.....	95
CONCLUSIONS GÉNÉRALES.....	97
BIBLIOGRAPHIE.....	98

LISTE DES FIGURES

Figure	Page
1.1 Les principales adipokines synthétisées par le tissu adipeux.....	7
3.1 Profil d'Adipokines du tissu adipeux PARA des souches B6 et SJL.....	43
3.2 Diamètres des adipocytes des tissus ING, MES et PARA.....	48
3.3 Populations cellulaires des tissus ING, MES et PARA.....	48
3.4 Les niveaux d'adipokines des tissus ING, MES et PARA chez B6.....	50
3.5 Les niveaux des adipokines des tissus ING, MES et PARA chez SJL.....	51
3.6 Comparaison des paramètres physiologiques entre les souches B6 et SJL.....	53
3.7 Comparaison des populations cellulaires entre les souches B6 et SJL.....	54
3.8 Comparaison des niveaux de production des adipokines entre B6 et SJL dans différents tissus adipeux.....	56
3.9 Poids, prise alimentaire et glycémie des souris soumises à un régime HTL.....	64
3.10 Populations des cellules dans le tissu adipeux des souris soumises à un régime HTL.....	66
3.11 Fluorescence des marqueurs Rouge de Nil et F480 des souris soumises à un régime HTL.....	67
3.12 Paramètres physiologiques des souris soumises à un régime HTL.....	68
3.13 Les adipokines pro-inflammatoires contenues dans le tissu adipeux des souris soumises à un régime HTL.....	70
3.14 Adipokines anti-inflammatoires contenues dans le tissu adipeux des souris soumises à un régime HTL.....	72

LISTE DES TABLEAUX

Tableau		Page
1.1	Les risques associés à l'indice de masse corporelles.....	2
3.1	Ratios des adipokines contenues dans le tissu PARA.....	46
3.2	Ratios des adipokines contenues dans le tissu ING.....	58
3.3	Ratios des adipokines contenues dans le tissu MES.....	60
3.4	Ratios des adipokines contenues dans le tissu PARA.....	62

ABBREVIATIONS

ARN _m	Acide ribonucléique messenger
B6	C57BL/6
CCPA	Conseil canadien de protection des animaux
CIPA	Comité institutionnel de protection des animaux
CSF-3	Colony Stimulating factor-3
CNTF	Ciliary neurotrophic factor
HIF- α	Hypoxia inductible factor-1 α
HSL	Hormone sensitive lipase
HTL	Haute teneur en lipides
IL-1	Interleukine 1
IL-4	Interleukine 4
IL-6	Interleukine 6
IL-8	Interleukine 8
IL-10	Interleukine 10
IL-12	Interleukine 12
IL-18	Interleukine 18
INF- γ	Interféron-gamma
ING	Inguinal
IRS	Insulin Receptor Substrate
IMC	Indice de masse corporelle
LDL	Lipoprotéine de faible densité

LPL	Lipoprotéine lipase
MCP-1	Monocyte Chemoattractant Protein-1
MES	Mésentérique
MIF	Macrophage Inhibitory Factor
Min	Minutes
mL	Millilitre
NGF	Nerve growth factor
NF- κ B	Nuclear Factor κ B
NO	Monoxyde d'azote
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
PAI-1	Plaminogène Activateur-Inhibiteur-1
PARA	Paramétrial
PGE2	Prostaglandine E2
SJL	Swiss Jim Lambert
TGF- β 1	Transforming growth factor beta 1
TLR	Recepteur Toll-like
TNF- α	Tumor Necrosis Factor alpha
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor

RÉSUMÉ

L'obésité est une maladie multifactorielle dont la génétique semble être un acteur prédominant dans le développement de cette maladie. Malgré de nombreuses études qui sont à la recherche des polymorphismes responsables de cette maladie, très peu d'études ont vérifié si les profils d'adipokines des différents dépôts adipeux étaient affectés par le bagage génétique. Cette étude a émis comme hypothèse que le bagage génétique était un acteur important dans le processus d'inflammation causé par l'obésité. Deux souches de souris femelles ont été étudiées soit la C57BL/6 et la SJL. La souris SJL est une souris résistante à la nourriture riche en lipides i.e. qu'elle ne développe pas de surpoids relié à sa consommation contrairement à la C57BL/6. Conséquemment, le profil d'adipokines de la souris SJL ne devrait pas être affecté par ce régime. Les souris C57BL/6 et SJL ont été nourries pendant 12 semaines avec un régime riche en lipides. Les marqueurs d'inflammation suivant : le TNF- α , l'IL-6, la leptine, l'adiponectine, l'IL-10 et le TGF- β 1 ont été dosés par ELISA. La nourriture HTL n'a pas entraîné de surpoids chez aucune des deux souches. Cependant, le profil d'adipokines de la souris C57BL/6 est affecté par la nourriture riche en lipides. Dans le tissu MES, la quantité de TNF- α , IL-6, leptine, adiponectine et IL-10 est significativement plus élevée comparativement aux quantités retrouvées chez les souris témoins. Cette donnée suggère qu'une nourriture riche en lipides est capable d'induire des changements dans le métabolisme du tissu adipeux. Bref, le métabolisme du tissu adipeux serait régulé par d'autres facteurs que l'obésité. Chez SJL, les niveaux d'adipokines ne sont pas affectés par la nourriture riche en lipides comparativement aux souris témoin excepté pour l'adiponectine. Il y a une diminution de l'adiponectine dans le tissu ING et MES. Les réponses différentes à une nourriture riche en lipides pourraient s'expliquer par les niveaux d'adiponectine. L'adiponectine est une hormone anti-inflammatoire et sa quantité est 100X plus élevée chez la souris SJL que chez C57BL/6. Chez la souris SJL, la quantité élevée d'adiponectine pourrait jouer un rôle protecteur contre l'inflammation. En conclusion, cette étude suggère que le bagage génétique a une influence sur le profil d'adipokine.

Mots clefs : Adipokine, pro-inflammatoire, anti-inflammatoire, tissu adipeux, inguinal, mésentérique, paramétrial, TNF- α , IL-6, leptine, IL-10, adiponectine, TGF- β , C57BL-6 et SJL.

CHAPITRE 1

INTRODUCTION

1.1 L'excès de poids

1.1.1 Définition de l'excès de poids

Le mode de vie des dernières décennies a fait exploser le nombre de personnes ayant des problèmes de surpoids. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) définit l'excès de poids par une accumulation anormale ou excessive de graisse corporelle qui peut nuire à la santé. Il existe deux catégories à l'excès de poids; le surpoids (l'embonpoint) et l'obésité. Le surpoids et l'obésité sont des termes généralement déterminés à partir de l'Indice de Masse Corporel (IMC). L'IMC est la mesure la plus couramment utilisée pour classer le poids corporel. L'IMC permet d'évaluer les risques associés à un excès de poids ou à un poids insuffisant. L'IMC se calcule en divisant la masse de la personne (Kg) par la taille (M) au carré. Chez l'adulte, un IMC compris entre 25 et 30 exclusivement indique que le sujet a un problème de surpoids et qu'il a des risques accrus de développer des problèmes de santé. Un IMC de 30 ou plus signifie que la personne présente une obésité et qu'elle a des risques élevés de développer des problèmes de santé (Voir tableau 1).

Les problèmes de santé associés à l'excès de poids sont très nombreux. Le surpoids et l'obésité sont associés au syndrome métabolique. L'obésité est associée au diabète de type II, l'hypertension, l'arthrite, l'arthrose, l'asthme, la calcification des artères, etc. L'obésité provoque aussi un dérèglement du système inflammatoire (Wellan, 2003). De plus, une

personne obèse est beaucoup plus susceptible de développer un cancer (Calle et Kaaks, 2004).

Classification	Catégorie de l'IMC (kg/m ²)	Risque de développer des problèmes de santé
Poids insuffisant	< 18,5 Accru	Accru
Poids normal	18,5 – 24,9 Moindre	Moindre
Excès de poids Accru	25,0 – 29,9	Accru
Obésité Classe I Classe II Classe III	30,0 – 34,9 35,0 – 39,9 ≥ 40,0	Élevé Très élevé Extrêmement élevé

Tableau 1.1: Les risques associés à l'indice de masse corporel. Lignes directrices canadiennes pour la classification du poids chez les adultes - *Guide de référence rapide à l'intention des professionnels, 2003*

1.1.2 Statistiques reliées à l'excès de poids

L'organisation mondiale de la santé a déclaré que l'obésité est une épidémie non infectieuse. Cette déclaration démontre la gravité de cette maladie. En Europe, la prévalence à l'obésité a triplé entre 1980 et 2005 (Copenhague et Bucarest, 2005). Vingt pourcent des hommes et 30% des femmes des pays européens seraient atteints de cette maladie (Copenhague et Bucarest, 2005). Au Canada en 2004, 23,1% des adultes souffraient d'obésité (Statistique Canada, 2004). La situation est encore plus alarmante aux États-Unis puisque 33,3% de la population souffre d'obésité selon une étude de Centers for Disease Control and Prevention, Department of Health and Human Services publiée en 2002. La situation est encore plus critique chez les enfants et les adolescents. À titre d'exemple, la France a vu l'obésité chez les enfants âgés de 7 à 11 ans grimper de 3% à 16% entre 1960 et 2000 (Lobstein et Frelut, 2003). Au Canada, le taux d'obésité chez les enfants âgés de 2-17 ans est passé de 12% à 18

% entre 1978 et 2004 (Shields, 2004). Au États-Unis, la prévalence à l'obésité chez les enfants âgés de 6 à 11 ans est passée de 4% à 16% entre 1970 et 2000 (Lobstein, 2004).

L'augmentation des personnes atteintes de l'obésité et ses nombreuses maladies subséquentes font en sorte que l'obésité est très dispendieuse à soigner. En 2001, le fardeau économique au Canada associé à l'obésité était de 5.3 milliards de dollars ce qui correspond à 2.6% des coûts associés au budget de santé (Katzmarzyk et Janssen, 2004). Ce chiffre risque fortement d'augmenter étant donné l'augmentation du taux d'obésité actuellement observé.

1.2 Les effets physiologiques et les maladies reliées à l'excès de poids

1.2.1 Le syndrome métabolique

Dans un premier temps, l'excès de poids entraîne un changement du métabolisme général qui se nomme le syndrome métabolique. Il se reflète par une augmentation du taux sanguin des triglycérides, des lipoprotéines de faible densité (LDL) et de la glycémie. Il y a aussi une diminution du taux sanguin des lipoprotéines de haute densité. La personne peut souffrir aussi d'hypertension. Ces changements sont les signes précurseurs de maladies graves. L'augmentation du taux de glycémie et l'hypertension sont associées au diabète du type II tandis que l'augmentation des triglycérides et des lipoprotéines de faible densité sont associée aux maladies du cœur (Kahn et *al*, 2005).

1.2.2 Le diabète type II

Le diabète du type II est une maladie souvent associée au surpoids. Avant de décrire cette maladie, il est important de comprendre le mécanisme de l'insuline.

Le passage du glucose du sang vers les cellules s'effectue à l'aide, entre autres, des transporteurs GLUT-4. Les GLUT-4 sont endocytés à l'intérieur des cellules. Sous l'action de l'insuline, les GLUT-4 sont exocytés à la membrane de la cellule. L'insuline est une

hormone pancréatique qui se lie à son récepteur insulinique qui possède 4 peptides glycosylés reliés par des ponts disulfures. Ces peptides se divisent en 2 catégories : les sous unités α et les sous unités β . Les sous unités α situées à la surface de la membrane permettent la fixation de l'insuline. Les sous unités β sont des peptides transmembranaires ayant une activité kinase. La fixation de l'insuline aux sous unités α lève l'inhibition de l'activité kinase. Les kinases peuvent ainsi phosphoryler des molécules Insulin Receptor Substrate (IRS). Les IRS sont subdivisés en 3 catégories : IRS-1, 2 et 3. L'IRS-3 permet l'exocytose des GLUT-4. IRS-2 permet aussi la translocation des GLUT-4 mais son action a été seulement observée chez les adipocytes. IRS-1 n'agit pas au niveau des GLUT-4, il active les mécanismes de survie de la cellule, bref les voies anti apoptotiques (Capeau, 2003).

Les personnes ayant une incapacité à assimiler le glucose souffrent de diabète. Il y a deux types de diabète; le diabète du type I et le diabète du type II. (The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabète Mellitus, 1997) Le diabète du type I est considéré comme le diabète juvénile puisque les patients sont atteints en bas âge. Leur pancréas produit une quantité insuffisante d'insuline pour assimiler le glucose (Eiselein et *al.*, 2004).

Le diabète du type II était souvent associé au vieillissement. Les patients développent une résistance à l'insuline. La résistance empêche la translocation des GLUT-4 vers la surface de la membrane. Conséquemment, les cellules ne peuvent assimiler correctement le glucose sanguin (Eriksson et *al.*, 1992). Cette désensibilisation est progressive. Les premiers symptômes apparaissent dix quinze ans après le début de la maladie. Cependant, à long terme, l'augmentation du glucose sanguin entraîne une augmentation de la production d'insuline. Ce cercle vicieux entraîne un épuisement des cellules pancréatiques et une diminution de la production d'insuline (Kulkarni et *al.*, 1999). Les mécanismes qui conduisent à cette désensibilisation sont encore méconnus. Par contre, ce mémoire présente quelques mécanismes potentiels qui induiraient la résistance à l'insuline.

Malgré la lente évolution de cette maladie, le diabète du type II est en nette progression à travers le monde puisque cette maladie est fortement présente chez les personnes obèses

(King *et al.*, 1998; Zimmet *et al.*, 2001). Même les enfants ayant des problèmes de surpoids sont atteints de cette maladie (Matyka, 2008). Une des problématiques avec le diabète du type II c'est qu'il entraîne plusieurs maladies cardiovasculaires (Grundy *et al.*, 1999).

1.2.3 Maladies cardiovasculaires

Les maladies cardiovasculaires sont nombreuses, une des plus courantes est l'artériosclérose. Le diabète et l'obésité sont associés entre autres à l'artériosclérose (Grundy *et al.*, 1999; Haslam et James, 2005).

Cette maladie entraîne un durcissement des artères. Le durcissement des artères est induit par ces trois phénomènes : la formation de plaques lipidiques riches en cholestérol au niveau de l'intima, la prolifération des cellules endothéliales des vaisseaux sanguins et l'infiltration des monocytes dans l'intima des vaisseaux (Cottart *et al.*, 2008). Le processus qui mène à la formation des plaques est complexe et pas encore totalement élucidé (Cottart *et al.*, 2008).

Le diabète du type II et l'artériosclérose sont tous les deux associés à l'obésité. Plusieurs études ont essayé de déterminer les mécanismes qui expliquent le lien entre l'obésité, le diabète et les maladies cardiovasculaires. Il est maintenant reconnu que les protéines pro-inflammatoires peuvent influencer le diabète et les maladies cardiovasculaires. Chez les personnes obèses, il y a une augmentation des marqueurs et de protéines pro-inflammatoires. La prochaine section de ce mémoire présente, les études qui ont trouvé une corrélation entre les 2 maladies mentionnées préalablement et l'augmentation des protéines pro-inflammatoires.

1.2.4. L'inflammation

Les changements métaboliques qui se déclenchent chez les personnes obèses provoquent une inflammation chronique de faible intensité. Chez les personnes obèses, les marqueurs et les

cytokines pro-inflammatoires augmentent dans le système circulatoire. Chez les personnes obèses on observe une augmentation sanguine de la protéine C-réactive, de l'IL-6, du TNF- α et de l'haptoglobine comparativement aux personnes ayant un poids normal (Yudkin et *al.*, 1999; Das, 2001; Festa et *al.*, 2001; Engström et *al.* 2003).

L'augmentation des protéines pro-inflammatoires chez les personnes obèses est associée à de nombreux problèmes de santé. Chez les patients obèses souffrant de diabète du type II, on retrouve un haut niveau d'IL-6, de TNF- α et de la protéine C-réactive (Pradhan et *al.*, 2001; Hotamisligil, 1993). Chez les sujets obèses et ayant des problèmes cardiaques on retrouve un taux anormalement élevé d'IL-6 et de la protéine C-réactive (Rifai et *al.*, 1999).

Chez les personnes obèses, on constate aussi une diminution d'une hormone anti-inflammatoire soit l'adiponectine (Arita, 1999; Manigrasso et *al.*, 2005). Cette diminution est associée à la résistance insulinique et au syndrome métabolique (Hotta et *al.*, 2000; Choi et *al.*, 2007). De plus, une diminution sanguine de l'IL-10 chez les patients obèses est associée au syndrome métabolique (Manigrasso et *al.*, 2005; Choi et *al.*, 2007).

À ce jour deux tissus ont été découverts comme étant responsables de cette inflammation. Dans un premier temps, le foie produit la protéine C-réactive, une protéine hautement inflammatoire associée à l'inflammation aiguë. Dans un deuxième temps, il y a le tissu adipeux.

Le tissu adipeux a longtemps été considéré, à juste titre, comme une réserve énergétique mais depuis que l'équipe de recherche de Zhang a découvert en 1994 que la leptine est secrétée majoritairement par le tissu adipeux, ce dernier est maintenant considéré comme un tissu ayant également des propriétés endocriniennes. Depuis cette découverte, les chercheurs ont observé que le tissu adipeux était capable de synthétiser une multitude de protéines ayant des fonctions précises dans l'organisme (figure 1.1). Parmi ces protéines, il y a des protéines pro-inflammatoires et des protéines anti-inflammatoires. Chez les personnes obèses, le tissu adipeux contribuerait de deux manières à l'augmentation de l'inflammation. Dans un premier

temps, la production de certaines cytokines stimulerait l'expression de molécules pro-inflammatoires dans certains organes. Par exemple, le tissu adipeux produit de l'IL-6. Cette interleukine stimule la production de la protéine C-réactive qui est d'origine hépatique (Fontana et *al.*, 2007). Ce mécanisme augmenterait le niveau d'inflammation. Dans un deuxième temps, les cellules qui composent le tissu adipeux subissent des changements métaboliques. Ces changements entraînent une augmentation de la production des protéines pro-inflammatoires (Fantuzzi, 2005).

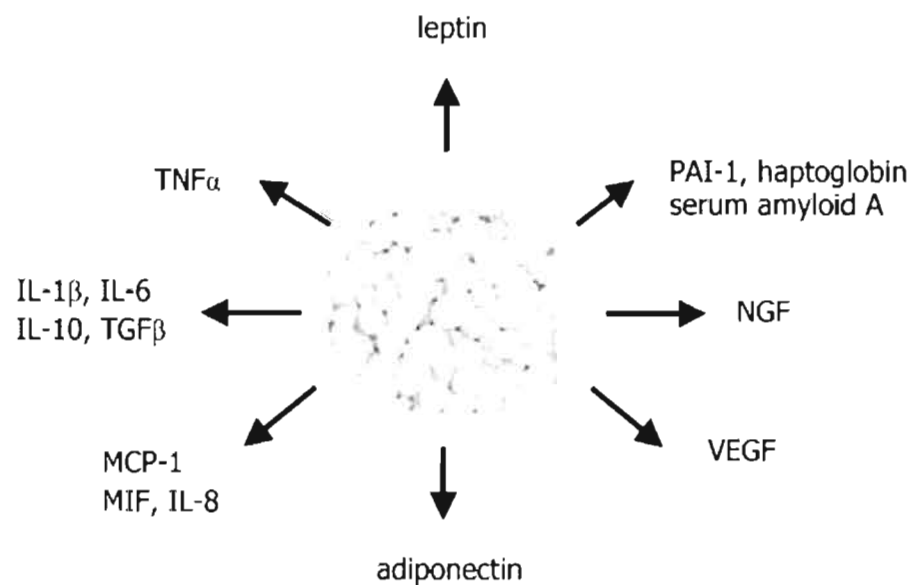


Figure 1.1 : Les principales adipokines synthétisées par le tissu adipeux (Arner, 2005).

1.3 Le tissu adipeux et les cellules qui le composent

Comme énoncé auparavant le tissu adipeux est capable de synthétiser des protéines ayant des fonctions autocrines, paracrines et endocrines. Ces substances bioactives peuvent provenir de différentes cellules : les macrophages, les adipocytes, les préadipocytes entre autres. Les protéines sécrétées par ces cellules se nomment adipokines. En ce moment, il existe un débat autour du terme adipokine. Certains articles stipulent que les adipokines sont sécrétées uniquement par les adipocytes et d'autres affirment que les adipokines sont sécrétées par le tissu adipeux. Dans ce mémoire, le terme adipokine désigne l'ensemble des protéines synthétisées par le tissu adipeux.

Ce mémoire décrit les cellules du tissu adipeux qui joueraient des rôles prédominants dans un contexte d'obésité soit les macrophages, les adipocytes et les préadipocytes. Le tissu adipeux est composé aussi de monocytes, de lymphocytes et de fibroblastes toutefois, il y a très peu d'étude à leurs sujets (Juge-Aubrey et *al.*, 2005).

1.3.1 Macrophages

Les macrophages font partie de la première ligne de défense du système immunitaire. Dans le tissu adipeux les macrophages auraient pour rôle d'éliminer les cellules adipeuses mortes par phagocytose, processus par lequel une cellule internalise un corps étranger (Strissel, 2007). Les macrophages (originaires des monocytes) peuvent être activés par deux voies : la voie classique et la voie alternative (Mantovani et *al.*, 2004).

La voie classique est une voie inflammatoire qui permet d'éradiquer les agents pathogènes. In vivo, l'activation de la voie classique débute lorsqu'un lymphocyte T auxiliaire du type T_H1 reconnaît un macrophage infecté par un micro-organisme. Le macrophage infecté présente l'antigène aux lymphocytes T_H1 à l'aide des récepteurs like Toll (TLR). Les lymphocytes vont se lier aux récepteurs et cette liaison active la production d'INF- γ par les lymphocytes. Ensuite, INF- γ va activer les macrophages ce qui va engendrer la production des cytokines

pro-inflammatoires (TNF- α , IL-6, INF- γ , IL-12, IL-1) (Nathan, 1991). Cette voie permet aussi la synthèse de chimiokines comme le monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1). Cette voie active la phagocytose ainsi que l'activité microbicide (Duffield, 2004). L'activité microbicide peut se définir par la dégradation des agents pathogènes par l'intermédiaire d'oxydants comme le monoxyde d'azote (NO) et le peroxyde d'hydrogène. Une des façons de mesurer le pouvoir microbicide est de mesurer l'activité de la nitric oxide synthase inducible (iNOS), enzyme qui permet la synthèse du NO (Hibbs., 2002). In vitro, la voie classique peut être activée par l'ajout des LPS ou de l'INF- γ (Duffield, 2004).

La voie alternative est une voie anti-inflammatoire. Elle permet d'inhiber l'inflammation de la voie classique et de réparer les tissus endommagés par l'inflammation. La voie alternative est activée par les lymphocytes de type T_H2 qui donnent la capacité aux macrophages de synthétiser des cytokines anti-inflammatoires (IL-10, et TGF- β et l'antagoniste du récepteur IL-1) (Duffield, 2004). Il y a aussi une diminution de la voie de NO (Rutschman *et al.*, 2001). Il est à noter que les cellules T_H2 sont capables d'inhiber la voie T_H1 et vice-versa (Romagnani, 1994). In vitro, cette voie peut être stimulée par l'IL-10 (Duffield, 2004).

1.3.2 L'adipocyte

Il est depuis longtemps connu que l'adipocyte a comme fonction d'emmagasiner les triglycérides. Lors d'un besoin énergétique, l'adipocyte scinde les triglycérides en acides gras et en glycérol. Pour déterminer l'activité d'accumulation des triglycérides, la LPL (une enzyme essentielle à l'incorporation des acides gras à la cellule) est souvent dosée, (Goldbert, 1996) tandis que l'activité de la lipolyse est dépendante de l'activité de l'hormone sensitive lipase (HSL) puisque le catabolisme des lipides débute par l'action de cette enzyme. Cette enzyme permet de transformer les triglycérides en diglycérides. Ces derniers sont transformés successivement en monoglycérides et en acides gras par l'intermédiaire de différentes lipases intracellulaires. La dernière réaction permet la libération de glycérol et des acides gras. Les acides gras libérés peuvent être, entre autre, métabolisés par la voie de la β -oxydation

intramitochondriale musculaire pour fournir de l'adénosine triphosphate aux cellules (Langin, 2006).

Chez l'humain, l'activité de l'HSL est principalement régulée par les catécholamines. Les catécholamines stimulent la HSL via les récepteurs β -adrénergiques ou l'inhibent en se liant aux récepteurs α 2-adrénergiques (Langin, 2006). Les récepteurs β -adrénergiques sont couplés à des protéines G stimulatrices. Les protéines G stimulatrices activent l'adényl cyclase qui à son tour permet la production de l'adénosine monophosphate cyclique (AMP_c). L' AMP_c active la protéine kinase A qui active la HSL directement par une phosphorylation. La protéine kinase A permet à la HSL d'avoir accès à la gouttelette lipidique. Normalement, la HSL est complexé aux protéines périlipine. Les périlipine empêchent la protéine HSL d'avoir accès à la gouttelette lipidique. L'activation de la protéine kinase A permet la phosphorylation de la périlipine ce qui entraîne la dissociation du complexe. Une fois libérée, la HSL pénètre dans la gouttelette lipidique où sont séquestrés les lipides (Carmen, 2006). Les récepteurs α 2 sont couplés à des protéines G inhibitrices. Les G_i permettent d'inhiber l'adényl cyclase ce qui entraîne la diminution de l'adénosine monophosphate cyclique (Carmen et Victor, 2006).

Lors d'une activité physique ou d'un stress, il y a une augmentation de la production des catécholamines comme l'adrénaline et la noradrénaline qui a pour effet de stimuler la lipolyse via les récepteurs adrénergique β_1 et β_2 (Langin, 2006). Chez les rongeurs, le récepteur β_3 se retrouve principalement dans les tissus adipeux blanc et brun. La stimulation du récepteur β_3 par les catécholamines engendre une forte réponse lipolytique (Arch et Wilson, 1996). Chez l'humain, l'activité lipolytique par les récepteurs β_3 est faible (Tavernier, 1996). L'activité de l'HSL est affectée chez les personnes obèses. Ces concepts ont été expliqués brièvement puisque ce mémoire ne traite pas des voies de signalisation adipocytaire mais plutôt de son rôle immunitaire.

L'effet inhibiteur α 2-adrénergique augmente avec l'IMC et le niveau de sédentarité. Cela serait dû à une sensibilité plus importante des récepteurs α 2 et une diminution de la sensibilité des récepteurs β à la réponse des catécholamines. Par conséquent, lors d'une

activité physique, la lipolyse des personnes obèses est plus faible que les personnes ayant un poids santé (Stich et *al.*, 2000). Paradoxalement, à l'état basal, les personnes obèses ont une lipolyse plus élevée que les personnes de poids normaux. (Stich et *al.*, 2000) D'après la littérature, ce phénomène peut s'expliquer en autres par l'augmentation du TNF- α (Arner, 2005). Le TNF- α est un agent lipolytique qui permet d'activer la HSL en levant l'inhibition exercée par les périlipines (Arner, 2005). L'augmentation de la production de cette dernière dans le tissu adipeux des personnes obèses pourrait contribuer à augmenter l'activité de la lipolyse basale (Arner, 1995).

Tel que mentionné plus haut, l'équipe de recherche de Zhang a découvert que la leptine est synthétisée par le tissu adipeux. En fait, ce sont les adipocytes qui synthétisent la leptine. La leptine est une hormone qui joue plusieurs rôles dans l'organisme dont l'inhibition de l'appétit. Par exemple, les souris déficientes en leptine (souris ob/ob) souffrent d'hyperphagie (Zhang et *al.*, 1994). Depuis la découverte de Zhang, la liste des adipokines secrétées par le tissu s'est allongée. Les cellules adipeuses sont capables de sécréter des hormones comme l'adiponectine et la résistine (Maeda et *al.*, 1996; Janke et *al.*, 2002). Toutefois, il existe une discordance dans la classification de ces trois protéines. Certains les classifient comme des cytokines et d'autres comme des protéines. Cette différence de nomenclature provient des champs d'expertise des auteurs puisque ces trois hormones jouent autant des rôles physiologiques qu'inflammatoires. Les adipocytes synthétisent aussi les facteurs de croissance suivants : VEGF et le NGF (Fain et *al.*, 2004; Peeraully, 2004). Elles sécrètent aussi des cytokines pro-inflammatoires : IL-6 et TNF- α (Fain et *al.*, 2004). Elles synthétisent aussi le PAI-1 qui participe à la coagulation des vaisseaux sanguins. Les adipocytes produisent des chemoattractants : MCP-1 et MIF (Skurt et *al.*, 2005, Gerhardt et *al.*, 2001). Finalement, les adipocytes sécrètent aussi plusieurs prostaglandines dont la prostaglandine E2 (PGE2) et la prostaglandine I2 (PGI2) (Axelrod et Levine, 1981; Fain et *al.*, 2002). Les adipocytes produisent d'autres adipokines toutefois, ce mémoire a présentée les principales adipokines de cette étude.

En plus de sécréter des adipokines les adipocytes possèdent des marqueurs de surface identiques aux macrophages. Parmi ces marqueurs, il y a le Cd36. Chez les macrophages, le

Cd36 est impliqué dans le processus de phagocytose. Chez l'adipocyte, il est impliqué dans le transport des acides gras (Aiman, 1996). L'adipocyte possède aussi des récepteurs de la famille des toll like receptor (TLR) (Lin, 2000). Cette famille de récepteurs se retrouve habituellement chez les macrophages. Ils se fixent aux corps étrangers comme les lipopolysaccharides (LPS). Cette fixation permet d'activer le récepteur et de reconnaître les corps étrangers (Kirschning CJ et Bauer S., 2001). L'étude de Lin a démontré que les adipocytes expriment les récepteurs TLR 2 et 4. L'étude de Lin a démontré que les adipocytes peuvent être stimulés avec les LPS et que cette stimulation entraîne une hausse des adipokines pro-inflammatoires ainsi qu'une hausse de l'expression du récepteur TLR2. (Lin, 2000) Une autre étude récente a démontré que les adipocytes 3T3-L1 cultivés avec des ligands des TLR (LPS, Poly (U), Poly (I :C), macrophage-activating lipopeptide, Pam3Cys et CpG) entraîne une hausse de la production de l'IL-6, de la resistine et de MCP-1. Cette étude conclue que les TLR des adipocytes jouent un rôle essentiel dans l'immunité. Toutefois aucune étude à notre connaissance n'a établie le rôle des TLR (Kopp et *al.*, 2009).

En résumé, les adipocytes sécrètent des protéines du système immunitaire et possèdent des caractéristiques similaires aux macrophages.

1.3.3 Les préadipocytes

Les préadipocytes sont les cellules précurseurs des adipocytes. À ce jour aucun marqueur antigénique spécifique à cette cellule n'a été trouvé à notre connaissance. D'après la revue littéraire de Cousin publiée en 2006, ces cellules sont seulement caractérisées par leurs capacités d'adhésion et de différenciation en adipocyte (Cousin et *al.*, 2006). Ces cellules possèdent aussi de nombreuses similitudes avec les macrophages.

D'abord, elles sont capables de synthétiser des adipokines de la famille des cytokines pro-inflammatoires tel qu'IL-6, TNF- α et interleukine-18 (IL-18) et des chemoattractant tel que MCP-1 (Chung, 2006).

De plus, les préadipocytes possèdent des récepteurs TLR 2 et 4 et ils sont sensibles aux LPS. Une étude *in vitro* a démontré que les préadipocytes 3T3-L1 stimulés aux LPS produisaient beaucoup plus d'IL-6 que les adipocytes 3T3-L1.

Par contre sans la stimulation des LPS, la production d'IL-6 chez les préadipocytes et les adipocyte 3T3-L1 est pratiquement nulle. Cela démontre qu'il faut une stimulation des préadipocytes et des adipocytes pour qu'il ait production d'IL-6 (Harkins *et al.*, 2004).

Les préadipocytes murins en culture primaire ou en lignées présentent une activité phagocytaire et microbicide. Toutefois, leur pouvoir phagocytaire est beaucoup moins important que celui des macrophages activés (Cousin *et al.*, 1999). De plus, l'étude de Charriere a démontré que les préadipocytes sont capables de se différencier en macrophages. Dans ce contexte, des préadipocytes marqués par un fluorescent (4',6'-diamidino-2-phénylindole) ont été injectés dans la cavité péritonéale de souris Nude, et leur devenir ont été suivis. Six heures après leur injection, la grande majorité des préadipocytes exprimaient les marqueurs spécifiques des macrophages soit : Mac-1 et F4/80. Cette différenciation a perduré au cours du temps puisque les cellules exprimaient encore MAC-1 et F4/80 une semaine après l'injection (Charriere *et al.*, 2003). Cette propriété intéressante suggère que les préadipocytes participent à la défense immunitaire. Elles suggèrent un lien de parenté entre les deux lignées (Charriere *et al.*, 2003).

Une étude a comparé l'ADN des macrophages et des préadipocytes par la technique de micro-arrays afin de déterminer si ces lignées ont une origine commune. Cette technique permet de comparer l'expression de quelques milliers de gènes dans deux populations de cellules distinctes. L'analyse informatique de ces données a permis de définir une parenté commune entre les populations macrophagiques et pré adipocytaire (Charriere *et al.*, 2003). Cette donnée renforce l'hypothèse que les préadipocytes pourraient participer à la défense immunitaire.

En résumé les macrophages, les adipocytes et le préadipocytes sont capables de synthétiser des adipokines pro-inflammatoires et anti-inflammatoires. Leurs actions sont nombreuses (physiologique, immunologique, biochimique...) toutefois ce mémoire va se concentrer sur la description de leurs fonctions immunologiques au niveau du tissu adipeux.

1.4 Les principales adipokines

Cette section résume le rôle connu des adipokines. Toutes les protéines présentées à moins d'avis contraire sont produites par le tissu adipeux. La section précédente a présenté les cellules productrices de ces adipokines.

1.4.1 Le Tumor Nécrosis Factor alpha

Le TNF- α est une cytokine pro-inflammatoire sécrétée lors d'une infection ou lors de maladies chroniques.

Le TNF- α humain possède 79% d'analogie avec celui de la souris. Le TNF- α humain est constitué de 157 acides aminés et celui de la souris est formé de 156 acides aminés. Le poids moléculaire du TNF- α humain est de 17.3 kDa tandis que celui de la souris est de 18.5 kDa (Jones et *al.*, 1989).

Au niveau des macrophages en général, le TNF- α est un co-facteur de l'activateur de la voie classique. Il active les lymphocytes T_H1 et favorise l'interaction entre l'INF- γ et son récepteur (Hackett, 1988). Il augmente l'expression des lysozymes, de l'IL-1, de l'IL-6 et de l'IL-18 des macrophages. Il agit comme un co-facteur pour accroître l'activité microbicide, cytostatique et cytotoxique (Cavaillon, 1996). Le TNF- α régule de nombreux gènes dans les adipocytes 3T3-L1.

Chez les adipocytes 3T3-L1, le TNF- α inhibe de nombreux gènes normalement exprimés comme celui de l'HSL et de la leptine. Le TNF- α stimule l'expression des gènes normalement activés chez les préadipocytes (Ruan, 2002; Zhang, 2000). Cette dédifférenciation conduirait à une augmentation de la production des marqueurs pro-inflammatoires (Ruan, 2002). Chez les adipocytes humains ou dans la lignée cellulaire 3T3-L1 cultivés en présence de TNF- α , le TNF- α stimule l'expression de l'ARN_m de MCP-1, IL-6 et NGF. (Wang, 2005; Zhu *et al.*, 2008, Lagathu *et al.*, 2003, Rotter *et al.*, 2003, Peeraully *et al.*, 2004). De plus, il inhibe l'expression de l'ARN_m de l'adiponectine et de la résistine chez les adipocytes humains et 3T3-L1 (Wang *et al.*, 2005, Fasshauer *et al.*, 2002; Shojima, 2002). Malgré une diminution de l'ARN_m de la leptine et de l'adiponectine, les niveaux de sécrétion de ces hormones ne sont pas affectés (Wang *et al.*, 2005 ; Zhang *et al.*, 2000). La leptine est même sécrétée de façon plus abondante lorsque les adipocytes humains sont mis en contact avec le TNF- α . (Zhang *et al.*, 2000) Pour expliquer cette contradiction, l'étude de Zhang a proposé que le TNF- α hausse la libération de la leptine déjà synthétisée mais inhibe l'ARN_m de la leptine. Cependant, les mécanismes qui permettent d'augmenter la sécrétion de la leptine sont encore méconnus. Quant à l'étude de Wang, cette contradiction est expliquée par le temps de l'expérience. Les adipocytes humains ont été incubés pendant 24h. L'hypothèse de Wang propose que la synthèse de l'adiponectine prend plus de 24h. Donc, l'équipe de Wang ne peut observer un effet lorsque les adipocytes sont cultivés 24h (Wang *et al.*, 2005).

Au niveau physiologique, le TNF- α inhibe la LPL (Fried *et al.*, 1989). Malgré le fait que le TNF- α diminue l'expression de l'ARN_m de l'HSL, le TNF- α stimule la lipolyse dans les cellules adipeuses en levant l'inhibition de l'HSL (Sumida *et al.* 1997, Ryden *et al.*, 2002; Souza *et al.*, 1998). In vivo, le TNF- α induit l'apoptose dans les adipocytes humains (Prins *et al.*, 1997).

Au niveau des préadipocytes, le TNF- α inhibe la différenciation des adipocytes (Torti *et al.*, 1989). La présence du TNF- α déclenche des changements morphologiques chez le préadipocyte. Les préadipocytes présentent les phénotypes des macrophages et augmentent leur production d'interleukines pro-inflammatoires (Isakson *et al.*, 2009).

Dans les cas d'obésité, il y a une surexpression de l'ARN_m du TNF- α dans le tissu adipeux chez les modèles de rongeurs dits génétiquement obèses ou chez les rongeurs dont l'obésité a été induite (Hotamisligil, 1993). Chez l'humain, il y a aussi une augmentation de la production de TNF- α dans le tissu adipeux (Kern, 1995). Il est un acteur important dans la résistance à l'insuline. Il est capable d'induire une résistance à l'insuline dans les adipocytes 3T3-L1 (Stephens, 1997). À ce jour, plusieurs mécanismes expliquent cette désensibilisation. Le TNF- α phosphoryle les sérines du récepteurs IRS-1 et il deviendrait un inhibiteur de la réponse insulinaire (Hotamisligil, 1996). Le TNF- α diminue aussi l'expression d'IRS-1 et des GLUT-4 (Stephens, 1997).

1.4.2 L'Interleukine 6

L'interleukine 6 est une cytokine pro-inflammatoire et anti-inflammatoire. Ses propriétés varient selon le type d'infection rapportée. Elle est aussi impliquée dans les maladies chroniques.

Entre l'IL-6 humaine et celle de la souris, il existe 42% d'homologie. L'IL-6 humaine est constituée de 184 acides aminés et son poids moléculaire peut varier entre 25 et 30 kDa. Chez la souris, l'IL-6 est constituée de 187 acides aminés et son poids moléculaire se situe entre 22 et 29 kDa. La variation des poids moléculaires est due aux nombreux sites de glycosylation de la protéine (Cavaillon, 1996).

L'IL-6 a aussi bien des propriétés pro-inflammatoires qu'anti-inflammatoires (Cavaillon, 1996). Chez les personnes obèses, le tissu adipeux augmente sa production d'IL-6. Cette hausse conduirait à une inflammation systémique et une résistance à l'insuline. Pour ces raisons, la communauté scientifique considère l'IL-6 provenant du tissu adipeux comme une adipokine pro-inflammatoire (Coppack, 2001, Fontana, 2007 et Mohamed-Ali, 1997). Toutefois, il y a très peu de littérature à propos du rôle de l'IL-6 sur le tissu adipeux. Néanmoins, l'action de l'IL-6 sur les macrophages en général a été fortement étudiée.

L'IL-6 peut accroître l'activité bactéricide des macrophages. Elle module l'expression des marqueurs membranaires de ces derniers. Elle induit l'expression des récepteurs de l'interleukine-4 (IL-4) à la surface des macrophages matures. L'IL-4 empêche la synthèse des cytokines pro-inflammatoires. L'IL-6 peut aussi réprimer la synthèse de TNF- α et de l'IL-1, il s'agirait alors d'une rétro inhibition afin de contrôler l'inflammation. Toutefois, il s'agit des rôles généraux de l'IL-6. L'action d'IL-6 sur les macrophages du tissu adipeux n'est pas encore connue. Cependant, quelques études rapportent une action au niveau des adipocytes (Aderka et *al.*, 1989).

L'IL-6 inhibe l'activité de la LPL chez les cellules 3T3-L1. Elle induit la lipolyse dans les adipocytes du tissu mammaire humain (Greenberg et *al.*, 1992; Path et *al.*, 2001). Une étude *in vivo* chez l'humain a montré que l'infusion d'IL-6 induit une augmentation des acides gras au niveau sanguin. Ces données suggèrent que l'IL-6 stimule l'oxydation des acides gras et de la lipolyse (Van et *al.*, 2003). De plus, les souris déficientes en IL-6 développent un surplus de poids dû à des anomalies dans l'oxydation des hydrates de carbones. Ces anomalies ne seront pas abordées dans ce mémoire puisque cela s'éloigne de l'immunologie (Wallenius et *al.*, 2002). Elle inhiberait aussi l'expression de l'ARNm de l'adiponectine chez les adipocytes 3T3-L1 (Fasshauer et *al.*, 2003).

Dans les cas d'obésité, la production d'IL-6 augmente dans le tissu adipeux (Mohamed Ali et *al.*, 1997; Bastard et *al.*, 2000; Vozarova et *al.*, 2001). Cette augmentation aggraverait le diabète du type II. Tout comme le TNF- α , l'IL-6 induit une résistance partielle à l'insuline chez les cellules 3T3-L1. Toutefois les mécanismes proposés qui induisent cette résistance divergent. Contrairement au TNF- α , l'IL-6 est incapable de phosphoryler l'IRS-1. Néanmoins, l'IL-6 diminue, tout comme le TNF- α , l'expression d'IRS-1 et des GLUT-4 (Rotter et *al.*, 2003; Lagathu et *al.*, 2003). En conséquence, l'IL-6 est classée comme une cytokine pro-inflammatoire.

1.4.3 La leptine

La leptine humaine est une hormone sécrétée principalement par les adipocytes. Puisque la leptine est sécrétée par les adipocytes matures, elle est utilisée comme marqueur afin de déterminer si les préadipocytes se sont différenciés en adipocytes. Elle est régulée en outre par le cycle circadien et l'alimentation (Pu et *al.*, 2000).

Cette hormone est constituée de 146 acides aminés et son poids moléculaire est de 16 kDa (Zhang et *al.*, 1997). En plus de jouer un rôle dans l'inhibition de l'appétit, la leptine s'est révélée comme un joueur important au niveau immunologique.

Elle stimule l'activation des macrophages en activant la réponse T_H1 des lymphocytes et promeut leur prolifération. Cependant la leptine est incapable de les activer seule, elle requiert un co-stimulant comme la Concanaline A (Martin-Romero et *al.*, 2000). Néanmoins, *in vivo* la leptine est essentielle à l'activation des lymphocytes T_H1 puisque les souris ou les humains déficients en leptine ont un niveau de lymphocytes T plus bas que la normale et une réponse T_H1 est diminuée (Lord et *al.*, 1998 et Farooqui et *al.*, 2002). Chez l'humain, cette immunosuppression a des conséquences sur la santé. Les sujets deviennent plus susceptibles aux infections répétées et le taux de mortalité juvénile est élevé (Ozata et *al.*, 1999). De plus, les patients développent une obésité en bas âge (Ozata et *al.*, 1999). Néanmoins, il a été démontré que l'injection de leptine recombinante peut rétablir les niveaux de lymphocytes T et un poids santé (Farooqui et *al.*, 2002; Farooqui et *al.*, 1998). De plus, la leptine a un impact direct sur les macrophages. La leptine stimule la phagocytose des macrophages provenant des alvéoles de reins (Mancuso et *al.*, 2002). Elle induit également la production de cytokines pro-inflammatoires tel que $TNF-\alpha$ et IL-6 des macrophages provenant du péritoine (Loffreda et *al.*, 1998). Elle stimule aussi la chimiotaxie et favorise l'adhésion des monocytes sanguins (Curat et *al.*, 2004). Toutefois, la leptine diminue la production d'IL-8 et de la cyclooxygénase-2 des macrophages provenant du tissu adipeux (Bourlier et *al.*, 2008). Finalement, la leptine joue de nombreux rôles dans les processus inflammatoires.

A notre connaissance, aucune littérature ne rapporte les effets immunologiques de la leptine au niveau de l'adipocyte et du préadipocyte. Par contre au niveau physiologique, la leptine stimule la lipolyse (Frühbeck et *al.*, 1997).

Dans les cas d'obésité, il y a une augmentation de la production de leptine. Cette augmentation est corrélée avec l'IMC. L'augmentation du taux de leptine sanguin est associée à des maladies telles que le diabète du type II, et l'arthrose (Terlain, 2005; Widjaja, 1997). De plus, les patients obèses développent une résistance à la leptine ce qui entraîne une augmentation de l'appétit. En résumé, la leptine est un facteur important dans l'activation des lymphocytes T_H1 cependant l'effet immunologique au niveau du tissu adipeux n'a pas été étudié.

1.4.4. L'Adiponectine

Chez l'humain l'adiponectine est une hormone sécrétée principalement par les adipocytes et elle est connue pour ses propriétés anti-inflammatoires. Tout comme la leptine, l'adiponectine est utilisée comme un marqueur de différenciation cellulaire.

Cette hormone composée de 244 acides aminés a un poids moléculaire de 28 kDa. L'adiponectine existe sous la forme d'un monomère, d'un dimère et d'un trimère. (Shapiro, L., Scherer, P.E., 1998)

Les effets immunologiques de l'adiponectine au niveau du tissu adipeux n'ont pas été étudiés mais ses propriétés anti-inflammatoires ont été démontrées. In vitro, elle inhibe les effets du $TNF-\alpha$ dans les cellules endothéliales vasculaires. Elle inhibe la prolifération des monocytes sanguins ainsi que la phagocytose de ces derniers. (Ouchi, 1999) Chez les leucocytes, l'adiponectine stimule la production d'IL-10 et d'IL-1R. (Wolf et *al.*, 2004.) Chez les macrophages de porc stimulés avec les LPS, elle inhibe la production de $TNF-\alpha$, d'IL-6 et induit la production d'IL-10 (Wulster-Radcliffe et *al.*, 2004).

Chez les personnes obèses, le niveau d'adiponectine diminue. Cette diminution est corrélée avec la diminution de la sensibilité de l'insuline. Une étude a démontré que l'adiponectine augmente l'entrée du glucose sanguin dans les cellules musculaires en augmentant la translocation des GLUT-4 (Ceddia, 2004). Cependant, ce mémoire ne s'attardera pas sur les mécanismes de la translocation des GLUT-4 puisque ce mémoire s'attarde plus sur les rôles immunologiques de l'adiponectine. Néanmoins, il faut garder à l'esprit qu'une diminution d'adiponectine chez les personnes obèses provoquerait une diminution de la translocation des GLUT-4 qui se traduirait par une augmentation du glucose sanguin. Le rôle de l'adiponectine ne se limiterait pas seulement à la translocation des GLUT-4. Les souris déficientes en adiponectine développent une résistance à l'insuline dans les cellules musculaires lorsqu'elles sont nourries avec un régime riche en lipides. Elles produisent aussi un taux anormalement élevé de TNF- α (Maeda, 2002). Il ne faut pas oublier que le TNF- α serait un des facteurs responsables de la résistance à l'insuline (Stepens, 1997). L'étude propose une régulation entre ces deux adipokines. L'adiponectine inhiberait le TNF- α . L'inhibition du TNF- α par l'adiponectine empêcherait le TNF- α d'agir sur les récepteurs insuliniques (Hostamisligil, 1996, Maeda, 2002). Chez les personnes obèses, l'inhibition de l'adiponectine par le TNF- α pourrait contribuer à la résistance à l'insuline.

1.4.5 L'Interleukine 10

L'IL-10 est une puissante cytokine anti-inflammatoire puisqu'elle protège d'un choc endotoxinique engendré par les LPS. Une injection de 1000 unités d'IL-10 permet la survie des souris injectées avec 500 μ g de LPS, une dose qui tue normalement 50% des animaux (Kuh *et al.*, 1993).

Chez la souris comme chez l'humain, l'IL-10 est constituée de 160 acides aminés toutefois l'homologie entre les deux protéines n'est de que 73%. Chez l'humain, le poids moléculaire de l'IL-10 est de 18 kDa tandis que chez la souris, son poids moléculaire peut-être de 17, 19 ou 21 kDa. La différence entre les poids moléculaire hétérogènes chez la souris s'explique par les 2 sites de glycosylation. Des embranchements de sucres peuvent se lier à la séquence

d'acides aminés. Ces embranchements peuvent faire varier le poids moléculaire (Cavaillon, 1996).

Le rôle de l'IL-10 au niveau du tissu adipeux n'est pas très bien défini. En revanche les actions de celle-ci au niveau des macrophages sont connues depuis une vingtaine d'années. L'IL-10 inhibe le fonctionnement des macrophages à divers degrés. Dans un premier temps, l'IL-10 agit directement sur le macrophage en inhibant sa capacité d'adhérence (Bodan et *al.*, 1991), en diminuant sa capacité de synthèse de cytokines pro-inflammatoires comme le TNF- α , l'IL-1 et l'IL-6 (Fiorentino et *al.*, 1991; Waal Melefyt et *al.*, 1991) et en inhibant la production de NO et de peroxyde d'hydrogène (Bogdan et *al.*, 1991; Gazzinelli et *al.*, 1991). Dans un deuxième temps, IL-10 inhibe l'activation classique des macrophages induits par les lymphocytes T_H1. L'IL-10 inhibe la capacité des macrophages à présenter l'anti-gène aux T_H1 conséquemment la synthèse de l'INF n'a pas lieu (Fiorentino et *al.*, 1991). D'après la littérature actuellement disponible, les effets de l'IL-10 sur les autres cellules du tissu adipeux n'ont pas été déterminés.

Dans les cas d'obésité, l'inflammation observée du tissu adipeux suggère une diminution de la production de l'IL-10. Toutefois, plusieurs études démontrent le contraire c'est-à-dire que le tissu adipeux produit de façon excessive l'IL-10 (Stissel et *al.*, 2007 ; Bourlier et *al.*, 2008; Zeyda et *al.*, 2007; Juge-Aubrey et *al.*, 2005).

Le tissu adipeux sous cutané des personnes souffrant d'obésité produit deux fois plus d'IL-10 que les personnes ayant un poids normal. Le même phénomène est observé chez les souris mâles C57BL/6 nourries avec un régime riche en lipides. Le tissu adipeux épididymaire des souris engraisées produit 4 fois plus d'IL-10 que les souris non engraisées (Juge-Aubrey et *al.*, 2005). L'hypothèse formulée pour expliquer cette hausse est la suivante : l'IL-10 est produite pour contrebalancer l'inflammation observée dans le tissu adipeux des personnes obèses (Stissel et *al.*, 2007 ; Bourlier et *al.*, 2008; Zeyda et *al.*, 2007). Il est intéressant de souligner que le TNF- α stimule la production d'IL-10 dans les explants de tissu adipeux sous cutanés humains (Juge-Aubrey et *al.*, 2005). On peut donc supposer que la hausse de TNF- α

dans le tissu adipeux observée chez les personnes obèses pourrait stimuler la production de l'IL-10. Aucune littérature à notre connaissance n'a vérifié cette hypothèse. Toutefois, un autre mécanisme qui explique la production d'IL-10 sera abordé un peu plus loin.

1.4.6 Le Transforming growth factor β 1

Le TGF- β 1 est un facteur de croissance. Chez l'humain le poids moléculaire du TGF- β 1 mature est de 25 kDa. La séquence d'acides aminés entre l'humain et la souris diverge seulement d'un acide aminé.

Au niveau du tissu adipeux, le TGF- β 1 inhibe la différenciation des préadipocytes (Torti et *al.*, 1989). L'effet immunologique de TGF- β 1 n'a pas été étudié au niveau du tissu adipeux. Par contre le TGF- β 1 est connu pour ses propriétés anti-inflammatoires. Les souris BALB/C déficientes en TGF- β 1 développent de nombreuses maladies auto-immunes et elles succombent toutes à leurs maladies environ 20 jours après leur naissance (Shull, 1992). Une de ces maladies est la "necroinflammatory liver disease" qui est causée par une suractivation des lymphocytes T_H1 . Une étude a permis de découvrir que le TGF- β 1 inhibe la prolifération cellulaire des T_H1 en inhibant la production de l'INF- γ des lymphocytes $CD4^+T$ (Rudner, 2003). Les cellules $CD4^+T$ sont essentielles à la réponse du type T_H1 (Lin, 2005). Malgré son pouvoir anti-inflammatoire, l'expression de TGF- β 1 dans le tissu adipeux est corrélée positivement avec l'IMC (Alessi, 2000). Cette augmentation serait induite par l'augmentation de l'expression de TNF- α dans le tissu adipeux puisque chez la souris C57BL/6, le TNF- α augmente la production de TGF- β 1 dans le tissu paramétrial (Samad et *al.*, 1997). Il serait donc intéressant d'investiguer le pouvoir immunologique de TGF- β 1 au niveau du tissu adipeux, ce qui n'est pas rapporté dans la littérature actuelle.

1.4.7 Prostaglandine E₂, Ciliary neurotrophic factor et VEGF

La PGE₂, le Ciliary neurotrophic factor et le VEGF ne sont pas reconnus pour leurs effets immunologiques au niveau du tissu adipeux. Par contre, ces protéines ont des propriétés intéressantes.

La PGE₂ est un dérivé de l'acide arachidonique. Son poids moléculaire est de 352 kDa. La PGE₂ est connue pour ces rôles physiologiques au niveau du tissu adipeux.

Au niveau du tissu adipeux, la PGE₂ (couplée principalement à une protéine G_i) inhibe la lipolyse, la différenciation des adipocytes et stimule la production de leptine (Madsen et *al.*, 2005; Fain et *al.*, 2000). Toutefois, PGE₂ ne semble pas un élément essentiel dans l'homéostasie d'un poids santé. Chez les souris déficientes en COX₂, la production de PGE₂ est inhibée entre 80% et 95% au niveau du tissu adipeux. Cette inhibition n'induit pas de surpoids chez la souris (Fain et *al.*, 2001). Même si PGE₂ ne semble pas jouer un rôle essentiel dans le maintien du poids, on constate une augmentation de PGE₂ au niveau sanguin chez les personnes obèses (Fain et *al.*, 2002). Aucune étude n'a identifié les tissus responsables de cette augmentation ni les conséquences de cette augmentation. Toutefois, l'étude de Fain rapporte une augmentation de la production de PGE₂ dans le tissu adipeux. Néanmoins aucune corrélation n'a été établie entre son augmentation sanguine et sa production par le tissu adipeux (Fain et *al.*, 2004). Il est intéressant de savoir que PGE₂ est un inhibiteur des lymphocytes T_H1 par l'inhibition de l'interleukine 12 (Chouaib, 1984). L'augmentation observée pourrait contribuer à diminuer l'inflammation mais aucune étude n'a vérifié ce lien.

Le Ciliary neurotrophic factor (CNTF) est une protéine constituée de 187 acides aminés dont le poids moléculaire est de 86 kDa (McDonald, 1995). Cette protéine est essentielle au maintien des cellules neuronales. Elle possède des fonctions et des propriétés similaires à l'IL-6. Aucune étude ne rapporte une production de cette protéine par le tissu adipeux. Toutefois, l'administration du CNTF à des souris ob/ob, à db/db (souris dont les récepteurs de la leptine sont non fonctionnels) et AKR/J nourries avec une diète riche en lipides réduit

l'adiposité et la prise alimentaire. Les 3 conclusions qui suivent ont été faites à partir de ces 3 modèles. Premièrement, l'inhibition de la faim dans le modèle ob/ob permet de conclure que l'inhibition n'a pas lieu par une surexpression de la leptine. Deuxièmement, la souris db/db possède un récepteur transmembranaire non fonctionnel (Chen, 1996; Lee, 1997). Donc, le CNTF ne peut activer la section transmembranaire du récepteur de la leptine. Finalement, la souris ARK développe une résistance à la leptine lorsqu'elle est nourrie avec un régime riche en lipides. L'injection de CNTF parvient à contrer l'effet de résistance de la leptine. Par conséquent, le CNTF est un agent anorexigène dont le mécanisme d'action diffère de la leptine (Gloaguen et *al.*, 1997). Des études sont en cours pour élucider les mécanismes de l'inhibition de l'appétit par le CNTF toutefois ce mémoire n'abordera pas cet aspect. Ce mémoire se consacre sur l'aspect immunologique du tissu adipeux. De plus, le CNTF inhibe la production de leptine (Ott et *al.*, 2004). Par ailleurs, le CNTF améliore la tolérance au glucose chez les souris diabétiques (Liu, 2007; Watt, 2006 et Sleeman, 2003). Plusieurs mécanismes sont proposés pour expliquer l'augmentation de la sensibilité. Un des mécanismes proposé est que l'augmentation de l'expression de IRS-1 induit par CNTF (Zvonic et *al.*, 2003). Il serait intéressant d'investiguer si le CNTF inhibe les adipokines pro-inflammatoires responsables du diabète de type II.

Le VEGF permet la formation de nouveaux vaisseaux sanguins lorsque les tissus ne sont plus irrigués suffisamment (Loureiro et D'Amore, 2005). Chez les personnes obèses, le tissu adipeux exprime de façon plus importante des marqueurs de l'hypoxie comme l'hypoxia inductible factor-1 α (HIF- α). L'augmentation de ces marqueurs indique que le tissu adipeux est en hypoxie (Hosogai et *al.*, 2007). Afin de rétablir l'apport d'oxygène, normalement le VEGF est surexprimé mais chez les personnes obèses, il y a une diminution du facteur VEGF (Pasarica et *al.*, 2009). Le VEGF doit être inhibé par des mécanismes inconnus et l'absence de formation de nouveaux vaisseaux sanguins maintiendrait le tissu adipeux en hypoxie chez les personnes obèses.

Les mécanismes qui mènent à ces changements au niveau du tissu adipeux sont nombreux.

1.5 Les mécanismes de l'inflammation du tissu adipeux

1.5.1 Infiltration des macrophages

Chez les personnes obèses, il y a une augmentation de la population de macrophages et cela contribue à l'inflammation (Weisberg *et al.*, 2003; Curat *et al.*, 2004). À ce jour, trois mécanismes expliquent l'augmentation des macrophages au niveau tissulaire : la mortalité cellulaire, l'hypoxie et l'augmentation des chemoattractants.

Comme énoncé préalablement les macrophages auraient pour fonction d'éliminer les cellules adipeuses mourantes. Cette théorie vient du fait qu'il y a un grand nombre de macrophages à la périphérie des adipocytes morts. L'étude du Dr. Strissel en 2007 a démontré qu'il y a une augmentation de la mortalité des adipocytes dans le tissu épидидymaire chez les souris mâles C57BL/6 nourries avec un régime riche en lipides. L'augmentation de la mortalité cellulaire s'expliquerait de deux façons. Dans un premier temps, les adipocytes ayant un diamètre élevé sont plus fragiles aux forces physiques (Monteiro *et al.*, 2006). Deuxièmement, l'augmentation de la production du TNF- α conduirait les cellules en apoptose (Prins *et al.*, 1997). L'augmentation des cellules mortes aurait pour effet d'attirer les macrophages afin d'éliminer les cellules mortes. Au cours de ce processus, il y a une augmentation de l'ARN_m des adipokines pro-inflammatoires (TNF- α , IL-6) dans le tissu épидидymaire. Ce phénomène ne semble toutefois pas perdurer. Au bout de 20 semaines d'un régime riche en lipides, la mortalité cellulaire diminue, de nouveaux adipocytes apparaissent et les ARN_m des adipokines pro-inflammatoires diminuent dans le tissu épидидymaire. Toutefois, la population de macrophages ne semble pas être affectée par ces changements mais d'autres mécanismes peuvent expliquer le maintien du nombre de macrophages (Strissel, 2007).

Deuxièmement, l'hypoxie retrouvée dans le tissu adipeux des personnes obèses expliquerait en partie l'augmentation de la population de macrophages (Hosogai *et al.*, 2007). L'hypoxie est connue pour induire l'attraction des macrophages dans les tumeurs solides et dans les

plaques d'athérome. Ces données suggèrent que l'hypoxie retrouvée au niveau du tissu adipeux stimule l'infiltration des macrophages (Poitou et Clément, 2007).

Troisièmement, chez les personnes obèses morbides, le tissu adipeux produit de façon plus importante les chemoattractants comme MCP-1 et de IL-18 et des facteurs de stimulation comme Colony Stimulating Factor (CSF-3). L'augmentation de chemoattractants favoriserait la migration des macrophages ou des monocytes vers le tissu adipeux (Canello et *al.*, 2005).

L'accroissement de la population des macrophages augmenterait la sécrétion d'adipokines pro-inflammatoires. De plus, les macrophages du tissu adipeux des sujets obèses (souris ou humain) produisent de façon plus importante des adipokines pro-inflammatoires. (Lumeng et *al.*, 2007; Bourlier et *al.*, 2008; Zeyda et *al.*, 2007). Toutefois, les mécanismes qui engendrent cette hausse fait l'objet d'un débat (Lumeng et *al.*, 2007; Bourlier et *al.*, 2008; Zeyda et *al.*, 2007).

L'équipe de Lumeng a étudié les macrophages (provenant du tissu épididymaire) de souris (mâles C57BL/6) engraisées à un régime riche en lipides de 45% pendant 20 semaines. Les macrophages provenant des souris engraisées expriment de façon plus importante des marqueurs de la voie classique comme le TNF- α et l'iNOS et moins de marqueurs de la voie alternative tel que l'IL-10. Ces données suggèrent que l'obésité entraîne l'activation des macrophages du tissu adipeux par la voie classique (Lumeng et *al.*, 2007). Toutefois, des études chez l'humain ont démontré que les macrophages du tissu adipeux provenant de sujets ayant un surpoids synthétisaient des marqueurs de la voie classique et de la voie alternative. Les études démontrent que la production de TNF- α , d'IL-6 et de MCP-1, d'IL-10, de TGF- β et de l'antagoniste du récepteur IL-1 des macrophages du tissu adipeux humain augmentent (Bourlier et *al.*, 2008; Zeyda et *al.*, 2007). Ces résultats permettent d'expliquer l'augmentation d'IL-10 observée dans le tissu adipeux humain (Juge-Aubry et *al.*, 2005). En résumé les macrophages du tissu adipeux expriment des marqueurs de la voie alternative et conservent leurs capacités à produire des cytokines pro-inflammatoires. Les résultats contradictoires entre la souris et l'humain pourraient s'expliquer par un métabolisme différent

des deux modèles (Bourlier et *al.*, 2008). Malgré cette différence, les deux types de macrophages ont une capacité supérieure à sécréter des adipokines pro-inflammatoires.

1.5.2 Les Adipocytes

Comme énoncé précédemment, les cellules adipeuses sont capables de synthétiser des adipokines pro-inflammatoires et anti-inflammatoires. La synthèse des adipokines est souvent en lien avec le diamètre cellulaire.

L'étude de Skurk publiée en 2007 a démontré que le métabolisme des adipocytes variait selon le diamètre cellulaire. Les adipocytes isolés du tissu adipeux sous cutané des patients obèses ont été divisées en 4 catégories : petites (diamètre moyen de 50 μm), moyennes (diamètre moyen de 80 μm), larges (diamètre moyen 90 μm) et très larges (diamètre moyen de 100 μm). Ils ont évalué la sécrétion et la synthèse des adipokines après 24h d'incubation. La production et la synthèse d'IL-6, de leptine et d'IL-8 augmentent proportionnellement avec le diamètre cellulaire. La production d'IL-6 et d'IL-18 est respectivement 12 fois et 3 fois plus importante chez les adipocytes ayant un très large diamètre comparativement à ceux qui ont un petit diamètre. Cependant, la production de TNF- α n'est pas proportionnelle au diamètre cellulaire. Toutefois, la production de TNF- α est 3 fois plus importante chez les adipocytes ayant un très large diamètre comparativement aux petits diamètres. Étrangement, la synthèse de l'adiponectine augmente proportionnellement au diamètre cellulaire même si la littérature rapporte une diminution d'adiponectine au niveau sanguin (Skurk, 2007). Les auteurs de l'étude expliquent la diminution de l'adiponectine *in vivo* par d'autres facteurs que le diamètre cellulaire. Chez les patients obèses, la production élevée de TNF- α pourrait inhiber l'adiponectine (Kern et *al.*, 2003). De plus, le tissu adipeux des personnes obèses est en état d'hypoxie. L'hypoxie inhibe la production de l'adiponectine (Hosogai et *al.*, 2007). Bref, d'autres mécanismes que le diamètre cellulaire peuvent expliquer la diminution d'adiponectine. Une autre adipokine qui serait régulée par le diamètre cellulaire est la leptine. L'étude de Guo a permis de découvrir que la production de leptine augmente elle aussi proportionnellement au diamètre cellulaire (Guo, 2004).

Dans le tissu adipeux des personnes obèses, les marqueurs de l'hypoxie augmentent comme HIF-1 (Hosogai et *al.*, 2007). Des études ont donc mis en culture des adipocytes en condition d'hypoxie afin de vérifier si cette variable régule la synthèse des adipokines. Il s'est révélé que l'hypoxie a un effet sur les adipocytes. La production de l'ARN_m de l'adiponectine diminue lorsque les adipocytes 3T3-L1 sont cultivés en hypoxie tandis que la quantité de l'ARN_m de la leptine et de VEGF augmente chez les adipocyte 3T3-F442A (Hosogai et *al.*, 2007; Lolmède, 2003). Cependant chez les sujets obèses, la production de VEGF dans le tissu adipeux diminue par rapport aux sujets ayant des poids normaux (Pasarica et *al.*, 2009). Donc, il doit y avoir des mécanismes dans les tissus adipeux humains qui diminuent la production du VEGF et qui ne peut être reproduit en culture. Néanmoins, l'hypoxie régule les adipocytes et l'hypoxie retrouvée chez l'humain pourrait avoir des conséquences sur le métabolisme adipeux.

1.5.3 Les préadipocytes

Puisque les préadipocytes peuvent être stimulés par les LPS et possèdent de nombreuses caractéristiques identiques aux macrophages, certaines études suggèrent que les préadipocytes pourraient participer à l'inflammation. Toutefois, aucune étude ne démontre leurs implications dans un contexte d'obésité puisqu'à ce jour aucune technique n'a été mise au point pour isoler les préadipocytes de la fraction stroma vasculaire. Il est à noter qu'il ne faut pas mélanger la fraction stroma vasculaire et la fraction préadipocytes. La fraction stroma vasculaire contient les préadipocytes, les macrophages et les monocytes (Bouloumié et *al.*, 2006). La fraction stroma vasculaire peut être isolée du tissu adipeux (Rodbell, 1964). Les macrophages peuvent être isolés de la fraction stroma vasculaire par cytométrie de flux (Bouloumié, 2008). Toutefois, aucune technique n'a été mise au point pour isoler les préadipocytes de la fraction stroma vasculaire. Malgré cette problématique des études *in vitro* ont démontré que les préadipocytes de la lignée cellulaire 3T3-L1 stimulés par les LPS produisent de façon plus importante de l'IL-6 que les adipocytes 3T3-L1 (Harkins et *al.*, 2004). Toujours chez les préadipocytes 3T3-L1, les LPS inhibent la différenciation des

préadipocytes en adipocytes. Les LPS stimulent la production de protéines pro-inflammatoire telles qu'IL-6 (Poulain-Godefroy et Froguel, 2007). Pour ces raisons, les chercheurs croient que les préadipocytes seraient eux aussi impliqués dans l'inflammation.

Finalement, les trois cellules: macrophages, adipocytes et préadipocytes, contribueraient à l'inflammation chez les personnes obèses. De plus, ces mécanismes agissent de façon synergique. In vitro, une culture mixte de macrophages (RAW-CM) et d'adipocytes (3T3-L1) a pour effet d'activer le facteur de transcription Nuclear Factor κ B (NF- κ B) chez les adipocytes (Permana et Reaven, 2005). NF- κ B est un facteur important dans l'activation des mécanismes de l'inflammation (Kayal et Berche, 2000). L'infiltration des macrophages dans le tissu adipeux aurait des conséquences sur le métabolisme des cellules adipeuses. De plus, les préadipocytes traités avec un milieu conditionné par des macrophages a pour effet de réduire l'adipogenèse, d'augmenter leur production de cytokines pro-inflammatoires et d'induire le facteur de transcription NF- κ B (Lacasa *al.* et 2007). En conclusion, les adipokines secrétées par les trois types de cellules ont des effets autocrines et paracrines qui résultent en une augmentation de la production d'adipokines pro-inflammatoires. En plus de ces mécanismes, la contribution des tissus adipeux varierait selon leur localisation.

1.6 Localisation des tissus adipeux

Chez l'humain, les tissus adipeux sous cutané et viscéral sont fortement étudiés (Lafontan, 2003). Comme son nom l'indique, le tissu adipeux sous cutané se retrouve sous la peau et s'accumule tout particulièrement au niveau de la région glutéo-fémorale (Lafontan, 2003). Quant à lui, le tissu viscéral se subdivise en deux catégories, il y a le tissu adipeux omental et le rétropéritonéal. Le tissu adipeux omental enrobe les viscères tandis que le tissu rétropéritonéal se retrouve dans les cavités délimitées par le péritoine (Marin et *al.*, 1992). Ces deux types de dépôts sont fortement étudiés puisqu'ils sont facilement accessibles. Le tissu adipeux viscéral est souvent récupéré chez les patients obèses lors d'une chirurgie gastrique. Quant au tissu adipeux sous cutané, il peut être récupéré suite à une biopsie. Les autres catégories de tissus adipeux comme ceux qui entourent les organes génitaux et les

reins sont difficilement accessibles. Conséquemment, il n'existe pas à notre connaissance d'études qui ont porté sur ces catégories de tissus dans des contextes d'obésité. Par contre, chez les rongeurs les tissus qui entourent les organes génitaux sont fortement étudiés. Chez la femelle le tissu adipeux qui entoure les organes génitaux se nomme paramétrial et chez le mâle épидидymaire (Lemonner, 1971). Il est à noter que le tissu adipeux qui entoure les organes les viscères chez les rongeurs se nomme le tissu adipeux mésentérique.

Chez l'humain, le tissu adipeux sous cutané et omental présente des caractéristiques distinctes. D'abord, les adipocytes du tissu sous cutané sont environ 24 % plus gros que les adipocytes du tissu omental (Reynisdottir et al., 1997). Deuxièmement, le pouvoir lipolytique du tissu omental est plus accru comparativement au tissu sous cutané puisque que le tissu omental est plus sensible à la stimulation par des catécholamines. Le tissu omental possède un nombre supérieur de récepteurs aux catécholamines (Ostman, 1979, Arner, 1995). Par contre à l'état basal, le tissu sous cutané est plus lipolytique que le tissu omental (Reynisdottir et al., 1997). Par ailleurs, les adipocytes sous cutanés ont beaucoup plus de récepteurs insuliniques et l'insuline est un inhibiteur de la lipolyse (Arner, 1995).

De plus, le tissu adipeux s'accumule différemment selon le sexe des individus. Chez l'homme, le tissu omental constitue environ 20% de la masse adipeuse tandis que chez la femme ce tissu ne constitue qu'environ 5 à 8 % de la masse adipeuse (Montague, 1998). Chez la femme, le tissu adipeux sous cutané est plus abondant. Cette différence entre la répartition des graisses se répercute sur le type d'engraissement. Les hommes souffrent d'avantage d'obésité androïde qui se caractérise par une accumulation de graisse au niveau du tissu omental et d'un tour de taille élevé, tandis que la femme souffre d'avantage d'obésité dite gynoïde qui se caractérise par une accumulation du tissu adipeux glutéo-fémorale. L'obésité de type androïde joue un rôle important dans le développement des maladies associées au symptôme métabolique contrairement à l'obésité gynoïde (Després et al., 2001; Vague, 1947). Fait intéressant, le tour de taille s'est révélé un indicateur très efficace pour déterminer les patients à risque de développer des maladies associées à l'obésité. Il serait même plus précis que l'IMC parce que ce dernier ne tient pas compte de la localisation des masses adipeuses. La différence entre les deux types s'explique en partie par

leurs pouvoirs endocriniens respectifs. Le tissu adipeux omental secrète plus fortement des adipokines pro-inflammatoires dans un contexte d'obésité.

Chez les personnes ayant un poids santé, il y a très peu de différence entre le profil des adipokines des tissus sous cutané et omental à l'exception de la leptine et de l'IL-6. La leptine est exprimée plus fortement dans le tissu sous cutané et l'IL-6 est secrétée plus fortement dans le tissu omental (Montague et *al.*, 1998; Fried et *al.*, 1998). Par contre le pouvoir endocrinien du tissu omental augmente chez les personnes obèses. Il produit de façon plus importante le VEGF, l'IL-6 et le PGE2 comparativement au tissu sous cutané. (Fain et *al.*, 2004) De plus, L'IL-6 produite par le tissu omental est relarguée dans le foie. Une fois dans le foie, l'IL-6 stimule la production de la protéine C réactive. La protéine C réactive contribue à l'augmentation de l'inflammation systémique (Fontana et *al.*, 2007). De plus, la diminution de la production d'adiponectine est plus marquée au niveau du tissu omental comparativement au sous cutané. Cette diminution au niveau du tissu omental est corrélée avec l'IMC. Pour la leptine, le TNF- α et l'IL-10, la contribution des tissus serait équivalente (Fain et *al.*, 2004, Van Harmelen et *al.*, 1998). Par contre chez les rats Wistar fatty mâles engraisés, la leptine est beaucoup plus exprimée dans le tissu mésentérique que le sous cutané. Chez la souris C57BL/6 mâle engraisée, le tissu mésentérique produit beaucoup plus de MCP-1 que le tissu adipeux sous cutané, rénal et épидидymaire. De plus, la quantité de macrophages est plus importante au niveau du mésentérique (Yu et *al.*, 2006).

Finalement, le tissu adipeux omental ou mésentérique contribuerait plus fortement à l'inflammation que le tissu sous cutané. Toutefois, il y a une problématique importante, la majorité des études fondamentales ont été faites chez des souris mâles. Il s'est révélé que chez l'humain, les femmes et les hommes ne développaient pas la même forme d'obésité. Il serait donc intéressant de vérifier si les souris femelles développent un engraissement similaire à celle des mâles.

1.7 La génétique et l'obésité

Les causes de l'obésité sont multifactorielles. Une de ces causes est génétique. Par contre, les mutations monogéniques qui conduisent à l'obésité sont plutôt rares chez l'humain. Une des problématiques actuelles est que la majorité des recherches qui étudient le tissu adipeux, l'obésité ou les maladies associées à l'obésité se font sur des animaux ayant une mutation monogénique. Malheureusement, ces mutations ne représenteraient qu'une mince couche de la population (Arner, 2000). Par exemple, la souris ob/ob est couramment employée dans les études portant sur l'obésité en dépit du fait qu'une déficience de leptine est rarement rencontrée chez les patients souffrant d'obésité. De plus, la leptine joue un rôle pro-inflammatoire et elle augmente chez les patients obèses. Pour toutes ces raisons, cette souris n'est pas représentative de la situation humaine. Néanmoins la génétique est un facteur important dans l'obésité puisque des mutations génétiques favorisent l'engraissement.

De nombreuses études ont été menées chez l'humain afin de démontrer que certains polymorphismes prédisposent à l'obésité. Certaines mutations entraînent une diminution de la sensibilité de la HSL aux catécholamines. D'autres causent une suractivation des PPAR γ -2 (facteur de la différenciation des adipocytes) ce qui induit une différenciation accélérée des adipocytes (Magré et *al.*, 1998; Arner, 1998; Schoonjans et *al.*, 1997). Des mutations au niveau du gène promoteur du TNF- α sont associées à l'obésité (Férendez-Real et *al.*, 1997; Herrmann et *al.*, 1998). Chez la souris, l'étude de West a démontré que les souches de souris répondaient différemment à une nourriture riche en lipides. Sur les 9 souches (AKR/J, C57L/J, A/J, C3H/HeJ, DBA/2J, C57BL/6J, SJL/J, I/STN, et SWR/J) testées, 6 développaient un surpoids dû à l'expansion du tissu adipeux (AKR/J, C57L/J, A/J, C3H/HeJ, DBA/2J, and C57BL/6J). Les autres souches sont considérées résistantes à l'engraissement (SJL/J, I/STN et SWR/J) par une nourriture riche en lipides (West et *al.*, 1993).

Malgré cette étude, aucune étude n'a vérifié à notre connaissance si la sécrétion d'adipokines est affectée par les variations génétiques.

1.8 Souris

En résumé, le sexe et le bagage génétique sont deux facteurs importants dans le développement du surpoids et des maladies qui lui sont associées. L'hypothèse suivante a été émise : le bagage génétique influence la sécrétion d'adipokines selon la localisation des tissus adipeux. En se basant sur l'étude de West les souches C57BL/6 (B6) et Swiss Jim Lambert (SJL) ont été choisies.

Ces deux souris proviennent de lignées différentes. La souris B6 provient de la lignée de Miss Aby Lathrop, tandis que la souris SJL provient de 3 lignées de Swiss-Webster. Ces souris répondent différemment à la nourriture riche en lipides. Les souris C57BL/6 mâles engraisent lorsqu'elles sont nourries avec un régime riche en lipides et elles sont souvent utilisées dans les recherches sur l'obésité. La souris SJL est dite résistance à une alimentation à haute teneur en lipides (HTL) (West et *al.*, 1993). La recherche ne permet pas de déterminer les facteurs génétiques qui sont à l'origine de différentes réponses. Toutefois, les souches B6 et SJL répondent différemment aux infections. La souris SJL est sujette à des maladies auto-immunes dues à des anomalies des suppresseurs qui participent à la tolérance (Amagai et Cinader, 1981; Vladutiu et Rose, 1971; Brown et McFarlin, 1981). De plus, la réponse de type T_H1 est plus importante chez la souris SJL que la souris B6 lors d'une infection. Cette réponse T_H1 excessive serait due à une production élevée d'IL-12 lorsque les macrophages sont stimulés par les LPS (Alleva, 2001).

1.9 Hypothèses

La variation génétique entre les souris a permis de formuler 3 hypothèses.

Premièrement, la localisation des tissus adipeux n'influence pas la production d'adipokines chez les animaux sains en se basant sur l'étude de Montague (Montague, 1998)

Deuxièmement, puisque les macrophages de la souris SJL produisent de façon excessive la cytokine pro-inflammatoire IL-12 lorsque ces derniers sont activés par les LPS, la souris SJL devrait avoir un profil d'adipokines davantage pro-inflammatoires que la souris B6 (Alleva, 2001).

Troisièmement, toutes les études présentées ont démontré que l'engraissement engendrait une variation dans le profil d'adipokines. Puisque la souris SJL n'engraisse pas lorsqu'elle est nourrie avec un régime HTL, il ne devrait pas y avoir de changements dans le métabolisme du tissu adipeux. Cependant, le profil d'adipokines de la nourriture B6 doit être affecté par la nourriture HTL puisque cette dernière n'est pas résistante à la nourriture (West, 1993). Par contre chez B6, le tissu mésentérique devrait réagir à la nourriture HTL. Le tissu adipeux devrait produire des adipokines pro inflammatoire (Fain et *al*, 2004).

CHAPITRE 2

MÉTHODOLOGIE

2.1 Souris

Tous les protocoles ont été approuvés par le Comité institutionnel de protection des animaux de l'UQAM (CIPA) et les soins portés aux animaux ont été faits selon les directives émises par Conseil canadien de protection des animaux (CCPA). Le cycle jour/nuit était de 14h/10h et la température de la pièce était de 22-25°C.

2.1.1 Souris utilisées pour comparer les profils d'adipokines du PARA

La première étude de ce mémoire est une étude comparative du profil d'adipokines du tissu PARA entre les souris C57BL/6 (B6) et Swiss Jim Lambert (SJL). Les adipokines ont été dosées par LUMINEX.

Les souris B6 (Charles River, Saint-Constant, Québec, Canada) et SJL (Jackson Laboratory, Bar Harbor, Maine, États-Unis) âgées de 6 semaines ont été placées 4 par cages. Les souris ont été nourries avec un régime contenant 5% de lipides (5079, Charles River, Saint-Constant, Québec, Canada). Elles avaient accès en tout temps à la nourriture et l'eau. Elles ont été sacrifiées à l'âge de 12 semaines dans une cloche de verre saturée en monoxyde de carbone.

2.2.2 Souris témoins

La deuxième étude de ce mémoire est une étude comparative du profil d'adipokines des tissus ING, MES et PARA chez les souches B6 et SJL. Elle permet de comparer les différents tissus entre les 2 souches.

Les souris B6 et les souris SJL femelles âgées de 6 semaines ont été placées respectivement 2 et 3 par cage. Dix souris B6 et 13 souris SJL ont reçu une nourriture témoin dont 10% de l'apport calorifique provenait des lipides (D1250B, Research diets inc., New Brunswick, New Jersey, USA) pendant 12 semaines. Les souris avaient accès à la nourriture et à l'eau en tout temps.

2.2.3 Souris nourries avec un régime riche en lipides

La troisième étude comparait le profil d'adipokines des tissus ING, MES et PARA lorsque les souris sont nourries avec un régime riche en lipides. Les souris ayant reçu un régime dont 10% de l'apport calorifique provenait des lipides ont été utilisées comme groupe témoin.

Dix B6 et 13 SJL ont été nourries avec un régime enrichi de 45% de lipides (D12451, Research diets inc., New Brunswick, New Jersey, USA) pendant 12 semaines. Elles avaient accès à la nourriture et à l'eau en tout temps.

Pour les groupes témoin et HTL, le poids des souris, la nourriture consommée et la glycémie ont été mesurés à chaque semaine. La glycémie a été mesurée avec l'indicateur de glycémie Contour® chez les souris à jeun pendant 3h. Une ponction au niveau de la queue a permis de récupérer une gouttelette de sang.

Les souris témoin et les souris HTL ont été anesthésiées avec un mélange 50/50 de xylamine (50 mg/mL) et de kétamine (100 mg/mL) (Ayerst) et sacrifiées par ponction cardiaque. La

ponction a été nécessaire afin de récupérer le sang et afin de doser les adipokines contenues dans le sérum.

2.2 Homogénéisation des tissus adipeux

Immédiatement après le sacrifice des animaux, les tissus adipeux (ING, MES et PARA) ont été prélevés et homogénéisés avec l'aide d'un potter broyeur verre/verre dans un tampon d'homogénéisation (1mM EDTA, 0.25 M de sucrose, tampon phosphate salin (0.17 M NaCl, 3.3 mM KCl, 10 mM de Na₂HPO₄ et 1.8 mM de KH₂PO₄), pH=7.2-7.4). Les tissus ont été centrifugés 10 minutes à 13 000 RPM. L'interphase a été prélevée et conservée à -20°C et ensuite à -80 °C permettant de congeler progressivement les échantillons.

2.3 Dosages des adipokines par LUMINEX

Le TNF- α , l'IL-6, la leptine, le MCP-1, l'IL-10, l'adiponectine, le TGF- β , le CNTF, et le VEGF contenus dans le tissu PARA homogénéisé des souris B6 et SJL ont été dosées par LUMINEX. La firme Pierce Biotechnology (Woburn, Massachusetts, États-Unis) a dosé les échantillons.

La technologie du LUMINEX permet de doser plusieurs protéines dans un même échantillon. L'échantillon est incubé avec plusieurs sondes protéiniques (oligonucléotides, peptides ou anti-corps). Chaque sonde est couplée à une microsphère fluorescente qui émet à des longueurs d'ondes spécifiques lorsque les microsphères sont excitées au laser. La fluorescence émise est analysée par cytométrie de flux.

2.4 Dosages des Adipokines par ELISA et dosages des protéines

L'IL-6, le TNF- α et l'IL-10 ont été dosés par dosage d'immunoabsorption liée à une enzyme (ELISA) OptEIA (Pharmingen, Toronto, Ontario, Canada). La leptine et toutes l'adiponectine ont été dosées par des trousse ELISA M-kit (R& D, Hornby, Ontario, Canada) alors que le TGF- β a été dosé par des trousse ELISA EBiosciences. Les protéines ont été dosées par le kit DC protein Assay (BioRad). La trousse ELISA de l'adiponectine mesurait toutes les formes d'adiponectine. Tous les dosages ont été faits selon les protocoles du manufacturier.

2.5 Extraction des lipides du foie

Les lipides du foie ont été isolés par la technique de Folch publiée en 1957. Suite à l'euthanasie, une partie du foie a été récupérée et pesée. Le foie a été transféré dans une solution contenant 10 mL de chloroforme et 5 mL de méthanol. Après 72h, 5 mL d'eau distillée ont été ajoutés à la solution chloroforme méthanol. Après 15 min., la fraction méthanol et eau a été enlever par aspiration. Le foie a été récupéré et transférer dans une vial. Quatre mL de la fraction chloroforme ont été transférés dans un flacon préalablement pesé et cela a été fait en duplicata. Les flacons ont été asséchés à l'air libre sous une hotte. Les flacons ont été repesés afin de déterminer la quantité de lipides de l'échantillon.

2.6 Isolation des adipocytes et de la fraction stroma vasculaire

Les tissus adipeux (ING, MES et PARA) ont été digérés dans une solution de 5 mL de tampon Krebs (pH=7,4) saturé en O₂ contenant 2mg/mL de collagénase (Sigma-Aldrich). Le tampon Krebs est un tampon physiologique contenant 4.5% de chlorure de sodium, 5.75%, de chlorure de potassium, 6.10% de chlorure de calcium, 10.55% de phosphate mono-potassique, 19.10% de sulfate de magnésium, 0.05% de glucose, 1.30% de bicarbonate de sodium et 4% d'albumine sérique de type II délipidié. La collagénase est une enzyme qui détruit les fibres de collagène responsables du maintien du tissu. Elle n'affecte pas l'intégrité

des cellules jusqu'à la concurrence d'un certain temps. Les digestions ont été faites dans un bain marie à 37°C sous agitation à 100 RPM pendant 20 min. pour le MES, 30 min. le PARA et 30 min. l'ING.

Les tissus ont été filtrés avec une membrane de nylon de 200 µm. Le sous nageant a été prélevé (fraction stroma vasculaire) et le surnageant (fraction adipocyte) a été lavé 3 fois avec 5 mL de tampon Krebs. À chaque lavage, le sous nageant a été prélevé et transféré avec la fraction stroma vasculaire. La fraction d'adipocyte a été resuspendue dans 14 mL de Krebs. Pour la fraction stroma vasculaire, 10 mL de Krebs ont été ajoutés pour inhiber l'effet de la collagénase. La fraction stroma vasculaire a été centrifugée 10 min. à 400 g et le culot a été resuspendu dans 14 mL de Krebs.

2.7 Cytométrie de flux

2.7.1 Marquage au Rouge de Nil

Les adipocytes ont été marqués par le rouge de Nil. La fraction stroma vasculaire et les adipocytes ont été recombinaés dans du Krebs pour obtenir un volume final de 5 mL. Des volumes de 100 µL de tampon phosphate salin ont été ajoutés à 100 µL du mélange adipocytes-fraction stroma vasculaire. Le marqueur Rouge de Nil a été ajouté pour obtenir une concentration finale de 0.25 µg/mL. Les échantillons ont été incubés à la température de la pièce pendant 20 min. et les cellules ont été analysées par cytométrie de flux.

2.7.2 Marque de F4/80

Les macrophages ont été marqués avec le F4/80. Le mélange adipocyte/stroma vasculaire a été centrifugé 10 min. à 400 g. Le culot a été resuspendu (fraction stroma vasculaire) dans le tampon Krebs pour obtenir un volume final de 5 mL. Des volumes de 200 µL ont été

prélevés de la fraction stroma vasculaire et 500 μL de tampon phosphate saline a été ajouté. Le marqueur F4/80 (Sigma) a été ajouté pour obtenir une concentration finale de 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Les cellules ont été incubées à la température de 37°C pendant 20 min et recentrifugées 1min. à 13 000 RPM. Le culot a été resuspendu dans 300 μL de tampon phosphate salin. Les cellules ont été analysées par cytométrie de flux.

2.8 Diamètres cellulaires

Un volume de 200 μL de bleu de trypan (Sigma-Aldrich) dissous dans une solution saline a été ajouté à 200 μL à la suspension d'adipocytes afin de colorer les membranes cellulaires. Le diamètre cellulaire a été mesuré avec l'aide d'un microscope optique (Leitz Wetzlar Germany) doté d'un oculaire gradué. Pour chaque tissu, une centaine de cellules ont été mesurées.

2.9 Statistiques

Des tests « F » d'« ANOVA à mesures répétées ou tests » « ANOVA à deux facteurs » ont été utilisés pour analyser les variances selon le modèle expérimental. Ensuite, les tests de « Student » ou de comparaisons multiples de moyennes ont été effectués pour comparer les moyennes toujours selon le modèle expérimental. Dans les légendes des graphiques ou des tableaux, les tests utilisés sont indiqués. Voici brièvement la description des situations.

L'utilisation du test «F» et du test de «student» ont servi à comparer deux moyennes. Des tests de «students pairés» ont été utilisés pour comparer deux moyennes provenant du même groupe de souris, sinon des tests de «students non pairés» ont été choisis. Des «ANOVA pour mesures répétées» suivies d'un «Bonferonni» ont été utilisées pour comparer des moyennes des échantillons provenant d'une même groupe de souris. Des «ANOVA à deux facteurs» suivies d'un «Bonferonni» ont été utilisés pour comparer les moyennes entre deux groupes de souris.

Les analyses ont été faites avec le logiciel Excel ou Prism. Les données moyennes sont présentées avec l'erreur type de variation (SEM) ou l'écart type (SD).

CHAPITRE 3

RÉSULTATS

Le chapitre des résultats se divise en 4 sections. La première étude permet de caractériser le profil d'adipokines du tissu PARA des souches B6 et SJL. La deuxième étude caractérise le profil d'adipokines des tissus ING, MES et PARA pour chacune des souches. La troisième partie compare les profils d'adipokines des souches B6 et SJL. La quatrième étude compare l'effet d'une alimentation riche en lipides des souches B6 et SJL.

3.1 Caractérisation des profils d'adipokines du tissu PARA de B6 et SJL

3.1.1 Les profils d'adipokines du tissu paramétrial

La première étude de ce mémoire permet de caractériser le profil d'adipokines du tissu PARA des souches B6 et SJL. Neuf adipokines ont été dosées par LUMINEX soit le TNF- α , l'IL-6, la leptine, MCP-1, TGF- β 1, IL-10, l'adiponectine, VEGF et CNTF. Ces adipokines ont été choisies puisque leur régulation est affectée dans un contexte d'obésité. Cette étude a permis de déterminer quels sont les adipokines les plus retrouvées dans le tissu adipeux PARA de chacune des souches de souris.

Les profils d'adipokines du tissu PARA des souches B6 et SJL sont présentés à la figure 3.1. La seule adipokine qui se distingue significativement des autres est l'adiponectine aussi bien chez B6 que chez SJL. Chez B6, la quantité d'adiponectine dans le tissu adipeux est

respectivement 5000X, 1000X, 500X, 12 500X, 2 500X, 2 000X, 4000X et 8 000X plus élevée par rapport à TNF- α , IL-6, leptine, MCP-1, IL-10, TGF- β 1, VEGF et CNTF ($p \leq 0.001$). Chez SJL, la quantité d'adiponectine dans le tissu adipeux est respectivement 1 500X, 1 000X, 50X, 12 500X, 1 400X, 1 000X, 9 000X et 5 000X plus élevée par rapport à TNF- α , IL-6, leptine, MCP-1, IL-10, TGF- β 1, VEGF et CNTF ($p \leq 0.001$).

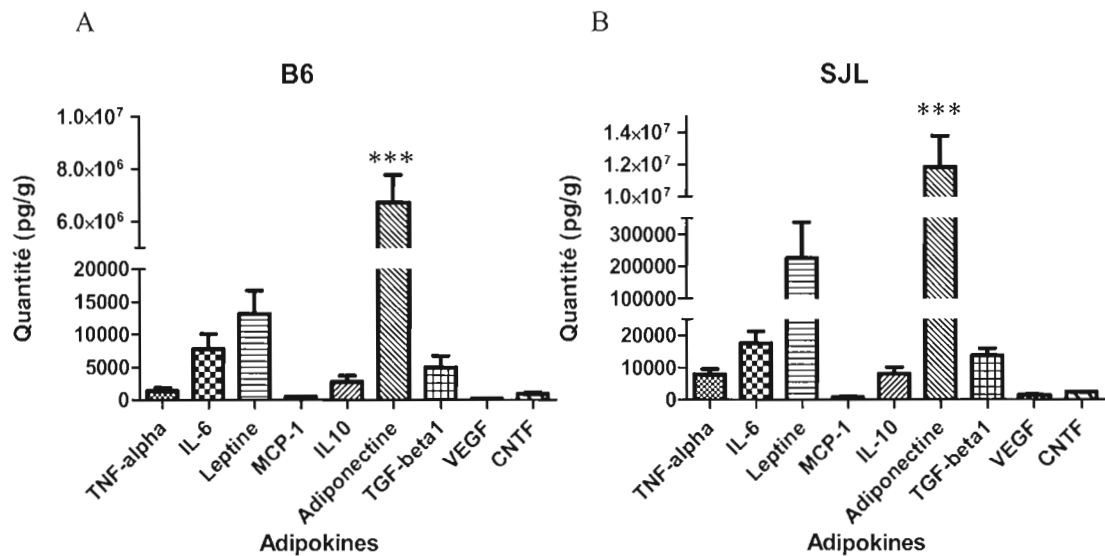


Figure 3.1 : Profil d'Adipokines du tissu adipeux PARA des souches B6 et SJL. Le tissu adipeux PARA des souris B6 et SJL a été homogénéisé. Les adipokines ont été dosées par LUMINEX. Les données sont rapportées par gramme de tissu. A) B6 n=5 B) SJL n=5 Les moyennes sont présentées avec l'erreur type. Un « ANOVA à mesures répétées » suivie d'un « Bonferonni » ont servi à analyser les données. *** $p \leq 0,001$

3.1.2 Comparaison des quantités relatives des adipokines entre B6 et SJL dans le tissu PARA

Tel que rapporté à la figure 3.2, les diamètres des adipocytes du PARA de la souris B6 sont 1.7 fois plus élevés que ceux de SJL. Ainsi, pour un même gramme de tissu, la souris SJL contient théoriquement plus de cellules que B6. Les adipokines rapportées par gramme de tissu nuisent donc dans la comparaison des quantités d'adipokines entre les souches B6 et SJL. Pour éliminer ce biais, chaque adipokine a été rapportée par rapport aux autres adipokines tel que présenté au tableau 3.1. Les rapports de chaque souris ont été comparés. Parmi les 9 adipokines, seulement 2 adipokines ont des rapports significativement différents entre les souches B6 et SJL soit le TNF- α et le VEGF.

Chez la souris SJL, les ratios TNF- α /IL-6, TNF- α /MCP-1, TNF- α /IL-10, TNF- α /TGF- β 1 et TNF- α /CNTF sont respectivement 2.5 X ($p \leq 0.001$), 3 X ($p \leq 0.001$), 2 X ($p \leq 0.01$), 2 X ($p \leq 0.05$) et 1.5 X ($p \leq 0.05$) plus élevés que ceux de B6.

Chez SJL les rapports VEGF/IL-6, VEGF/MCP-1, VEGF/IL-10, VEGF/TGF- β 1 et VEGF/CNTF sont respectivement 2.5 X ($p \leq 0.01$), 3 X ($p \leq 0.05$), 2 X ($p \leq 0.05$), 2 X ($p \leq 0.01$) et 2 ($p \leq 0.05$) fois plus élevés que ceux de B6. Les données suggèrent que la quantité de TNF- α et de VEGF est de façon relative plus élevée chez la souche SJL que chez B6.

De plus, le rapport IL-6/IL-10 est 1.5 X ($p \leq 0.05$) plus élevé chez B6 que chez SJL.

À partir de la première étude, 5 adipokines ont été sélectionnées afin de caractériser le profil d'adipokines du tissu ING, MES et PARA. L'adiponectine a été choisie pour son importance physiologique et aussi parce qu'elle est fortement présente par rapport aux autres adipokines. Le TNF- α a été choisi puisque sa quantité relative est plus importante par rapport aux autres adipokines chez la souche SJL. Cette adipokine est associée à de nombreux problèmes de santé. L'IL-6, la leptine, l'IL-10, et le TGF- β 1 ont été sélectionnées puisque leurs régulations sont affectées par l'obésité. Dans cette seconde partie de nos recherches, l'effet de l'expression par gramme de tissu, présenté précédemment a été évité en rapportant les

données par quantités de protéines et pour ainsi contrer l'effet des diamètres cellulaires et éviter de travailler avec des ratios.

Il est à noter que les souris de cette deuxième partie ont été nourries avec une nourriture standard contenant 10% de lipides comparativement aux souris de l'expérience précédente où les souris étaient nourries avec un régime contenant 5% de lipides.

Dénominateur \ Numérateur	TNF-alpha		IL-6		Leptine		MCP-1		IL-10		Adiponectine		TGF-b1		VEGF							
	B6	SJL	B6	SJL	B6	SJL	B6	SJL	B6	SJL	B6	SJL	B6	SJL	B6	SJL						
IL-6	0,2±0,06	0,5±0,1	***																			
Leptine	0,1±0,06	0,1±0,1		1E-3±7E-4	0,2±0,2																	
MCP-1	3±2	9±1,5	***	15±5	20±3	25±10	250±220															
IL-10	0,5±0,2	1±0,2	**	3±0,6	2±0,2	5±2	30±25	0,2±0,1	0,1±0,02													
Adiponectine	2E-4±1E-4	7E-4±7E-4		1E-3±7E-4	1E-3±8E-4	2E-3±1E-3	2E-2±2E-2	8E-5±5E-5	8E-5±3E-5	4E-4±3E-4	7E-4±4E-4											
TGF-b1	0,3±0,06	0,7±0,4	*	1,6±0,6	1,0±0,7	3±2	20±26	0,1±0,06	0,1±0,03	0,6±0,3	0,7±0,4	2000±1000	1000±600									
VEGF	5±1	5,5±1		30±8	12±2	**	60±30	140±130	2±1	0,6±0,1	*	11±5	5±1	*	4000±1000	9000±4000	20±2	10±4	**			
CNTF	2±0,8	3±1	*	10±6	7±2		20±15	100±100	0,7±0,5	0,4±0,07		3,5±2,5	3±1		8000±2000	5000±2000	6±2	6±2		0,3±0,1	0,61±0,1	*

Tableau 3.1 : Ratios des adipokines contenu dans le tissu PARA. Le tissu PARA des souris SJL et B6 a été homogénéisé. Les adipokines ont été dosées par LUMINEX. Les ratios ont été faits pour comparer les niveaux de production des adipokines des souris B6 (n=5) et SJL (n=5). Les moyennes sont présentées avec les SD. Un test « F » suivi d'un test de « student » ont servi à analyser les données. * p≤ 0,05, ** p ≤ 0,01 et *** p ≤ 0,01

3.2 Caractérisation des tissus ING, MES et PARA des souches B6 et SJL

3.2.1 Population cellulaire des tissus ING, MES et PARA

Chez B6, le pourcentage de macrophages de la fraction stroma vasculaire est semblable entre les tissus ING, MES et PARA. (Figure 3.3 A)

Chez SJL, le pourcentage de macrophages ne varie pas entre les tissus ING, MES et PARA (Figure 3.3 B). Toutefois, l'écart type de la moyenne des pourcentages des macrophages contenus dans le tissu PARA est élevé (10% + 9 %). Cet écart type élevé s'explique par une population inégale de macrophages entre les souris. Pour 6 souris, la population de macrophages est inférieure à 5% dans le tissu PARA. Pour 4 autres souris, la population de macrophages varie entre 11 et 26 %. Ces résultats suggèrent la présence de sous populations. Une étude de plus grande envergure serait nécessaire afin de clarifier ces résultats.

Chez B6, le pourcentage d'adipocytes est le même pour les tissus ING, MES et PARA. (Figure 3.3 C) Par contre, les différences de diamètres cellulaires entre les trois tissus sont significatives. (PARA : 90 μm > ING : 74 μm > MES : 59 μm). Se référer à la figure 3.2 A pour les degrés de significations (p). Ces données suggèrent que les tissus adipeux ont des potentiels d'emménagement de lipides similaires puisque le nombre d'adipocyte ne varie pas entre les tissus. Toutefois, le tissu adipeux PARA semble emmagasiner plus les lipides par cellules que les autres tissus.

Chez SJL, le pourcentage d'adipocytes est le même entre les tissus ING, MES et PARA (Figure 3.3 D) Pour la souris SJL, les diamètres des adipocytes entre le PARA et le MES sont significativement différent avec un $p \leq 0.05$ (PARA : 55 μm > MES : 33 μm) (Figure 3.2 B). Donc, le tissu PARA et MES ont le même potentiel pour emmagasiner les lipides mais il semble que les cellules du tissu PARA aient une plus forte capacité à emmagasiner des lipides.

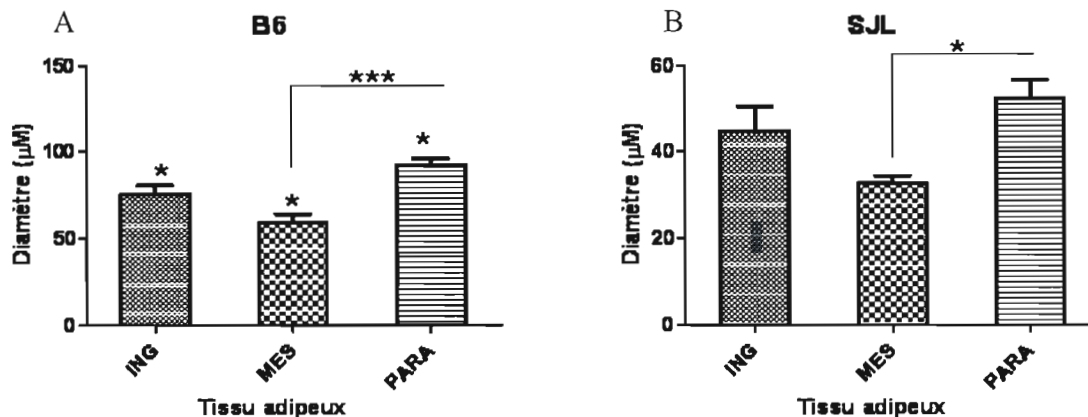


Figure 3.2 : Diamètres des adipocytes des tissus ING, MES et PARA. Les adipocytes des tissus ING, MES et PARA ont été isolés. Le diamètre cellulaire a été mesuré avec. A) B6 (n=10) B) SJL (n=3-10) Les moyennes sont présentées avec les erreurs SEM. Un « ANOVA pour mesures répétées » suivi d'un « Bonferonni » ont servi à analyser les données. * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$ *** $p \leq 0,001$

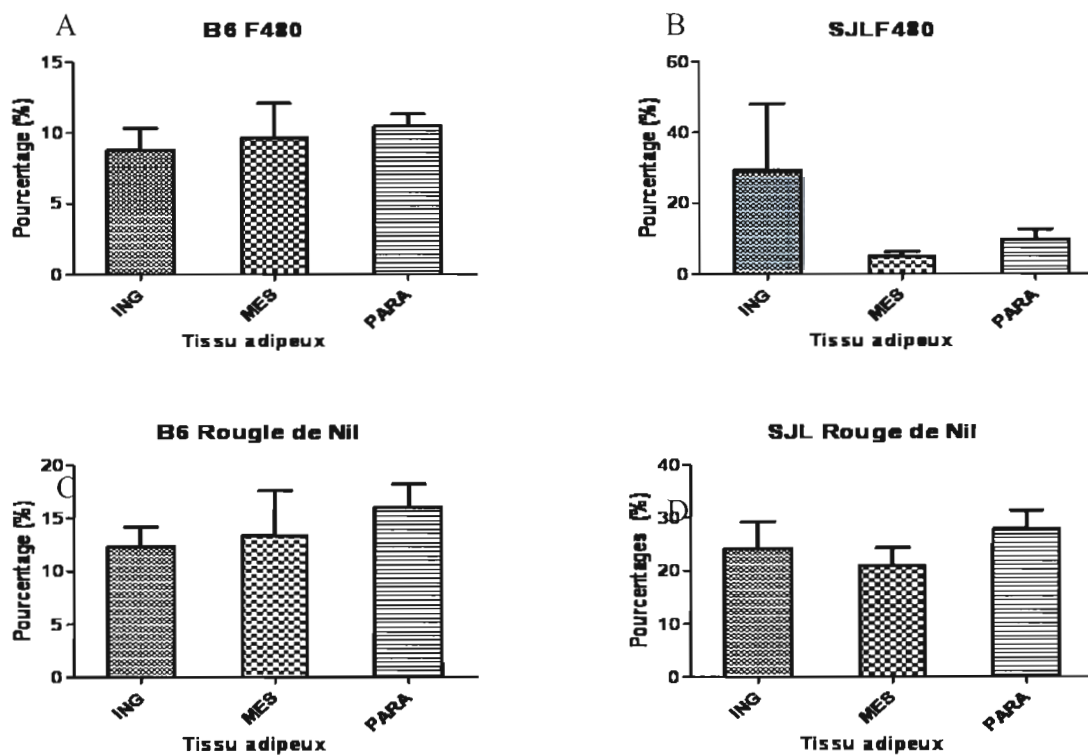


Figure 3.3 : Populations cellulaires des tissus ING, MES et PARA. Les macrophages et les adipocytes du tissu ING, MES et PARA ont été marqués respectivement au F480 et au rouge de Nil. Les cellules ont été analysées par cytométrie de flux. A,B) Population de macrophages contenue dans la fraction stroma vasculaire A) B6 (n=6) B) SJL (n=3-9) C,D) Population d'adipocytes contenue dans le tissu adipeux. C) B6 (n=10) D) SJL (n=3-9) Les moyennes sont présentées avec la SEM. Une « ANOVA pour mesures répétées » suivi d'un « Bonferonni » ont servi à analyser les données. * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$ *** $p \leq 0,001$ * $p \leq 0,5$ ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$

3.2.2 Profils d'adipokines des différents tissus

Comme dans les résultats de l'étude 1 portant sur la caractérisation du profil d'adipokines du tissu PARA, la quantité d'adiponectine est significativement ($p \leq 0.001$) plus élevée pour les trois tissus autant pour la souche B6 que SJL. (Résultats non présentés)

3.2.3 Comparaison de la production de chacune des adipokines entre les tissus ING, MES et PARA

Chez B6, la production de chacune des adipokines (TNF- α , IL-6, Leptine, Adiponectine et TGF- β 1) est identique entre les tissus ING, MES et PARA à l'exception de l'IL-10. La quantité de l'IL-10 est significativement plus élevée ($p \leq 0.05$) dans le tissu PARA (11483 pg/ng) que dans le tissu MES (3826 pg/ng) et ING (2429 pg/ng) (Figure 3.4D).

Chez SJL, la quantité de chacune des adipokines (TNF- α , IL-6, Leptine, Adiponectine et TGF- β 1) est identique entre les tissus ING, MES et PARA sauf pour l'IL-6 et la leptine. La quantité de l'IL-6 est significativement plus élevée ($p \leq 0.05$) dans le tissu ING (4504 pg/ng) que le tissu MES (2128 pg/ng). La quantité de leptine est significativement plus élevée ($p \leq 0.05$) dans le tissu PARA (3791 pg/ng) comparativement au MES (1879 pg/ng) (Figure 3.5 B et C).

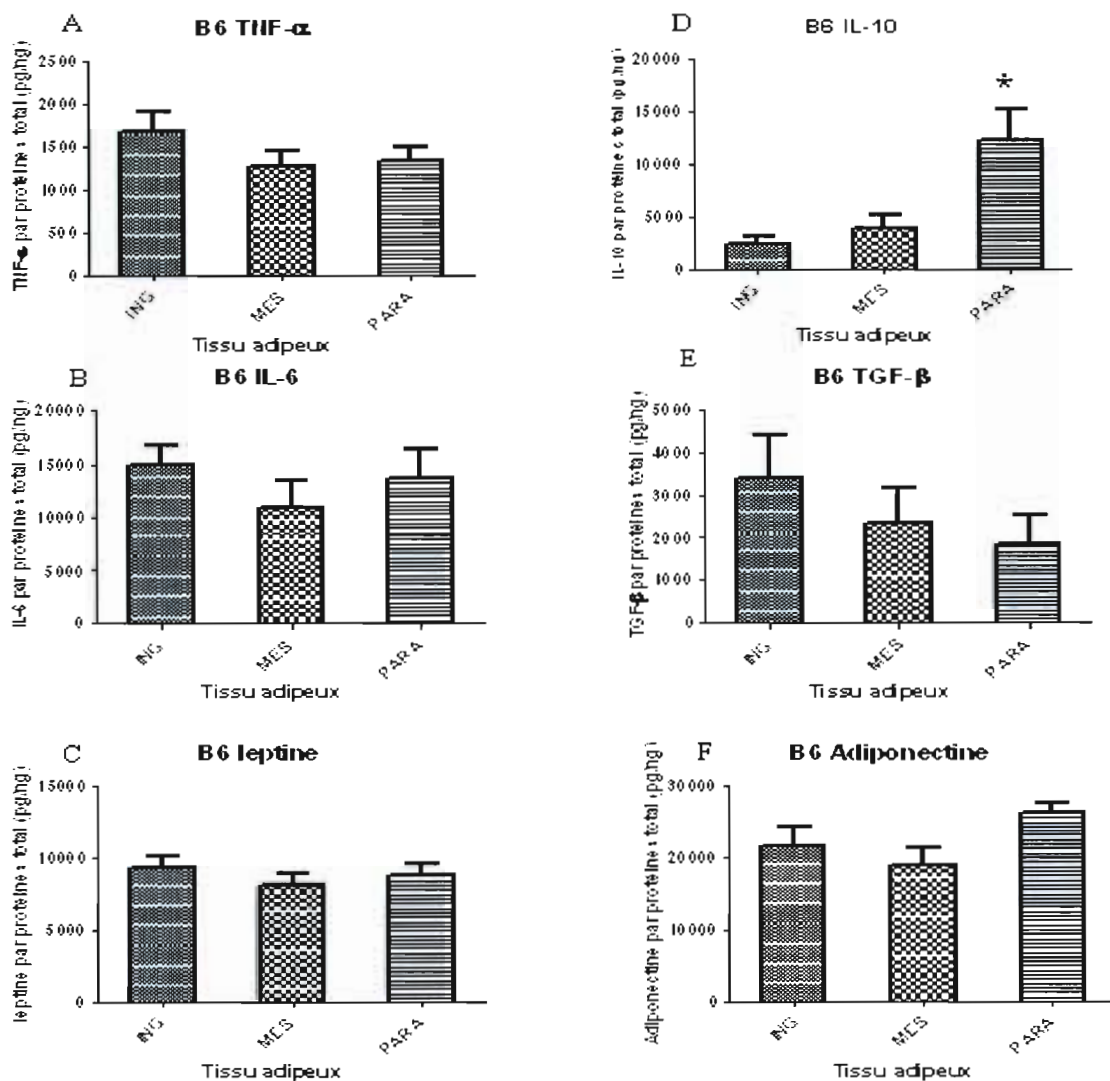


Figure 3.4 : Les niveaux d'adipokines des tissus ING, MES et PARA chez B6. Les tissus ING, MES et PARA des souris B6 (n=10) ont été homogénéisés. Les adipokines ont été dosées par ELISA. A) TNF- α B) IL-6 C) Leptine D) IL-10 E) TGF- β F) Adiponectine Les moyennes sont présentées avec les SEM. Un test « ANOVA pour mesures répétées » suivi d'un test de « Bonferonni » ont servi à analyser les données. * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$ et *** $p \leq 0,001$

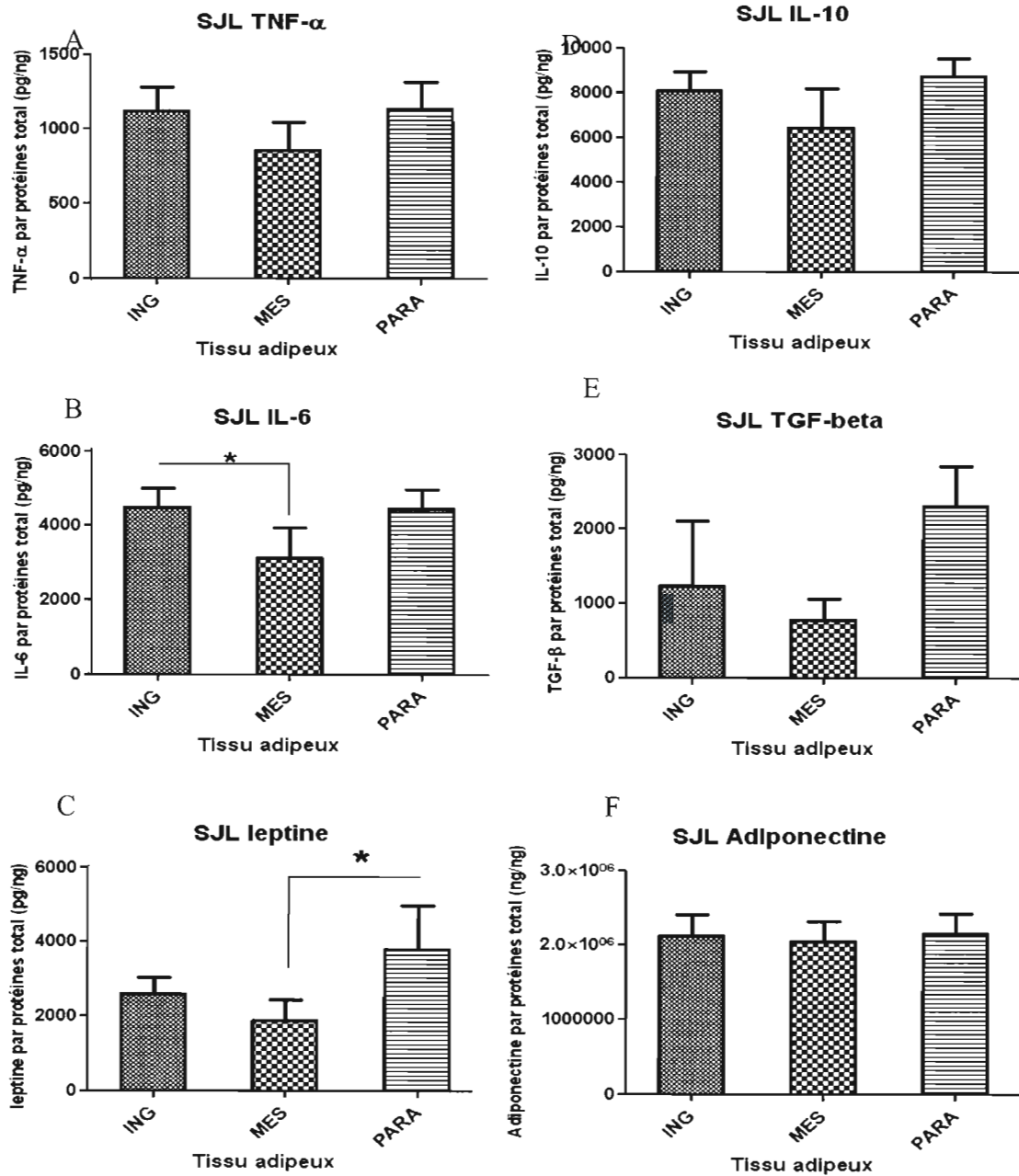


Figure 3.5 : Les niveaux des adipokines des tissus ING, MES et PARA chez SJL. Les tissus ING, MES et PARA des souris SJL (n=12) ont été homogénéisés. Les adipokines ont été dosées par ELISA. Les moyennes sont présentées avec les SEM. A) TNF- α B) IL-6 C) Leptine D) IL-10 E) TGF- β 1 F) Adiponectine Un test « ANOVA pour mesures répétées » suivi d'un test de « Bonferonni » ont servi à analyser les données. * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$ et *** $p \leq 0,001$

3.3 Comparaison des paramètres physiologiques entre les souches B6 et SJL

3.3.1 Prise alimentaire

La prise alimentaire entre les deux souches est équivalente sauf à la première et 11^{ème} semaine. La prise alimentaire est plus importante chez SJL pour ces deux semaines. En général la prise alimentaire entre les deux souches est identique, (Figure 3.6 A) sauf que, la prise alimentaire est une donnée qui comporte plusieurs sources de variation. L'une d'elles est comportementale. En effet, les souris cachent la nourriture dans leur paille et peuvent ainsi l'égrainer. Il est donc difficile de mesurer la quantité de nourriture perdue de cette façon. Lors des changements de cages des souris, une perte de nourriture peut se produire. L'utilisation des cages métaboliques pourrait remédier à ces problèmes

3.3.2 Gain de poids

Le suivi de l'évolution des poids des souris âgées de 6 semaines a été fait jusqu'à l'âge de 18 semaines. Il est important de mentionner que les souris ont été préalablement pairées pour obtenir des poids approximativement égaux pour chaque groupe. Malgré cela, il y a une différence de poids entre les deux souches. Le poids moyen des souris B6 âgées de 6 semaines est 1.1 fois plus élevé ($p \leq 0.05$) que son homologue SJL. Cependant, l'écart se minimise à la 1^{ème} et 2^{ème} semaine, l'écart devenant non significatif. À partir de la 3^{ème} semaine, l'écart entre les deux souches redevient significatif ($p \leq 0.001$). L'écart reste significatif jusqu'à la fin du suivi ($p \leq 0.001$) (Figure 3.6 B).

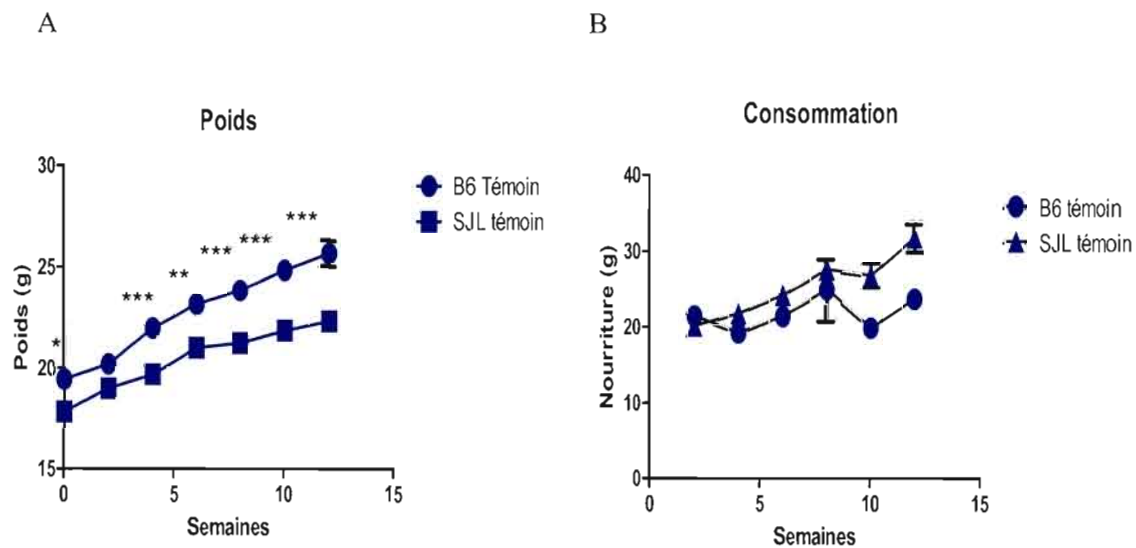


Figure 3.6 : Comparaison des paramètres physiologiques entre les souches B6 et SJL. Suivi des poids et de la prise alimentaire des souris B6 (n=10) et SJL (n=12) âgées de 6 semaines pendant 12 semaines. A) Poids B) Prise alimentaire Les moyennes sont présentées avec la SEM. Des « ANOVA à deux facteurs » suivies d'un test « Bonferonni » ont servi à analyser les données. * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$

3.3.3 Populations cellulaires

La population de macrophages dans la fraction stroma vasculaire n'est pas significativement différente entre les 2 souches. Toutefois, les écarts types élevés chez la souris SJL nuisent à l'analyse (Figure 3.7 A). La population d'adipocytes contenue dans le tissu adipeux est 2 fois plus nombreuse chez SJL que B6. Se référer à la figure 3.7 B pour la valeur des degrés de significations (p). Toutefois, les diamètres des adipocytes de B6 sont deux fois plus élevés que ceux de SJL (Figure 3.7 C). Ces données suggèrent que les mécanismes d'emmagasinement des lipides sont différents entre les souris B6 et SJL.

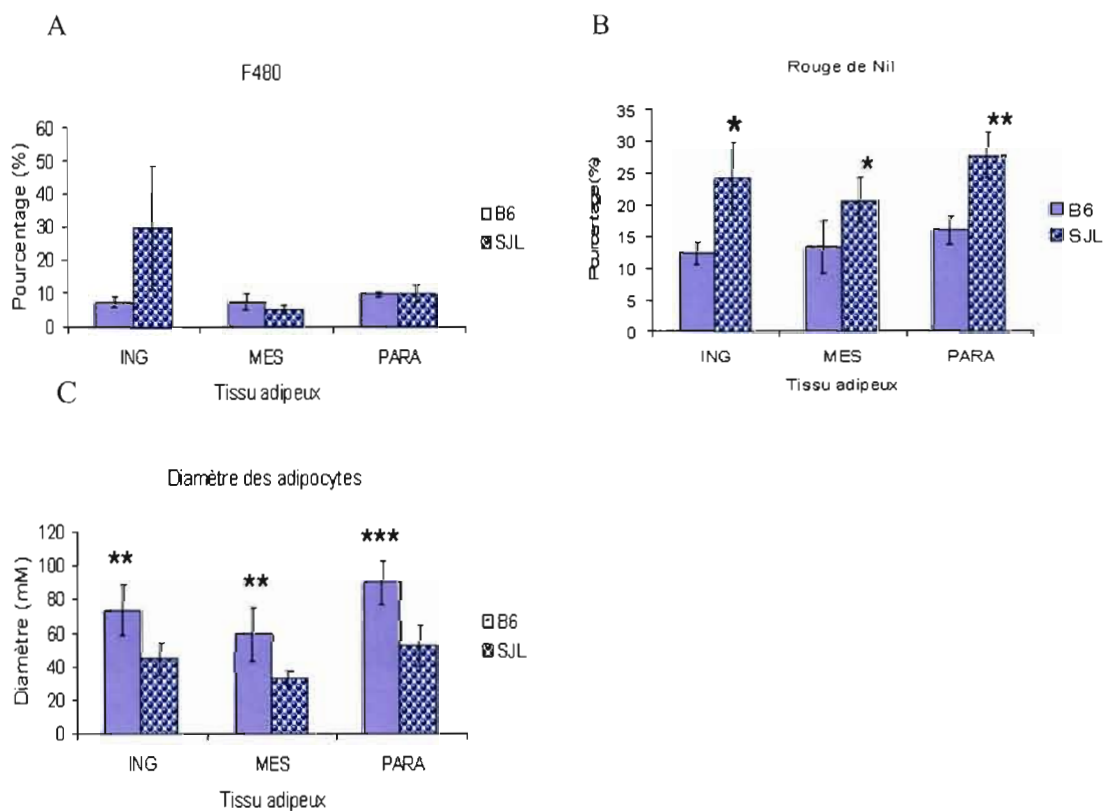


Figure 3.7 : Comparaison des populations cellulaires entre les souches B6 et SJL. Les macrophages et les adipocytes des tissus ING, MES et PARA de B6 (n=6) et SJL (n=3-9) ont été marqués respectivement au F480 et au rouge Nil. Les cellules ont été analysées par cytométrie de flux. Les diamètres des adipocytes ont été mesurés par microscopie. A) Population de macrophages contenus dans la fraction stroma vasculaire B) Population des adipocytes contenus dans le tissu adipeux C) Diamètre cellulaire. Les moyennes sont présentées avec la SEM. Les tests « F » suivi d'un test de « student » ont servi à analyser les données. * $p \leq 0,05$ ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$

3.4 Comparaison des profils d'adipokines entre les souches B6 et SJL

3.4.1 Production des adipokines

Pour le tissu ING, la quantité de l'IL-6 et de leptine est plus forte chez B6 (14 932 pg/ng et 9393 pg/ng) que chez SJL (4504 pg/ng et 2897 pg/ng) ($p \leq 0.001$). (Figure 3.8 B et C) Quant à elle, la quantité de l'IL-10 et d'adiponectine est plus forte chez SJL (8094 pg/ng et 2119 ng/ng) que chez B6 (2429 pg/ng et 22 ng/ng) ($p \leq 0.001$) (Figure 3.8 D et F).

Au niveau du MES, la quantité d'IL-6, de leptine et de TGF- β 1 est significativement plus élevée ($p \leq 0.01$; $p \leq 0.001$; $p \leq 0.05$) chez B6 (10 958 pg/ng, 8 086 pg/ng et 2 380 pg/pg) que chez SJL (2 128 pg/ng, 1 879 pg/ng et 781 pg/ng) (Figure 3.8 B, C et D). La quantité d'adiponectine est significativement ($p \leq 0.001$) plus élevée chez SJL (2 047 ng/pg) que chez B6 (18 ng/ng) (Figure 3.8 F).

Pour le PARA, la quantité de l'IL-6 et de leptine est significativement plus élevée ($p \leq 0.001$) chez B6 (13 635 pg/pg et 8 732 pg/ng) que chez SJL (4 451 pg/ng et 3791 pg/ng). (Figure 3.8 B et C) La quantité d'adiponectine est significativement plus élevée ($p \leq 0.001$) chez SJL (2047 ng/ng) que chez B6 (19 ng/ng) (Figure 3.8 F).

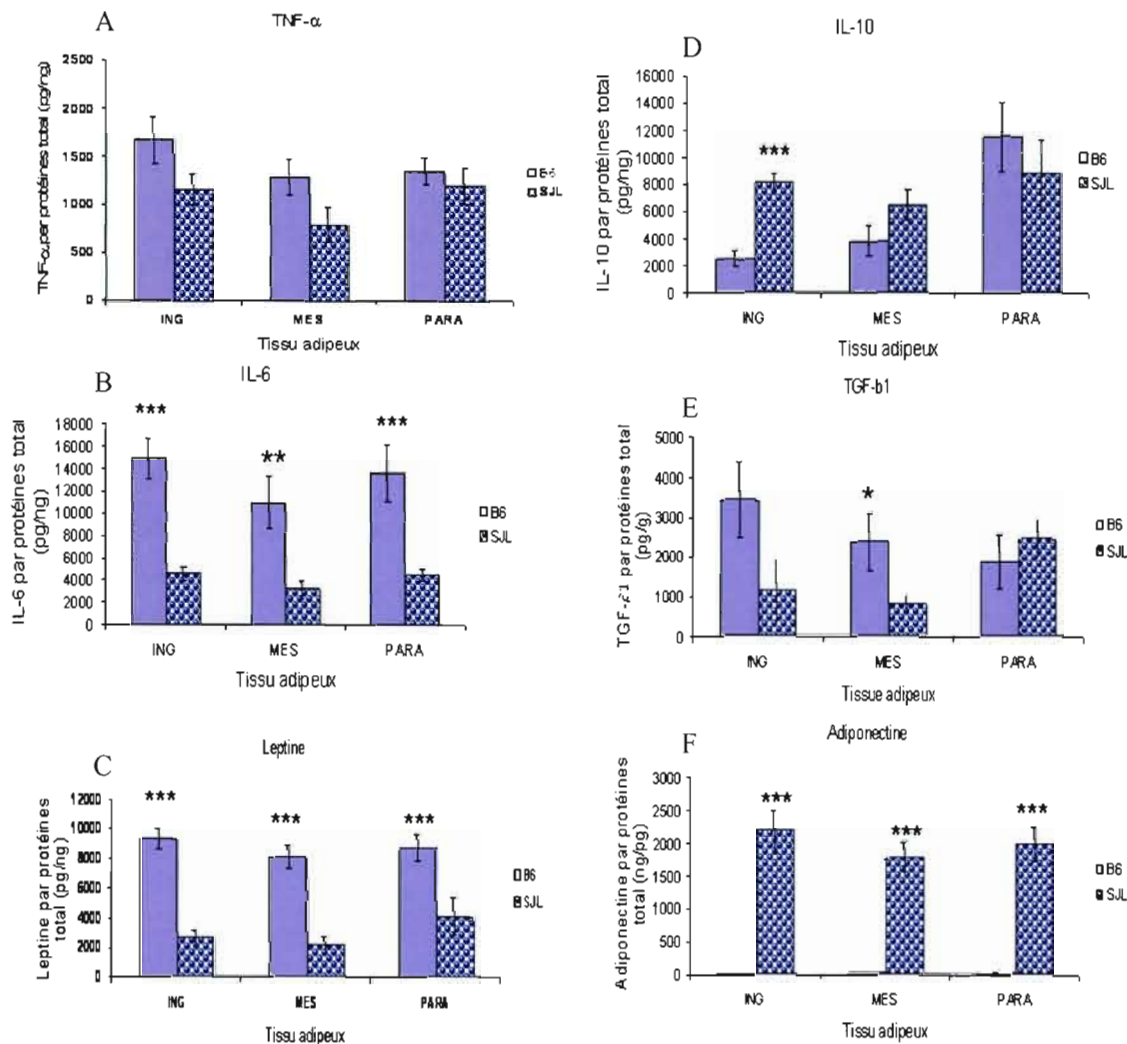


Figure 3.8 : Comparaison des niveaux de production des adipokines entre B6 et SJL dans différents tissus adipeux. Le tissu inguinal (ING), mésentérique (MES) et PARA des souris B6 (n=6-10) et SJL (n=12) ont été homogénéisés. A) TNF- α B) IL-6 C) Leptine D) IL-10 E) TGF- β 1 F) Adiponectine Les adipokines ont été dosées par ELISA. Les moyennes sont présentées avec les SEM. Un test « F » suivi d'un test de « student » ont servi à analyser les données. * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0,01$ et *** $p \leq 0,001$

3.4.2 Comparaison des ratios

3.4.2.1 Tissu ING

Chez SJL, les ratios IL-10/TNF- α , IL-10/IL-6, IL-10/leptine et IL-10/TGF- β 1 sont respectivement plus élevés de 10, 22, 14 et 24 fois comparativement à B6. Se référer au tableau 3.2 pour la valeur des degrés de signification (p) (Tableau 3.2).

Toujours, chez SJL les ratios adiponectine/TNF- α , adiponectine/IL-6, adiponectine/leptine, adiponectine/IL-10 sont respectivement de 114, 350, 300 et 22 fois plus élevés comparativement à B6. Se référer au tableau 3.2 pour la valeur des degrés de signification (Tableau 3.2).

Il est à noter aussi que le ratio TNF- α /IL-6 est 2 fois plus élevé chez SJL que chez B6 ($p \leq 0.01$). Le ratio TNF- α /leptine est 4 fois plus élevé ($p \leq 0.1$) chez SJL que chez B6. Le ratio TNF- α /TGF- β 1 est 6 fois plus élevé ($p \leq 0.05$) chez SJL que chez B6 (Tableau 3.2).

Ces données suggèrent que l'IL-10 et l'adiponectine du tissu ING sont plus fortement produites que les autres adipokines chez SJL que chez B6.

Numérateur Dénominateur	TNF-alpha			IL-6			Leptine			IL-10			Adiponectine	
	B6	SJL		B6	SJL		B6	SJL		B6	SJL		B6	SJL
IL-6	0,12 ± 0,01	0,29 ± 0,05	**											
Leptine	0,18 ± 0,03	0,70 ± 0,2	**	1,5 ± 0,1	2,0 ± 0,2									
IL-10	1,7 ± 0,9	0,16 ± 0,02	***	11 ± 2	0,50 ± 0,01	**	7 ± 2	0,50 ± 0,03	***					
Adiponectine	0,06 ± 0,01	0,0007 ± 0,0001	***	0,7 ± 0,1	0,0020 ± 0,0005	***	0,30 ± 0,03	0,0010 ± 0,0003	***	0,11 ± 0,04	0,005 ± 0,001	*		
TGF-β1	0,8 ± 0,2	5 ± 1	*	7 ± 1	15 ± 4		4,1 ± 0,6	8 ± 3		1,2 ± 0,2	29 ± 8	**	8 ± 2	10 000 ± 4 500

Tableau 3.2: Ratios des adipokines contenu dans le tissu ING. Le tissu ING des souris SJL et B6 a été homogénéisé. Les adipokines ont été dosées par ELISA. Les ratios ont été faits pour comparer le niveau de production des adipokines des souris B6 (n=10) et SJL (n=12). Chaque adipokine de chaque souche a été rapportée par rapport à une autre adipokine de la même souche. Les moyennes sont présentées avec les SEM. Un test « F » suivi d'un test de « student » ont servi à analyser les données. * p ≤ 0,05, ** p ≤ 0,01 et *** p ≤ 0,001

3.4.2.2 Tissu MES

Chez B6, les ratios leptine/TNF- α , leptine/IL-6, leptine/IL-10 sont respectivement 6, 2 et 13 fois plus élevés que chez SJL. Se référer au tableau 3.3 pour la valeur des degrés de signification.

Chez SJL, les ratios adiponectine/TNF- α , adiponectine/IL-6, adiponectine/IL-10, adiponectine/TGF- β 1 sont respectivement 140, 333 500, 60 et 470 fois plus élevés que chez B6. Se référer au tableau 3.3 pour la valeur des degrés de signification (Tableau 3.3).

De plus, le ratio IL-6/IL-10 est 10 fois plus élevé ($p \leq 0.01$) chez B6 que chez SJL (Tableau 3).

Ces résultats suggèrent que la quantité d'adiponectine est, relativement aux autres adipokines, plus importante dans le tissu MES chez SJL que chez B6.

Numérateur Dénominateur	TNF-alpha		IL-6		Leptine		IL-10		Adiponectine			
	B6	SJL	B6	SJL	B6	SJL	B6	SJL	B6	SJL		
IL-6	0,3 ± 0,2	0,5 ± 0,1										
Leptine	0,16 ± 0,01	1,0 ± 0,2	***	1,2 ± 0,2	1,9 ± 0,1	***						
IL-10	0,7 ± 0,2	0,22 ± 0,04		5 ± 2	0,49 ± 0,03	**	4 ± 1	0,30 ± 0,03	**			
Adiponectine	0,070 ± 0,006	0,0005 ± 0,0001	***	0,6 ± 0,1	0,0018 ± 0,0005	**	0,5 ± 0,1	0,0010 ± 0,0003	***	0,24 ± 0,07	0,004 ± 0,001	*
TGF-β1	1,2 ± 0,4	3 ± 1		11 ± 3	8 ± 3		7 ± 2	5 ± 2		17 ± 4	8000 ± 3000	*

Tableau 3.3: Ratios des adipokines contenu dans le tissu MES. Le tissu MES des souris SJL et B6 a été homogénéisé. Les adipokines ont été dosées par ELISA. Chaque adipokine de chaque souche a été rapportée sur une autre adipokine de la même souche. Les ratios ont été faits pour comparer le niveau de production des adipokines des souris B6 (n=10) et SJL (n=12). Chaque adipokine de chaque souche a été rapportée par rapport à une autre adipokine de la même souche. Les moyennes sont présentées avec les SEM. Un test « F » suivi d'un test de « student » ont servi à analyser les données. * p ≤ 0,05, ** p ≤ 0,01 et *** p ≤ 0,001

3.4.2.3 Tissu PARA

Chez B6, les ratios leptine/TNF- α , leptine/IL-10 et leptine/TGF- β 1 sont 5 fois plus élevés que chez SJL. Se référer au tableau 3.4 pour les valeurs et les valeurs des degrés de signification.

Chez SJL, les ratios adiponectine/TNF- α , adiponectine/IL-6, adiponectine/leptine, adiponectine/IL-10, adiponectine/TGF- β 1 sont respectivement 70, 170, 300, 100 et 75 fois plus élevés ($p \leq 0.001$) que chez B6 (Tableau 3.4).

Le ratio IL-6/TGF- β 1 est significativement plus élevé ($p \leq 0.05$) de 3 fois chez B6 que chez SJL (Tableau 4).

Ces données suggèrent que la quantité d'adiponectine est plus élevée chez SJL que chez B6 dans le tissu PARA. De plus, la quantité de leptine semble plus importante dans le tissu PARA chez B6 que chez SJL.

Numérateur Dénominateur	TNF-alpha		IL-6		Leptine		IL-10		Adiponectine	
	B6	SJL	B6	SJL	B6	SJL	B6	SJL	B6	SJL
IL-6	0,2 ± 0,1	0,28 ± 0,06								
Leptine	0,15 ± 0,01	0,7 ± 0,2 **	1,5 ± 0,2	2,1 ± 0,2						
IL-10	0,15 ± 0,02	0,15 ± 0,02	1,4 ± 0,2	0,55 ± 0,03	1 ± 0,1	0,2 ± 0,1 ***				
Adiponectine	0,051 ± 0,005	0,0007 ± 0,0001 ***	0,5 ± 0,09	0,003 ± 0,0005 ***	0,3 ± 0,03	0,001 ± 0,0007 ***	0,4 ± 0,1	0,004 ± 0,0008 ***		
TGF-β1	0,9 ± 0,1	0,8 ± 0,1	7 ± 1	2,3 ± 0,2 *	5,3 ± 0,5	1,1 ± 0,2 ***	6,1 ± 0,6	5 ± 0,5	20 ± 3	1500 ± 260 ***

Tableau 3.4: Ratios des adipokines contenu dans le tissu PARA. Le tissu PARA des souris SJL et B6 a été homogénéisé. Les adipokines ont été dosées par ELISA. Les ratios ont été faits pour comparer le niveau de production d'adipokines des souris B6 (n=10) et SJL (n=12). Chaque adipokines de chaque souche a été rapportée par rapport à une autre adipokine de la même souche. Les moyennes sont présentées avec les SEM. Un test « F » suivi d'un test de « student » ont servi à analyser les données. * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$ et *** $p \leq 0,001$

3.5. Effets de la nourriture HTL sur les souches B6 et SJL

3.5.1 Prise alimentaire

Chez B6, la quantité d'aliments ingérés est 2.5 fois plus importante ($p \leq 0.05$) à la première semaine. Tandis que chez SJL, elle est environ 3 fois plus grande ($p \leq 0.01$) dans les deux premières semaines. (Figure 3.9 A et B) Ensuite, il n'y a pas de variation significative de la prise alimentaire entre les groupes témoins et HTL.

3.5.1 Gain de poids

Pour la souris B6 et SJL, il n'y a pas de gain de poids significatif entre les groupes témoins et HTL. Elles se comportent comme des souris résistantes à la nourriture riche en lipides (Figure 3.9 A et D).

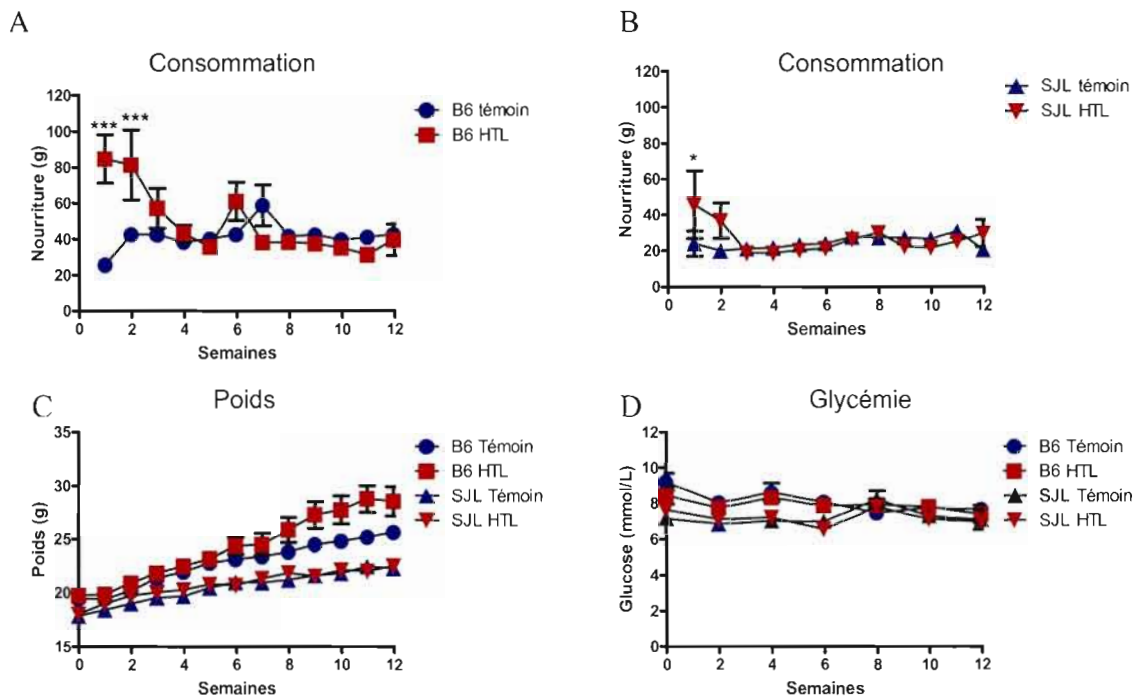


Figure 3.9 : Poids, prise alimentaire et glycémie des souris soumises à un régime HTL. Les souris B6 (n=10) et SJL (n=12-13) ont été nourries avec un régime HTL pendant 12 semaines. A) Moyennes des poids mesurés une fois par semaine. A et B) Prise alimentaire moyenne pour chaque souris mesurée une fois par semaine pour B6 (A) et SJL (B) C) Moyennes des poids mesurés une fois par semaine D) Glycémie des souris B6 et SJL à jeun. Les souris ont été mises à jeun pendant 3 heures. Le glucose sanguin a été mesuré. Les mesures ont été récoltées à toutes les deux semaines. Les moyennes sont présentées avec les SEM. Une « ANOVA pour deux facteurs avec mesures répétées » suivie d'un test « Bonferonni » ont servi à analyser les données. *** $p \leq 0.001$.

3.5.2 Les adipocytes

Les résultats démontrent que la population d'adipocytes n'a pas augmenté lorsque les souris sont nourries avec un régime HTL aussi bien chez B6 que chez SJL (Figure 3.10 C et D).

Chez B6, la nourriture HTL n'induit pas de changements des diamètres cellulaires (Figure 3.12 A). Donc, la nourriture HTL n'induit pas d'augmentation de la quantité de lipides dans les adipocytes chez B6. Cette hypothèse est renforcée lorsque les adipocytes sont marqués avec le rouge de Nil, ce dernier se liant aux lipides contenus dans les adipocytes. La

fluorescence du rouge de Nil est identique entre le groupe témoin et HTL pour la souche B6 (Figure 3.11 C).

Chez SJL, il n'y a pas d'augmentation de diamètre cellulaire dans le tissu ING et PARA lorsque les souris consomment la nourriture HTL comparativement au groupe témoin. Toutefois, il y a une augmentation du diamètre cellulaire dans le tissu MES ($p \leq 0.001$) des souris qui consomment la nourriture HTL comparativement au groupe témoin (Figure 3.12 A). Toutefois, il n'y a pas d'augmentation de la fluorescence du rouge de Nil (Figure 3.11 D). Ces résultats contradictoires peuvent s'expliquer par le critère de sélection des adipocytes lorsque les diamètres ont été mesurés. Par convention une cellule est considérée comme une adipocyte lorsque son diamètre cellulaire est de $20\mu\text{m}$ ou plus. En bas de ce diamètre, les cellules ne sont pas considérées comme des adipocytes (Gerrard et Grant, 2002). Cette convention varie selon les espèces animales. Chez le dromadaire le diamètre des adipocytes peut varier entre $12.5\mu\text{m}$ et $175\mu\text{m}$ (Faye et *al.*, 2002). Il est possible que des adipocytes de souris aient un diamètre plus petit que $20\mu\text{m}$ et cela expliquerait la différence observée entre le diamètre cellulaire et la fluorescence pour le rouge de Nil.

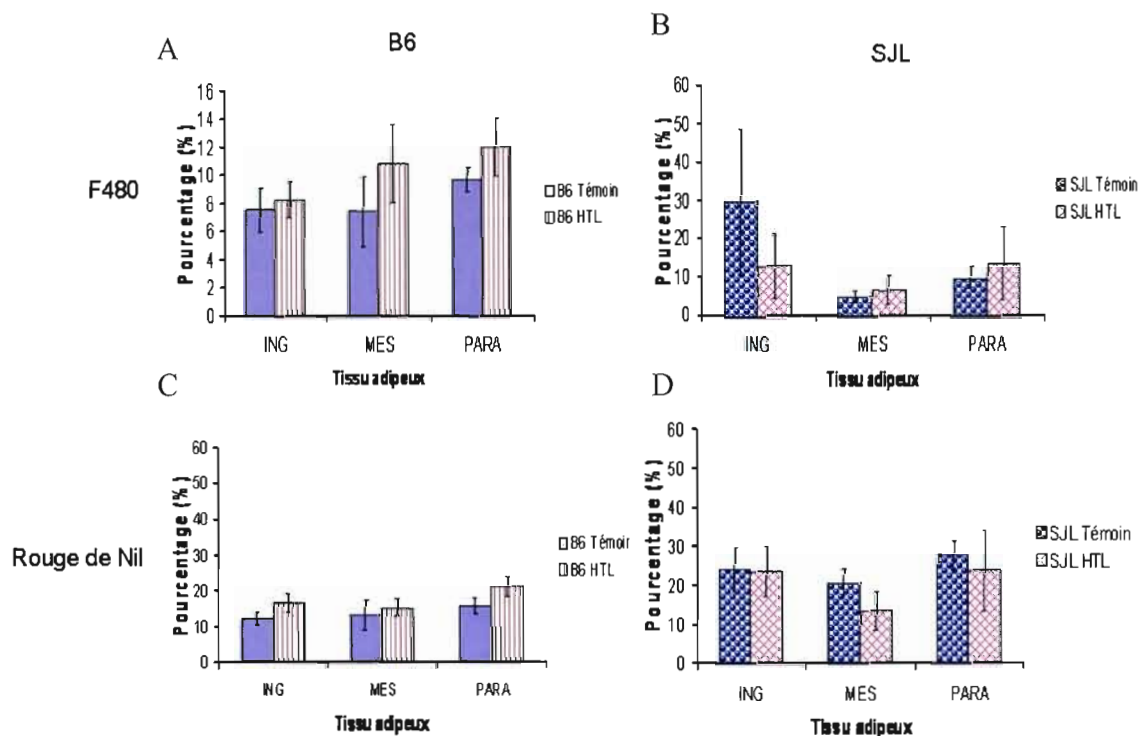


Figure 3.10: Populations des cellules dans le tissu adipeux des souris soumises à un régime HTL. Les souris ont été nourries avec un régime HTL pendant 12 semaines. Les cellules du tissu ING, MES et PARA des souris B6 et SJL ont été marquées avec le F480 et le rouge de Nil. Les cellules ont été analysées par cytométrie de flux A et B) Population de macrophages contenue dans la fraction stroma vasculaire A) B6 n=6-10 B) SJL n=3-9 C-D) Population d'adipocytes contenus dans les tissus adipeux C) B6 n=6-12 D) SJL n=3-9. Les données moyennes sont présentées avec l'erreur type. Les tests « F » suivis d'un test de « Student » ont servi à analyser des données. ** $p \leq 0,01$

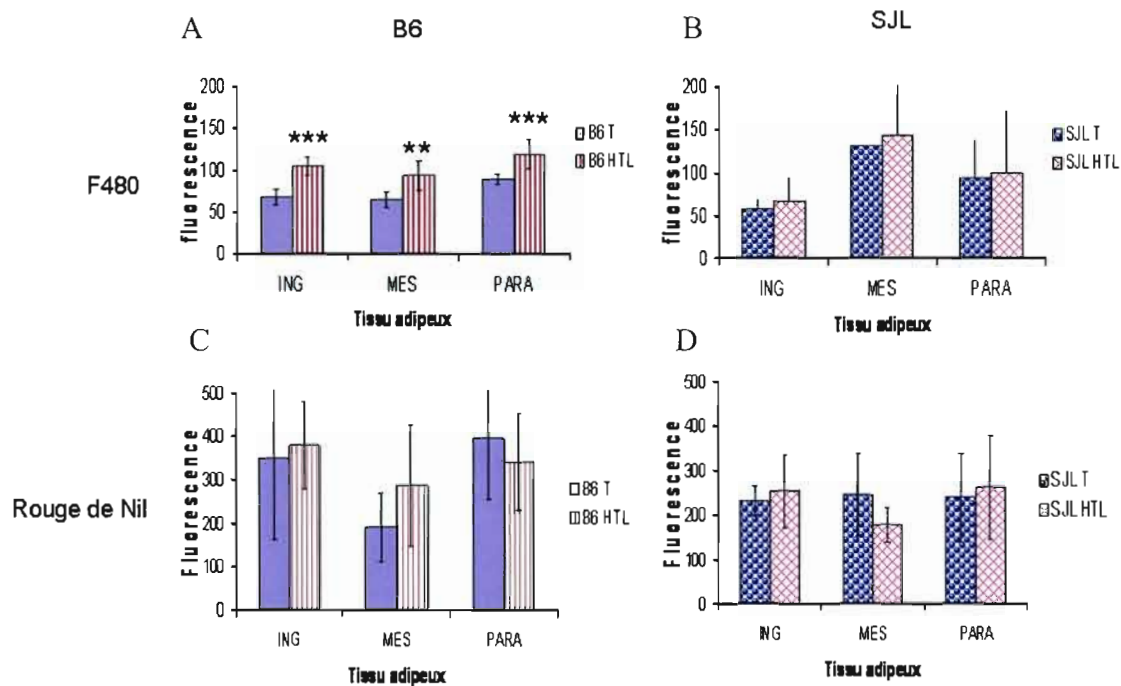


Figure 3.11: Fluorescence des marqueurs Rouge de Nil et F480 des souris soumises à un régime HTL. Les souris ont été nourries avec un régime HTL pendant 12 semaines. Les cellules du tissu ING, MES et PARA ont été marquées avec le F480 et le rouge de Nil. Les cellules ont été analysées par cytométrie de flux A-B) Fluorescence moyenne de F480 par macrophage A) B6 n = 6-10 B) SJL n = 3-9 C-D) Fluorescence moyenne de rouge de Nil par adipocyte C) B6 n = 6-10 D) SJL n = 3-9 Les moyennes sont présentées avec le SEM. Les tests « F » suivis d'un test « Student » ont servi à analyser les données. **p<0,01

3.5.3 Pourcentage de lipides dans le foie et la glycémie

Une des conséquences de l'obésité est la stéatose qui consiste en une accumulation excessive de lipides dans le foie (Blanc, 1997). Chez B6 autant que chez SJL, la nourriture HTL n'induit pas d'accumulation significative de lipides dans le foie. (Figure 3.11 B) La nourriture HTL n'a pas eu d'impact au niveau de la glycémie des souris à jeun pour les deux souches. (Figure 3.12 B)

Finalement, la nourriture HTL n'a pas eu d'effet sur la majorité des paramètres physiologiques évalués pour les deux souches à l'exception du tissu MES des souris SJL.

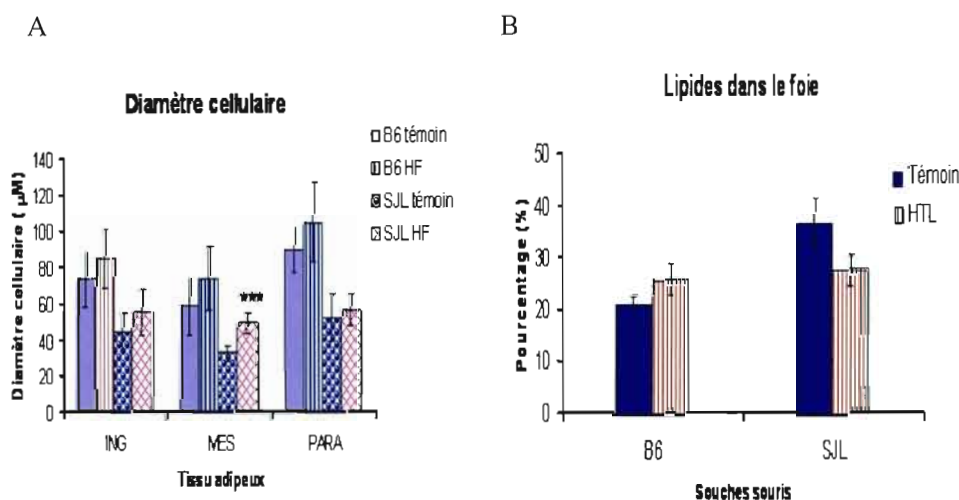


Figure 3.12 : Paramètres physiologiques des souris soumises à un régime HTL. Les souris B6 et SJL ont été nourries avec un régime HTL pendant 12 semaines. Les adipocytes des tissus ING, MES et PARA ont été isolés à la collagénase. Le diamètre des adipocytes a été mesuré avec un microscope optique doté d'un oculaire gradué. Les lipides du foie ont été extraits avec une solution chloroforme : méthanol (2 :1) A) Diamètre des adipocytes B) Lipides contenus dans le foie. Les moyennes sont présentées avec les SEM. Un test « F » suivi d'un test de « student » ont servi à analyser les données. *** $p \leq 0,001$

3.5.4 Effets de la nourriture HTL sur les adipokines pro-inflammatoires

Les niveaux de production des adipokines (TNF- α , IL-6, leptine, IL-10, adiponectine et TGF- β 1) contenues dans les différents tissus (ING, MES et PARA) des groupes témoins et des groupes HTL ont été comparés.

Chez B6, les adipokines dosées dans le tissu ING n'ont pas été influencées par la nourriture HTL. Pour le tissu MES, il y a une augmentation significative (respectivement de $p \leq 0.05$, $p \leq 0.01$ et $p \leq 0.001$) du TNF- α (2X), de l'IL-6 (2X) et de la leptine (3X). Pour le PARA, il y a une diminution significative ($p \leq 0.05$) de TNF- α (1.2X) et une augmentation significative ($p \leq 0.05$) de leptine (1.5 X) (Figure 3.13).

Chez la souris SJL, la nourriture HTL n'influence pas la production d'adipokines pro-inflammatoires pour aucun des trois tissus (Figure 3.13).

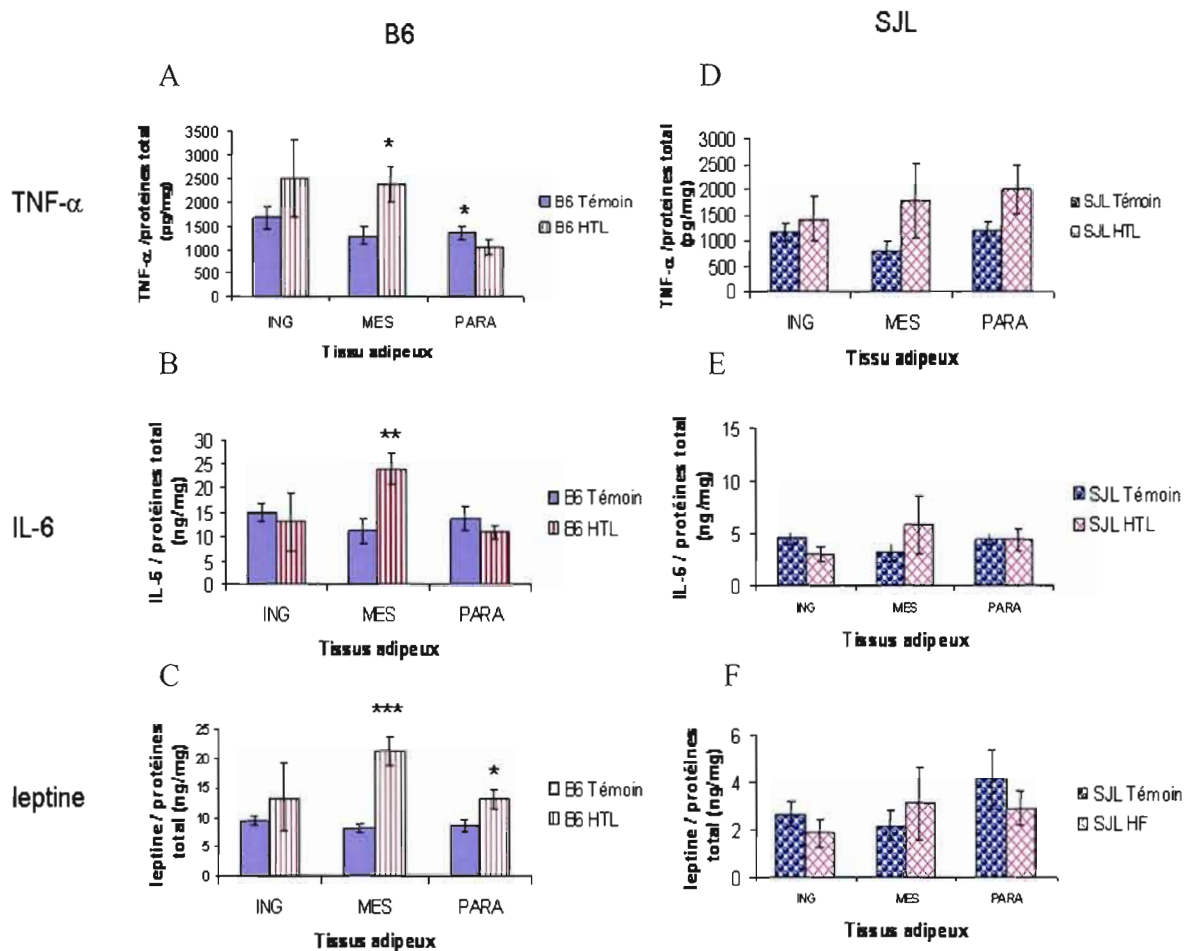


Figure 3.13 : Les adipokines pro inflammatoires contenu dans le tissu adipeux des souris soumises à un régime HTL. Les souris B6 et SJL ont été nourries avec un régime HTL pendant 12 semaines. Les tissus : inguinal (ING), mésentérique (MES) et paramétrial (PARA) ont été homogénéisés. Les adipokines ont été dosées par ELISA chez la souris B6 (n=10) et SJL (n=12-13). A) TNF- α chez B6 B) IL-6 chez B6 C) Leptine chez B6 D) TNF- α chez SJL E) IL-6 chez SJL F) Leptine chez SJL. Les moyennes sont présentées avec le SEM. Un test « F » suivi d'un test de « students » ont servi à comparer le groupe témoin et le groupe HTL. * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0,01$ et *** $p \leq 0,001$

3.5.5 Les adipokines anti-inflammatoires

Chez B6, les quantités d'adipokines des tissus ING et PARA ne sont pas influencées par l'alimentation HTL. Pour le tissu MES, il y a augmentation significative (respectivement $p \leq 0.01$ et $p \leq 0.001$) de l'IL-10 (3X) et de l'adiponectine (2X) (Figure 3.14).

Chez SJL, la nourriture HTL n'a pas influencé la production d'adipokines anti-inflammatoires et cela pour les trois tissus sauf pour l'adiponectine. Il y a une diminution d'environ 1.7X de l'adiponectine dans le tissu ING ($p \leq 0.01$) et MES ($p \leq 0.05$) (Figure 3.14).

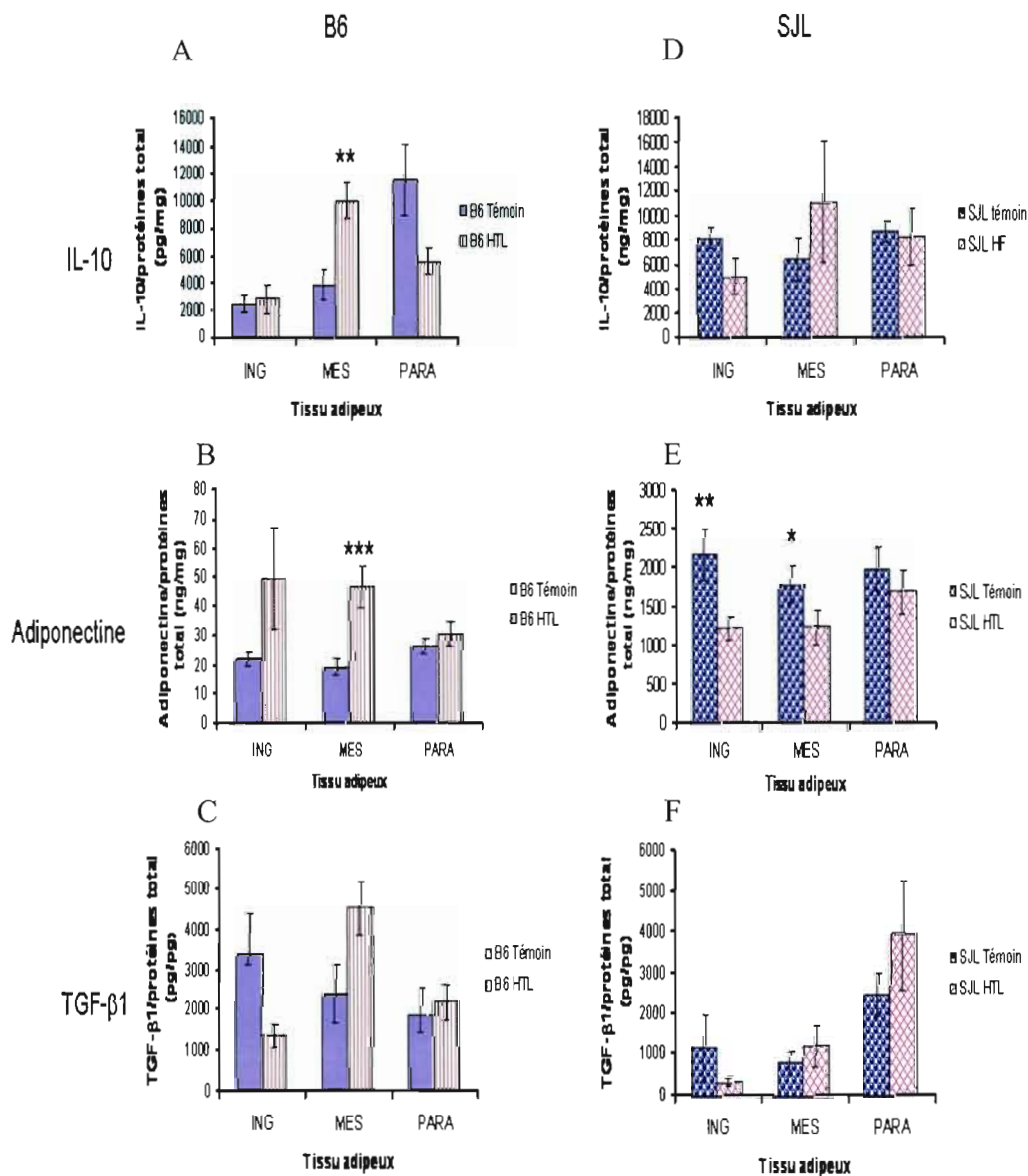


Figure 3.14 : Adipokines anti-inflamatoires contenues dans le tissu adipeux des souris soumises à régime HTL. Les souris ont été nourries avec un régime HTL pendant 12 semaines. Les tissus ING, MES et PARA ont été homogénéisés. Les adipokines ont été dosées par ELISA chez la souris B6 (n=10) et SJL (n=12-13). A) IL-10 chez B6 B) Adiponectine chez B6 C) TGF-β1 chez B6 D) IL-10 chez SJL E) Adiponectine chez SJL F) TGF-β1 chez SJL. Les moyennes sont présentées avec le SEM. Un test « F » suivi d'un test de « students » ont servi à comparer le groupe témoin et le groupe HTL. * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$ et *** $p \leq 0,001$

3.5.6 Macrophages

Chez B6 et chez SJL, la nourriture HTL n'a pas influencé la population de macrophages (Figure 3.10 A et B). Toutefois, chez B6, il y a une augmentation du marqueur F4/80 à la surface des cellules dans les tissus ING, MES et PARA ce qui indique un changement de morphologie chez les macrophages (Figure 3.11 A).

CHAPITRE 4

DISCUSSION

4.1 Caractérisation des profils d'adipokines chez B6 et SJL du tissu PARA

La première étude de ce mémoire permet de caractériser le profil d'adipokines du tissu paramétrial des souris B6 et SJL. L'hypothèse de base était la suivante : la souris SJL a un profil inflammatoire plus élevé puisque la production de l'IL-12 par les macrophages stimulés avec les LPS est plus élevée comparativement à B6. Les adipokines suivantes ont été choisies : TNF- α , IL-6, leptine, MCP-1, IL-10, adiponectine, TGF- β 1, VEGF et CNTF afin de caractériser le profil du tissu PARA. La régulation de ces adipokines est affectée chez les sujets obèses. Se référer à l'introduction.

Le graphique 3.1 permettent de constater que la quantité d'adiponectine dans le tissu PARA est significativement plus élevée par rapport aux autres adipokines du tissu aussi bien chez B6 que chez SJL. Chez B6, la quantité d'adiponectine est environ 500 X à 8 000 X plus élevée comparativement aux autres adipokines. Chez SJL, la quantité d'adiponectine est environ 50X à 9 000X plus élevée comparativement aux autres adipokines. Les adipocytes du tissu adipeux sont les principales sources de l'adiponectine (Maeda et *al.*, 1996). Il est surprenant que les niveaux de leptine ne soient pas équivalents aux niveaux d'adiponectine. Chez la B6 et chez SJL, les niveaux de leptine sont respectivement 500X et 50X moins élevés que ceux de l'adiponectine. Tout comme l'adiponectine, la leptine est essentiellement produite par les adipocytes du tissu adipeux (Zhang et *al.*, 1994). Une déficience de cette dernière entraîne des conséquences métaboliques majeures telles que l'obésité, un niveau de lymphocyte T_H1 plus bas et un appétit accru. Les sujets sont susceptibles de contracter des

infections (Lord et *al.*, 1998 et Farooqui et *al.*, 2002). Nos résultats pourraient suggérer que des concentrations beaucoup plus faibles de leptine suffisent pour jouer des rôles physiologiques importants comme l'inhibition de l'appétit, le maintien du niveau de lymphocyte T_{H1}. Le contraire doit être valable pour l'adiponectine. Des concentrations plus importantes d'adiponectine doivent être nécessaires pour que cette hormone accomplisse ses fonctions. L'adiponectine permet entre autres d'augmenter la translocation des GLUT-4 du cytoplasme vers la surface des cellules musculaires (Ceddia et *al.*, 2004). Les souris déficientes en adiponectine ont un taux anormalement élevé d'acides gras sanguin. L'étude de Ma publiée en 2002 suggère que l'adiponectine joue un rôle dans l'assimilation des triglycérides sanguins (Ma et *al.*, 2002). L'adiponectine permettrait aussi d'inhiber le TNF- α (Maeden, 2002). Toutefois, notre étude ne permet pas d'évaluer si l'adiponectine produite par le tissu adipeux se retrouve dans la circulation sanguine.

La quantité élevée d'adiponectine contenue dans le tissu PARA pourrait s'expliquer par le dimorphisme sexuel. Chez l'humain, les concentrations plasmatiques d'adiponectine sont plus élevées chez les femmes que chez les hommes (Nishizawa et *al.*, 2002). De plus, chez les souris CD1 âgées de 9 semaines, la quantité d'ARN_m d'adiponectine contenue dans les tissus périgonadaux est plus élevée chez les femelles que chez les mâles (Gui et *al.*, 2004). Donc, la quantité élevée d'adiponectine contenue dans le tissu PARA pourrait être due au dimorphisme sexuel. Il faudrait caractériser le tissu adipeux épидидymaire de la souris mâle afin de vérifier si la quantité élevée d'adiponectine comparativement aux autres adipokines est due à un dimorphisme sexuel. Il se peut aussi que les tissus périgonadaux produisent plus d'adiponectine comparativement aux autres tissus.

Il est intéressant de mentionner que l'adiponectine est une adipokine anti-inflammatoire. Elle inhibe la prolifération des monocytes sanguins ainsi que la phagocytose de ces derniers (Ouchi, 1999). Chez les macrophages de porc stimulés avec les LPS, elle inhibe la production de TNF- α , IL-6 et induit la production d'IL-10 (Wulster-Radcliffe et *al.*, 2004). De plus, *in vitro*, elle inhibe les effets du TNF- α dans les cellules endothéliales vasculaires. Conséquemment, la quantité élevée d'adiponectine dans le tissu PARA pourrait empêcher

l'apparition de l'inflammation causée par une diète riche en lipides. Cette hypothèse sera vérifiée dans la section 4.3.

Nos résultats démontrent aussi que le tissu adipeux contient du TNF- α , IL-6, MCP-1, IL-10, TGF- β 1, VEGF et CNTF. Aucune de ces adipokines ne semble être produite plus fortement par rapport aux autres selon nos tests statistiques. Chacune de ces adipokines a des rôles qui ont été définis dans l'introduction.

La deuxième partie de cette étude compare les niveaux relatifs d'adipokines entre les souches B6 et SJL. L'usage de ratios a été nécessaire puisque les quantités d'adipokines ont été rapportées par gramme de tissu. Chez la souris SJL, la population d'adipocytes est 2 fois plus élevée que chez B6. Ce biais pourrait fausser les résultats si les quantités d'adipokines sont rapportées par gramme de tissus. Théoriquement pour un même gramme de tissu, il y aurait 2 fois plus de cellules. Cependant, visuellement le profil d'adipokine des souches B6 et SJL semble similaire. Se référer à la figure 3.1 A pour le profil d'adipokines de B6 et la figure 3.1 B pour le profil de SJL. Pour vérifier si les profils sont identiques, chaque adipokine a été rapportée par rapport aux autres adipokines d'une même souche. Ainsi, on a obtenu les quantités relatives pour chacune des adipokines. Les quantités relatives ont été comparées entre les 2 souches.

Les ratios de TNF- α ou de VEGF sur IL-6, MCP-1, IL-10, TGF- β 1 et CNTF sont plus élevés chez SJL que chez B6. Se référer à la section 3.1.2 pour les résultats. Ces données suggèrent que le TNF- α et le VEGF sont produits de façon plus abondante chez SJL que chez B6. Il est intéressant de mentionner que le TNF- α régule le VEGF (Bottomley et al, 1999 et Wang et al., 2006). Le TNF- α est un inducteur du VEGF (Bottomley et *al.*, 1999). In vitro, le TNF- α augmente la production de VEGF chez les préadipocytes humains (Wang et *al.*, 2006). Il se pourrait que la forte production de TNF- α chez la souris SJL induise une hausse de la production de VEGF. Pour vérifier cette hypothèse, il faudrait injecter à la souris un inhibiteur du TNF- α . Si cette hypothèse se révèle exacte, la production de VEGF devrait diminuer.

La prédisposition de la souris SJL à développer des maladies auto-immunes du type T_H1 pourrait expliquer la quantité de TNF- α plus élevée. Ce dernier est un co-activateur de la voie classique (Alleva, 2001 ; Hackett, 1988). Cependant, aucune étude n'a prouvé que la souris SJL produisait de façon plus importante du TNF- α que la souris B6. De plus, l'étude d'Alleva a démontré que les macrophages des souris SJL stimulés aux LPS produisaient du TNF- α , de l'IL-6 et de l'IL-10 dans les mêmes proportions que la souris B6. Il y a seulement l'IL-12 qui est produite de façon plus abondante comparativement à B6 lorsque les macrophages de la souris SJL sont activés avec les LPS. Il ne faut pas perdre de vue aussi que la réponse excessive à des agents pathogènes est due à des anomalies des suppresseurs qui participent à la tolérance du soi (Amagai et Cinader, 1981). En résumé, aucune littérature ne permet de supposer que la souris SJL ait des anomalies génétiques qui feraient en sorte que la production de TNF- α soit plus forte que chez la souris B6. Il y a une autre théorie qui permettrait d'expliquer à la fois la quantité de TNF- α et de VEGF plus élevée. La souris SJL est susceptible de développer une maladie qui ressemble à la maladie de Hodgkin (Yumoto et Dmochowski., 1967). Cette maladie entraîne un cancer dans les organes lymphoïdes secondaires. Chez les patients atteints de cette maladie, il y a augmentation de la production du TNF- α et du VEGF (Passam, 2006). Si nos souris SJL avaient développé un cancer, la production de TNF- α et de VEGF serait plus grande.

La production plus élevée de TNF- α pourrait avoir des conséquences sur la santé des souris si ces dernières sont engraisées. Le TNF- α est une adipokine pro-inflammatoire puisqu'elle permet en outre l'activation de la réponse T_H1 des macrophages (Hackett, 1988). Chez les personnes obèses la production de TNF- α par le tissu adipeux augmente. Cette augmentation conduirait à une inflammation dans le tissu adipeux (Kern et al., 1995). De plus, le TNF- α conduirait à une résistance à l'insuline (Stephens, 1997). Chez SJL, la quantité élevée de TNF- α pourrait contribuer à augmenter l'inflammation lorsque ces souris deviennent obèses. De plus, elles pourraient développer plus rapidement des maladies associées à l'obésité. Cette hypothèse sera vérifiée dans la section 4.4.

Quant à lui le VEGF permet la formation de nouveaux vaisseaux sanguins lorsque le tissu est en hypoxie (Loureiro et D'Amoure, 2005). Chez les personnes obèses, la quantité de VEGF diminue malgré que le tissu soit en hypoxie (Pasarica et *al.*, 2009). La quantité élevée de VEGF chez SJL pourrait maintenir un niveau acceptable d'oxygénation des tissus. Cette hypothèse ne sera pas vérifiée dans le présent mémoire.

Curieusement, les rapports de TNF- α ou de VEGF sur la leptine et l'adiponectine sont équivalents entre les deux souches. On remarque que les écarts types des moyennes des ratios sont très élevés. Il y a environ 50% à 100% de variation entre les ratios d'une même souche. Se référer au tableau 3.1 pour les écarts types des ratios. Ces variations suggèrent que la production de leptine et d'adiponectine varie au cours d'une journée. La leptine est régulée par le cycle circadien et la nourriture (Pu, 2000). Donc, la production de leptine n'est pas stable au cours d'une journée contrairement au TNF- α . Chez les humains sains, le niveau de TNF- α est stable tout au long de la vie. Pour qu'il y ait une production de TNF- α chez l'humain, il faut une stimulation d'un agent pathogène ou le développement d'une maladie (Fagiolo et *al.*, 2005). Les deux régulations de la leptine pourraient expliquer les fortes variations observées. Pour l'adiponectine, les mécanismes de régulation sont encore peu connus. Par contre, l'adiponectine est régulée de façon négative avec l'insuline et le TNF- α (Fasshauer et *al.*, 2001). Bref, les différents mécanismes de régulation pourraient faire varier la production d'adiponectine et de leptine au cours d'une journée.

En conclusion, la quantité relative de TNF- α et de VEGF est plus importante chez SJL par rapport à la majorité des adipokines dosées. La production de TNF- α plus élevée chez SJL pourrait entraîner des effets néfastes lorsque ces dernières sont engraisées.

4.2 Comparaison entre les tissus ING, MES et PARA entre les souches B6 et SJL

4.2.1 Population cellulaire

Selon les données obtenues par cytométrie de flux, pour la souche B6, les pourcentages d'adipocytes et de macrophages sont équivalents entre les tissus ING, MES et PARA. Toutefois, les diamètres des adipocytes sont différents entre les tissus.

Chez B6, l'ordre de grosseur des diamètres est le suivant : PARA > ING > MES. La différence entre les diamètres cellulaires pourrait s'expliquer par un pouvoir lipolytique différent ou par l'activité de la LPL. Chez l'humain, le tissu MES a un pouvoir lipolytique plus grand que les autres tissus (Reynisdottir et *al.*, 1997, Ostmen, 1979, Arner, 1995). Toujours chez l'humain, le tissu MES a plus de récepteurs aux catécholamines que les 2 autres tissus (Arner, 1995). Une lipolyse plus importante pourrait empêcher l'accumulation de lipides dans le tissu MES. La différence des diamètres cellulaires pourrait s'expliquer aussi par l'activité de la LPL. La LPL permet l'incorporation des acides gras dans la cellule. Chez la femme les adipocytes du tissu sous cutané sont 18% plus gros que ceux de l'omental. Toujours chez la femme, l'activité de la LPL est plus importante dans le tissu adipeux sous cutané comparativement au tissu omental (Tchernof et *al.*, 2006). Une activité de la LPL plus faible dans le tissu MES empêcherait l'incorporation des triglycérides dans les cellules adipeuses et conduirait à un diamètre plus petit. Chez les souris aucune littérature à notre connaissance ne compare la lipolyse ou l'activité de la LPL des différents sites. Néanmoins, nos résultats démontrent que les diamètres cellulaires sont différents selon les sites. Une lipolyse basale plus élevée, une sensibilité aux catécholamines plus grande ou une activité de la LPL moins élevée pourraient expliquer un diamètre cellulaire plus petit dans le tissu MES. Le tissu ING aurait un pouvoir lipolytique se situant entre le tissu MES et PARA. Finalement, le PARA aurait la lipolyse la plus faible.

Chez la souris SJL, il n'y pas de différence de population entre les tissus adipeux. Quant au diamètre cellulaire, le diamètre cellulaire moyen du tissu PARA est plus grand que celui du MES. Cette différence pourrait s'expliquer aussi par leur pouvoir lipolytique. Il peut

s'expliquer aussi par l'activité de la LPL plus élevée (Reynisdottir et *al.*, 1997, Ostmen, 1979, Arner, 1995; Tchernof et *al.*, 2006).

4.2.2 Comparaison des adipokines entre les 3 tissus adipeux

Les 5 adipokines (TNF- α , IL-6, leptine, IL-10, adiponectine et TGF- β 1) ont été dosées dans les tissus ING, MES et PARA. La production d'adiponectine est plus abondante dans tous les tissus aussi bien chez B6 que chez SJL par rapport aux autres adipokines. Chez B6, l'adiponectine est produite 2X à 20X plus par rapport aux autres adipokines. Chez SJL, la production d'adiponectine est 200X à 2019X plus élevée par rapport aux autres adipokines. Pour comparer les ratios se référer aux tableaux 3.2, 3.3 et 3.4 du chapitre 3. Ces résultats confirment l'étude précédente. L'étude précédente a permis de déterminer que la quantité d'adiponectine était plus élevée dans le tissu PARA comparativement aux autres adipokines. Ces résultats confirment la forte production d'adipokines par les trois tissus adipeux.

Nos résultats démontrent également que le tissu adipeux produit aussi du TNF- α , de l'IL-6 et du TGF- β 1. Les rôles physiologiques de ces derniers sont très nombreux surtout lors d'une infection. Cependant, ces adipokines sont produites par une multitude de cellules dont les sites sont situés ailleurs que le tissu adipeux. Par exemple, le TNF- α et l'IL-6 sont produits en outre par les macrophages, les lymphocytes, neutrophiles, les astrocytes, les fibroblastes, les cellules des muscles lisses (Cavaillon, 1996). Aucune littérature ne rapporte l'impact de la production de ces cytokines sur le système sanguin ou sur le métabolisme lorsque les sujets sont en santé. Il ne faut pas perdre de vue que le but de cette étude est de comparer les différents sites du tissu adipeux d'un point de vue immunologique et non de vérifier l'aspect physiologique.

En résumé, l'adiponectine est l'adipokine la plus synthétisée dans le tissu adipeux comparativement aux autres adipokines dosées pour les trois tissus adipeux. Comme mentionné auparavant, cette adipokine a des propriétés anti-inflammatoires. Sa forte quantité dans le tissu adipeux pourrait assurer une protection contre les agents inflammatoires. La

prochaine section va permettre de déterminer si le profil d'adipokines varie d'un tissu à l'autre.

Les niveaux d'adipokines des différents tissus ont été comparés. Les niveaux de production de chacune des adipokines sont équivalents d'un site à l'autre à quelques exceptions. Nos résultats confirment les résultats de l'étude de Montague même si les modèles sont différents. L'étude de Montague a porté chez l'humain ayant des poids normaux. Elle a démontré que la localisation des tissus (sous cutané et omental) n'influençait pas la production des adipokines. Les niveaux de TNF- α et de leptine étaient identiques entre les tissus sous cutané et omental (Montague *et al.*, 1998).

Chez la souris B6, il n'y a pas de différence dans les niveaux de production des adipokines entre les tissus à l'exception de l'IL-10. En effet, la quantité d'IL-10 est plus forte dans le tissu PARA comparativement aux tissus MES (5X) et ING (3X). Dans le tissu adipeux, l'une des cellules qui produit de l'IL-10 est le macrophage. La production plus abondante d'IL-10 ne peut cependant pas s'expliquer par le pourcentage de macrophages dans le tissu adipeux. La source de l'IL-10 pourrait donc provenir de cellules qui n'ont pas été présentées dans l'introduction du présent mémoire. Le tissu adipeux contient aussi des lymphocytes, des fibroblastes et des monocytes (Juge-Aubrey *et al.*, 2005 et Kintscher, 2008). Ces cellules sont capables de produire de l'IL-10 (Del prete, 1993; Juge-Aubrey *et al.*, 2005). L'IL-10 est une puissante cytokine anti-inflammatoire. Une injection de 1 000 unités de l'IL-10 permet la survie des souris injectées avec 500 μ g de LPS, une dose qui tue normalement 50% des animaux (Gérard *et al.*, 1993). L'IL-10 inhibe la réponse T_H1 en inhibant en outre la production de TNF- α des macrophages (Fiorentino *et al.*, 1991). La production plus accrue d'IL-10 dans le tissu PARA suggère un potentiel anti-inflammatoire plus grand que les deux autres tissus. Toutefois, il faudrait démontrer que la quantité de l'IL-10 a un effet physiologique intéressant.

Chez les souris B6 mâles engraisés, le tissu MES produit une quantité supérieure de MCP-1 que d'autres tissus adipeux comme le tissu sous cutané, rénal et épидидymaire. De plus, la quantité de macrophages est plus importante au niveau du MES (Yu *et al.*, 2006). Finalement, selon nos résultats, l'inflammation observée dans MES chez les souris mâles

engraissées dans l'étude de Yu publiée en 2006 ne peut s'expliquer par un tissu davantage pro-inflammatoire. Toutefois, la quantité de l'IL-10 plus élevée observée dans le tissu PARA pourrait empêcher l'inflammation de s'installer lorsque les souris sont engraisées.

Il est important de mentionner que des études ont rapporté que le diamètre des adipocytes influençait la production de la leptine et d'adiponectine (Skurk, 2007 et Guo, 2004). Dans la présente étude les différences entre les diamètres cellulaires des 3 tissus investigués n'influencent pas la production de ces deux adipokines. Il existe d'ailleurs une différence entre les résultats de notre étude et ceux de Skurk publiés en 2007 et de Guo publiés en 2004. Les études de Skurk (2007) et de Guo (2004) ont isolé des adipocytes provenant de sujets obèses. Notre étude utilisait des animaux en santé. Il se peut que la production d'adipokines ne soit pas affectée par la grosseur des diamètres cellulaires lorsque les sujets ont un poids santé. Il se peut aussi qu'il subsiste une différence entre l'humain et la souris, c'est-à-dire que les mécanismes de régulation observés chez l'homme ne s'appliquent pas à la souris.

Chez SJL, la production d'adipokines est équivalente entre les tissus adipeux sauf dans le cas de l'IL-6 et de la leptine. La production d'IL-6 est 1.4 X plus forte dans le tissu ING comparativement au tissu MES. La production de leptine est 2X plus forte dans le tissu PARA comparativement au tissu MES. L'IL-6 a des propriétés pro-inflammatoires et anti-inflammatoires. Cependant, dans un contexte d'obésité, l'IL-6 est considérée comme une adipokine pro-inflammatoire puisqu'elle induirait une résistance à l'insuline (Rotter et *al.*, 2003). La leptine est elle aussi une adipokine pro-inflammatoire puisqu'elle est une activatrice de la réponse T_H1 (Martin-Romero et *al.*, 2000). La production d'IL-6 et de leptine plus élevée suggère que le tissu ING et PARA ont des propriétés pro-inflammatoires plus élevées comparativement au MES. Toutefois, la quantité de l'IL-6 n'est pas vraiment plus abondante (1.4 X). Il faudrait vérifier si la quantité plus élevée a un impact physiologique. Le même raisonnement est valable pour la leptine.

La production de l'IL-6 ne peut s'expliquer par les populations de macrophages ou d'adipocytes contenus dans le tissu adipeux puisque les pourcentages de cellules sont équivalents entre les tissus. La source d'IL-6 pourrait provenir d'un pouvoir accru des

adipocytes, des préadipocytes ou des macrophages à produire de l'IL-6 (Harkins et *al.*, 2004; Fain et *al.*, 2004). Pour vérifier cette hypothèse, il faudrait isoler les cellules des tissus ING et MES, incuber les adipocytes avec un nombre égal de cellules et comparer la production entre les cellules provenant des 2 tissus différents. Il ne faut pas oublier que le tissu adipeux contient d'autres cellules comme les lymphocytes et les fibroblastes (Juge-Aubrey et *al.*, 2005 et Kintscher, 2008). Ces cellules sont capables de produire de l'IL-6. La source d'IL-6 pourrait provenir de ces cellules mais aucune étude ne permet d'appuyer cette possibilité.

La production de leptine 2X plus élevée dans le tissu PARA comparativement au MES pourrait s'expliquer par les diamètres cellulaires. En effet, la production de leptine est proportionnelle à la grosseur des adipocytes (Guo et *al.*, 2004). Le tissu PARA contient des adipocytes dont le diamètre est 1.6 X plus élevé comparativement au MES. Cette caractéristique pourrait expliquer la quantité de leptine plus importante dans le tissu PARA.

En résumé, la majorité des adipokines sont produites de façon équivalente dans les tissus ING, MES et PARA que ce soit chez B6 et SJL. Chez B6, la production basale plus élevée d'IL-10 dans le PARA conférerait un potentiel anti-inflammatoire comparativement au tissu ING et MES. Chez SJL, la production d'IL-6 et de leptine donnerait un pouvoir pro-inflammatoire pour les tissus ING et PARA. La section 5 permet de vérifier si les variations de la quantité d'adipokines basale contenue dans les tissus adipeux a un impact lorsque les souris sont nourries avec un régime HTL.

4.3 Comparaison entre les souches B6 et SJL

4.3.1 Poids et prise alimentaire

La prise alimentaire et le poids des souris âgées au départ de 6 semaines ont été suivis pendant 12 semaines. La prise alimentaire est équivalente entre les deux souches tout au long de l'étude. Malgré une consommation identique, les poids moyens de la souris B6 sont 1.1 X plus élevé significativement que celui de la souris SJL. Les expériences ne permettent pas

d'établir si la différence est due à la masse adipeuse, à la masse musculaire ou à l'ossature. Néanmoins, il subsiste une différence de poids entre les deux souches pour des souris âgées entre 6 semaines et 18 semaines.

4.3.2 Population cellulaire

Les populations de macrophages et d'adipocytes ont été comparées entre les deux souches. Le pourcentage de macrophages contenu dans la fraction stroma vasculaire est le même dans les deux souches. Le bagage génétique différent de ces 2 souches de souris ne semble donc pas influencer ce paramètre.

Nos résultats démontrent cependant que le pourcentage d'adipocytes contenu dans le tissu adipeux est 2 fois plus élevé chez SJL que chez B6. Par contre, chez SJL le diamètre cellulaire est 0.6 fois plus petit. Ces données suggèrent que le mécanisme d'emmagasinage des lipides est différent entre les souris. La souris B6 semble emmagasiner plus de lipides par adipocyte, tandis que SJL favoriserait une différenciation cellulaire plus élevée. Ces paramètres indiquent des différences entre les souches.

4.3.3 Comparaison des niveaux d'adipokines entre les souches B6 et SJL

Les niveaux de chacune des adipokines entre les souches ont été comparés. Il s'est révélé qu'il existe des différences importantes entre les deux souches.

Dans un premier temps, la quantité d'IL-6 et de leptine est plus élevée de 3X à 5X chez B6 que chez SJL et cela pour les tissus ING, MES et PARA. Se référer à la section 3.3.4 pour la description des résultats. Dans les cas d'obésité, la production d'IL-6 augmente dans le tissu adipeux (Mohamed Ali et al, 1997; Bastard et al, 2000; Vozarova et al, 2001). Cette augmentation aggraverait le diabète du type II. L'IL-6 induit une résistance partielle à l'insuline chez les cellules 3T3-L1 (Rotter et al., 2003). Chez les personnes obèses,

l'augmentation du taux de leptine sanguin est associée à des maladies telles que le diabète du type II, et l'arthrose (Terlain, 2005; Widjaja, 1997). Pour ces raisons, l'IL-6 et la leptine sont considérées comme des adipokines pro-inflammatoires. La production d'IL-6 et de leptine plus élevée chez B6 comparativement à SJL suggère que la souche B6 a un potentiel inflammatoire plus élevé que la souche SJL.

La comparaison des niveaux des adipokines anti inflammatoires renforce davantage cette hypothèse. Le niveau d'adiponectine est environ 100 fois moins élevé chez B6 que chez SJL et cela pour les tissus ING, MES et PARA. L'adiponectine aurait un rôle protecteur contre la résistance à l'insuline en inhibant entre autre la production de TNF- α (Maeda, 2002). Pour cette raison, l'adiponectine est considérée comme une adipokine anti-inflammatoire. De plus, la quantité d'IL-10 est plus faible dans le tissu ING de B6 que chez SJL. L'IL-10 inhibe l'activité des macrophages (Fiorentino et al., 1991; Waal Melefyt et al, 1991; Boddan et al., 1991; Gazzinelli et al., 1991). Cependant la production de TGF- β 1 est plus forte chez B6 que chez SJL dans le tissu PARA. Le TGF- β 1 inhiberait la prolifération cellulaire des T_H1 ainsi que la production d'INF- γ (Rudner, 2003). Malgré cela, l'ensemble des données indique que le tissu adipeux de la souris B6 possède un potentiel pro-inflammatoire plus élevé que la souris SJL. Les différences entre les niveaux d'adipokines des deux souches peuvent être partiellement expliquées par les populations cellulaires.

Chez B6, la production plus élevée d'IL-6 ne peut s'expliquer par une population plus élevée de macrophages ou d'adipocytes car le pourcentage de la population est le même. La production accrue d'IL-6 doit donc provenir d'autres cellules telles que les lymphocytes ou les monocytes (Harkins et al., 2004; Fain et al., 2004). Elle peut être reliée aussi à une capacité des cellules (macrophage, préadipocyte ou adipocyte) à produire une quantité supérieure d'IL-6. L'isolation des cellules doit être faite pour vérifier cette hypothèse, ce qui n'a pas été fait dans la présente étude.

Quant à la leptine, elle est produite par les adipocytes. Encore une fois, la population d'adipocytes ne peut expliquer la production plus élevée de leptine. Le pourcentage d'adipocytes dans les tissus est même deux fois moins élevé chez B6 que chez SJL.

Logiquement, la capacité des adipocytes à produire la leptine doit être plus accrue chez B6, la production de leptine étant corrélée avec la grosseur des adipocytes (Guo, 2002). Ainsi, les diamètres plus élevés chez B6 pourraient expliquer la production de leptine plus élevée.

La production 100 fois plus élevée d'adiponectine chez SJL que B6 pourrait cependant s'expliquer par les différences de population d'adipocytes. La population d'adipocytes est effectivement 2 fois plus nombreuse chez SJL que chez B6. Vu l'écart élevé entre les souches, il se pourrait de plus que les adipocytes chez SJL aient une capacité supérieure à produire de l'adiponectine. L'isolation des adipocytes permettrait de vérifier cette hypothèse. Si les adipocytes des souches B6 et SJL sont isolées et incubées avec un nombre identique de cellules, on va pouvoir déterminer si les adipocytes des souris SJL ont une capacité supérieure à produire de l'adiponectine.

La comparaison des niveaux d'adipokines présente beaucoup de problématiques puisque les quantités d'adipokines ont été rapportées par quantité totale de protéines et conséquemment, deux aspects doivent être pris en considération lors de l'interprétation des résultats. La première est que l'on suppose que les macrophages, les préadipocytes ou les adipocytes produisent la même quantité de protéines. Si les adipocytes ne produisent pas la même quantité de protéines que les autres cellules, la population d'adipocytes 2X plus élevée chez SJL pourrait fausser les résultats. Deuxièmement, on suppose que les cellules des deux souches produisent la même quantité de protéines. Exemple, l'adipocyte de B6 produit autant de protéines que celui de SJL. Dans le cas contraire, les données pourraient être faussées. Pour vérifier cette hypothèse, il faudrait isoler les cellules.

Pour réduire les effets des variables précédentes, des ratios ont été calculés. Chacune des adipokines a été rapportée par rapport aux autres adipokines. Ensuite, la moyenne des ratios a été comparée entre les souches B6 et SJL. Se référer à la section 3.3.5 ou aux tableaux suivants : 3.2, 3.3 et 3.4. Les ratios n'étaient pas vraiment nécessaires mais ils permettent de contre vérifier les résultats obtenus par une comparaison directe. Les ratios confirment une partie des résultats. L'adiponectine est produite de façon plus importante chez la souris SJL pour les trois tissus. Le tissu ING de la souche SJL produit de façon plus importante de l'IL-

10 alors que le tissu MES chez B6 produit de façon plus importante de la leptine. Finalement, la conclusion est similaire à celle émise plus tôt c'est-à-dire que le tissu adipeux de la souris SJL pourrait avoir un potentiel anti-inflammatoire plus élevé que la souris B6. Cependant, les ratios ne permettent pas d'établir une différence des niveaux d'IL-6 et de leptine entre les deux souches. Cette différence peut être expliquée par les problèmes énumérés au paragraphe précédent lorsque les protéines sont rapportées par quantités de protéines totales. Il est cependant surprenant de donner un caractère anti-inflammatoire à la souris SJL car elle est connue pour sa réponse de types T_H1 lors d'une infection (Alleva, 2001). Cependant, il y a plusieurs explications à cette situation.

Premièrement, les souris ne sont atteintes d'aucune maladie. Conséquemment, les macrophages ne sont pas activés. Deuxièmement, la plupart des études n'ont pas été faites sur le tissu adipeux. Il s'agit donc d'une caractéristique attribuée au tissu adipeux et non d'une caractéristique de la souris dans son entier. Il ne faut pas oublier aussi que la réponse T_H1 est due à des anomalies de la reconnaissance des supresseurs qui participent à la tolérance du soi et non à une anomalie qui favorise la production de protéines pro-inflammatoires excepté pour l'IL-12. Par contre, les résultats de ce présent mémoire sont contradictoires. Notre première analyse de ratios démontre que la souris SJL produit une quantité supérieure de TNF- α et notre seconde analyse de ratios démontre que c'est l'adiponectine qui est produite de façon supérieure. Il existe plusieurs explications à ce phénomène.

Le dosage des adipokines par le LUMINEX a démontré que la production de TNF- α est plus importante chez SJL comparativement à B6. Les différences entre les résultats peuvent s'expliquer par le type de nourriture. Les adipokines dosées par le LUMINEX étaient faites pour des souris nourries avec un régime contenant 5% de lipides, tandis que celles utilisées pour les expériences avec des ELISA ont été nourries avec un régime contenant 10% de lipides. Le régime pourrait être à l'origine de ces variations.

En conclusion, que la production d'adipokines soit comparée directement ou sous forme de ratios, il y a des différences entre les 2 souches. Le bagage génétique des 2 souches de souris a donc pu influencer le profil d'adipokines. De plus, la production élevée d'adiponectine

chez la souris SJL pourrait avoir un effet protecteur contre l'inflammation. L'adiponectine a de nombreux effets sur les macrophages. Elle inhibe la prolifération des monocytes sanguins ainsi que la phagocytose de ces derniers (Ouchi, 1999). Chez les macrophages de porc stimulés aux LPS, elle inhibe la production de TNF- α et d'IL-6 et elle induit la production d'IL-10 (Wulster-Radcliffe et *al.*, 2004). De plus, *in vitro*, elle inhibe les effets du TNF- α dans les cellules endothéliales vasculaires. Par conséquent, la souris SJL est peut être protégée du processus inflammatoire lorsque les souris sont engraisées. La section 4.4 suivante permettra de vérifier cette hypothèse.

4.4 Effet de la nourriture HTL sur les souches B6 et SJL

4.4.1 Prise alimentaire et le poids

Chez B6 et SJL, la prise alimentaire est identique entre le groupe témoin et HTL sauf dans les premières semaines de l'expérience. Elle est alors plus importante chez le groupe ayant reçu un régime HTL. Cette hausse peut s'expliquer par un goût plus prononcé pour la nourriture HTL. L'étude de Smith démontre que les souches B6 et SJL préfèrent la nourriture riche en lipides comparativement à la nourriture riche en hydrates de carbone ou en protéines (Smith, 1998). Cependant, une fois que les souris sont habituées à la nourriture, elles diminuent leur consommation de nourriture. Les diètes n'ont cependant pas influencé le poids des souris.

Pour B6 et SJL, il n'y a pas de gain de poids significativement différent entre le groupe témoin et HTL. Pour la souche B6, nos résultats diffèrent de ceux de West. L'étude West a démontré que les souris B6 mâles engraisent de 32% lorsqu'elles sont nourries avec un régime HTL pendant 7 semaines (West, 1993). Le dimorphisme sexuel pourrait être à l'origine de ces résultats contradictoires puisque des souris femelles sont utilisées dans notre étude. Cependant, aucune étude ne peut appuyer cette affirmation. La majorité des études qui traitent de l'engraissement des souris utilisent des souris mâles. Il y a quelques études qui utilisent des femelles ob/ob mais ces souris sont destinées à engraisser facilement. Chez le rat, il y a des études qui portent sur la différence entre l'engraissement des mâles et des

femelles mais ces études rapportent également un gain de poids significatif chez le rat femelle. Il faudrait refaire l'expérience avec des souris femelles et des mâles pour vérifier cette hypothèse. Par contre, le graphique 3.9 C démontre une augmentation du poids non significative entre la 9^{ème} semaine et la 12^{ème} semaine. Cette augmentation suggère que l'expérience a été arrêtée au début d'un processus d'engraissement. Pour vérifier si cette augmentation se maintient, il faudrait poursuivre l'expérience au-delà de 12 semaines. Pour la souris SJL, les résultats confirment l'étude de West qui lui démontrait que la souris SJL était résistante à un engraissement (West, 1993).

En résumé, les souris femelles C57BL/6 et SJL âgées de 6 semaines ne développent pas un surpoids lorsqu'elles sont nourries avec un régime HTL pendant douze semaines. L'étude des adipocytes permet de vérifier s'il y a eu un engraissement.

4.4.2 Effet de la nourriture HTL sur la taille de l'adipocyte

L'obésité entraîne une augmentation des diamètres cellulaires parce que les lipides s'accumulent dans leurs vacuoles (Hirsch et Batchelor, 1976). Pour la souche B6, le diamètre cellulaire ne varie pas entre les groupes témoins et HTL. De plus, le marquage par le rouge de Nil démontre qu'il n'y pas d'augmentation de lipides dans les cellules adipeuses. Ces résultats suggèrent qu'il n'y ait pas d'engraissement pour le groupe HTL. Néanmoins chez B6, les diamètres cellulaires sont plus élevés dans le groupe HTL que le groupe témoin. Toutefois, l'augmentation n'est pas significative. Ce résultat renforce l'hypothèse énoncée précédemment c'est-à-dire que l'expérience a été arrêtée au début d'un possible processus d'engraissement.

Chez SJL, il y a une augmentation du diamètre cellulaire dans le tissu MES uniquement. Le tissu MES apparaît ainsi plus sensible à la nourriture HTL que les autres tissus. Toutefois, selon les résultats du rouge de Nil, la quantité de lipides contenus dans les adipocytes est équivalente entre les deux groupes. En résumé, les données actuelles ne permettent pas d'établir que la nourriture HTL induit une augmentation de la quantité de lipides chez la

souris SJL. Finalement, les diamètres cellulaires et la fluorescence de F480 ne permettent pas d'affirmer s'il y a eu un engraissement chez B6 et chez SJL. L'étude du pourcentage d'adipocytes permet de renforcer cette hypothèse. Dans les cas d'obésité, une augmentation de la différenciation cellulaire est généralement observée (Fève et *al.*, 1998). Ce processus permet d'emmagasiner le surplus de lipides (Fève et *al.*, 1998). Dans la présente étude, le pourcentage d'adipocytes ne varie pas entre les groupes témoins et les groupes HTL. Donc, on n'est pas en mesure d'affirmer s'il y a eu dédifférenciation.

En résumé, il n'y a aucune donnée qui permette d'affirmer que les souris ont engraisé. Malgré cela, la nourriture HTL a eu des effets sur le profil des adipokines essentiellement chez B6 comme on le rapporte dans la section suivante.

4.4.3 Effet de la nourriture HTL sur les adipokines pour la souche B6

4.4.3.1 Les tissus sensibles à la nourriture HTL

Chez B6, la nourriture HTL influence le profil d'adipokines. La réponse est différente d'un tissu à l'autre. Le profil d'adipokines ne varie pas dans le tissu ING. Quant au tissu PARA, seulement 2 adipokines sont sensibles à la nourriture HTL. La production de leptine augmente de 1.5 X et la production de TNF- α diminue de 1.2 X.

Par contre, le profil d'adipokines du tissu MES est fortement affecté par la nourriture HTL. Il y a une augmentation de la production aussi bien des adipokines pro-inflammatoires (TNF- α (2X), IL-6 (2X) et leptine (3X)) qu'anti-inflammatoires (IL-10 (3X) et adiponectine (2X)). Seul le TGF- β 1 qui n'est pas affecté. Ces résultats démontrent que l'obésité n'est pas le seul facteur à entraîner ou initier les changements au niveau du métabolisme adipeux. Cette étude démontre en effet que les changements métaboliques pour le tissu MES surviennent avant l'engraissement. Bref, une nourriture riche en lipides est capable d'induire des changements dans le métabolisme du tissu adipeux et dans sa production d'adipokines. De plus, le fait que

ce soit le tissu MES qui réagisse davantage à la nourriture renforce l'idée que le métabolisme du tissu MES a des conséquences sur la santé.

Des études ont démontré que le tissu MES ou omental des sujets ayant un surplus de poids est associé à des problèmes de santé tel que le diabète du type II et les maladies du cœur (Deprés *et al.*, 2001; Vague, 1947). De plus, ce tissu contribue plus fortement à la production d'adipokines pro-inflammatoires comparativement aux autres tissus (Fain *et al.*, 2004; Fontana *et al.*, 2007). Notre étude démontre que le tissu MES est un tissu sensible à l'alimentation. La hausse de production des adipokines pourrait avoir des conséquences sur la santé avant même qu'il y ait un excès de poids significatif. L'augmentation plasmatique de TNF- α et de l'IL-6 est associée à de nombreux problèmes de santé tel que le diabète du type II (Rotter *et al.*, 2003; Lagathu *et al.*, 2003 et Stephens *et al.*, 1997). Cependant, l'augmentation de TNF- α et d'IL-6 observée chez nos souris n'affecte pas leur glycémie prise à jeun. Le dosage des adipokines sanguines aurait été nécessaire pour évaluer s'il y a un effet systémique. Une augmentation des adipokines pro-inflammatoires sanguines pourrait entraîner une inflammation chronique. Toutefois, les méthodes utilisées ne permettaient pas le dosage des adipokines sanguines. La sensibilité des ELISA n'était pas assez élevée pour permettre une détection des valeurs sanguines. Bref, aucune donnée ne permet de vérifier si les changements observés ont un impact au niveau du métabolisme.

En résumé chez B6, une alimentation riche en lipides a des conséquences sur le métabolisme du tissu adipeux MES sans qu'il ait une accumulation de lipides. Le tissu PARA est affecté par la nourriture HTL mais beaucoup moins que le tissu MES tandis que le tissu ING n'est pas affecté par la nourriture HTL.

4.4.3.2 Mécanismes

Dans le tissu MES, l'augmentation de la production de TNF- α , d'IL-6, de leptine, d'IL-10 est rapportée par plusieurs autres études chez les sujets obèses (Hotamisligil, 1993; Mohamed Ali *et al.*, 1997; Van Harmelen, 1998). Dans notre étude, il s'avère que la nourriture HTL

augmente la production de ces adipokines sans qu'il y ait une augmentation de poids. Malgré une production de TNF- α , d'IL-6 et de leptine plus élevée respectivement de 2X, 2X et de 3X, il est impossible de déterminer si l'augmentation a un impact physiologique sur le tissu adipeux. Le TNF- α induit une dédifférenciation des cellules adipeuses (Ruan, 2002, Zhang, 2000). Pour évaluer si le TNF- α a un impact sur les adipocytes, il aurait fallu isoler les adipocytes et doser l'ARN_m des marqueurs spécifiques de l'adipocyte tel que la HSL, la leptine et l'adiponectine. La dédifférenciation induit une diminution de la production de ces protéines (Ruan, 2002, Zhang, 2000). Le TNF- α et l'IL-6 stimulent la lipolyse. Il aurait été intéressant de vérifier si la lipolyse basale des souris HTL est augmentée comparativement au groupe témoin (Path, 2001; Sumida, 1997, Ryden, 2002 et Souza, 1998). La leptine est une hormone qui inhibe l'appétit (Zhang et al., 1994). Les niveaux de leptine sont augmentés de 3X dans le MES et de 1.5X dans le PARA. Malgré cette augmentation, l'appétit des souris HTL est identique à celui du groupe témoin. Ces données indiquent que l'augmentation de leptine observée n'est pas assez élevée pour qu'il ait un effet sur l'inhibition de l'appétit. À moins qu'il y ait un phénomène de résistance qui se soit développé. Les patients atteints d'obésité développent une résistance à leptine. Malheureusement les souris n'ont pas pris de poids donc cette théorie n'est pas vraiment probable. Il aurait fallu un dosage sanguin de la leptine pour vérifier l'augmentation au niveau systémique.

L'augmentation de la production d'adiponectine observée dans notre étude va dans le sens contraire de l'étude d'Arita (Arita, 2002). L'étude d'Arita observe une diminution de la production de l'adiponectine chez les femmes obèses. La différence entre les modèles seraient peut être à l'origine de ces variations. Deuxièmement, les souris HTL n'ont pas de surplus de poids significatif contrairement aux sujets de l'étude d'Arita. Il se peut qu'avant un gain de poids significatif, il y ait une augmentation d'adiponectine et suivie d'une diminution de cette dernière.

L'augmentation des adipokines pro-inflammatoires et anti-inflammatoires dans le tissu MES suggère un début d'inflammation. Comme le TNF- α est un inducteur pivot dans les processus inflammatoires, il serait logique que la nourriture HTL induise la production de TNF- α en premier. Ensuite, le TNF- α induirait une augmentation d'IL-6 (Pasparakis, 2001). Pour

résorber l'inflammation, le TNF- α activerait la production de l'IL-10 (Duffield, 2003; Juge-Aubrey et *al.*, 2005). De son côté, l'augmentation d'adiponectine pourrait contribuer à diminuer l'inflammation. Chez les patients atteints de la maladie Chron's, il y a une augmentation d'adiponectine. Cette augmentation jouerait un rôle protecteur contre l'inflammation. Une corrélation négative est rapportée entre la production d'adiponectine et de l'IL-6 dans le tissu chez les patients atteint de la maladie de Chron. Bref, l'adiponectine pourrait inhiber la production d'IL-6 chez les patients atteint de la maladie de Chron (Yamamoto, 2005). Alors, l'augmentation d'adiponectine observée dans le MES, pourrait participer à l'inhibition des adipokines pro-inflammatoires. Finalement, le TNF- α est un inducteur de la sécrétion de la leptine (Zhang et *al.*, 2000). L'augmentation de TNF- α pourrait réguler à la hausse la leptine dans le tissu MES. Par contre, il y a une augmentation de la production de leptine dans le PARA sans qu'il y ait une augmentation du TNF- α . Il doit donc y avoir d'autres mécanismes qui induisent la leptine.

Nous avons également observé une diminution de la quantité de TNF- α dans le tissu PARA. Cette diminution peut être attribuable au caractère anti-inflammatoire du tissu PARA. À la section 4.3, on constate que la production de l'IL-10 est plus forte dans le tissu PARA comparativement au tissu ING et MES. Chez les macrophages, l'IL-10 est un inhibiteur du TNF- α (Fiorentino et *al.*, 1991; Waal Melefyt et *al.*, 1991) Il se pourrait que la surproduction de l'IL-10 dans le tissu PARA régulerait à la baisse la production de TNF- α chez les macrophages. Le TNF- α est un activateur pivot dans les processus inflammatoires (Pasparakis, 2001). En inhibant le TNF- α , il n'y aura pas d'activation du processus inflammatoire. Toutefois, cette hypothèse est émise sous toute réserve. Des études comparatives entre les tissus devraient être faites pour valider cette hypothèse.

Finalement, chez B6, la nourriture HTL a des effets sur la production d'adipokines.

4.4.3.4 Quelques hypothèses qui expliquent l'augmentation des adipokines

Les macrophages seraient responsables de la production des adipokines pro-inflammatoires chez les patients ou les modèles obèses. Deux mécanismes expliquent cette hausse.

Premièrement, une migration des macrophages dans le tissu adipeux. La hausse des macrophages entraînent une hausse de la production du tissu inflammatoire. Toutefois, ce mécanisme ne peut expliquer la hausse des adipokines pro-inflammatoires dans le tissu adipeux mésentérique chez B6 puis le pourcentage de macrophage entre le groupe HTL et témoin est le même.

Le deuxième mécanisme qui explique la production des adipokines pro-inflammatoires est l'activation des macrophages par la voie alternative ou classique. Toutefois, cette étude n'est pas en mesure de vérifier si l'une des deux voie a été activée. Par contre, on constate que le récepteur F480 est exprimé plus fortement chez les macrophages des groupes HTL et cela pour les 3 tissus adipeux. Cette donnée suggère un changement morphologique des macrophages cependant ce changement morphologique ne permet pas d'affirmer s'il y activation d'une des deux voie. En fait, la fonction de F480 n'est pas encore très bien établie. Très peu d'études ont été faites sur l'expression de ce récepteur. Voici les très peu d'information à son sujet. Il y a une diminution de F480 lorsque les macrophages sont activés par le bacille Calmette-Guérin (Ezekowithz et *al.*, 1981). L'INF- γ réduit l'expression de ce marqueur (Ezekowitz et *al.*, 1982). Quant aux LPS, ils n'ont pas d'impact sur l'expression du F480 (Ezekowitz et *al.*, 1982). Finalement, l'augmentation de F480 ne permet pas d'établir si les macrophages sont activés par l'une des voies. Toutefois, l'augmentation de l'expression de F480 indique un changement morphologique dans tous les tissus et ce changement pourrait contribuer à la production d'adipokines pro-inflammatoires.

L'augmentation de l'IL-10 dans le MES pourrait laisser penser que la voie alternative est activée. L'étude de Bourlier démontre que les macrophages du tissu adipeux expriment beaucoup de marqueurs de la voie alternative. Néanmoins, les macrophages conservent leur capacité à surproduire des adipokines inflammatoires (Bourlier et *al.*, 2008). Cette théorie

permettrait d'expliquer la production de TNF- α , IL-6 et IL-10 observée dans le tissu MES. Cependant, il faudrait analyser les marqueurs spécifiques de la voie alternative pour confirmer cette hypothèse. Néanmoins, les macrophages subissent des changements morphologiques mais ces changements n'affectent pas le tissu ING et PARA.

Un autre paramètre qui régule la production d'adipokines est le diamètre des adipocytes. Cependant, il n'y a pas d'augmentation significative du diamètre. Toutefois, le métabolisme des adipocytes peut être affecté par des adipokines. Un exemple, la production de TNF- α engendre la dédifférenciation adipocytaire. L'adipocyte augmente la production des adipokines pro-inflammatoires (Ruan, 2002; Zhang, 2000). L'augmentation de TNF- α pourrait jouer un rôle sur le métabolisme des cellules adipeuses. Il faudrait vérifier cette hypothèse avec des co cultures.

4.4.4 Effet de la nourriture HTL sur la souris SJL

Chez SJL, la production d'adipokines n'a pas été affectée par une alimentation HTL sauf dans le cas de l'adiponectine. Il y a une diminution de l'adiponectine dans le tissu ING et MES. Chez les personnes obèses, il y a également une diminution d'adiponectine (Arita, 2002). Chez SJL, cette diminution survient avant la prise de poids. La diminution de l'adiponectine est corrélée avec la diminution de la sensibilité de l'insuline (Maeda, 2002). Par contre, nos données indiquent que la diminution de l'adiponectine n'a pas d'impact sur la glycémie des souris à jeun. De plus, la diminution d'adiponectine ne semble pas avoir d'impact sur les autres adipokines.

De plus, la section 3 a permis d'observer que les quantités d'IL-6 et de leptine étaient plus élevées respectivement dans le tissu ING et PARA comparativement au MES. Ces données suggèrent un potentiel inflammatoire plus élevé chez ces deux tissus. L'hypothèse émise était que ces tissus réagissent plus fortement à une nourriture HTL. Cependant, il semble que la quantité de leptine plus élevée dans le tissu PARA n'engendre pas d'inflammation. La quantité d'IL-6 plus élevée pourrait avoir un impact sur la quantité d'adiponectine. Chez les

patients atteints de la maladie de Chron's, il existe une corrélation négative entre l'adiponectine et l'IL-6 (Yamamoto et *al.*, 2005). L'IL-6 pourrait jouer un rôle inhibiteur de l'adiponectine cependant cette hypothèse doit être démontrée. De plus, il y a une diminution de l'adiponectine dans le tissu MÉS et la production d'IL-6 est plus faible. La diminution de l'adiponectine doit provenir d'autres mécanismes.

Il est intéressant de constater que l'effet de la nourriture riche en lipides sur l'adiponectine de la souris SJL est l'inverse de la souche B6. Ces données démontrent que les 2 souches réagissent différemment à la nourriture HTL. De plus, la souris B6 est affectée plus fortement par la nourriture HTL comparativement à la souris SJL. La quantité élevée d'adiponectine chez la souris SJL pourrait assurer un effet protecteur contre l'augmentation des adipokines pro-inflammatoires. Cette hormone inhibe le TNF- α des macrophages de porc stimulés par les LPS (Wulster-Radcliffe et *al.*, 2004). De plus, les souris déficientes en adiponectine ont une production de TNF- α plus élevée comparativement à la souche sauvage. La restauration du gène de l'adiponectine diminue l'expression du TNF- α (Maeda, 2002). Le taux élevé de l'adiponectine chez SJL pourrait empêcher une surexpression de TNF- α lorsque les souris sont alimentées avec une nourriture HTL. Comme le TNF- α joue un rôle central dans l'activation des processus inflammatoires, l'inflammation serait ainsi réduite (Pasparakis et 1996).

En résumé, ces résultats démontrent que les 2 souches répondent différemment à la nourriture HTL, ce qui permet de conclure que le bagage génétique influence la réponse à la nourriture HTL.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Premièrement, la production des marqueurs de l'inflammation : TNF- α , IL-6, leptine, adiponectine, IL-10 et TGF- β 1 sont exprimés de façon équivalente entre le tissu ING, MES et PARA pour les deux souches sauf à quelques exceptions. Conséquemment, la sensibilité du MES à une alimentation HTL ou à un engraissement ne peut s'expliquer par le profil d'adipokines pro-inflammatoire.

Deuxièmement, les souris présentent des caractéristiques physiologiques et immunologiques différentes qui sont influencées par leur bagage génétique respectif. De plus, la souris SJL produit une quantité supérieure d'adiponectine qui pourrait assurer un pouvoir anti-inflammatoire au niveau du tissu adipeux. Toutefois, les adipokines dosées par LUMINEX ont démontré que la production de TNF- α et de VEGF était plus forte chez la souris SJL. Ces variations peuvent être dues à l'alimentation ou à l'âge des souris.

Troisièmement, la nourriture HTL n'induit pas de surplus de poids significatif chez les 2 souches. De plus, les données indiquent que la nourriture HTL n'induit pas d'engraissement. La nourriture HTL n'induit pas, à court terme, de changements dans les paramètres physiologiques testés. Toutefois, la nourriture HTL induit des changements au niveau de la production des adipokines essentiellement chez B6.

Chez B6, il y a une augmentation de la production des adipokines essentiellement dans le tissu MES. Ces résultats démontrent deux faits importants. La nourriture HTL induit des changements dans le métabolisme du tissu adipeux avant que le processus d'engraissement ne s'établisse. De plus, le premier tissu adipeux à répondre à un changement de nourriture est le tissu MES. Par contre, chez SJL, la nourriture HTL a des effets mineurs sur le profil d'adipokines. Elle semble plus résistante à une nourriture HTL.

En conclusion, le bagage génétique influence la réponse à une alimentation riche en lipides.

BIBLIOGRAPHIE

- Aderka d., JM. Le et J. VilCEK, 1989. « IL-6 inhibits lipopolysaccharide-induced TNF- α production in cultured human monocytes, U987 cells and in mice, *Journal of immunology*, Vol.: 143, p. 3517–3523
- Aitman TJ., A.M. Glazier, C.A. Wallace, L.D. Cooper, P.J. Norsworthy, F.N. Wahid, K.M. Al-Majali, P.M. Trembling, C.J. Mann, C.C. Shoulders, D. Graf, E. St Lezin, T.W. Kurtz, V. Kren, M. Pravenec, A. Ibrahimi, Abumrad NA, L.W. Stanton et J. Scott. 1999. « Identification of Cd36 (Fat) as an insulin-resistance gene causing defective fatty acid and glucose metabolism in hypertensive rats, *Nature Genetics*, Vol.: 21, p. 76-83
- Alessi MC, D. Bastelica, P. Morange, B. Berthet, I. Leduc, M. Verdier, O. Geel et I. Juhan-Vague. 2000. « Plasminogen activator inhibitor 1, transforming growth factor-beta1, and BMI are closely associated in human adipose tissue during morbid obesity, *Diabetes*, Vol.: 49, p. 1374–1380
- Alleva DG, E.B. Johnson, J. Wilson, D.I. Beller et P.J. Conlon . 2001. « SJL and NOD macrophages are uniquely characterized by genetically programmed, elevated expression of the IL-12(p40) gene, suggesting a conserved pathway for the induction of organ-specific autoimmunity, *Journal of leukocyte biology*, Vol. : 693, p. 440-448
- Amagai T et B. Cinader. 1981. « Resistance against tolerance induction in SJL mice, *Immunology communications*, Vol.: 10, p. 349-358
- Arch JRS et S. Wilson. 1996. « Prospects β 3-adrenoceptor agonists in the treatment of obesity and diabetes, *International journal of obesity*, Vol.: 117, p. 907-913
- Arita Y., S. Kihara, N. Ouchi, M. Takahashi, K Maeda., J. Miyagawa, K. Hotta, I. Shimomura., T. Nakamura, K. Miyaoka, H. Kuriyama., M. Nishida, S. Yamashita, K. Okubo, K. Matsubara, M. Muraguchi., Y. Ohmoto, T. Funahashi et Y. Matsuzawa 2002 . « Paradoxical Decrease of an Adipose-Specific Protein, Adiponectin, in Obesity, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, Vol.: 257, Issue 1, 2 p. 79-83
- Arner P. 1995. « Differences in lipolysis between human subcutaneous and omental adipose tissues » *Annales de médecine interne*, Vol.: 27, p. 435-438

- Arner P. 2000. « Obesity-a genetic disease of adipose tissue? » *British Journal of Nutrition*, Vol.: 83, Suppl.: 1, p. S9-S16
- Arner P. 2005. « Human fat cell lipolysis: Biochemistry, regulation and clinical role » *Best Practice & research*, Vol.: 19, No.: 4, p. 471-488
- Arner P et F. Hoffstedt. 1999. « Adrenoceptor genes in human obesity » *Journal of Internal Medicine*, Vol.: 6, p. 667-672.
- Axelrod L et L. Levine. 1981. « Prostacyclin production by isolated adipocytes » *Diabetes*, Vol.: 30, p. 163-167.
- Barbatelli G, S. Cinti, P.A. Vensson, G.S. Barsh, J.D. Zucker, A. Basdevant, D. Langin et K. Clement. 2005. « Reduction of macrophage infiltration and chemoattractant gene expression changes in white adipose tissue of morbidly obese subjects after surgery-induced weight loss » *Diabetes*, Vol.: 54 (8) p. 2277-2286.
- Bastard JP, C. Jardel, E. Bruckert, P. Blondy, J. Capeau, M. Laville, H. Vidal et B. Hainque. 2000. « Elevated levels of interleukin 6 are reduced in serum and subcutaneous adipose tissue of obese women after weight loss » *Journal of Clinical Endocrinology Metabolism*, Vol.: 85, p. 3338-3342
- Bermudez EA, N. Rifai , J. Buring , J.E. Manson et P.M. Ridker . 2002. « Interrelationships among circulating interleukin-6, C-reactive protein, and traditional cardiovascular risk factors in women » *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, Vol.: 22, p. 1514-1515.
- Boddan C., Y. Vodovotz et C. Nathan. 1991. « Macrophage deactivation by interleukin-10 » *International journal of clinical and experimental medicine*, Vol.:174, p. 1549-1555
- Bouloumié A, M. Lafontan et D. Langin 2006. « Les cellules de la fraction stroma-vasculaire du tissu adipeux humain: caractérisation et rôles » *Obésité*, Vol. : 1, p. 79-86

- Bourlier V., A. Zakaroff-Girard, A. Miranville., S. De Barros, M. Maumus, C.Sengenes, J. Galitzky, M. Lafontan., F. Karpe., K.N. Frayn et A. Bouloumié. 2008. « Remodeling Phenotype of Human Subcutaneous Adipose Tissue Macrophages » *Circulation*, Vol: 117, p. 806-815
- Bottomley MJ, N.J. Webb, C.J. Watson, P.J. Holt, A.J. Freemont et P.E. Brenchley. 1999. « Peripheral blood mononuclear cells from patients with rheumatoid arthritis spontaneously secrete vascular endothelial growth factor (VEGF): specific up-regulation by tumour necrosis factor-alpha (TNF-a) in synovial fluid » *Clinical and experimental immunology*, Vol.:117, p. 171-176
- Caldefie-Chezet, F., A. Poulin, A. Tridon, B. Sion et M. Vasson. P. 2001. « Leptin: a potential regulator of polymorphonuclear neutrophil bactericidal action? » *Journal of Leukocyte Biology*, Vol.: 69, p. 414-418
- Calle EE et R. Kaaks ., 2004, Overweight, obesity and cancer: epidemiological evidence and proposed mechanisms » *Science*, Vol.: 4, p. 579-591
- Cancello R, C. Henegar, N. Viguerie, S. Taleb, C. Poitou, C. Rouault, M. Coupaye, V. Pelloux, D. Hugol, J.L. Bouillot et A. Bouloumie. 2005. « Reduction of macrophage infiltration and chemoattractant gene expression changes in white adipose tissue of morbidly obese subjects after surgery-induced weight loss » *Diabetes*, Vol.: 54, p. 2277-2286
- Capeau J. 2003. « Voies de signalisation de l'insuline: mécanismes affectés dans l'insulinorésistance » *Medecine/Sciences*, Vol.: 19, p. 834-839
- Carmen GY et S.M. Víctor. 2006. « Signalling mechanisms regulating lipolysis » *Cellular signalling*, Vol.: 18, p. 401-408
- Cavaillon, Jean-Marc. 1996. *Les cytokines*. Masson, 2^e éd. rev. et aug., Paris, 311 p.
- Charrière G, B. Cousin, E. Arnaud, M. André, F. Bacou , L. Penicaud et L. Casteilla . 2003. « Preadipocyte conversion to macrophage. Evidence of plasticity » *The Journal of biological chemistry*, Vol.: 278, p. 9850-9855

- Ceddia RB, R. Somwar, A. Maida , X. Fang, G. Bikopoulos et G. Sweeney , 2004, Globular adiponectin increases GLUT4 translocation and glucose uptake but reduces glycogen synthesis in rat skeletal muscle cells » *Diabetologia*, Vol.: 48, p. 132-139
- Chen H, O. Charlat, L.A. Tartaglia, E.A. Woolf, X. Weng, S.J. Ellis, N.D. Lakey, J. Culpepper, K.J. Moore, R.E. Breitbart, G.M. Duyk, R.I. Tepper et J.P. Morgenstern. 1996. « Evidence that the diabetes gene encodes the leptin receptor: identification of a mutation in the leptin receptor gene in db/db mice » *Cell*. Vol.: 84, p. 491-495
- Choi KM, O.H. Ryu, K.W. Lee, H.Y. Kim, J.A. Seo , S.G. Kim , N.H. Kim , D.S. Choi et S.H. Baik . 2007. « Serum adiponectin, interleukin-10 levels and inflammatory markers in the metabolic syndrome » *Diabetes Research and Clinical Practice*, Vol.: 75, p. 235-240.
- Chouaib S, L. Chatenoud , D. Klatzmann et D. Fradelizi . 1984. « The mechanisms of inhibition of human IL 2 production. II. PGE2 induction of suppressor T lymphocytes, *Journal of immunology*, Vol.: 132, p. 1851-1857
- Chung S, K. Lapoint, K. Martinez, A. Kennedy, M. Boysen Sandberg et M.K. McIntosh . 2006. « Preadipocytes mediate lipopolysaccharide-induced inflammation and insulin resistance in primary cultures of newly differentiated human adipocytes » *Endocrinology*, Vol.: 147, p. 5340-5351
- Copenhagen et Bucarest. 2005. « L'obésité : un défi pour la Région européenne de l'OMS » *Organisation mondiale de la santé*
- Coppack SW. 2001. « Pro-inflammatory cytokines and adipose tissue » *The Proceedings of the Nutrition Society*, Vol.: 60, p. 349-356
- Cottart C.H., C. Laguillier, V. Nivet-Antoine, C. Klimczak, C. Sebban et J.L. Beaudoux. 2008. « Biology of arterial ageing and arteriosclerosis » *Comptes rendus biologies*, Vol.: 32, p. 433-437
- Cousin B., O. Munoz, M. Andre, A.M. Fontanilles, C. Dani, J.L. Cousin, P. Laharrague, L. Casteilla et L. Pénicaud . 1999. « A role for preadipocytes as macrophage-like cells » *The FASEB journal*, Vol.: 13, p. 305-312

- Curat C.A., A. Miranville, C. Sengenès, M. Diehl, C. Tonus., R. Busse et A. Bouloumié 2004. « From blood monocytes to adipose tissue-resident macrophages: induction of diapedesis by human Mature adipocytes » *Diabetes*, Vol: 53 no. 5 p. 1285-1292
- DAS UN. 2001. « Is obesity an inflammatory condition? » *Nutrition*, Vol.: 17, p. 953-966
- DeFronzo RA. 1988. « Lilly lecture 1987. The triumvirate: beta-cell, muscle, liver. A collusion responsible for NIDDM » *Diabetes*, Vol.: 37, p.667-687
- Del Prete G., M. De Carli, F. Almerigogna, M.G. Giudizi, R. Biagiotti et S. Romagnani. 1993. « Human IL-10 is produced by both type 1 helper (Th1) and type 2 helper (Th2) T cell clones and inhibits their antigen-specific proliferation and cytokine production » *Journal of immunology*, Vol.: 150, p. 353-360
- Després J.P., I. Lemieux et D. Prud'homme. 2001. « Treatment of obesity: need to focus on high risk abdominally obese patients » *BMJ*, Vol.: 322, p.716-720
- Duffield J.S. 2003. « The inflammatory macrophage: a story of Jekyll and Hyde » *Clinical Science*, Vol.: 104, p. 27-38
- Eiselein L., H.J. Schwartz et J.C. Rutledge. 2004. « The challenge of type 1 diabète mellitus » *ILAR journal*, Vol.: 45, Numéro: 3, p. 231-236.
- Engström G, B. Hedblad, L. Stavenow, P. Lind, L. Janzon et F Lindgärde. 2003. « Inflammation-sensitive plasma proteins are associated with future weight gain » *Diabetes*, Vol.: 52, p. 2097-2101
- Eriksson J., M. Nakazato, M. Miyazato, K. Shiomi, S. Matsukura et L. Groop. 1992. « Islet amyloid polypeptide plasma concentrations in individuals at increased risk of developing type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus » *Diabetologia*, Vol.: 35, p. 291-293
- Ezekowitz R.A., J. Austyn, P.D Stahl et Gordon S. 1981. « Surface properties of bacillus Calmette-Guérin-activated mouse macrophages. Reduced expression of mannose-specific endocytosis, Fc receptors, and antigen F4/80 accompanies induction of Ia » *Journal of experimental medicine*, Vol.: 154, p.60-76

- Ezekowitz RA et S. Gordon .1982. « Down-regulation of mannosyl receptor-mediated endocytosis and antigen F4/80 in bacillus Calmette-Guérin-activated mouse macrophages. Role of T lymphocytes and lymphokines » *Journal of experimental medicine*, Vol.: 155, p. 1623-1637
- Fain J.N., L.R. Ballou et S.W. Bahouth. 2001. « Obesity is induced in mice heterozygous for cyclooxygenase-2 » *Prostaglandins Other Lipid Mediators*, Vol.: 65, Issue: 4, p. 199-209
- Fain J.N., A. Kanu, S.W. Bahouthb, G.S. Jr Cowan, M.L. Hiler et C.W. Leffler. 2002. « Comparison of PGE2, prostacyclin and leptin release by human adipocytes versus explants of adipose tissue in primary culture » *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, Vol.: 67, Issue: 6, p. 467-473.
- Fain J.N., A.K. Madan, M.L. Hiler, P. Cheema et S.W. Bahouth. 2004. « Comparison of the release of adipokines by adipose tissue, adipose tissue matrix, and adipocytes from visceral and subcutaneous abdominal adipose tissues of obese humans » *Endocrinology*, Vol.: 145, p. 2273-2282
- Fagiolo U., A. Cossarizza, E. Scala, E. Fanales-Belasio, C. Ortolani, E. Cozzi, D. Monti et C. Franceschi et R. Paganelli. 1993. « Increased cytokine production in mononuclear cells of healthy elderly people » *European journal of immunology*, Vol.: 9, p. 2 375-2 378
- Faye B., M Bengoumi., S. Messad et Y. Chilliard. 2002. « Estimation des réserves corporelles chez le dromadaire » *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*, Vol. : 55, p.69-78
- Fantuzzi G. 2005. « Adipose tissue, adipokines, and inflammation » *The Journal of allergy and clinical immunology*, Vol.: 115, Issue: 5, p. 911-919
- Fasshauer M., J. Klein, S. Neumann, M. Eszlinger et R. Paschke. 2002. « Hormonal regulation of adiponectin gene expression in 3T3-L1 adipocytes » *Biochemical and Biophysical Research Communication*, Vol.:290, p. 1084-1089,
- Fasshauer M., S. Kralisch, M. Klier, U. Lossner, M. Bluher, J. Klein, et R. Paschke. 2003. « Adiponectin gene expression and secretion is inhibited by interleukin-6 in 3T3-L1 adipocytes » *Biochemical and Biophysical Research Communications*, Vol.: 301, p. 1045-1050

- Farooqi I.S., S.A. Jebb., G. Langmack, E. Lawrence, C.H. Cheetham, A.M. Prentice, I.A. Hughes, M.A. McCamish et S. O'Rahilly. 1999. « Effects of Recombinant Leptin Therapy in a Child with Congenital Leptin Deficiency » *The New England journal of medicine*, Vol.: 341, p. 879-884
- Farooqi I.S., G. Matarese, G.M. Lord, J.M. Keogh, E. Lawrence, C. Agwu, V. Sanna, S.A.A. Jebb, F. Perna, S. Fontana, R.I. Lechler, A.M. DePaoli et S. O'Rahilly. 2002. « Beneficial effects of leptin on obesity, T cell hyporesponsiveness, and neuroendocrine/metabolic dysfunction of human congenital leptin deficiency » *Journal of Clinical Investigation*, Vol.: 110, p. 1093-1103
- Festa A., R. Jr. D'Agostino , K. Williams , A.J. Karter , E.J. Mayer-Davis , R.P. Tracy et S.M. Haffner . 2001. « The relation of body fat mass and distribution to markers of chronic inflammation » *International journal of obesity and related metabolic disorders: Journal of the International Association for the Study of Obesity*, Vol.: 25, p. 1407-1415
- Fernandez-Real J.M., C. Gutierrez, W. Ricart, R. Casamitjana, M. Fernandez-Castaner, J. Vendrell, C. Richart et J. Soler. 1997. « The TNF- α gene NcoI polymorphism influences the relationship among insulin resistance, percent body fat and increased serum leptin levels » *Diabetes*, Vol.: 46, p.1468-1472.
- Fève B., M. Moldes, K.E. Hadri, F. Lasnier et J. Pairault. 1998. « La différenciation adipocytaire : tout un programme... » *médecine/sciences*, Vol.:14, p. 848-857
- Fiorentino D.F., A. Zlotnic, T.R. Mosmann, M. Howard, M. Howard et A. O'Garra. 1991. « IL-10 inhibits cytokine production by activated macrophage » *Journal of Immunology*, Vol.: 147, p. 3815 – 3822
- Folch J., M. Lees et G.H. Sloane Stanley. 1957. « A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues » *The Journal of biological chemistry*, Vol.: 226, p. 497-509
- Fontana L., J.C. Eagon, M.E. Trujillo, P.E. Scherer et S. Klein. 2007. « Visceral fat adipokine secretion is associated with systemic inflammation in obese humans » *Diabetes*, Vol.: 56, p. 1010-1013
- Fried S.K. et R. Zechner. 1989. « Cachectin/tumor necrosis factor decreases human adipose tissue lipoprotein lipase mRNA levels, synthesis, and activity » *Journal of Lipid Research* Vol.: 30, p. 1917-1923.

- Fried S.K., D.A. Bunkin et A.S. Greenberg. 1998. « Omental and Subcutaneous Adipose Tissues of Obese Subjects Release Interleukin-6: Depot Difference and Regulation by Glucocorticoid » *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, Vol.:83, Issue: 3, p. 847-50.
- Frühbeck G., M. Aguado et J.A. Martinez. 1997. « In Vitro Lipolytic Effect of Leptin on Mouse Adipocytes: Evidence for a Possible Autocrine/Paracrine Role of Leptin » *Biochemical and Biophysical Research Communications*, Vol.: 240, p. 590-594
- Gazzinelli R.T., I.P. Oswald, S.L. James et A. Sher. 1992. « IL-10 inhibits parasite killing and nitrogen oxide production by activated macrophage » *Journal of Immunology*, Vol.: 147, p.1792 - 1796
- Gérard C., C. Bruyns, A. Marchant, D. Abramowicz, P. Vandenabeele, A. Devaux, W. Fiers, M. Golman et T. Velu. 1993. « Interleukin 10 reduces release of tumor necrosis factor and prevents lethality in experimental endotoxemia » *Journal of experimental medical sciences*, Vol.: 177, p. 547-550
- Gerhardt C.C., I.A. Romero, R. Canello, L. Camoin et A.D. Strosberg. 2001. « Chemokines control fat accumulation and leptin secretion by cultured human adipocytes » *Molecular and cellular endocrinology*, Vol.: 175, p. 81-92
- Gloaguen I., P. Costa, A. Demartis, D. Lazzardo, A. Dimarco, R. Graziant, G. Poanessa, F. Chen, C.I. Rosenblum, L.H. Van Der Ploeg, R. Cortese, G. Ciliberto et R. Laufer. 1997. « Ciliary neurotrophic factor corrects obesity and diabetes associated with leptin deficiency and resistance » *Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Vol. 94, p. 456-6461
- Goldbert I.J. 1996. « Lipoprotein and lipolysis: central roles in lipoprotein metabolism and atherogenesis » *Journal of lipid Research*, Vol.: 37, p. 693-707
- Gordon S. 2003. « Alternative activation of macrophages » *Nature Review Immunology*, Vol.: 3, p. 23-35
- Greenberg A.S., R.P. Nordan, J. McIntosh, J.C. Calvo, R.O. Scow et D. Jablons. 1992. « Interleukin 6 reduces lipoprotein lipase activity in adipose tissue of mice in vivo and in 3T3-L1 adipocytes: a possible role for interleukin 6 in cancer cachexia » *Cancer Research*, Vol.: 52, p. 4113-4116

- Grundy S.M., I.J. Benjamin, G.L. Burke, A. Chait, R.H. Eckel, B.V. Howard, W. Mitch, S.C. Smith, et J.R. Sowers. 1999. « Diabetes and cardiovascular disease: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association » *Circulation*, Vol.:100, p. 1134-1146
- Gui Y., J.V. Silha et L.J. Murphy. 2004. « Sexual dimorphism and regulation of resistin, adiponectin, and leptin expression in the mouse » Vol.: 12, p. 1481-1491
- Guo K.Y., P. Halo , R.L. Leibel et Y. Zhang . 2004. « Effects of obesity on the relationship of leptin mRNA expression and adipocyte size in anatomically distinct fat depots in mice » *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*, Vol.: 287, p. R112-R119
- Hackett R.J., L.S. Davis et P.E. Lipsky. 1988. « Comparative effects of tumor necrosis factor- α and IL-1 β on mitogen-induced T cell activation » *Journal of immunology*, Vol.: 140, p. 2639-2644
- Harkins J.M., N. Moustaid-Moussa , Y.J. Chung , K.M. Penner , J.J. Pestka , C.M. North et K.J. Claycombe . 2004. « Expression of interleukin-6 is greater in preadipocytes than in adipocytes of 3T3-L1 cells and C57BL/6J and ob/ob mice » *The Journal of nutrition*, Vol.:134, p. 2673-2677
- Haslam D.W. et W.P. James. 2005. « Obesity, *Lancet* » Vol. : 366, p. 1197-1209
- Herrmann S.M., S. Ricard, V. Nicaud, C. Mallet, D. Arveilert, A. Evans, J.B. Ruidavets, G. Luc, L. Bara, H.J. Parra, O. Poirier et F. Cambien. 1998. « Polymorphisms of the tumour necrosis factor- α gene, coronary heart disease and obesity » *European Journal of Clinical Investigation*, Vol.: 28, p. 59-66.
- Hirsch J. et B. Batchelor . 1976. « Adipose tissue cellularity in human obesity » *Clinics in endocrinology and metabolism*, Vol.: 5, p. 299-311
- Hosogai N, Fukuhara A, Oshima K, Miyata Y, Tanaka S, Segawa K, Furukawa S, Tochino Y, Komuro R, Matsuda M et Shimomura I. 2007 . « Adipose Tissue Hypoxia in Obesity and Its Impact on Adipocytokine Dysregulation » *Diabetes*, Vol.: 56, p. 901-911

- Hotamisligil G.S., P. Peraldi, A. Budavari, R. Ellis, M.F. White et B.M. Spiegelman. 1996. « IRS-1-mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF- α - and obesity-induced insulin resistance » *Science*, Vol: 271, p. 665-668
- Hotamisligil G.S., N.S. Shargill et B.M. Spiegelman. 1993. « Adipose expression of tumor necrosis factor- α : direct role in obesity-linked insulin resistance » *Science* Vol.: 259, p. 87-91
- Harkins J.M., N. Moustaid-Moussa, Y.J. Chung, K.M. Penner, J.J. Pestka, C.M. North et K.J. Claycombe. 2004. « Expression of Interleukin-6 Is Greater in Preadipocytes than in Adipocytes of 3T3-L1 Cells and C57BL/6J and *ob/ob* Mice » *Nutritional Immunology*, Vol.: 134 p. 2673-2677
- Hibbs J.B Jr. 2002. « Infection and nitric oxide » *The Journal of Infectious Diseases*, Vol.:185, p. S9–S17
- Isakson P., A. Hammarstedt , B. Gustafson et U. Smith. 2009. « Impaired preadipocyte differentiation in human abdominal obesity: role of Wnt, TNF{alpha} and inflammation » doi: 10.2337/db08-1770
- Ivanov A.I. et A.A. Romanovsky. 2004. « Prostaglandin E2 as a mediator of fever: synthesis and catabolism, *Frontiers in bioscience* » Vol.: 9, p. 1977–1993.
- Janke J., S. Engeli, K. Gorzelniak, F.C. Luft et A.M. Sharma. 2002. « Resistin gene expression in human adipocytes is not related to insulin resistance » *Obesity research*, Vol.: 10, p. 1-5
- Jones E.Y., D.I. Stuart et N. Walker. 1989. « Structure of tumor necrosis factor » *Nature*, Vol.:338, p. 225-228
- Jonasson L., Holm J. et O. Skalli, G. Bondiers et G.K. Hansson. 1986. « Regional accumulations of T cells, macrophages, and smooth muscle cells in the human atherosclerotic plaque » *Arteriosclerosis*, Vol.: 6, p.31-138.
- Juge-Aubry CE, Somm E, Pernin A, Alizadeh N, Giusti V, Dayer JM et Meier CA. 2005. « Adipose tissue is a regulated source of interleukin-10 » *Cytokine*, Vol.: 29, p. 270-274

- Kahn R., J. Buse, E. Ferrannini et M. Stern , 2005. « The metabolic syndrome: time for a critical appraisal: joint statement from the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes » *Diabetes Care*, Vol.: 9, p. 2289-2304
- Katzmarzyk PT et Janssen I. 2004. « The economic costs associated with physical inactivity and obesity in Canada: an update » *Canadian journal of applied physiology*, Vol. : 29, p. 90-115
- Kayal S. et P. Berche. 2000. « L'activation du NF-kB au cours des infections bactériennes : une réaction primordiale de défense de l'hôte » *Hépto-Gastro*, Vol : 7, p. 199-209
- Kern P.A., M. Saghizadeh, J.M. Ong, R.J. Bosch, R. Deem et R.B. Simsolo. 1995. «The expression of tumor necrosis factor in human adipose tissue. Regulation by obesity, weight loss, and relationship to lipoprotein lipase » *The journal of clinical Investigation*, Vol.: 95, p.2111-2115
- Kern P.A., G.B. Di Gregorio, T. Lu, N. Rassouli et G. Ranganathan. 2003. « Adiponectin expression from human adipose tissue: relation to obesity, insulin resistance, and tumor necrosis factor-alpha expression » *Diabetes*, Vol.: 52, p.1779-1785.
- King H., R.E. Aubert et W.H. Herman. 1998. « Global burden of diabetes, 1995-2025: prevalence, numerical estimates, and projections, *Diabetes Care*, Vol.: 21, p. 1414-1431
- Kirschning C.J. et S. Bauer. 2001. « Toll-like receptors: cellular signal transducers for exogenous molecular patterns causing immune responses » *International journal of medical*, Vol.: 291, Issue: 4, p. 251-260
- Kulkarni R.N., J.N. Winnay, M. Daniels, J.C. Brüning, S.N. Flier, D. Hanahan et C.R. Kahn. 1999. « Altered function of insulin receptor substrate-1-deficient mouse islets and cultured beta-cell lines » *The Journal of clinical investigation*, Vol.: 104, p. R69-R75
- Lacasa D., S. Taleb, M. Keophiphath, A. Miranville et K. Clement. 2007. « Macrophage Secreted Factors Impair Human Adipogenesis: Involvement of proinflammatory State in Preadipocytes, *Endocrinology*, Vol. 148, No. 2 p. 868-877

- Lafontan M. et M. Berlan. 2003. « Do regional differences in adipocytes biology provide new pathophysiological insight? » *Trends in Pharmacological Sciences*, Vol.: 24, p.276-283
- Lagathu C., J.P. Bastard, M. Auclair, M. Maachi, J. Capeau et M. Caron. 2003. « Chronic interleukin-6 (IL-6) treatment increased IL-6 secretion and induced insulin resistance in adipocyte: prevention by rosiglitazone » *Biochemical and Biophysical Research Communications*, Vol.: 311, Issue 2, p. 372-379
- Langin D.2006. « Adipose tissue lipolysis as a metabolic pathway to define pharmacological strategies against obesity and the metabolic syndrome » *Pharmacological research: the official journal of the Italian Pharmacological Society*, Vol.: 53 (6) p. 482-491
- Lee G., C. Li, J. Montez, J. Halaas, J. Darvishzadeh et J.M. Friedman. 1997. « Leptin receptor mutations in 129 db3J/db3J mice and NIH facp/facp rats » *Mammalian Genome*, Vol.: 8, p. 445-447
- Lemonnier D.1971. «Effect of age, sex, and sites on the cellularity of the adipose tissue in mice and rats rendered obese by a high-fat diet » *The Journal of clinical investigation*, Vol.: 51, p. 2907-2915
- Lin Y., H. Lee , A.H. Berg , M.P. Lisanti , L. Shapiro et P.E. Scherer. 2000. « The lipopolysaccharide-activated toll-like receptor (TLR)-4 induces synthesis of the closely related receptor TLR-2 in adipocytes » *The Journal of biological chemistry*, Vol.: 275, Issue: 32, p. 24255-24263
- Liu Q.S., M. Gao, S.Y. Zhu, S.J. Li, L. Zhang, Q.J. Wang et H. Dug. 2007 . « The novel mecahnism of recombinant Human Ciliary Neurotrophic on the anti-diabetes activity » *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, Vol.: 101, p. 78-84
- Lobstein T. et Baur L. et R. Uauy. 2004. « Obesity in children and young people: a crisis in public health » *Obesity Review*, Vol.: 5, p. 4-104.
- Lobstein T. et M.-L Frelut. 2003. « Prevalence of overweight among children in Europe, *Obesity Reviews* » Vol.: 4, suppl. 4, p. 195–200.

- Loffreda, S., S.Q. Yang, H.Z. Lin, C.L. Karp, M.L. Brengman, D.J. Wang, A.S. Klein, G.B. Bulkley, C. Bao, P.W. Noble, M.D. Lane et A.M. Diehla. 1998. « Leptin regulates proinflammatory immune responses » *FASEB Journal*, Vol.: 12, p. 57-65
- Lolmède K., V. Durand de Saint Front, J. Galitzky, M. Lafontan et A. Bouloumié. 2003. « Effects of hypoxia on the expression of proangiogenic factors in differentiated 3T3-F442A adipocytes » *International journal of obesity and related metabolic disorder*, Vol.: 27, p. 1187-1195
- Lord G.M., G. Matarese, J.K. Howard, R.J. Baker, S.R. Bloom et R.I. Lechler. 1998. « Leptin modulates the T-cell immune response and reverses starvation-induced immunosuppression » *Nature*, Vol.: 394, p. 897-901
- Loureiro R.M. et P.A. D'Amore. 2005. « Transcriptional regulation of vascular endothelial growth factor in cancer » *Cytokine Growth Factor Review*, Vol.: 16, p. 77-89
- Lumeng C., J.L. Bodzin et A.R. Saltiel. 2007. « Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization » *The Journal of Clinical Investigation*, Vol.: 117 (1) p. 175-184
- Ma K., A. Cabrero, P.K. Saha, H. Kojima, L. Li, B.H. Chang, A. Paul et L. Chan. 2002. « Increased beta-oxidation but no insulin resistance or glucose intolerance in mice lacking adiponectin » *Journal Biological Chemistry*, Vol.: 277, p. 34658-34661
- Maeda K., K. Okubo, I. Shimomura, T. Funahashi, Y. Matsuzawa et K. Matsubara. 1996. « cDNA cloning and expression of a novel adipose specific collagen-like factor, apM1 (adipose most abundant gene transcript 1) » *Biochemical and Biophysical Research Communications*, Vol.: 221, p. 286-289.
- Maeda N., I. Shimomura, K. Kishida, H. Nishizawa, M. Matsuda, H. Nagaretani, N. Furuyama, H. Kondo, M. Takahashi, Y. Arita, R. Komuro, N. Ouchi, S. Kihara, Y. Tochino, K. Okutomi, M. Horie, S. Takeda, T. Aoyama, T. Funahashi et Y. Matsuzawa. 2002. « Diet-induced insulin resistance in mice lacking adiponectin/ACRP30 » *Nature Medicine*, Vol.: 8, p. 731-737
- Madsein L., R.K. Petersen et K. Kristiansen. 2005. « Regulation of adipocyte differentiation and function by polyunsaturated fatty acids » *Biochemical et Biophysical Acta-Molecular Basis Disease*, Vol.: 1740, Issu2, p.266-286

- Magré J., H. Laurell, C. Fizames, P.J. Antoine, C. Dib, C. Vigouroux, C. Bourut, J. Capeau, J. Weissenbach et D. Langin. 1998. « Genetic mapping, identification of a new dinucleotide repeat, and association with obesity and NIDDM » *Diabetes*, Vol.: 47, p. 284–286.
- Martin-Romero C., J. Gantos-alvarez, R. Goberna et V. Sanchez-Margalet. 2000. « Human leptin enhances activation and proliferation of human circulating T lymphocytes » Vol.: 199, Issue: 1, p. 15-24
- Mancuso P., A. Gottschalk, S.M. Phare, M. Peters-Golden, N.W. Lukacs. et G.B. Huffnagle. 2002. « Leptin-deficient mice exhibit impaired host defense in Gram-negative pneumonia » *Journal of Immunology*. Vol.: 168, p. 4018-4024
- Manigrasso M.R., P. Ferroni , F. Santilli , T. Taraborelli , M.T. Guagnano et N. Michetti et G. Davi . 2005. « Association between circulating adiponectin and interleukin-10 levels in android obesity: effects of weight loss » *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, Vol.: 90, p. 5876 - 5879
- Matyka KA. 2008. « Type 2 diabetes in childhood: epidemiological and clinical aspects, *British medical bulletin*, Vol.: 86, p. 59-75
- Mantovani A., A. Sica, S. Sozzani , P. Allavena , A. Vecchi et M. Locati . 2004. « The chemokine system in diverse forms of macrophage activation and polarization » *Trends Immunol*, Vol.: 25, p. 677–686.
- Marin P., B. Andersson, M. Ottosson, L. Olbe, B. Chowdhury, H. Kvist, G. Holm, L. Sjostrom et P. Bjorntorp. 1992. « The morphology and metabolism of intraabdominal adipose tissue in men » *Metabolism*, Vol.: 41, p. 1242–1248
- McDonald N.Q., N. Panayotatos et W.A. Hendrickson.1995. « Crystal structure of dimeric human ciliary neurotrophic factor determined by MAD phasing » *The EMBO journal*, Vol.: 14, issue: 12, p. 2689-2699
- Mohamed-Ali V., S. Goodrick, A. Rawesh, D.R. Katz, J.M. Miles, J.S. Yudkin, S. Klein et S.W. Coppack. 1997. « Subcutaneous adipose tissue releases interleukin-6, but not tumor necrosis factor-alpha, in vivo » *The Journal of Clinical Endocrinology Metabolism*, Vol:82, p. 4196-4200

- Monteiro R., P.M. de Castro, C. Calhau et I. Azevedo. 2006. « Adipocyte Size and Liability to Cell Death » *Obesity Surgery*, Vol.: 16, p. 804-806
- Montague C.T., J.B. Prins , L. Sanders , J. Zhang , C.P. Sewter , J. Digby , C.D. Byrne et S. O'Rahilly . 1998. « Depot-related gene expression in human subcutaneous and omental adipocytes » *Diabetes*, Vol.: 47, Issue: 9, p.1384-1391
- Nathan C. 1991. « Mechanisms and modulation of macrophage activation » *Behring Institute Mitteilungen*, Vol.: 88, p. 200-207
- Nishizawa H., I. Shimomura , K. Kishida , N. Maeda , H. Kuriyama , H. Nagaretani, M. Matsuda , H. Kondo , N. Furuyama , S. Kihara , T. Nakamura , Y. Tochino, T. Funahashi et Y. Matsuzawa. 2002. « Androgens decrease plasma adiponectin, an insulin-sensitizing adipocyte-derived protein » *Diabetes*, Vol.: 51, p. 2734 – 2741
- Ostman J., P. Arner , P. Engfeldt et L. Kager. 1979. « Regional differences in the control of lipolysis in human adipose tissue » *Metabolism*, Vol.:28, Issue: 12, p.1198-1205
- Ott V., M. Fasshauer, B. Meier, A. Dalski, D. Kraus, T.W. Gettys, N. Perwitz et J. Klein 2004. « Ciliary neurotrophic factor influences endocrine adipocyte function: inhibition of leptin via PI 3-kinase » *Molecular and Cellular Endocrinology*, Vol.:24, Issue:1-2, p. 21-27
- Ouchi N., S. Kihara , Y. Arita , K. Maeda , H. Kuriyama , Y. Okamoto , K. Hotta , M. Nishida , M. Takahashi , T. Nakamura , S. Yamashita , T. Funahashi et Y. Matsuzawa . 1999. « Novel modulator for endothelial adhesion molecules: adipocyte-derived plasma protein adiponectin » *Circulation*, Vol.:100, p. 2473-2476
- Ozata M, I.C. Ozdemir et J. Licinio. 1999. «Human leptin deficiency caused by a missense mutation: multiple endocrine defects, decreased sympathetic ton, and immune system dysfunction indicate new targets for leptin action, greater central than peripheral resistance to the effects of letpin and spontaneous correction of leptin-mediated defects » *Journal of Clinical Endocrinology Metabolism*, Vol.: 84, p. 3 686-3 695

- Pasarica M., O.R. Sereda, L.M. Redman, D.C. Albarado, D. Hymel, L.E. Roan, J.C. Rood, D.H. Burk et S.R. Smith. 2009. « Reduced adipose tissue oxygenation in human obesity: evidence for rarefaction, macrophage chemotaxis, and inflammation without an angiogenic response » *Diabetes*, Vol.: 58, Issue: 3, p. 718-25.
- Pasparakis M, L. Alexopoulou, V. Episkopou et G. Kollias .1996. « Immune and inflammatory responses in TNF alpha-deficient mice: a critical requirement for TNF alpha in the formation of primary B cell follicles, follicular dendritic cell networks and germinal centers, and in the maturation of the humoral immune response » *Journal of experimental medical sciences*, Vol.: 184, p. 1397-1411
- Passam F.H., M.G. Alexandrakis , J. Moschandrea , A. Sfridaki , P.A. Roussou et N.M. Siafakas . 2006. « Angiogenic molecules in Hodgkin's disease: results from sequential serum analysis » *International journal of immunopathology and pharmacology*, Vol.: 19, p. 161-170
- Path G., S.R. Bornstein, M. Gurniak, G.P. Chrousos, W.A. Scherbaum et H. Hauner. 2001. «Human Breast Adipocytes Express Interleukin-6 (IL-6) and Its Receptor System: Increased IL-6 Production by b-Adrenergic Activation and Effects of IL-6 on Adipocyte Function » *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, Vol: 86, no: 5, p. 2281-228
- Peeraully M.R., J.R. Jenkins et P. Trayhurn . 2004. « NGF gene expression and secretion in white adipose tissue: regulation in 3T3-L1 adipocytes by hormones and inflammatory cytokines » *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism*, Vol.: 287, p. E331-E339
- Permana P.A., C. Menge et P.D. Reaven. 2005. « Macrophage-secreted factors induce adipocyte inflammation and insulin resistance » *Biochemical and Biophysical Research Communications*, Vol.: 341, p. 507-514
- Poitou C. et K. Clément. 2007. « Le tissu adipeux : un acteur majeur du syndrome inflammatoire de l'obésité ? » *Cahiers de nutrition et de diététique*, p. 1-12
- Poulain-Godefroy O. et P. Froguel. 2007. « Preadipocyte response and impairment of differentiation in an inflammatory environment » *Biochemical and Biophysical Research Communications*, Vol.: 356, p. 662-667
- Pradhan A.D., J.E. Manson, N. Rifai, J.E. Buring et P.M. Ridker . 2001. « C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus » *The journal of the American Medical Association*, Vol.: 286, Issu: 3, p. 327-334

- Prins J.B., C.U. Niesler, C.M. Winterford, N.A. Bright, K. Siddle, S. O'Rahilly, N.I. Walker et D.P. Cameron. 1997. « Tumor necrosis factor- α induces apoptosis of human adipose cells » *Diabetes*, Vol.: 46, no. 12 | 939-1 944
- Pu S., M.G. Dube, P.S. Kalra et S.P. Kalra. 2000. « Regulation of leptin secretion: effects of aging on daily patterns of serum leptin and food consumption » *Regulatory peptides*, vol. 92, p. 107-111
- Reynisdottir S., M. Dauzats, A. Thorne et D. Langin. 1997. « Comparison of hormone-sensitive lipase activity in visceral and subcutaneous human adipose tissue » *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, Vol.: 82, p. 4162-4166
- Rifai N., R. Joubran, H. Yu, M. Asmi et M. Jouma. 1999. « Inflammatory markers in men with angiographically documented coronary heart disease » *Clinical chemistry*, Vol.: 45, p. 1967-1973
- Rodbell M. 1964. « Metabolism of isolated fat cells. IV. Effects of hormones on glucose metabolism and lipolysis » *The Journal of biological chemistry*, Vol.: 239, p. 375-380
- Rotter V., I. Nagaev et U. Smith. 2003. « Interleukin-6 (IL-6) induces insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes and is, like IL-8 and tumor necrosis factor α overexpressed in human fat cells from insulin-resistant subjects » *Journal of Biologie and Chemistry*,
- Ruan H., N. Hacohen, T.R. Golub, L. Van Parijs et H.F. Lodish. 2002. « Tumor Necrosis Factor- α Suppresses Adipocyte-Specific Genes and Activates expression of Preadipocyte Genes in 3T3-L1 Adipocytes Nuclear Factor- κ B Activation by TNF- α Is Obligatory » *Diabetes*, Vol: 51, p. 1319-1336
- Rudner L.A., J.T. Lin, I.K. Park, J.M. Cates, D.A. Dyer, D.M. Franz, M.A. French, E.M. Duncan, H.D. White et J.D. Gorham. 2003. « Necroinflammatory liver disease in BALB/c background, TGF- β 1-deficient mice requires CD4⁺ T cells » *Journal of immunology*, Vol.: 170, p. 4785-4792
- Rutschman R., R. Lang, M. Hesse, J.N. Ihle, T.A. Wynn et P.J. Murray. 2001. « Cutting edge: Stat6-dependent substrate depletion regulates nitric oxide production » *Journal of Immunology*, Vol.: 166, p. 2173-2177

- Ryden M., A. Dicker, V. Van Harmelen, H. Hauner., M. Brunnberg, L. Perbeck, F. Lönnqvist et P. Arner 2002. « Mapping of early signaling events in tumor necrosis-alpha-mediated lipolysis in human fat cells » *Journal Biological and Chemistry*, Vol.: 277, p. 1085-1091
- Samad F., K. Yamamoto, M. Pandey et D.J. Loskutoff. 1997. « Elevated expression of transforming growth factor- α in adipose tissue from obese mice » *Molecular Medicine*, Vol.: 3, p. 37-48
- Schoonjans K., G. Maring, B. Staels et J. Auwerx. 1997. « Peroxisome proliferator-activated receptors, orphans with ligands and function » *Current Opinion in Lipidology*, Vol.: 8, p. 159-166.
- Shapiro L. et P.E. Scherer . 1998. « The crystal structure of a complement-1q family protein suggests an evolutionary link to tumor necrosis factor » *Current biology*, Vol.: 8, p. 335-338
- Shields M. 2004. « L'embonpoint chez les enfants et les adolescents au Canada. Nutrition : Résultats de l'Enquête sur la santé dans les collectivités canadiennes, *Statistique Canada*
- Shojima N., H. Sakoda , T. Ogihara , M. Fujishiro , H. Katagiri , M. Anai , Y. Onishi , H. Ono , K. Inukai , M. Abe , Y. Fukushima , M. Kikuchi , Y. Oka et T. Asano . 2002. « Humoral regulation of resistin expression in 3T3-L1 and mouse adipose cells » *Diabetes*, Vol.: 51, p. 1737-1744
- Skurk T., C. Alberti-Huber, C. Herder et H. Hauner. 2007. « Relationship between Adipocyte Size and Adipokine Expression and Secretion » *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, Vol.: 92, 1023-1033
- Skurk T., C. Herder , I. Kräfft , S. Müller-Scholze , H. Hauner et H. Kolb . 2005. « Production and release of macrophage migration inhibitory factor from human adipocytes » *Endocrinology*. 2005, Vol.:146, p. 1006-1011.
- Sleeman M.W., K. Garcia, R. Liu, J.D. Murray, L. Malinova, M. Moncrieffe, G.D. Yancopoulos, S.J.Wiegand. 2003. «Ciliary neurotrophic factor improves diabetic parameters and hepatic steatosis and increases basal metabolic rate in db/db mice » *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Vol.: 100, p. 14297-14302

- Smith B.K., P.K. Andrews, et D.B. West. 2000. « Macronutrient diet selection in thirteen mouse strains » *The American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, Vol.: 278, Issue 4, p. R797-R805
- Souza S.C., L. Moitoso de Vargas, M.T. Yamamoto, P. Lien, M.D. Franciosa, L.G. Moss et A.S. Greenberg. 1998. « Overexpression of Perilipin A and B Blocks the Ability of Tumor Necrosis Factor α to Increase Lipolysis in 3T3-L1 Adipocytes » *Journal of Biological Chemistry*, Vol.: 273, Issue 38, p. 24665-24669
- Statistique Canada. 2004. *Nutrition : Enquête sur la santé dans les collectivités canadiennes* Statistique Canada, 82-620-MWF, Statistique Canada
- Stephens J.M., J. Lee et P.F. Pilch. 1997. « Tumor necrosis factor- α -induced insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes is accompanied by a loss of insulin receptor substrate-1 and GLUT4 expression without a loss of insulin receptor-mediated signal transduction » *Journal of Biological Chemistry*, Vol.: 272, p. 971-976
- Stich V., I. De Glisezinski, F. Crampes, J. Hejnova, J. Cottet-Emard, J. Galitzky, M. Lafontan, D. Rivière et M. Berlan. 2000. « Activation of $\alpha(2)$ -adrenergic receptors impairs exercise-induced lipolysis in SCAT of obese subjects, *The American Journal of Physiology -Regulatory* » *Integrative and Comparative Physiology*, Vol. : 279, p. R499-R504
- Stienstra R., C. Duval , M. Müller et S. Kersten . 2007. « PPARs, Obesity, and Inflammation » *PPAR research*, Vol.: 2007, p. 95974
- Strissel K.J., Z. Stancheva , H. Miyoshi , J.W. Perfield, J. DeFuria, Z. Jick , A.S. Greenberg et M.S. Obin . 2007. « Adipocyte death, adipose tissue remodeling, and obesity complications » *Diabetes*, Vol.: 56, p. 2 910 - 2 918
- Sumida M., T. Shiosaka, A. Nagar, M. Isshikimasuda, H. Okuda et M. Hamada. 1997. «Suppressive effect of tumor necrosis factor- α on adipogenic cell differentiation and on gene expression of hormone-sensitive lipase » *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, Vol.: 22, p. 1-11
- Tavernier G., P. Barbe, J. Galitzky, M. Berlan, D. Caput, M. Lafontan et D. Lagin. 1996. «Expression of β 3-adrenoceptors with low lipolytic action in human subcutaneous fat cell » *Journal of Lipid Research*, Vol.: 37, p. 87-97

- Tchernof A., C. Bélanger , A.S. Morisset , C. Richard , J. Mailloux , P. Laberge et P. Dupont . 2006. « Regional differences in adipose tissue metabolism in women: minor effect of obesity and body fat distribution » *Diabetes*, Vol.: 55, p. 1 353- 1360
- Terlain B., H. Dumond , N. Presle , D. Mainard , A. Bianchi , D. Loeuille , P. Netter et P. Pottie. 2005. «Is leptin the missing link between osteoarthritis and obesity? » *Annales pharmaceutiques françaises*, Vol.:63, p. 186-193
- The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabète Mellitus. 1997. « Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabète Mellitus» *Diabète Care*, Vol.: 20, p. 1183-1197.
- Torti F.M., S.V. Torti, J.W. Larrick et G.M. Ringold. 1989. «Modulation of adipocyte differentiation by Tumor Necrosis Factor and Transforming Growth Factor Beta » *The Journal of Cell Biology*, Vol.: 108, p. 1105-1113
- Trayhurn P. et I.S. Wood . 2005. « Signalling role of adipose tissue: adipokines and inflammation in obesity » *Biochemical Society transactions*, Vol.: 33, p. 1 078-1 081
- Vague J.1947. «La différenciation sexuelle : facteur déterminant des formes de l'obésité » *La presse Médicale*, p.339-340
- Van Hall G., A. Steensberg, M. Sacchetti., C. Fischer, C. Keller, P. Schjerling, N. Hiscock, K. Moller, B. Saltin, M.A. Febbraio et B.K. Pedersen. 2003. « Interleukin-6 Stimulates Lipolysis and Fat Oxidation in Humans » Vol.: 88, No. 7, p. 3005-3010
- Van Harmelen V., S. Reynisdottir, P. Eriksson , A. Thörne , J. Hoffstedt , F. Lönnqvist et P Arner . 1998. «Leptin secretion from subcutaneous and visceral adipose tissue in women » *Diabetes*, Vol.: 47, Issue: 6, p. 913-917
- Vozarova B., C. Weyer, K. Hason, P.A. Tataranni, C. Bogardus et R.E. Atley. «Circulating interleukin-6 in relation to adiposity, insulin action, and insulin secretion » *Obesity*, Vol.: 9, p. 414-417

- Wall Malfefyt R., J. Haanen, H. Spits, M.G. Roncarolo, A.T. Velde, C. Figdor, K. Johnson, R. Kastelein, H. Yssel et J.E. De Vries. 1991. « Interleukin-10 (IL-10) strongly reduce antigen specific human T cell proliferation by diminishing the antigen-presenting capacity of monocytes via downregulation of class II major histocompatibility complex expression » *The Journal of experimental medicine* , Vol.:174, p. 915-924
- Wallenius V., K. Wallenius, B. Ahrén, M. Rudling, H. Carlsten, S.L. Dickson, C. Ohlsson et J.O. Jansson. 2002. « Interleukin-6-deficient mice develop mature-onset obesity » *Nature Medicine*, Vol.: 8, p. 75 - 79
- Wang B., J.R. Jenkins et Trayhurn P. 2005. « Expression and secretion of inflammation-related adipokine by human adipocytes differentiated in culture: integrated response to TNF- α » *American Journal physiology Endocrinology and Metabolism*, Vol: 288, p. E731-740
- Wang M, P.R. Crisostomo, C. Herring, K.K. Meldrum et D.R. Meldrum. 2006. « Human progenitor cells from bone marrow or adipose tissue produce VEGF, HGF, and IGF-I in response to TNF by a p38 MAPK-dependent mechanism » *The American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, Vol.: 291, p. R880-R884
- Watt M.J., N. Dzamko , W.G. Thomas , S. Rose-John , M. Ernst , D. Carling , B.E. Kemp, M.A. Febbraio et G.R. Steinberg. 2006. «CNTF reverses obesity induced insulin resistance by activating skeletal muscle AMPk » *Nature medicine*, Vol.: 12, p. 541-548
- Weisberg S.P., D. McCann, M. Desai, M. Rosenbaum, R.L. Leibel et A.W.Jr. Ferrante. 2003 . « Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue » *Journal Clinical Investigation*, Vol.: 112 p. 1796–1808
- Wellen K.E. et G.S. Hotamisligil . 2003. «Obesity-induced inflammatory changes in adipose tissue » *The Journal of clinical investigation*, Vol.: 12, p. 1785-1788
- West D.B., C.N. Boozer , D.L. Moody et R.L. Atkinson . 1993. «Dietary obesity in nine inbred mouse strains » *The American journal of physiology*, Vol.:262, p. R1 025-R1 032
- Widjaja A., I.M. Stratton , R. Horn , R.R. Holman , R. Turner et G. Brabant . 1997. « UKPDS 20: plasma leptin, obesity, and plasma insulin in type 2 diabetic subjects » *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, Vol.: 82, p. 654-647.

- Wolf A.M., D. Wolf , H. Rumpold , B. Enrich et H. Tilg . 2004. « Adiponectin induces the anti-inflammatory cytokines IL-10 and IL-1RA in human leukocytes » *Biochemical and biophysical research communications*, Vol.: 323, p. 630-635
- Wulster-Radcliffe MC, K.M. Ajuwon , J. Wang , J.A. Christian et M.E. Spurlock . 2004. « Adiponectin differentially regulates cytokines in porcine macrophages » *Biochemical and biophysical research communications*, Vol.: 316, p. 924-929
- Yamamoto K., T. Kiyohara , Y. Murayama , S. Kihara , Y. Okamoto , T. Funahashi , T. Ito , R. Nezu , S. Tsutsui , J.I. Miyagawa , S. Tamura , Y. Matsuzawa , I. Shimomura et Y. Shinomura . 2005. « Production of adiponectin, an anti-inflammatory protein, in mesenteric adipose tissue in Crohn's disease » *Gut*, Vol.: 54, p. 789-796
- Yu R., C.S. Kim , B.S. Kwon et T. Kawada . 2006. « Mesenteric adipose tissue-derived monocyte chemoattractant protein-1 plays a crucial role in adipose tissue macrophage migration and activation in obese mice, *Obesity (Silver Spring)*, Vol.: 14, Issue: 8, p. 1353-1362
- Yumoto T. et L. Dmochowski. 1967. « Light and electron microscope studies of organs and tissues of SJL-J strain mice with reticulum cell neoplasms resembling Hodgkin's disease » *Cancer Research*, Vol.: 27, p. 2098- 2112
- Zeyda M., D. Farmer, J. Todoric, O. Aszmann, M. Speiser, G. Györi, G.J. Zlabinger et Stulnig TM. 2007. « Human adipose tissue macrophages are of an anti-inflammatory phenotype but capable of excessive pro-inflammatory mediator production » *International Journal of Obesity*, Vol.: 31, p. 1420–1428
- Zhang F., M.B. Basinski , J.M. Beals , S.L. Briggs , L.M. Churgay , D.K. Clawson , R.D. DiMarchi , T.C. Furman , J.E. Hale, H.M. Hsiung , B.E. Schoner , D.P. Smith , X.Y. Zhang , J.P. Wery et R.W. Schevitz .1997. «Crystal structure of the obese protein leptin-E100 » *Nature*, Vol.: 387, p. 206-209
- Zhang HH, S. Kumar , A.H. Barnett et M.C. Eggo . 2000. « Tumour necrosis factor-alpha exerts dual effects on human adipose leptin synthesis and release » *Molecular and cellular endocrinology*, Vol.: 159, p.79-88
- Zhang Y, R. Proenca, M. Maffei, M. Barone, L. Leopold et J.M. Friedman. 1994. «Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue » *Nature*, Vol.: 372, p. 425–432

Zhu J., W. Yong , X. Wu , Y. Yu , J. Lv , C. Liu , X. Mao , Y. Zhu , K. Xu , X. Han et C. Liu . 2008. « Anti-inflammatory effect of resveratrol on TNF-alpha-induced MCP-1 expression in adipocytes » *Biochemical and biophysical research communications*, Vol.: 369, p. 471-477

Zimmet P., K.G. Alberti et J. Shaw. 2001. «Global and societal implications of the diabètes épidémie » *Nature*, Vol.: 414, p. 782-787

Zvonic S, P. Cornelius, W.C. Stewart, R.L. Mynatt et J.M. Stephens. 2003. « The regulation and activation of Ciliary Neurotrophic Factor Signalling Protein in Adipocytes » *Journal of Biology and Chemistry*, Vol.: 278, Issue: 4, p. 2228-2235