

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Abou Bekr Belkaïd Tlemcen

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie,

et des sciences de la Terre et de l'Univers

Département de Biologie

Laboratoire de Physiologie, Physiopathologie et Biochimie de la Nutrition

Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Magister en Biologie

Option : « Physiopathologie Cellulaire »

***Détermination de certains paramètres biochimiques et
hématologiques et prolifération in vitro des splénocytes chez les
rates Wistar soumises à un régime cafeteria enrichi en huile de lin***

Présenté par : M^{elle} GHORZI Haféda

Soutenu le : 10/04/2011

Devant le jury composé de :

Présidente	Mme ATIK Fouzia	Professeur, U. Tlemcen
Examinatrice	Mme BOUCHERIT Zahia	Maître de conférences, U. Tlemcen
Examinatrice	Mme MOKHTARI Nassima	Maître de conférences, U. Tlemcen
Invitée	Mme BABA AHMED Fatima Zohra	Maître de conférences, U. Tlemcen
Promotrice	Mme MERZOUK Hafida	Professeur, U. Tlemcen

2010– 2011

Remerciements

En premier lieu, je remercie **Madame MERZOUK Hafida**, Professeur à l'Université de Tlemcen, qui a guidé judicieusement ces recherches, de m'avoir encadré dans ce travail. Je tiens à lui exprimer ma profonde reconnaissance et gratitude. Je vous remercie pour m'avoir donné la chance de travailler avec vous, d'être toujours présente et prête à aider vos étudiants. Merci pour votre gentillesse, votre patience et vos précieux conseils.

Je remercie chaleureusement **Madame ATIK Fouzia**, Professeur à l'Université de Tlemcen, pour l'attention qu'elle a bien voulu porter à ce travail en acceptant de le juger et de présider le jury de ce mémoire. Trouvez ici l'expression de mes sincères remerciements.

Mes vifs remerciements s'adressent à **Madame BABA AHMED Fatima Zohra**, Maître de conférences à l'Université de Tlemcen, de m'avoir fait l'honneur d'être mon co-promoteur et de m'avoir initié aux expériences de laboratoire. Je tiens à lui exprimer ma profonde reconnaissance pour son aide et sa disponibilité.

Mes remerciements vont également à **Madame BOUCHERIT Zahia**, Maître de conférences à l'Université de Tlemcen, pour l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant d'évaluer ce travail. Qu'elle soit assurée de ma profonde gratitude.

J'adresse également mes remerciements à **Madame MOKHTARI Nassima**, Maître de conférences à l'Université de Tlemcen, pour l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant d'évaluer ce travail. Qu'elle trouve ici l'expression ma sincère considération.

Je remercie également **Monsieur MERZOUK SA**, Maître de conférences au département de physique, Faculté des Sciences, Université de Tlemcen, pour son aide précieuse dans l'étude statistique. Qu'il trouve ici l'expression de toute mon estime.

Je tiens à remercier également **Monsieur BENMOHRA B**, Directeur de la direction de commerce de la wilaya d'Ain Temouchent, ainsi que tous le personnel.

Enfin, je remercie mes parents, qu'ils trouvent ici l'expression de ma gratitude et toute ma reconnaissance ainsi que tous les membres du laboratoire Physiologie, Physiopathologie et Biochimie de la Nutrition, et tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Avec l'aide de Dieu tout puissant, j'ai pu achever ce travail que je dédie :

A mes très chers parents, en témoignage de leur soutien moral et affectif, tous les mots ne sauraient exprimer mon amour, mon respect, ma gratitude, et ma reconnaissance, qu'ils en soient vivement remerciés.

A tous les membres de ma famille.

A tous ceux qui éprouvent un sentiment d'amitié envers moi.

Liste des tableaux

Tableau 1: Principaux antioxydants non enzymatiques et sources alimentaires associées.....	p21
Tableau 2: Composition en acides gras de différents produits d'origine végétale.....	p31
Tableau 3: Composition des régimes consommés par les rates (en % pondéraux)	p35

Liste des tableaux en Annexes

Tableau A1: Evolution du poids corporel exprimée en (g), nourriture ingérée exprimée en (g/j/rat) et apport énergétique (Kcal/j/rat) des rates témoins et expérimentales.....	p94
Tableau A2: Paramètres biochimiques chez les rates témoins et expérimentales.....	p95
Tableau A3 : Hémogramme des rates témoins et expérimentales.....	p96
Tableau A4: Valeur de la formule leucocytaire chez les rates témoins et expérimentales recevant différents régimes.....	p97
Tableau A5: Prolifération cellulaire T (10^5 cellules/puits) stimulée par la ConA en présence d'insuline et d'acides gras chez les rates témoins et expérimentales.....	p98
Tableau A6: Teneurs en protéines ($\mu\text{g/puits}$) des cellules T stimulées par la ConA en présence d'insuline et d'acides gras chez les rates témoins et expérimentales.....	p99
Tableau A7: Teneurs en protéines carbonylées ($\text{nmol} / 10^6$ cellules) des cellules T stimulées par la ConA en présence d'insuline et d'acides gras chez les rates témoins et expérimentales.....	p100
Tableau A8: Teneurs en malondialdéhyde (MDA) ($\text{nmol} / 10^6$ cellules) des cellules T stimulées par la ConA en présence d'insuline et d'acides gras chez les rates témoins et expérimentales.....	p101
Tableau A9: Activité de la catalase intracellulaire (U / ng de protéines) des cellules T stimulées par la ConA en présence d'insuline et d'acides gras chez les rates témoins et expérimentales.....	p102

Liste des figures

Figure 1: Conséquences d'un déséquilibre énergétique.....	p4
Figure 2: Effets délétères de l'excès de tissu adipeux viscéral (TAV) responsable de manifestations systématiques contrairement à l'excès de tissu adipeux sous cutané (TASC)....	p6
Figure 3: Les anomalies des adipocytes dans l'obésité et le rôle pro-athérogènes de l'adiposité.....	p8
Figure 4: Dialogues paracrines entre macrophages, préadipocytes et adipocytes via les adipokines.....	p10
Figure 5: Effets insulino-stimulants, anti-inflammatoires et antiathérogènes de l'adiponectine..	p11
Figure 6: Immunité non spécifique et spécifique.....	p13
Figure 7: Principaux effets de la leptine décrits in vivo et in vitro sur l'immunité.....	p16
Figure 8: Formation en cascade des différentes espèces oxygénées réactives à partir du radical superoxyde.....	p18
Figure 9 : Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques.....	p20
Figure 10: Mécanismes par lesquelles les acides gras pourraient exercer leurs effets sur la fonction des cellules immunitaires.....	p25
Figure 11: Les différents acides gras poly-insaturés de la famille des oméga-3 (n-3) et des oméga-6 (n-6).....	p27
Figure 12: Représentation schématique de la plaque d'incubation.....	p41
Figure 13: Evolution du poids corporel exprimée en (g), nourriture ingérée exprimée en (g/j/rat) et apport énergétique (Kcal/j/rat) des rates témoins et expérimentales.....	p46
Figure 14: Teneurs plasmatiques en glucose et en protéines totales.....	p48
Figure 15: Teneurs plasmatiques en créatinine, en urée, et en acide urique.....	p50
Figure 16: Teneurs plasmatiques en cholestérol et en triglycérides.....	p51
Figure 17: Hémogramme des rates témoins et expérimentales.....	p53
Figure 18: Valeur de la formule leucocytaire chez les rates témoins et expérimentales recevant différents régimes.....	p55
Figure 19: Prolifération cellulaire T (10^5 cellules/puits) stimulée par la ConA en présence d'insuline et d'acides gras chez les rates témoins et expérimentales.....	p56
Figure 20: Teneurs en protéines (μg /puits) des cellules T stimulées par la ConA en présence d'insuline et d'acides gras chez les rates témoins et expérimentales.....	p58

Figure 21: Teneurs en protéines carbonylées (nmol/10 ⁶ cellules) des cellules T stimulées par la ConA en présence d'insuline et d'acides gras chez les rates témoins et expérimentales.....	p60
Figure 22: Teneurs en malondialdéhyde (MDA) (nmol / 10 ⁶ cellules) des cellules T stimulées par la ConA en présence des deux acides gras chez les rates témoins et expérimentales.....	p62
Figure 23: Activité de la catalase intracellulaire (U / ng de protéines) des cellules T stimulées par la ConA en présence des deux acides gras chez les rates témoins et expérimentales.....	p64

Liste des abréviations

AA: Acide arachidonique

ACRP30: Adipocyte Complement-Related Protein of 30KDa

AdipoQ: adiponectin, C1Q and collagen domain containing

ADN: Acide désoxyribonucléique

AG: Acides gras

AGMI: Acides gras monoinsaturés

AGPI: Acides gras polyinsaturés

AGPI-LC n-3 : Acides gras polyinsaturés à longue chaîne de la famille n-3

AGS: Acides gras saturés

ALA: Acide alphalinoléique

AOX: Antioxydant

APM1: Adipose most abundant gene transcript 1

ASA: Sérum amyloïde A

BCR: Récepteur à antigène du lymphocyte B

BMI: Body Mass Index

CD4+: Lymphocyte T auxiliaire (en anglais Helper)

CD8+: Lymphocyte T cytotoxique

Cl: Chlore

CL: Régime cafeteria enrichi en huile de lin

CMH: Complexe majeur d'histocompatibilité

CML: Cellules musculaires lisses

CO₂ : Dioxyde de carbone

Con A: Concanavaline A

CPA: Cellule présentatrice de l'antigène

CS: Régime cafeteria

Cu-ZnSOD: Superoxydes dismutases à cuivre-zinc

DHA: Acide docosahexaénoïque

DIO: Diet-induced obesity

DNPH: Dinitrophénylhydrazine

DO: Densité optique

e^- : Électron libre

EDTA: Ethyldiaminetetraacetic acid, acide éthylène diamine tétracétique

ENNS: Étude Nationale Nutrition Santé

EOR: Espèces oxygénées réactives

EPA: Acide eicosapentaénoïque

ES: Erreur standard

GBP28: Gelatine Binding Protein 28

GOD: Glucose oxydase

GSH: Glutathion réduit

GSHPX: Glutathion peroxydase

GSSG: Glutathion oxydé

H_2O_2 : Peroxyde d'hydrogène

HCl: Acide chlorhydrique

HDL: High density lipoprotein, lipoprotéines de haute densité

HFD: High-fat diet, regime hyperlipidique

HOCl: acide hypochloreux

IASO: International Association for the Study of Obesity

IKK: I kappa B Kinase

IL: Interleukine

IMC: Index de masse corporelle

iNOS: NO synthase inductible

INS: Insuline

IRS-1: Insulin receptor substrates

JNK: c-Jun N terminal Kinase

KCN: Cyanure de potassium

LA: linoleic acid, acide linoléique

LB: Lymphocytes B

LDL: Low density lipoproteins, lipoprotéines de faible densité

LNA: linolenic acid, acide linoléique

LPS: Lipopolysaccharides

LT: Lymphocytes T

MCP: Monocyte chimiotactique protéine

MDA: Malondialdéhyde

MnSOD: Superoxydes dismutases à manganèse

MPO: Myéloperoxydase

MTT: Thiazolyl bleu tétrazolium

NADPH: Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit

NK: Natural killer

NO: Monoxyde d'azote

NO_2^- : Ion nitrite

NO_3^- : Ion nitrate

NOS: NO synthase

O_2 : Dioxygène

O_2° : Radical superoxyde

OH° : Radical hydroxyle

OMS: Organisation Mondiale de la Santé

ONAB: Office nationale d'aliment de bétail

ONOO⁻: Peroxynitrite

ONOOH: Nitroperoxyde

PI3-kinase: phosphatidylinositol 3-kinase

PKC: Protéine kinase C

PPRA: Peroxisome proliferators activated receptors

RE: Réticulum endoplasmique

RLO: Radical libre oxygéné

RO[°]: Radical alkoxyde

ROOH: Hydroperoxydes

SOD: Superoxyde dismutase

TASC: Tissu adipeux sous cutané

TAV: Tissu adipeux viscéral

TBA: Acide thiobarbiturique

TCA: Acide Trichloroacétique

TL: Régime témoin enrichi en huile de lin

TLR: Récepteur Toll-Like

TNF: Facteurs de nécrose tumorale

TNF α : Facteur de nécrose des tumeurs α

TS: Régime standard (témoin)

TTL: Test de transformation lymphocytaire

TZDs: Thiazolidindiones

VLDL: Very low density lipoproteins, lipoprotéines de très faible densité

ϵ : Coefficient d'extinction

Sommaire

Avant propos	1
Introduction	2
Matériel et Méthodes	34
I. Protocole expérimental.....	34
II. Paramètres biochimiques.....	36
II.1. Détermination des teneurs en glucose.....	36
II.2. Détermination des protéines totales	36
II.3. Détermination des teneurs en créatinine	36
II.4. Détermination des teneurs en urée	37
II.5. Détermination des teneurs en acide urique.....	37
II.6. Détermination des teneurs en triglycérides.....	37
II.7. Détermination des teneurs en cholestérol total.....	37
III. Hémogramme.....	38
III.1. Frottis sanguin.....	38
III.2. Numération globulaire.....	38
a)- Numération des hématies.....	38
b)- Numération des leucocytes.....	38
III.3. Dosage de l'hémoglobine : Méthode de Drabkin.....	39
IV. Paramètres immunologiques.....	39
IV.1. Préparation des splénocytes-T.....	39
IV.2. Test de transformation lymphoblastique (TTL).....	39
IV.2.1. Comptage des splénocytes T.....	40
IV.2.2. Détermination de la prolifération des splénocytes T par la méthode du MTT.....	42
IV.2.3. Dosage des protéines cellulaires.....	42
V. Marqueurs du statut oxydant/antioxydant au niveau des splénocytes.....	43
V.1. Dosage des protéines carbonylées.....	43
V.2. Dosage du malondialdéhyde.....	43
V. 3. Dosage de l'activité de la catalase.....	43
VI. Analyse statistique.....	44
Résultats et interprétation	45
I. Evolution du poids corporel, nourriture ingérée et apport énergétique des rates	

témoins et expérimentales recevant différents régimes.....	45
I.1. Evolution du poids corporel.....	45
I.2. Nourriture ingérée.....	45
I.3. Apport énergétique.....	47
II. Etude biochimique.....	47
II.1. Teneurs plasmatiques en glucose et en protéines totales.....	47
II.2. Teneurs plasmatiques en créatinine, en urée, et en acide urique.....	49
II.3. Teneurs plasmatiques en cholestérol et en triglycérides.....	49
III. Etude hématologique.....	52
III.1. Hémogramme des rates témoins et expérimentales.....	52
III.2. Valeur de la formule leucocytaire chez les rates témoins et expérimentales recevant différents régimes.....	54
IV. Etude immunologique.....	54
IV.1. Prolifération des cellules T stimulés par la Con A en présence d'insuline et d'acides gras chez les rates témoins et expérimentales.....	54
IV.2. Teneurs en protéines ($\mu\text{g/puits}$) des cellules T stimulées par la Con A en présence d'insuline et d'acides gras chez les rates témoins et expérimentales.....	57
V. Marqueurs du statut oxydant/antioxydant au niveau des cellules T.....	59
V.1. Teneurs en protéines carbonylées ($\text{nmol} / 10^6$ cellules) des cellules T stimulées par la ConA en présence d'insuline et d'acides gras chez les rates témoins et expérimentales.....	59
V.2. Teneurs en malondialdéhyde (MDA) ($\text{nmol} / 10^6$ cellules) des cellules T stimulées par la ConA en présence d'insuline et d'acides gras chez les rates témoins et expérimentales.....	61
V.3. Activité de la catalase intracellulaire (U / ng de protéines) des cellules T stimulées par la ConA en présence d'insuline et d'acides gras chez les rates témoins et expérimentales.....	63
Discussion	66
Conclusion	78
Références bibliographiques	80
Annexes	94

Avant propos

Plus de six milliards d'êtres humains vivent sur notre planète. Parmi eux, 850 Millions sont sous-alimentés, alors qu'un milliard de personnes sont obèses, exposées à un mode de vie sédentaire avec accès quasi illimité à la nourriture et souffrent de plus en plus des maladies de pléthore (diabète, obésité, maladies cardiovasculaires, etc....). L'obésité est la plus fréquente des pathologies liées à la nutrition dans de nombreux pays, incluant les pays en voie de développement. Les relations entre le système immunitaire et l'obésité ont fait l'objet de nombreuses recherches et il est bien admis que l'obésité est accompagnée par des altérations de la fonction immunitaire et une augmentation la sensibilité aux infections. Ces anomalies sont liées à l'implication des nutriments dans les réponses moléculaires et cellulaires. De plus, la composition en acides gras de la ration lipidique alimentaire modifie la réponse immunitaire en changeant les propriétés de la membrane des lymphocytes. De nombreuses études ont montré que les acides gras polyinsaturés de la famille n-3 ont un effet bénéfique sur la fonction immunitaire.

Notre travail de recherche s'inscrit dans le cadre d'un projet de recherche portant sur la détermination de la place de la nutrition dans une stratégie de prévention de l'obésité et des désordres associés. Notre objectif principal est d'approfondir nos connaissances sur les altérations du système immunitaire associées à l'obésité et de démontrer que les acides gras polyinsaturés (AGPI) peuvent améliorer la prolifération des lymphocytes. Nous avons utilisé un modèle animal d'obésité expérimentale et nutritionnelle, le rat « Wistar » soumis à différents régimes : un régime hyperlipidique et hypercalorique nommé régime cafeteria, et un régime cafeteria supplémenté en l'huile de lin riche en acides gras polyinsaturés de type oméga -3. Ces régimes sont donnés aux rats « Wistar » femelles pendant une période de un mois. Ce protocole expérimental permet de mieux comprendre le développement de l'obésité et de caractériser les altérations du système immunitaire et les profils oxydants / antioxydants suite au régime cafeteria. L'enrichissement du régime cafeteria en l'huile de lin permet de vérifier l'amélioration de la fonction immunitaire et de la balance redox par les AGPI n-3, et peut constituer une stratégie de traitement des anomalies associées à l'obésité.

Introduction

Tout au long de l'histoire de l'Humanité, la prise de poids et l'accumulation de réserves de graisses ont été considérées comme des signes de santé et de prospérité, en des temps de travail harassant et de pénuries alimentaires fréquentes. Cependant, aujourd'hui, l'industrialisation et l'urbanisation amènent une élévation du niveau de vie, entraînant des changements dans les comportements et les habitudes alimentaires. La prise de poids et l'obésité constituent une des plus graves menaces pour la santé publique (Ndiaye, 2007).

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) considère l'obésité comme l'une des principales épidémies non infectieuses du XXe et du XXIe siècle. Elle représente maintenant la deuxième cause principale de décès après la cigarette (Ndiaye, 2007). Autrefois considérés comme des maux affectant les pays développés, le surpoids et l'obésité ont aujourd'hui rejoint la malnutrition et l'infection au rang des problèmes de santé publique majeurs des pays en développement (Hossain et al., 2007). De plus, l'obésité est significativement associée à l'hypertension artérielle, au diabète, aux dyslipidémies, à l'insuffisance coronaire, cardiaque et respiratoire, à la lithiase biliaire, à la pathologie ostéo-articulaire, l'inflammation et à certains cancers (Lamas et al., 2004 ; Basdevant, 2008).

Durant les dernières années, les différents rapports de l'OMS ont montré une augmentation régulière de la prévalence de l'obésité et de l'excès pondéral un peu partout dans le monde chez l'adulte comme chez l'enfant (Gouranton et Landrier, 2007). D'après les dernières estimations mondiales pour 2005, environ 1,6 milliards d'adultes (âgés de 15 ans et plus) étaient en surpoids et au moins 400 millions d'adultes étaient obèses. On estime que l'obésité frappe 18 % de la population mondiale, et a augmenté de 50 % ces sept dernières années. L'OMS prévoit en outre que d'ici 2015, quelques 2,3 milliards d'adultes présenteront un surpoids et plus de 700 millions seront obèses (Ndiaye, 2007 ; Didier et al., 2009). A l'Union européenne, les dernières estimations de L'IASO (International Association for the Study of Obesity) montre que la prévalence du surpoids et de l'obésité est de 61,7% chez les hommes et de 47,1% chez les femmes, soit, 17,2% des hommes et 16,7% des femmes sont obèses (L'IASO, 2007). En France, et selon l'étude nationale nutrition santé (ENNS, 2006), 49,3 % des adultes (57,2 % des hommes et 41,4 % des femmes) sont en surpoids ou obèses (Castetbon et al., 2008). Aux Etats-Unis, la prévalence de l'obésité reste cependant nettement supérieure (32,2 % en 2003-2004) et environ 60% de la population présentant un surpoids (De Bandt, 2004 ; Charles et al., 2008).

D'après les données de l'OMS, il apparaît que l'obésité existe aussi bien dans les pays en développement que dans ceux émergents comme les pays du Maghreb. Au Maroc, la prévalence de l'obésité atteint 3,7% chez les hommes et 20,5% chez les femmes. En Tunisie, elle est respectivement de 7,7% et 30,2% (Ndiaye, 2007). Le surpoids et l'obésité sont devenu un problème de santé publique qui menace l'Algérie (Taleb et Agli, 2009), selon l'Organisation mondiale de la santé la prévalence de l'obésité chez l'adulte est de 5,2% chez les hommes et de 13,4% chez les femmes (Ndiaye, 2007).

L'OMS définit l'obésité comme une surcharge pondérale par excès de masse grasse qui a des conséquences néfastes pour la santé, dans ses trois dimensions, somatique, psychique et sociale (Ziegler, 2009). La mesure de la masse grasse étant difficile à réaliser en pratique clinique, une estimation de la surcharge pondérale est donc utilisée pour définir l'obésité : l'indice de masse corporelle (IMC) ou body mass index (BMI) qui est égal au poids (en kilogramme) divisé par la taille (en mètre) au carré (Berdah, 2010).

Si les valeurs normales pour la population adulte sont comprises entre 18,5 et 24,9 kg/m², le surpoids est caractérisé par un IMC entre 25,0 et 29,9 kg/m², alors que l'obésité avérée commence à partir de l'IMC de 30 kg/m², et lorsque l'IMC est supérieur à 40,0 kg/m², on parle de l'obésité massive ou morbide (Berdah, 2010).

L'obésité est une pathologie du tissu adipeux (Basdevant, 2002). Le développement de l'obésité résulte d'une régulation anormale de la balance énergétique et/ou de celle des macronutriments (**Figure 1**). Elle est principalement expliquée par un bilan énergétique positif prolongé : apports énergétiques accrus et diminution des dépenses. L'excès calorique s'accumule sous forme de graisses dans le tissu adipeux (Tounian, 2004). C'est une inflation des réserves énergétiques, stockées sous forme de triglycérides dans les adipocytes (Basdevant, 2002).

Au cours de la phase dynamique de l'obésité ou phase de gain de poids, les apports énergétiques globaux sont supérieurs aux dépenses énergétiques. Durant la phase de maintien de l'obésité, le poids reste constant, quoiqu'excessif, au cours du temps (Binnert et Tappy, 2001). Son stade de constitution résulte d'un stockage d'énergie excessif. Sa persistance indique une adaptation du bilan d'énergie (Basdevant, 2002).

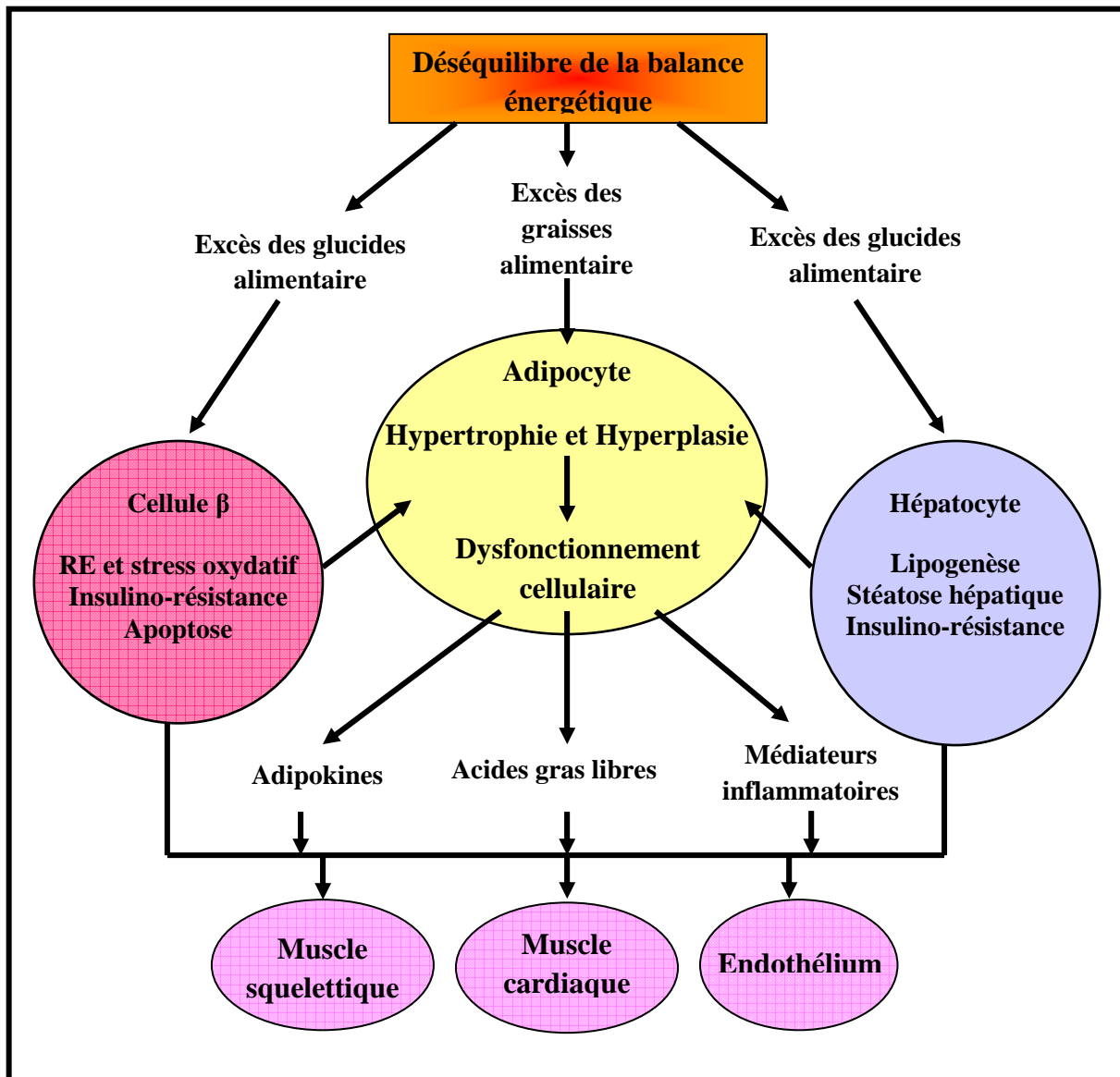


Figure 1 : Conséquences d'un déséquilibre énergétique (De Ferranti et Mozaffarian, 2008).

L'excès de lipides et de glucose postprandial circule dans le sang et est repris par le pancréas, le foie et le tissu adipeux. Les adipocytes stockent les triglycérides dans les gouttelettes lipidiques, aboutissant à une hypertrophie des adipocytes. Ces expositions en excès entraînent un dysfonctionnement cellulaire, qui se manifeste par des anomalies dans les adipokines, augmentation des acides gras libres circulants, et un état pro-inflammatoire. Ce qui affecte les muscles squelettiques (accumulation de lipides, résistance périphérique à l'insuline), le muscle cardiaque (dépôts lipidiques), et la dysfonction endothéliale. L'exposition des cellules β à l'excès de nutriments favorise la résistance à l'insuline ; expose les hépatocytes à un excès de graisses et de glucides entraînant ainsi l'insulino-résistance et la stéato-hépatite.

L'augmentation de la masse grasse est d'abord le fait d'une augmentation de la taille des adipocytes (hypertrophie), puis le nombre de cellules augmente (hyperplasie) (De Ferranti et Mozaffarian, 2008). La taille des adipocytes est le résultat de la balance lipogénèse/lipolyse. Au delà d'une certaine taille, la cellule adipeuse ne grossit plus, l'augmentation des capacités de stockage nécessite une augmentation du nombre de cellules. C'est l'hyperplasie. Le nombre des adipocytes peut ainsi s'accroître dans de larges proportions. L'augmentation du nombre d'adipocyte résulte du processus d'adipogénèse, qui implique un processus de prolifération des cellules souches et leur différenciation en adipocytes (Basdevant, 2006).

Une fois différenciées, les cellules restent disponibles pour stocker les lipides. Le nombre de cellules peut rester élevé, même après perte de poids. Ainsi au-delà d'une certaine ampleur et d'une certaine durée, le retour devient très difficile (Basdevant, 2002).

L'excès du tissu adipeux est associé à des anomalies métaboliques. L'augmentation des taux d'acides gras libres circulant contribue à l'insulinorésistance en inhibant l'utilisation du glucose, la synthèse de glycogène, la glycolyse, et en favorisant la synthèse hépatique de glucose. Les acides gras libres perturbent la phase initiale d'activation intracellulaire consécutive à la liaison de l'insuline à son récepteur, notamment en agissant sur des protéines telles les insulin receptor substrates (IRS-1) ou PI3-kinase. Par ailleurs, l'élévation des métabolites des acides gras tels le diacylglycérol favorise l'activation de nombreuses kinases, comme la protéine-kinase C, à l'origine des boucles de rétrocontrôle négatif sur les voies de transduction de l'insuline (Bouglé et Annane, 2009).

L'obésité est associée à une variété de dyslipidémies (Ebbeling et Ockene, 1998). Les sujets obèses sont fréquemment caractérisés par un état de dyslipidémie, dans lequel les concentrations plasmatiques des triglycérides sont augmentées et celles des HDL cholestérol (high density lipoprotein) sont abaissées (Despres, 1994).

Le tissu adipeux blanc a été longtemps considéré comme un simple tissu de stockage et de réserve d'énergie. Il est maintenant reconnu pour ses fonctions endocrines et ses multiples implications dans la régulation de l'homéostasie énergétique, mais aussi dans les processus immunitaires et inflammatoires locaux ou systémiques (**Figure 2**) (Fève et al., 2006 ; Antuna-Puenté et al., 2008). Le tissu adipeux est un tissu hétérogène composé d'une variété de cellules: des adipocytes matures, des précurseurs adipocytaires, des cellules endothéliales, des macrophages, des vaisseaux et des nerfs, des lymphatiques, du tissu de soutien. Le tissu

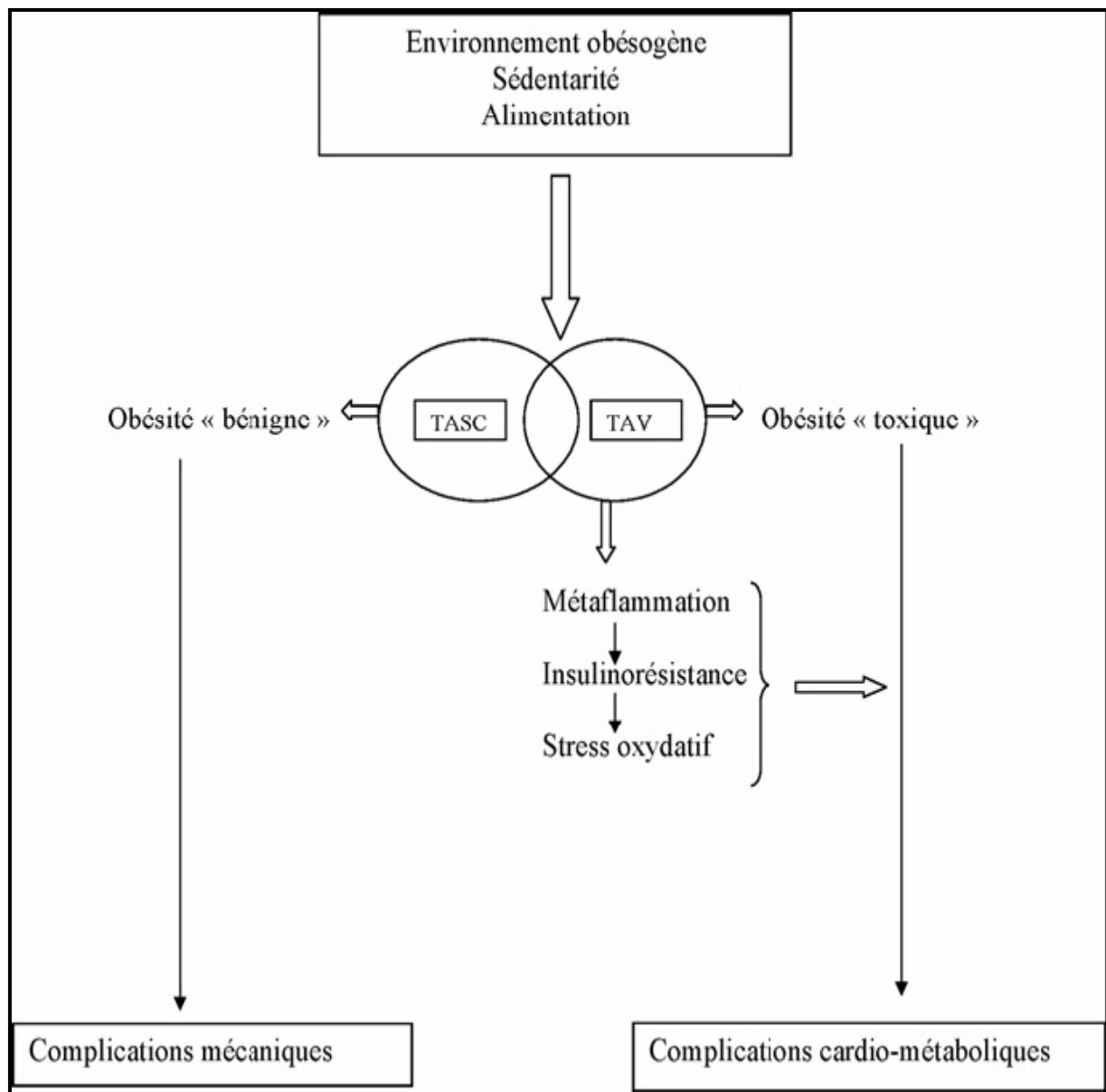


Figure 2 : Effets délétères de l'excès de tissu adipeux viscéral (TAV) responsable de manifestations systématiques contrairement à l'excès de tissu adipeux sous cutané (TASC). (Schlienger et al., 2010).

adipeux est un organe endocrine et paracrine d'une remarquable plasticité (Basdevant, 2008 ; Clément et Vignes, 2009). Il est maintenant établi que via la sécrétion de molécules biologiquement actives, le tissu adipeux joue un rôle déterminant au sein d'un réseau complexe de communications entre organes et participe ainsi aux altérations métaboliques et aux pathologies associées à l'obésité (Dray et al., 2008).

Le tissu adipeux sécrète des hormones, ainsi que d'autres molécules, rassemblées sous le terme d'adipokines (Fève et al., 2006) qui sont impliquées dans la régulation du métabolisme énergétique ainsi que dans l'inflammation et la réponse immunitaire chez l'homme et l'animal d'expérimentation (Katagiri et al., 2007 ; Fantuzzi, 2009).

Au cours de l'obésité, l'augmentation de la masse adipeuse modifie la production de la plupart des adipokines (**Figure 3**). Le rôle de ces adipokines sur le métabolisme est déjà largement étudié : certaines participent favorablement au maintien de l'homéostasie énergétique (adiponectine, leptine...), alors que d'autres ont un effet délétère sur le métabolisme (Dray et al., 2008).

Les adipokines les plus étudiées pour leurs liens avec l'homéostasie pondérale et la sensibilité à l'insuline restent la leptine et l'adiponectine (Clément et Vignes, 2009).

La leptine est une hormone peptidique de 16 kDa comportant 167 acides aminés et dont la séquence est fortement conservée parmi différentes espèces chez les mammifères (Gaucher et al., 2003). Le gène codant pour la leptine est nommé *ob*. La leptine régule le poids corporel en diminuant l'appétit et en augmentant les dépenses énergétiques (Friedman et Halaas, 1998).

Le récepteur de la leptine Ob-R est le produit du gène *db* (Baumann et al., 1996). Les effets anorexigènes de la leptine sont dépendants du récepteur Ob-Rb, dont la partie cytoplasmique est plus longue que celle de toutes les autres isoformes (Halaas et al., 1995). Le récepteur Ob-Rb est retrouvé de manière abondante au niveau de l'hypothalamus, qui est une région du cerveau jouant un rôle important dans le contrôle de l'appétit. Les souris déficientes en leptine (*ob/ob*) ou en l'expression de la forme longue de son récepteur (*db/db*) présentent un phénotype d'obésité sévère, se caractérisant par une augmentation de la prise alimentaire et une diminution des dépenses énergétiques (Zhang et al., 1994).

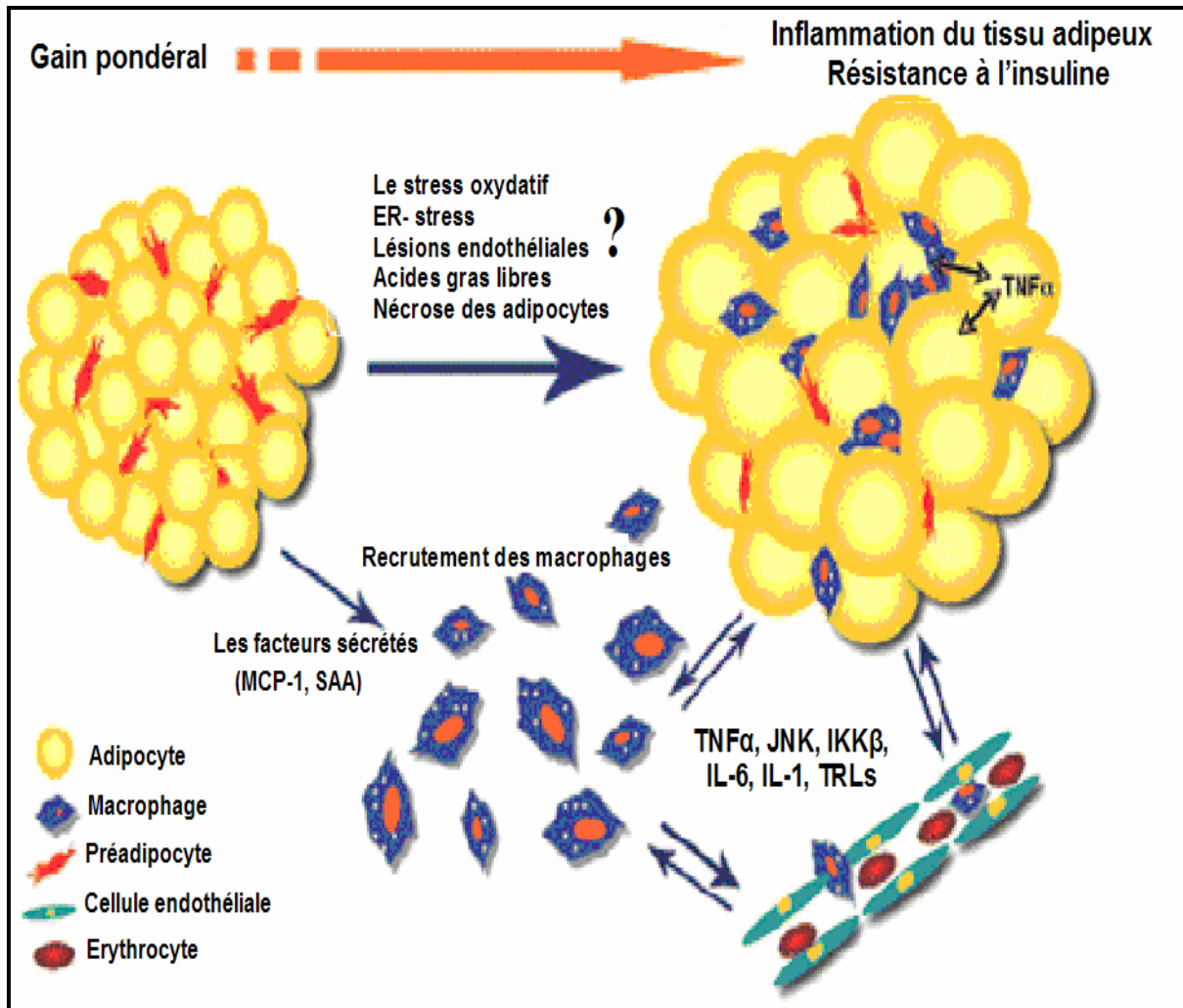


Figure 3: Les anomalies des adipocytes dans l'obésité et le rôle pro-athérogènes de l'adiposité (Sanz et al., 2008).

Le gain pondéral progressif conduit à l'élargissement des adipocytes et un état pro-inflammatoire avec une augmentation de l'activation des macrophages, la sécrétion de cytokines, et des lésions endothéliales. ER : réticulum endoplasmique; IKK : IkappaB kinase; interleukine : IL; JNK : c-Jun N-terminal kinase, MCP : monocytes chimiotactique protéine; SAA : sérum amyloïde A; TLR : récepteur Toll-like; TNF : facteur de nécrose tumorale.

La leptine est produite par le tissu adipeux, mais également par d'autres tissus dont le placenta, les os, les glandes mammaires, les follicules ovariens ou l'estomac, et ses récepteurs sont présents dans la majorité des tissus (Ravanan et al., 2008). Les taux circulants de leptine corrélient avec l'importance de la masse grasse et par conséquent, les individus obèses présentent des taux sériques de leptine plus élevés que les sujets minces (Considine et al., 1996). Des souris lipodystrophiques (avec un tissu adipeux absent ou très réduit) ont des taux de leptine plasmatique très bas (Lafontan, 2003).

La leptine peut influencer les réponses inflammatoires en modulant la production de cytokines pro- ou anti-inflammatoires (Xiao et al., 2003). Plusieurs études ont montré que les taux circulants de leptine sont augmentés au cours de processus infectieux et inflammatoires (**Figure 4**). L'expression du gène *ob* dans le tissu adipeux et les taux circulants de leptine augmentent après l'administration de stimuli pro-inflammatoires tels que l'administration systémique de LPS (Grunfeld et al., 1996).

L'adiponectine est une protéine fortement exprimée dans le tissu adipeux. Elle est connue sous plusieurs noms [ACRP30 (*Adipocyte Complement-Related Protein of 30 kDa*) ou adipoQ] chez la souris et [GBP28 (*Gelatin-Binding Protein 28*) ou APM1 (*AdiPose Most abundant gene transcript 1*)] chez l'homme. Ses concentrations circulantes, qui représentent 0,01% des protéines plasmatiques, sont de l'ordre de 5 à 30 mg/l chez des sujets minces, alors que celles en leptine ne sont que de 2 à 8 µg/l (Fève et al., 2006). C'est une protéine de 247 acides aminés chez la souris et 244 chez l'homme (Kim et al., 2006).

Il existe une relation étroite entre l'adiponectinémie et la sensibilité à l'insuline et une relation inverse entre l'adiponectinémie et le degré d'obésité chez l'homme, qui touche plus particulièrement la graisse viscérale. Les mécanismes d'action de l'adiponectine en font une molécule qui jouerait un rôle protecteur contre l'athérocclérose et l'insulinorésistance (Fève et al., 2006).

L'adiponectine est une des rares molécules produites par le tissu adipeux qui présente des propriétés insulinosensibilisatrices, anti-inflammatoires et antiathérogènes (**Figure 5**). Les pathologies présentant une insulinorésistance comme l'obésité, le syndrome métabolique ou le diabète de type 2 s'accompagnent généralement d'une adiponectinémie faible (Kim et al., 2006).

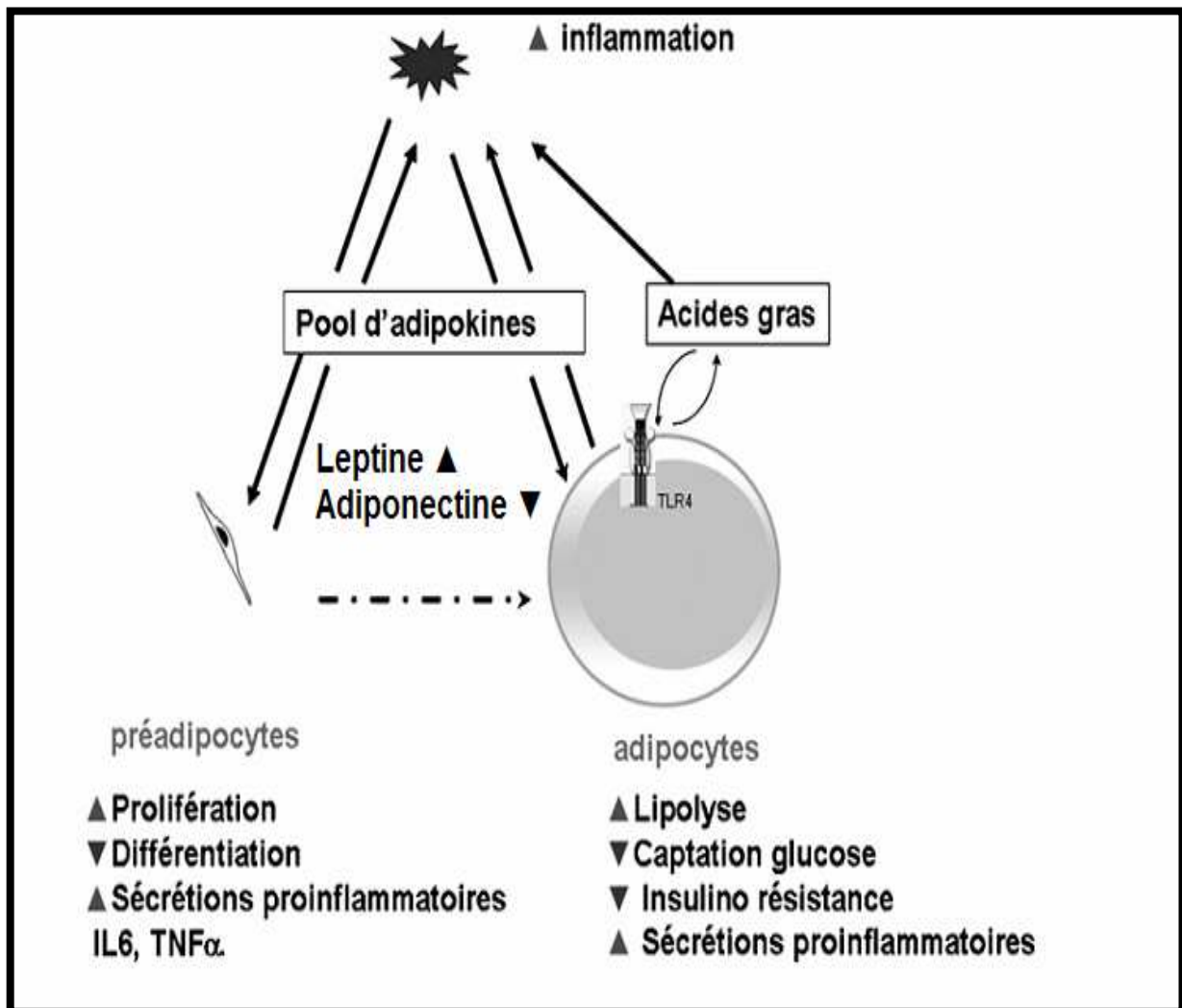


Figure 4: Dialogues paracrines entre macrophages, préadipocytes et adipocytes via les adipokines (Clément et Vignes, 2009).

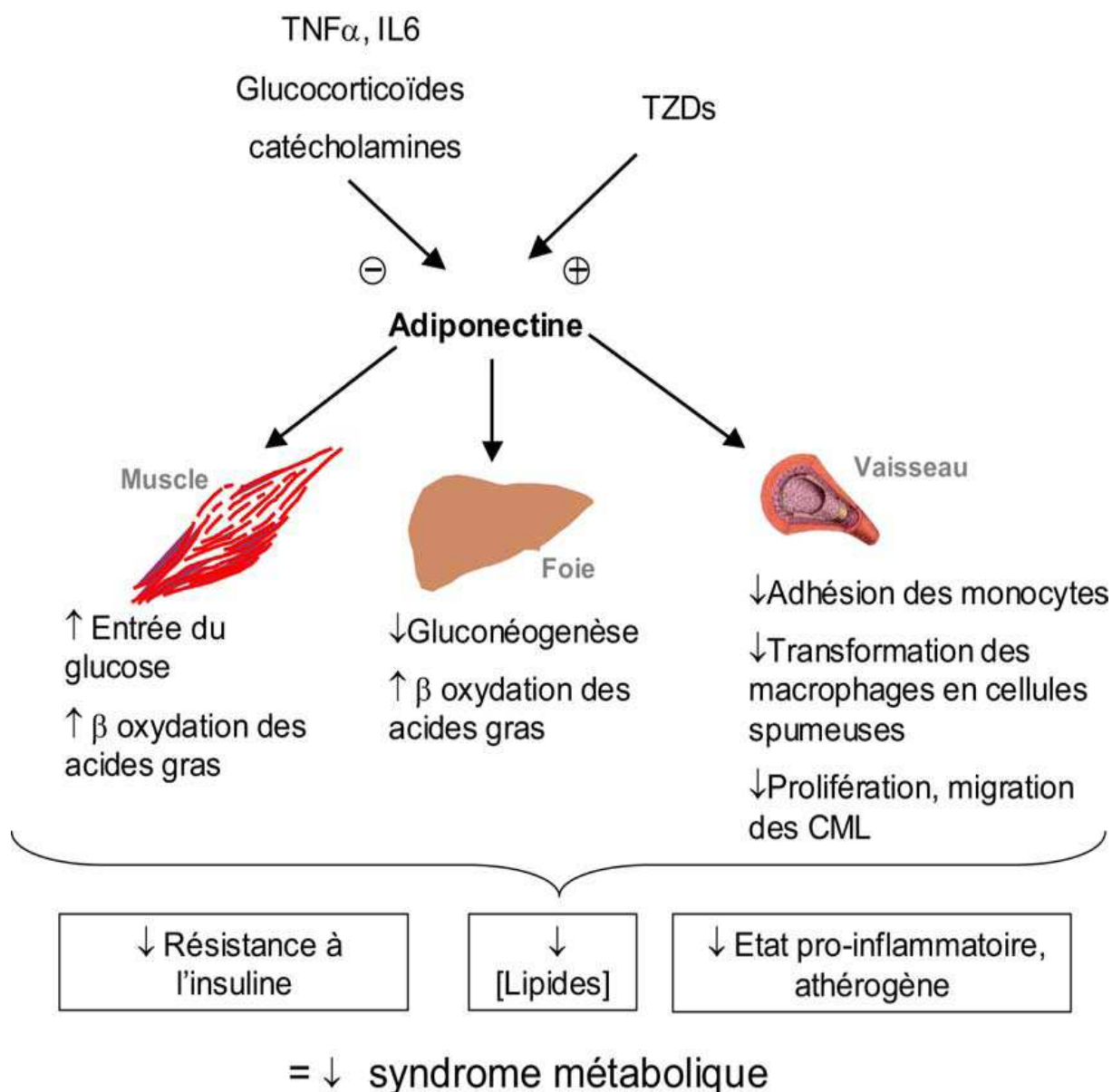


Figure 5 : Effets insulino-stimulants, anti-inflammatoires et antiathérogènes de l'adiponectine (Kim et al., 2006).

Elle augmente l'oxydation des acides gras au niveau du muscle et du foie. Elle stimule l'entrée du glucose dans le muscle et diminue la gluconéogenèse dans le foie, contribuant à une meilleure sensibilité à l'insuline. De plus, elle inhibe le développement de l'athérosclérose et semble donc jouer un rôle clé dans le syndrome métabolique (TZDs : thiazolidindiones ; CML : cellules musculaires lisses).

L'obésité a été associée à un dysfonctionnement immunitaire. Chez l'homme, les réponses des lymphocytes périphériques à des stimulations de mitogènes sont réduites (Smith et al., 2007). Une diminution des fonctions des cellules T et B, une augmentation de la phagocytose des monocytes et des granulocytes, une stimulation du métabolisme oxydatif, et une augmentation du nombre de leucocytes ont été décrits (Federico et al., 2010).

Des recherches récentes ont montré que l'obésité est un élément critique dans la régulation de la réponse immunitaire et inflammatoire (Sorser et al., 2009). Une immunosuppression, une augmentation de la fréquence des infections, et une atténuation de la réponse anticorps, sont quelques effets observés sur l'immunité au cours de l'obésité (Marcos et al., 2003).

Les relations entre l'inflammation du tissu adipeux et les complications métaboliques de l'obésité ont été évoquées il y a une quinzaine d'années (Clement et Vignes, 2009). Il est actuellement admis que l'obésité induit une inflammation chronique qui influence le développement des pathologies associées à l'obésité (Ravanan et al., 2008).

La réponse immunitaire spécifique est assurée par les lymphocytes principalement localisés dans les organes lymphoïdes primaires (moelle osseuse et thymus) où ils sont produits, dans les organes lymphoïdes secondaires (rate et ganglions lymphatiques) où la réponse est initiée ainsi qu'aux sites d'entrée potentielle des pathogènes tels que les muqueuses. Les cellules activées circulent dans les différents tissus par les voies sanguines et lymphatiques afin d'assurer le contrôle et l'élimination spécifique des cellules infectées ou endommagées (Calmels, 2004).

Il existe deux grandes classes de lymphocytes, les lymphocytes B (LB), qui sont les précurseurs des plasmocytes sécrétant les anticorps et les lymphocytes T (LT), qui assurent à la fois des fonctions effectrices et régulatrices de la réponse immunitaire spécifique (**Figure 6**) (Calmels, 2004).

La réponse adaptative présente deux volets : la réponse humorale, basée sur la production d'immunoglobulines par les plasmocytes issus de la différenciation des lymphocytes B et la réponse cellulaire basée sur l'action des lymphocytes T qui coordonnent les différents axes de la réponse immunitaire et détruisent les cellules infectées (Defranco et al., 1995 ; Calmels, 2004).

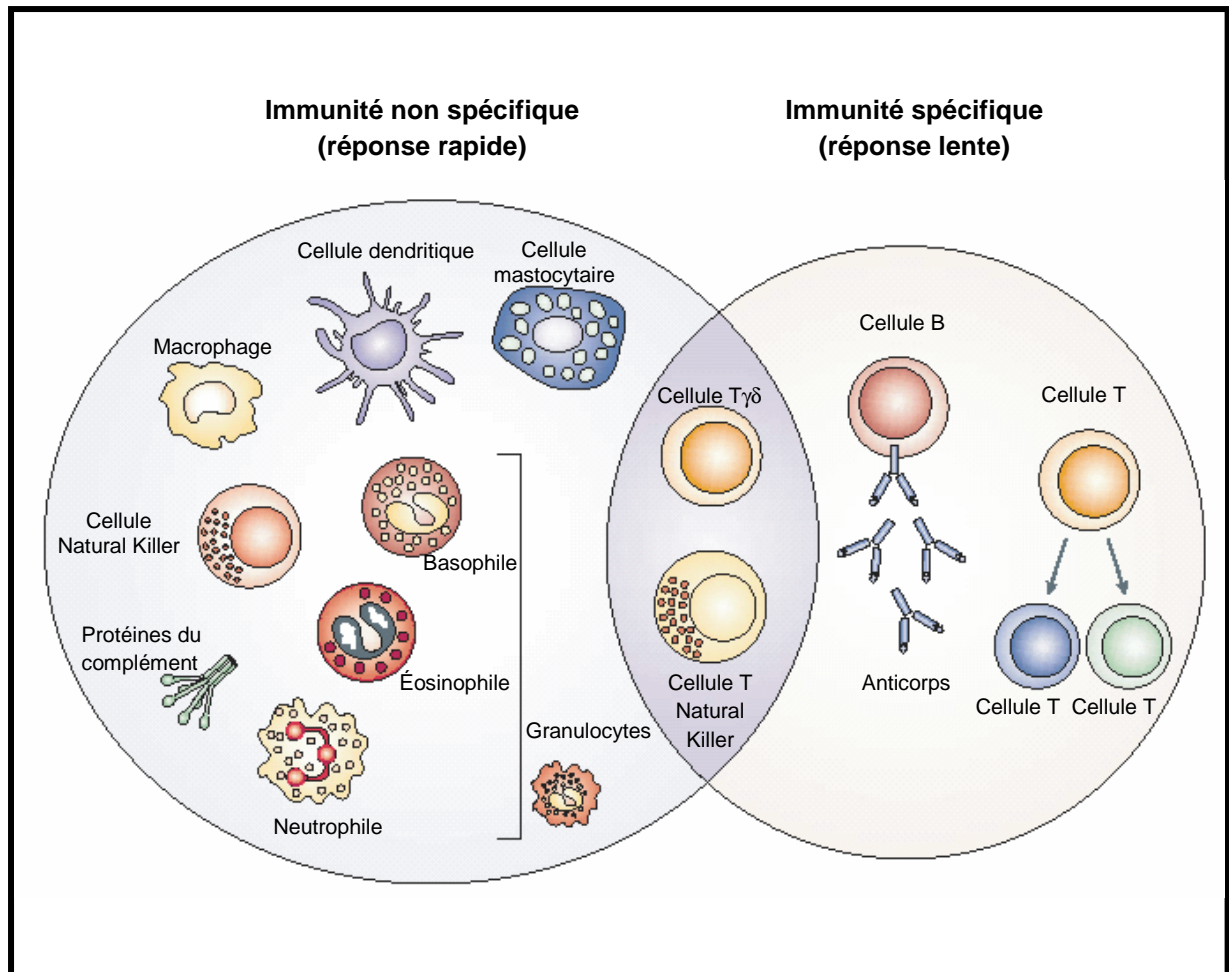


Figure 6 : Immunité non spécifique et spécifique (Dranoff, 2004).

La réponse immunitaire non spécifique est la première ligne de défense de notre organisme; elle englobe des facteurs solubles comme les protéines du complément, et des composantes cellulaires incluant les cellules mastocytaires, les cellules dendritiques, les macrophages, les granulocytes et les cellules Natural Killer. La réponse spécifique, plus lente à se mettre en place, est caractérisée par sa spécificité antigénique et sa mémoire. Elle comprend les lymphocytes B, T CD4⁺ et T CD8⁺. Les cellules T $\gamma\delta$ et T Natural Killer peuvent être placées à l'interface entre réponse non spécifique et spécifique.

Les lymphocytes B sont caractérisés par le fait qu'ils possèdent à leur surface cellulaire des molécules d'anticorps ou immunoglobulines capables d'interagir directement avec l'antigène : leur récepteur spécifique le BCR (B-Cell Receptor) (Defranco et al., 1995).

Un lymphocyte B donné ne fabrique que des anticorps reconnaissant une seule et unique région de l'antigène ou déterminant antigénique. En périphérie (ganglions lymphatiques et rate), une série d'étapes de maturation transforme les lymphocytes B qui ont reconnu l'antigène par leurs anticorps de surface, en plasmocytes, cellules spécialisées dans la sécrétion des anticorps. Les anticorps de surface d'un lymphocyte B et les anticorps sécrétés par le plasmocyte issu de la différenciation de ce lymphocyte B reconnaissent le même antigène (Rouas et al., 1993).

Les lymphocytes T achèvent leur maturation dans le thymus. Ils portent à leur surface une molécule de reconnaissance de l'antigène, appelée le récepteur T (T cell receptor ou TCR). Les récepteurs T reconnaissent l'antigène présenté par les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) à la surface des cellules présentatrices d'antigènes (CPA), macrophages, cellules dendritiques, lymphocytes B, et lors de certaines réponses des lymphocytes T, toutes les cellules nucléées de l'organisme (Rouas et al., 1993 ; Calmels, 2004).

Les lymphocytes T sont responsables de la réponse immunitaire à médiation cellulaire. Les lymphocytes T matures sont subdivisés en deux subpopulations ayant des fonctions distinctes : les lymphocytes T auxiliaires en anglais Helper (CD4+) et les lymphocytes T cytotoxiques (CD8+). Ces deux populations facilitent la réponse à médiation cellulaire de deux façons : les lymphocytes T auxiliaires ou Helpers (CD4+) produisent les cytokines (ce sont des facteurs solubles sécrétés après le contact avec les antigènes spécifiques), amplifient la réponse immunitaire innées, induisent la réponse par les anticorps ; alors que les lymphocytes T cytotoxiques (CD8+) attaquent et détruisent directement les cellules étrangères ou anormales (Simone et al., 2008).

De nombreux facteurs endogènes participent à la régulation métabolique et fonctionnelle des cellules immunocompétentes. Parmi eux, soulignons le rôle des adipokines (leptine, adiponectine) qui jouent aussi un rôle important dans la réponse inflammatoire et immunitaire en lien avec l'état nutritionnel (Fantuzzi, 2005).

Ainsi, la leptine stimule l'activité des cellules phagocytaires et régule la différenciation et l'activation des lymphocytes T (**Figure 7**) (Caldefie-Chezet et al., 2003). Un travail expérimental montre que son inhibition permet de contrôler la réponse auto-immune en réduisant la prolifération de certains phénotypes de lymphocytes T (De Rosa et al., 2006). L'adiponectine est un régulateur négatif important de l'hématopoïèse et du système immunitaire (Hattori et al., 2006) mais son activité immunorégulatrice dominante *in vivo* n'est pas clairement établie et dépend probablement du contexte physiopathologique.

Un certain nombre de travaux ont montré récemment que l'obésité était associée à un état inflammatoire chronique infraclinique concernant principalement le tissu adipeux blanc, caractérisé chez le sujet obèse par un infiltrat de macrophages entre les adipocytes. Cet état inflammatoire chronique induit une insulino-résistance, une intolérance au glucose, voire un diabète de type 2. Il est caractérisé par un excès de production d'adipokines (en particulier de leptine), responsable d'une activation anormale de certaines voies de signalisation intracellulaire de la réponse immunitaire et inflammatoire, et par voie de conséquence, de l'induction de la production de médiateurs inflammatoires (Bastard et al., 2006).

Cette activation chronique de la réponse immunitaire et inflammatoire diminue, voire se normalise, en cas de réduction de la surcharge pondérale (Van Dielen et al., 2004). À côté de ses conséquences sur le métabolisme du glucose, l'inflammation chronique du sujet obèse peut également directement favoriser l'athérogenèse (Bastard et al., 2006).

Au cours de l'obésité, l'accumulation de graisse au niveau du tissu adipeux conduit à l'induction d'un stress oxydant systémique, chez les rongeurs et l'homme (Gouranton et Landrier, 2007).

Le stress oxydatif correspond à une perturbation du statut oxydatif intracellulaire, induite soit par production excessive de radicaux libres, soit par diminution de la capacité de défense antioxydante. Les effets des radicaux libres sont proportionnels à l'intensité et à la durée de leur production (Morel et Barouki, 1999 ; Berger, 2006).

En effet, les radicaux libres sont des molécules ou atomes qui possèdent un ou plusieurs électrons non appariés sur leur couche externe. Cet état leur confère une instabilité énergétique et cinétique (Koechlin-Ramonatxo, 2006).

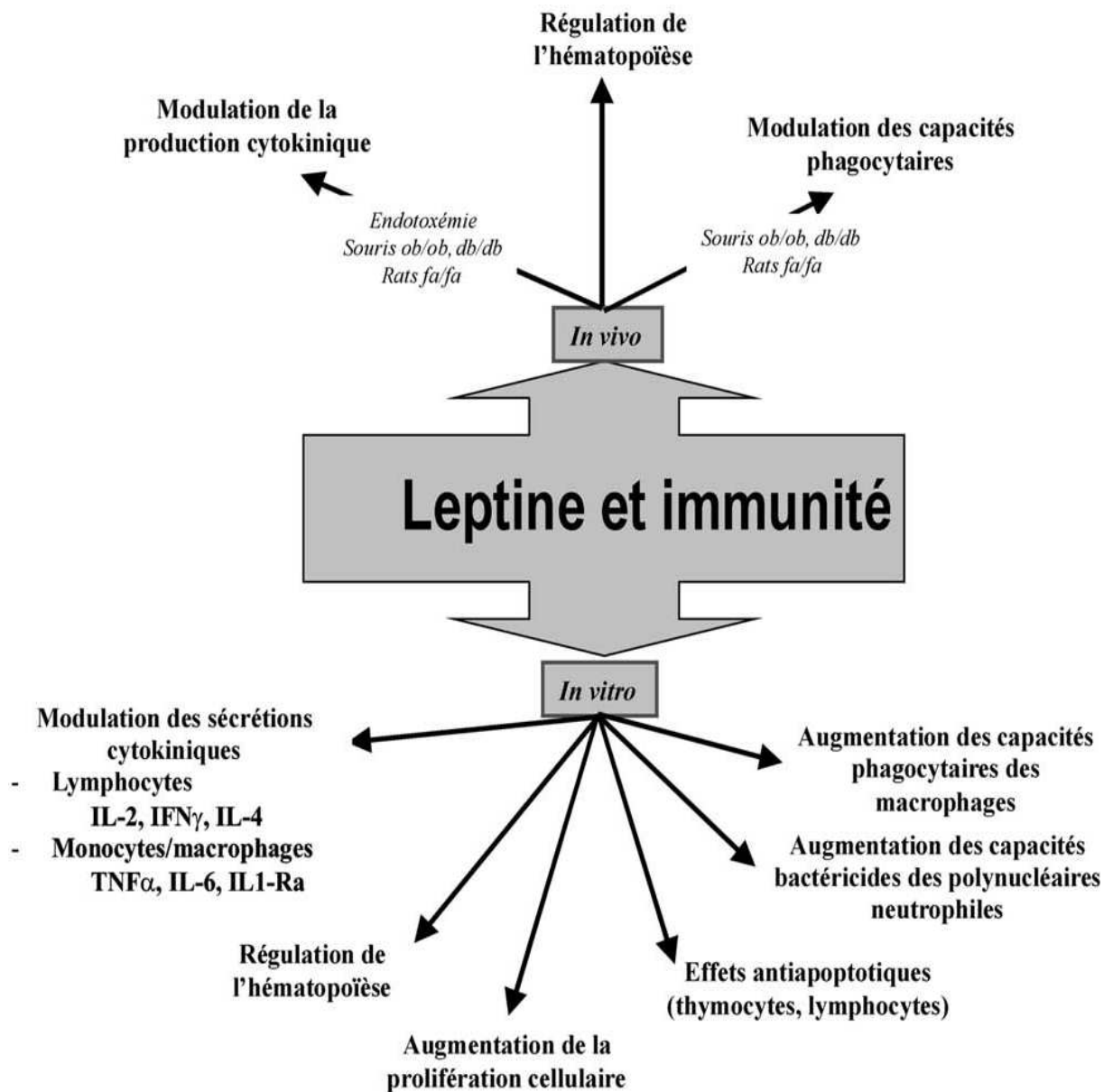


Figure 7 : Principaux effets de la leptine décrits in vivo et in vitro sur l'immunité (Caldefie-Chézet et al, 2003)

Du fait de leur instabilité énergétique, les radicaux libres ont tendance à revenir immédiatement à un état stable en donnant un électron ou en prenant un à une autre molécule : ils peuvent donc être réducteurs ou oxydants. En jouant le rôle d'accepteur ou donneur d'électrons, les radicaux libres ont donc la propriété d'être extrêmement réactifs vis-à-vis des autres molécules, possédant un temps de demi-vie extrêmement court (de la nano- à la milliseconde) (Koechlin-Ramonatxo, 2006).

De nombreux facteurs, tels que des perturbations métaboliques, l'inflammation, des agents physiques, des cytokines, la présence d'oxydants exogènes, peuvent conduire à la formation de radicaux libres. Les radicaux libres réagissent avec des substrats oxydables (dont le glucose) et produisent des radicaux carbonyles. Ces derniers ont de multiples effets intracellulaires, dont la glycation de protéines, l'altération de la structure de l'ADN, la génération de produits de peroxydation des lipides, et la modulation de la transcription de nombreux gènes (Morel et Barouki, 1999).

Par sa configuration électronique, l'oxygène moléculaire est un radical libre. Il possède en effet deux électrons non appariés. Heureusement, un blocage cinétique limite sa réactivité : les spins de ces deux électrons célibataires sont parallèles lui attribuant une stabilité relativement grande. Cependant, dans l'organisme une partie de cet oxygène moléculaire peut capter de manière univalente et séquentielle un électron conduisant alors la formation du chef de file des espèces oxygénées réactives : l'anion superoxyde ($O_2 + 1e^- \rightarrow O_2^{\circ -}$) (Koechlin-Ramonatxo, 2006).

Les dérivés réactifs de l'oxygène sont produits au cours de la réduction de l'oxygène moléculaire en eau (**Figure 8**). Le transfert d'un électron à l'oxygène engendre le radical superoxyde ($O_2^{\circ -}$), transformé sous l'action de la superoxyde dismutase (SOD) en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Celui-ci n'est pas, chimiquement parlant, un radical libre oxygéné (RLO) comme la plupart des autres espèces réactives de l'oxygène, mais, biologiquement, il se comporte comme tel. Par addition de nouveaux électrons, H_2O_2 donne naissance au radical hydroxyle (OH^{\bullet}). Ce dernier, hautement réactif, peut s'attaquer à la plupart des macromolécules (hydrates de carbone, protéines, acides nucléiques, lipides donnant des lipoperoxydes), désorganisant leur structure chimique et altérant leurs fonctions biologiques. D'autres réactions chimiques conduisent enfin à la formation d'acide hypochloreux et d'oxygène singulet sous l'action de la myéloperoxydase granulocytaire, ou encore à la formation de dérivés complexés à des catabolites du monoxyde d'azote, les peroxynitrites. Le

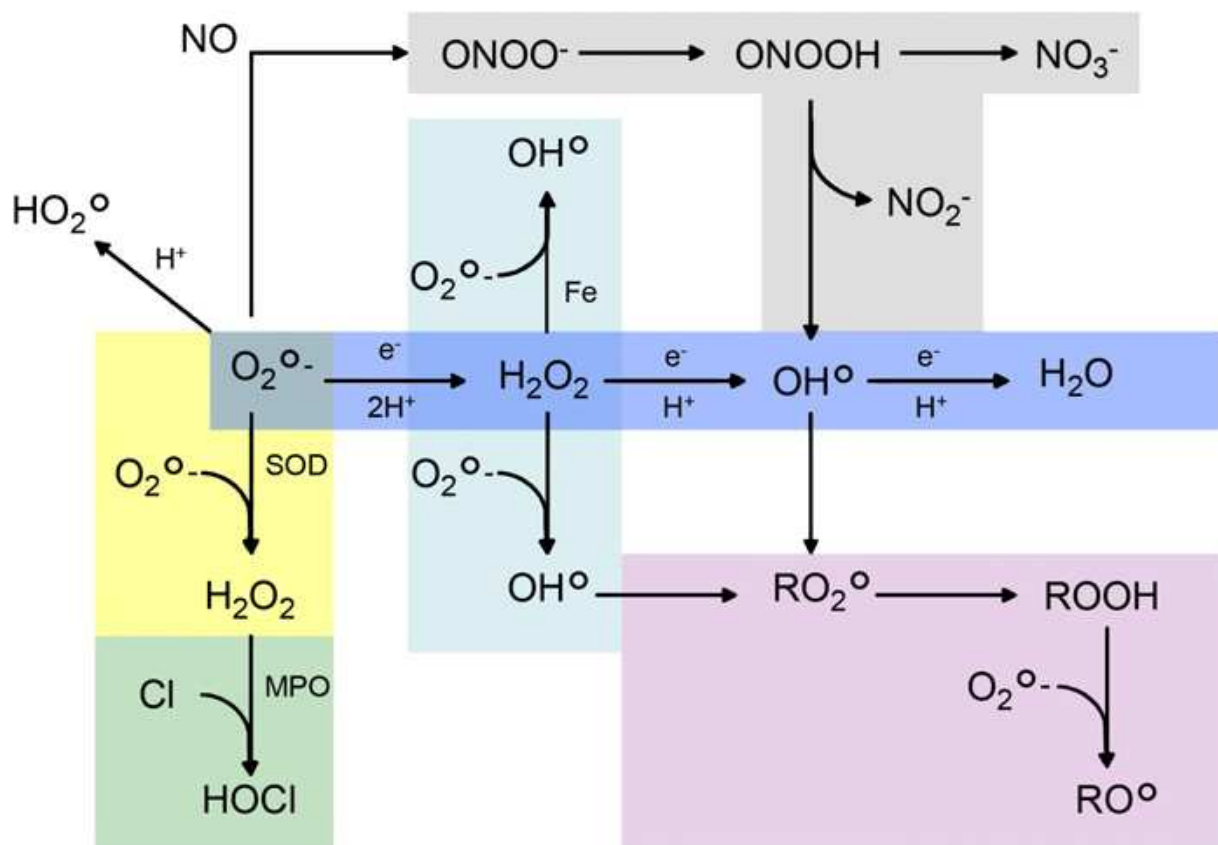


Figure 8 : Formation en cascade des différentes espèces oxygénées réactives à partir du radical superoxyde (Koechlin-Ramonatxo, 2006).

monoxyde d'azote, quant à lui, est produit sous l'action de la NO synthase (NOS), en particulier de sa forme inductible (iNOS) au cours des phénomènes inflammatoires aigus ou chroniques, à partir d'arginine, d'oxygène et de NADPH (Reimund, 2002).

Notre organisme est équipé d'un système complexe de défenses antioxydantes enzymatiques et non enzymatiques, localisé dans les compartiments intra- et extracellulaire (**Figure 9**) (Favier, 2003).

Un antioxydant (AOX) est une substance qui inhibe ou retarde significativement l'oxydation d'un substrat, alors qu'elle présente une concentration très faible dans le milieu où elle intervient (Berger, 2006).

À l'heure actuelle, deux catégories de système de défense ont été mises en évidence. Le système endogène est constitué d'enzymes ou d'agents réducteurs (superoxyde dismutase, catalase, glutathion peroxydase, ..) dont l'action est de neutraliser les espèces oxygénées réactives (EOR) par leur transformation en molécules stables et non réactives. L'organisme possède une seconde ligne de défense « les piègeurs de radicaux libres » qui sont des composés pour la plupart apportés par l'alimentation et dont le rôle essentiel est de neutraliser les effets toxiques des EOR, limitant ainsi toute atteinte de l'intégrité cellulaire. (Koechlin-Ramonatxo, 2006). Le **Tableau 1** reporte les principaux antioxydants non-enzymatiques retrouvés dans l'alimentation.

Les SOD éliminent les radicaux superoxydes par dismutation du radical en H_2O_2 et en OH^+ et OH^- (Mn SOD dans la mitochondrie, CuZn SOD dans le cytosol et les érythrocytes). Elles permettent d'éliminer les radicaux superoxydes mais provoquent l'apparition de peroxyde d'hydrogène diffusible et dangereux à distance. La synthèse des SOD subit un rétrocontrôle négatif par les fortes concentrations de peroxyde d'hydrogène. L'activité des SOD est dépendante des apports nutritionnels en cuivre et à un moindre degré en zinc (Goudable et Favier, 1997).

Les catalases réduisent le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 en libérant de l'oxygène et de l'eau. Elles sont localisées surtout dans les peroxysomes. Elles n'éliminent pas la totalité du peroxyde d'hydrogène, mais leur rôle est très important surtout en présence d'ions ferreux en permettant d'éliminer l'excès de peroxyde (Lindau-Sehpard et Shaffer, 1993).

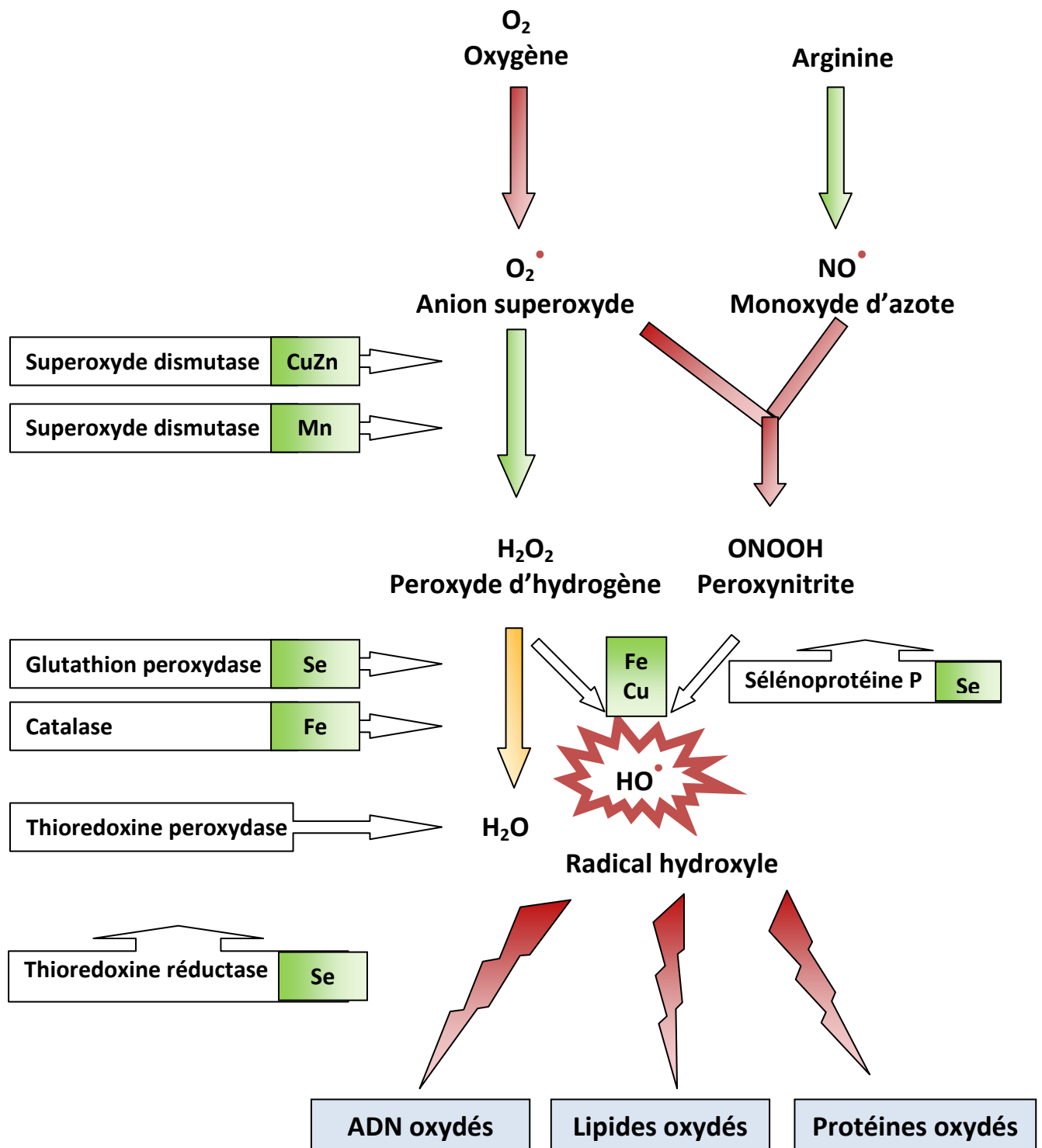


Figure 9 : Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques (Favier, 2003).

Tableau 1 : Principaux antioxydants non enzymatiques et sources alimentaires associées (Koechlin-Ramonatxo, 2006).

Principaux nutriments antioxydants	Sources alimentaires
Vitamine C	Agrume, melon, brocoli, fraise, kiwi, chou, poivron
Vitamine E	Huile de tournesol, de soja, de maïs, beurre, oeufs, noix
β -carotène	Légumes et fruits orangés, et vert foncés
Sélénium	Poisson, oeufs viandes, céréales, volaille
Zinc	Viande, pain complet, légumes verts, huîtres, produits laitiers
Flavonoïdes	Fruits, légumes, thé vert
Acides phénoliques	Céréales complètes, baies, cerises
Tanins	Lentilles, thé, raisins, vin
Métabolisme de la cystéine, glutathion	Caséine, Lactalbumine (petit-lait), produits laitiers Brocoli, chou Œufs, poissons, viandes

Les glutathion peroxydases (GSHPX) réduisent le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 et les hydroperoxydes lipidiques. Pour leur fonctionnement, elles utilisent le glutathion réduit (GSH) comme cofacteur sur lequel elles transfèrent l'oxygène, le transformant en glutathion oxydé (GSSG). Dans la cellule, dans les conditions physiologiques, la forme glutathion réduit est prédominante (95 %). Les GSHPX connues sont des enzymes à sélénium. Le sélénium est intégré dans la protéine sous forme de sélénocystéine. Le facteur limitant de la synthèse des sélénoprotéines, et donc des GSHPX, est la teneur intracellulaire en sélénium (Vitoux et al., 1996).

Le stress oxydant selon sa nature et son intensité peut entraîner une modification de la synthèse des GSHPX pour une meilleure adaptation cellulaire ou une inactivation de l'enzyme. Il est important de noter que la lutte contre les radicaux libres passe par un effet complémentaire des SOD et des GSHPX. En effet, le radical superoxyde n'est pas particulièrement agressif pour les milieux biologiques, les SOD seules ont donc un effet ambigu générant du peroxyde d'hydrogène qui, lui, est très cytotoxique expérimentalement surtout en présence de traces de fer. Il faut donc la présence concomitante des SOD et des GSHPX pour obtenir un effet protecteur optimum contre les radicaux libres (Goudable et Favier, 1997).

Parmi les défenses antioxydantes non enzymatiques, les vitamines jouent un rôle essentiel (Roussel et Ferry, 2002).

La vitamine E agit *in vivo* et *in vitro* en neutralisant les radicaux libres, devenant elle même un radical non toxique. La réduction de la vitamine E oxydée est assurée par la vitamine C. Les concentrations de ces deux vitamines sont donc nécessairement liées pour la protection contre la peroxydation lipidique. La vitamine E est l'antioxydant liposoluble qui a la plus grande concentration molaire cellulaire (Meydani, 1995).

La vitamine C (acide ascorbique) agit en régénérant la vitamine E *in vivo*, mais peu *in vitro*. *In vivo*, elle est maintenue sous forme réduite par l'action de la déshydroascorbate réductase qui utilise le glutathion comme cofacteur (Goudable et Favier, 1997).

Les caroténoïdes (vitamine A et β -carotène), apportés par l'alimentation, ont un rôle essentiel dans la neutralisation des effets toxiques des EOR, limitant ainsi toute atteinte à l'intégrité cellulaire. Le β -carotène, précurseur de la vitamine A, capte l'oxygène singulet sous faible

pression d'oxygène et, avec les autres caroténoïdes, il a le pouvoir de terminer les réactions en chaîne de lipoperoxydation. Ainsi, une alimentation équilibrée, riche en fruits et légumes, est nécessaire pour l'efficacité cellulaire de notre système antioxydant, afin de préserver un équilibre cellulaire adéquat entre EOR et antioxydants (Goudable et Favier, 1997 ; Koechlin-Ramonatxo, 2006).

Le glutathion joue un rôle majeur dans la protection des lipides, des protéines et des acides nucléiques contre l'oxydation. En situation de stress oxydant, son rôle protecteur et détoxifiant résulte principalement de sa fonction de coenzyme des GSHPX. Il fait aussi l'objet d'interactions synergiques avec d'autres composants du système de protection antioxydante tels que la vitamine C ou la vitamine E (Goudable et Favier, 1997).

La survie d'un radical libre *in vivo* est extrêmement brève, de l'ordre de la fraction de milliseconde. La détermination *in vivo* du stress oxydatif est donc très difficile, particulièrement en clinique, permettant seulement la détection des dégâts que ces radicaux libres causent aux molécules et tissus sur leur passage. Les méthodes analytiques disponibles ont toutes des points faibles, et aucune ne donne entièrement satisfaction. On peut mesurer les antioxydants endogènes, déterminer la capacité antioxydante totale du plasma, détecter le fer libre, mesurer l'activation des neutrophiles, utiliser la bioluminescence pour visualiser les formes radicalaires ou utiliser la spectroscopie (Electron Spin Resonance). On peut aussi quantifier les produits oxydés :

- Lipides : lipoperoxydes, malondialdéhyde, F2-isoprostane, ou le 4-hydroxyenal ;
- Protéines : groupes carbonyles, anticorps contre ces mêmes groupes carbonyles ;
- ADN : test comète qui permet de quantifier par électrophorèse sur gel la quantité d'ADN endommagée (proportionnelle à la taille de la queue de la comète).

Cette dernière méthode semble prometteuse, car applicable en clinique et très reproductible (Berger, 2006).

Plusieurs études portées sur l'homme et l'animal ont montré que la sous ou suralimentation affecte profondément la réponse immunitaire et le stress oxydatif (Verwaerde et al., 2006). De nombreux nutriments sont reconnus pour leur capacité à moduler les fonctions immunitaires, en particulier en situation inflammatoire. De nombreux travaux, tant expérimentaux que

cliniques, ont pu ainsi démontrer le rôle de certains acides aminés (glutamine, arginine), des lipides (acides gras poly-insaturés des séries n-3 et n-6), des vitamines antioxydantes et des oligoéléments (Moinard, 2006).

Notre alimentation actuelle est représentée par des apports lipidiques importants, notamment en acides gras saturés (AGS). Or, l'effet d'une surconsommation de ces nutriments sur le métabolisme de certains tissus, foie et muscle squelettique en particulier, ne semble pas neutre. Un nombre important d'études ces dernières années a pu décrire les anomalies métaboliques liées à une telle consommation (Walrand et al., 2010).

Un nombre croissant de preuves scientifiques suggère que certains lipides sont cruciaux dans de nombreux processus liés à la survie, la croissance et la différenciation cellulaires. Ils sont notamment impliqués dans la transduction intracellulaire, les réarrangements du cytosquelette et le trafic membranaire (Bazan, 2005).

L'influence des lipides est complexe, puisqu'elle résulte d'un équilibre subtil entre acides gras saturés et acides gras polyinsaturés et, parmi ces derniers, entre ceux de la série oméga-3 et ceux de la série oméga-6, dont les principaux représentants sont, respectivement, l'acide linoléique (LNA) et l'acide linoléique (LA) (Youinou et al., 1993 ; Moinard, 2006).

Elle est déterminante dans l'inflammation qui est une réponse immunitaire non spécifique. Elle s'exerce également dans l'immunité spécifique, c'est-à-dire au niveau des lymphocytes T et des lymphocytes B. Les membranes de ces cellules sont constituées de lipides dont dépendent non seulement leur fluidité, mais également la mobilité des récepteurs dont elles sont pourvues (**Figure 10**) (Youinou et al., 1993).

Les modifications de la réponse immunitaire et inflammatoire par les acides gras (AG) sont multiples et complexes et dépendent de nombreux paramètres tel que type et quantité d'AG apportés (Wu, 2004).

Globalement, les acides gras poly-insaturés de la série oméga-3 (AGPI n-3) diminuent l'intensité de la réponse inflammatoire et modulent le système immunitaire (Rees et al., 2006). Ces propriétés sont à l'origine de leur qualification d'immunonutriments, même si de nombreuses questions restent à résoudre avant de connaître leur place précise et leur intérêt en thérapeutique chez l'Homme (Hasselman et Reimund, 2004).

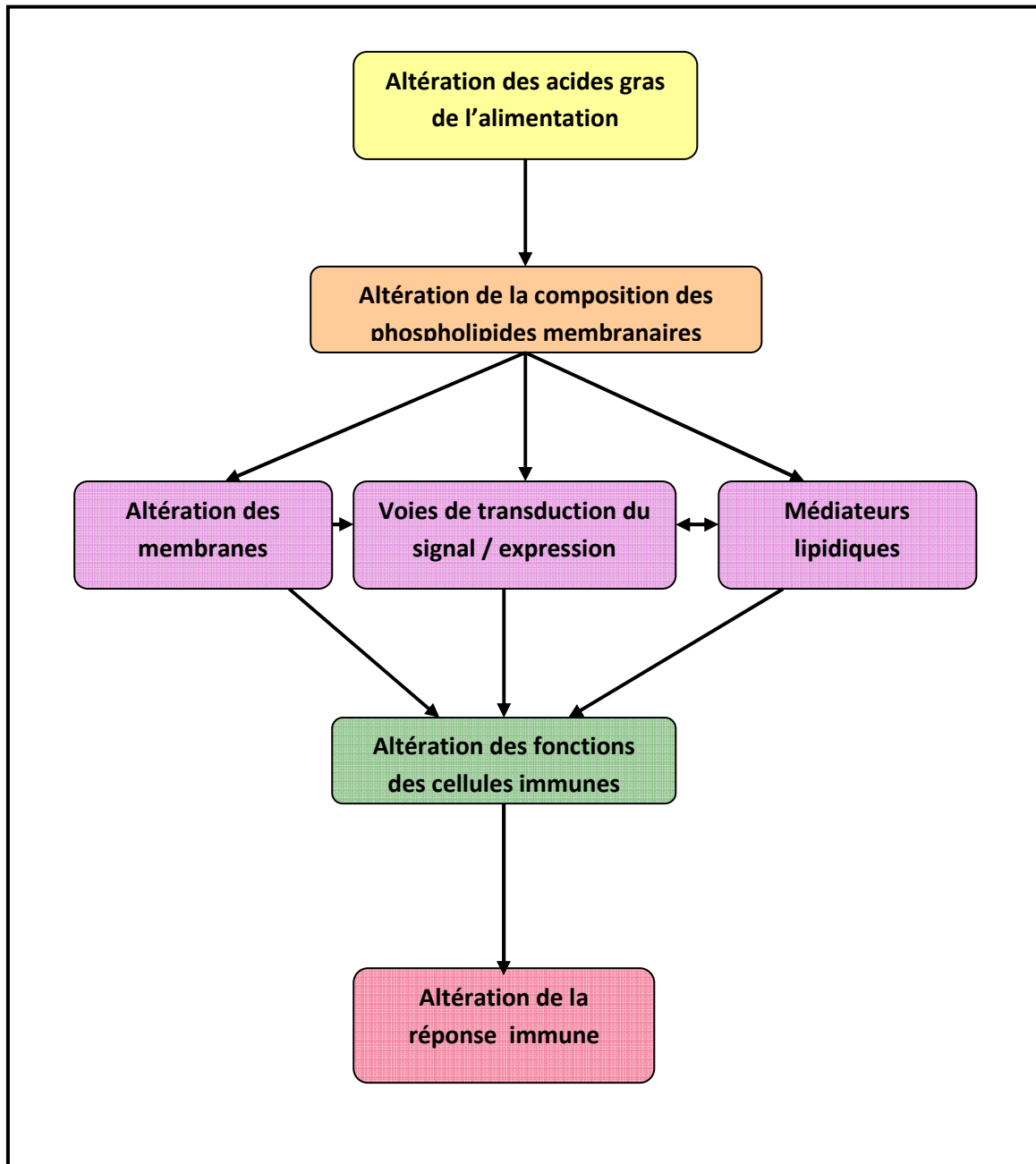


Figure 10 : Mécanismes par lesquelles les acides gras pourraient exercer leurs effets sur la fonction des cellules immunitaires (Calder, 2007).

La composition du régime alimentaire en AG a changé de manière significative depuis les années 1960, où l'obésité a commencé à augmenter. Le premier changement a été l'augmentation du rapport acides gras polyinsaturés (AGPI) / acide gras saturé (AGS), en raison de l'augmentation de la consommation des huiles végétales riches en acides gras polyinsaturés, plutôt que les graisses animales, qui sont plus riches en acides gras saturés. Le second changement est l'augmentation subséquente du contenu des acides gras polyinsaturés en oméga-6, alors que celui des oméga-3 a diminué ou est demeuré constant. Cela est dû à des niveaux très élevés des AGPI n-6 dans les huiles végétales les plus courantes (soja, maïs, tournesol, etc.) utilisés dans l'alimentation humaine ainsi que dans l'alimentation animale (Legrand et al., 2010).

D'un point de vue nomenclature chimique, les oméga-3 se distinguent des oméga-6 par la position de leur première double liaison qui est portée par le troisième atome de carbone à partir de l'extrémité N-terminale de l'AG et non pas par le sixième, d'où leur appellation n-3 ou ω -3. L'acide linoléique, précurseur de la famille des AGPI n-6 peut être transformé chez les végétaux en acide alphalinoléique (ALA, 18: 3n-3), premier AGPI n-3 (**Figure 11**). Les animaux et les humains ne possèdent pas la capacité de synthétiser ces deux AGPI n-3 et n-6 et leur apport ne peut se faire que par l'alimentation, d'où leur qualification d'AG essentiels. Chez l'homme et l'animal, les mêmes enzymes interviennent dans la synthèse des oméga-3 comme l'acide eicosapentaénoïque (EPA) et l'acide docosahexaénoïque (DHA) et oméga-6 comme l'acide arachidonique (AA, **Figure 11**). Il en découle une compétition entre ces deux familles pour le développement de leurs dérivés métaboliques. Ainsi, un excès d'apport en acide linoléique pourrait compromettre la production d'EPA et de DHA à partir de l'acide ALA (Blondeau et Schneider, 2006).

La forte consommation de graisse est étroitement liée au développement de l'obésité d'origine nutritionnelle. Il existe également des évidences très claires sur le fait que la nature des graisses alimentaires peut affecter le métabolisme lipidique et le dépôt de graisses corporelles ; ainsi, c'est non seulement la teneur mais également la composition en acides gras des lipides alimentaires qui doivent être considérées (Raclot et Oudart, 2000).

Le premier rôle des AGPI et aussi le plus documenté est celui de composants structuraux. Ils sont la base de la bicouche lipidique qui constitue toutes les membranes cellulaires, ce qui les implique dans la fluidité et la perméabilité membranaires ainsi que dans de nombreuses voies de signalisation intracellulaire (Blondeau et Schneider, 2006).

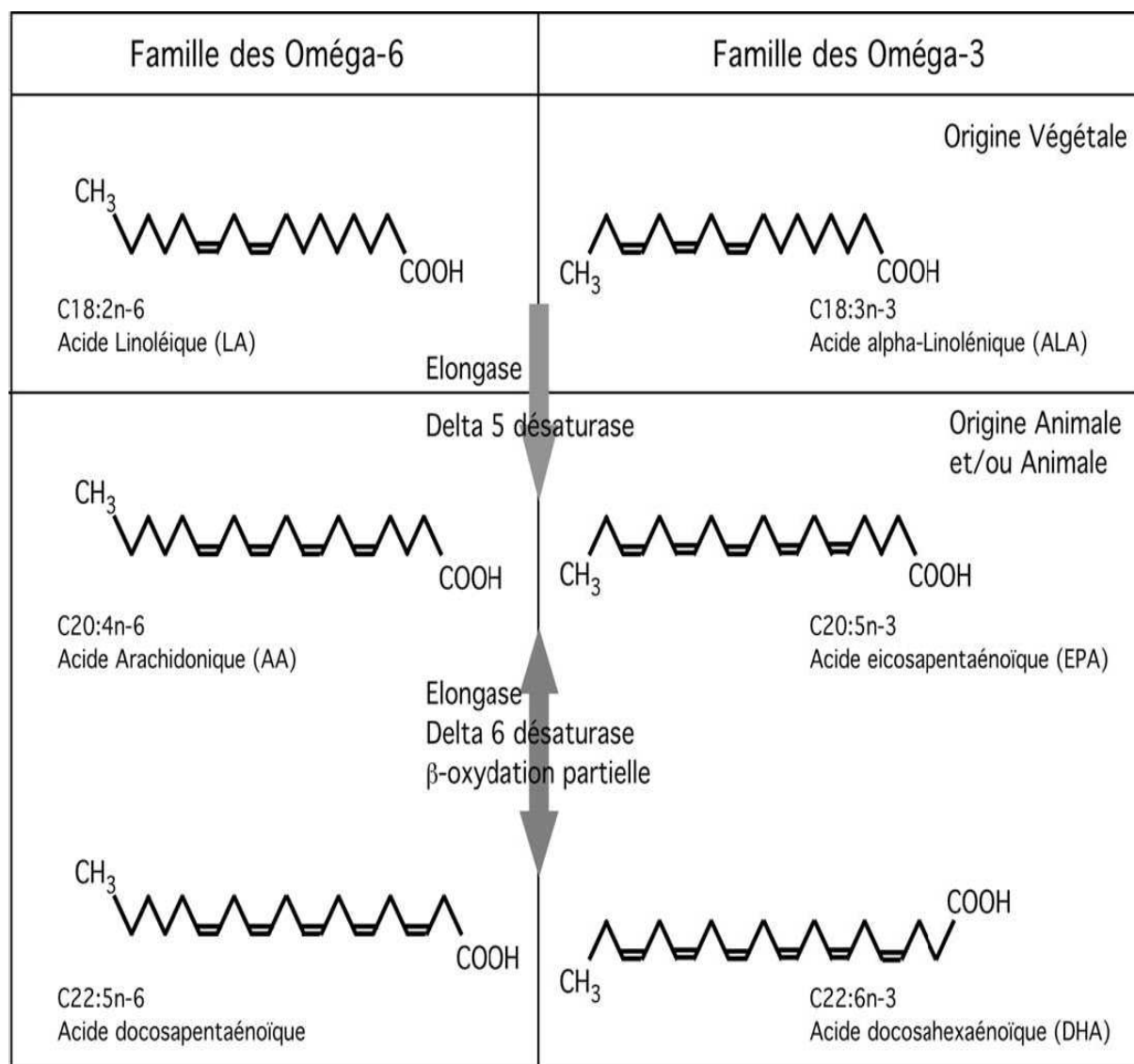


Figure 11 : Les différents acides gras poly-insaturés de la famille des oméga-3 (n-3) et des oméga-6 (n-6) (Blondeau et Schneider, 2006).

Les acides gras poly insaturés (AGPI) sont connus pour affecter le développement du tissu adipeux. Plusieurs études rapportent en effet que la consommation de régimes riches en graisse contenant des AGPI n-3 d'huile de poisson limite l'hypertrophie de dépôts adipeux par rapport à la consommation de régimes riches en graisse contenant du lard (graisse saturée) chez le rat (Hainault et al., 1993). Des résultats similaires ont été obtenus sur plusieurs modèles tels que le rat Zucker génétiquement obèse, la souris, la souris *ob/ob* génétiquement obèse, le hamster et l'homme. Globalement, les AGPI n-3 influencent le développement du tissu adipeux en fonction de sa localisation anatomique, de la teneur en AGPI du régime et de la durée du traitement nutritionnel (Raclot et Oudart, 2000).

Une croissance du tissu adipeux est associée à un rapport oméga-6/oméga-3 très élevé. Une supplémentation en acides gras polyinsaturés de la série oméga-3 (EPA/DHA) a une action directe sur le tissu adipeux : antiadipogénique, par une diminution de la prolifération des adipocytes, par une diminution du stockage des graisses due à une augmentation de la bêta oxydation et une diminution de l'activité de l'AGsynthase (Ailhaud, 2007).

Chez le raton, l'ingestion d'un régime hyperlipidique enrichi en AGPI n-3 (alpha-linolénique) se traduit par une hypoplasie et une hypotrophie par rapport à l'ingestion de régimes enrichis en acides gras soit saturés, soit monoinsaturés (acide oléique), soit AGPI n-6 (acide linoléique) (Ailhaud, 2001).

Les AGPI peuvent réguler l'expression de gènes impliqués dans le métabolisme des lipides à travers un groupe de facteurs de transcription appelé les peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR). De nombreuses possibilités existent en ce qui concerne le contrôle de l'expression génique par les AGPI dans le foie et dans le tissu adipeux. Plusieurs arguments sont en défaveur des PPAR comme l'élément de réponse aux AGPI. Des facteurs dépendant des types cellulaires et/ou de leur localisation anatomique sont probablement impliqués dans l'effet spécifique des AGPI sur l'expression génique bien que d'autres mécanismes ne soient pas exclus (Raclot et Oudart, 2000).

D'importantes études ont démontré les effets bénéfiques et protecteurs des AGPI n-3 alimentaires sur les anomalies lipidiques et immunologiques associées aux maladies métaboliques (Harris, 1989; Lichtenstein et al., 1998; Storlien et al., 1998; Calder, 2001; Kelly, 2001). Il est admis que les AGPI n-3 abaissent les concentrations plasmatiques en cholestérol et en triglycérides (Harris, 1989) et peuvent donc être utilisés dans le traitement

des hyperlipidémies associées à l'obésité (Storlien et al., 1998). Plusieurs mécanismes ont été proposés pour expliquer l'effet hypocholestérolémiant des AGPI n-3. Ils mettent en jeu une réduction de la synthèse des VLDL et/ou des LDL, une augmentation des récepteurs hépatiques aux LDL, une diminution de l'absorption intestinale du cholestérol et une augmentation de l'excrétion fécale des stéroïdes (Harris et al., 1989).

Les AGPI n-3 sont également susceptibles de réguler le métabolisme lipidique directement au niveau adipocytaire. Des expériences réalisées avec des adipocytes isolés ont montré une augmentation de la lipolyse stimulée après consommation d'AGPI n-3 comparée à une consommation de lard (Rustan et al., 1993).

Une supplémentation en AGPI n-3 améliore le contrôle glycémique et augmente la sensibilité à l'insuline chez les obèses. Les AGPI n-3 sont rapidement métabolisables donc moins stockés d'où leurs effets favorables sur la balance énergétique lors de l'obésité (Storlien et al., 1998).

Les effets bénéfiques des AGPI n-3 sur le stress oxydatif paraissent de plus en plus évidents. Les AGPI n-3 modulent les activités des enzymes antioxydantes et augmentent l'efficacité du système de défense antioxydant de l'organisme (Bouanane et al., 2009). L'effet bénéfique des AGPI n-3 peut aussi être lié à la régulation des gènes des enzymes impliqués dans la lipogénèse et dans la prolifération des adipocytes (Storlien et al., 1998).

L'acide linoléique (LA, précurseur des oméga-6) et l'acide alpha-linolénique (ALA, précurseur des oméga-3) sont d'une importance majeure dans le cerveau, la rétine, le foie, les reins, les glandes surrénales et les gonades. Les deux familles d'acides gras sont abondantes dans la nature. LA se trouve dans les graines de la plupart des plantes à l'exception de la noix de coco, le cacao et le palmier. ALA se trouve dans les chloroplastes des légumes à feuilles vertes et dans les semences comme l'huile de lin, et l'huile de colza (Zeghichi et al, 2003).

L'huile de lin est une huile végétale extraite des graines d'une plante herbacée annuelle membre du genre *Linum* dans la famille des Linaceae : *Linum usitatissimum* (également connu sous le nom commun de lin). Elle est l'une des plus anciennes huiles commerciales, et le solvant d'huile de lin traité a été utilisé pendant des siècles comme une huile de séchage de la peinture et de vernissage. L'huile brute est utilisée comme astringent en lotion fongicide, insecticide et a montré des propriétés insectifuges modérées (Kaithwas et Majumdar, 2010).

Les avantages de l'huile de lin ont été démontrés dans un certain nombre d'études animales et humaines, ces avantages peuvent être liés au potentiel de l'acide α -linoléique (ALA) impliqué dans le blocage de la formation et le rejet des eicosanoïdes pro-inflammatoires et des cytokines (Morris, 2003).

Selon Simopoulos et Robinson (1998), l'huile de lin est une des plus hautement insaturés de toutes les huiles. Elle représente la plus riche source végétale d'acide α -linoléique (ALA; 50-62% d'huile de lin, ou «22% de graines de lin entières) (Pan et al., 2009), En outre, l'huile de lin contient 12,7% de l'acide linoléique, ce qui donne le rapport n-3/n-6 le plus élevé parmi toutes les sources végétales (**Tableau 2**) (Tzang et al., 2009).

L'huile de lin a des antécédents de consommation alimentaire en Europe et en Asie pour ses bienfaits potentiels pour la santé, qui incluent des effets anti-cancéreux, une activité antivirale et bactéricide, anti-inflammatoire, réduction des ions, un effet laxatif et la réduction des risques athérogènes (Craig, 1999). Comme une alternative à l'huile de poisson, l'huile de lin, a suscité un intérêt en tant qu'agent potentiel anti-inflammatoire en raison de la capacité de l'ALA d'être converti en EPA chez les humains et les animaux (Cohen et al., 2005).

La supplémentation en acides gras oméga-3 a été associée, chez plusieurs espèces, à des effets systémiques anti-inflammatoires dus aux altérations du métabolisme de l'acide arachidonique et une réduction de la production de plusieurs autres substances inflammatoires (Delobel et al., 2008).

Abdel-Moneim et al. (2010), dans une étude portée sur des rats albinos mâles, ont évalué l'effet de l'huile de lin sur le stress oxydatif induit par l'acétate de plomb ainsi que sa toxicité au niveau du foie, et ont montré que l'huile de lin réduit de manière significative les lésions hépatiques et l'inflammation et, évidemment, agit comme un agent hépatoprotecteur.

Dans des études nutritionnelles à long terme, les modèles animaux restent irremplaçables (Ailhaud, 2001). Plusieurs modèles animaux ont été utilisés dans l'investigation des maladies chroniques qui menacent la santé publique dans plusieurs pays tel que l'obésité, le diabète type 2, l'hypertension...etc., parmi ces modèles, les souris ob/ob, le rat Zucker fa/fa sont les plus utilisés (Carroll et al., 2004 ; Ruth et al., 2008).

Dans nos sociétés, l'obésité est le plus souvent le résultat d'interactions entre des prédispositions génétiques et l'environnement (Archer et Mercer, 2007). En effet, les modes

Tableau 2 : Composition en acides gras de différents produits d'origine végétale (Cuvelier et al., 2004).

Huiles Acides gras	Huile de colza	Huile de maïs	Huile de lin	Huile de soja	Huile tournesol	Huile de d'olive
C14 :0	-	0,0	-	0,1	-	0,1 - 1,2
C16 :0	4,8	10,9	5,3	10,3	5,4	7 - 16
C16 :1	0,5	-	-	0,2	0,2	1,6
C18 :0	1,6	1,8	4,1	3,8	3,5	1 - 3
C18 :1	53,8	24,2	20,2	22,8	45,3	65 - 85
C18 :2	22,1	58,0	12,7	51,0	39,8	4 - 15
C18 :3	11,1	0,7	53,3	6,8	0,2	
C20 :0						0,1 - 0,3
Autres	6,1	4,4	4,4	5,0	5,6	

Teneur exprimée en pourcentage des acides gras totaux (g/100g d'acide gras *100)

de vie ont changé faisant place à une sédentarité, une diminution de l'activité physique et surtout une forte augmentation de la consommation de nourriture très énergétique, à haute teneur en sucres et en graisses. Tout ceci favorise la mise en place d'une balance énergétique très positive (Friedman, 2000 ; Drewnowski, 2007). La prise alimentaire est liée à l'obésité non seulement du point de vue volume d'ingestat, mais aussi dans le terme de composition et qualité du régime (Amin et al., 2008) .

Pour étudier l'effet des facteurs nutritionnels, plusieurs types de régimes expérimentaux ont été décrits chez les animaux. La plupart de ces régimes se focalisent sur un nutriment ou une catégorie de nutriment (par exemple les lipides, le Fructose, le sodium) mais cela ne représente pas le régime occidentalisé de l'homme (Demigné et al., 2006).

La première description d'un régime hypergras (high-fat diet ; HFD), induisant l'obésité nutritionnelle était en 1959 par Masek et Fabry. Les études ultérieures ont révélé que ce régime induit l'hyperglycémie et l'insulinorésistance (Buettner et al., 2006). De plus, ce type de régime est caractérisé non seulement par sa capacité d'induire l'augmentation du stockage des lipides dans le tissu adipeux, mais aussi par une augmentation du stress oxydatif de tous le système (Scoaris et al., 2010).

Outre le régime hypergras, l'obésité nutritionnelle est induite par le régime cafeteria. Ce régime comporte une variété d'aliments riches en calories et agréables au goût consommés par l'homme, à savoir les chips, le chocolat, le pâté, les saucissons, le fromage, les biscuits ...etc., dans des proportions variables. Ce régime hypercalorique et hyperlipidique induit chez le rat une hyperphagie et une obésité (Louis-Sylvester, 1984). Ce modèle est proche au développement de l'obésité nutritionnelle chez l'homme suite à la surconsommation volontaire de ces aliments savoureux (Barber et al., 1985).

Le régime cafeteria, très palatable et riche en calories, peut altérer la balance énergétique de l'animal. L'augmentation de la prise alimentaire observée dans les études de l'obésité chez l'homme peut être expliqué par un fort appétit aux aliments sucrés et riches en graisse. Cependant, les rats nourris au régime cafeteria, qui ont un accès libre à ses différents composants, choisissent aussi les aliments sucrés et riches en graisses (Esteve et al., 1994). Typiquement, ce régime induit une hyperphagie, une augmentation de la prise alimentaire et l'obésité (Shafat et al., 2009). De plus, les rats soumis au régime cafeteria présentent des anomalies métaboliques et un stress oxydatif évident (Bouanane et al., 2009)

Selon Lamas et al. (2002), la majorité des études portées sur l'immunité utilisent le modèle animal génétiquement obèse avec des mutations du gène de la leptine ou de son récepteur, or peu de cas de ces mutations ont été détecté chez l'homme. C'est pourquoi ils ont adopté le modèle de rongeur sous le régime cafeteria, dans le but de tester l'hypothèse que le régime induisant l'obésité (diet-induced obesity DIO) affecte les fonctions des lymphocytes et des monocytes (Lamas et al., 2002).

Katagiri et al. (2007) considèrent le régime hypergras (HFD) comme le meilleur modèle pour tester les effets de l'obésité sur l'immunité à cause des similitudes pathologiques retrouvés chez l'homme (Katagiri et al., 2007).

Ainsi, l'utilisation de modèles d'obésité basés sur la consommation de régime enrichi en graisse et/ou en sucre semble être pertinente pour reproduire l'obésité communément observée chez l'homme. Afin de reproduire au mieux les habitudes alimentaires humaines occidentales, nous avons donc choisi d'utiliser un régime de type « cafeteria » qui consiste en un mélange d'aliments du commerce riche en graisse et en sucre (Berraondo et al., 1997; Groubet et al., 2003).

Le but de notre travail est de déterminer les effets du régime cafeteria enrichi ou non en acides gras polyinsaturés n-3 (huile de lin) sur quelques paramètres immunologiques et métaboliques, ainsi que sur la balance Redox des lymphocytes chez la rate Wistar adulte.

Matériel et méthodes

I. Protocole expérimental

L'étude est réalisée sur des rats femelles adultes de type Wistar contrôlés du point de vue génétique et sanitaire, élevés à l'animalerie au niveau du département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des sciences de la Terre et de l'Univers (SNVTU), Université de Tlemcen. L'élevage est réalisé dans une pièce éclairée 12 h par jour, et dont la température est maintenue constante (22 à 25°C). Les animaux ont un accès libre à l'eau du robinet et à la nourriture ; régime standard à 19% de protéines, fabriqué par l'ONAB (Office Nationale d'Aliment de Bétail, Remchi Wilaya de Tlemcen).

L'obésité est induite chez le rat par le régime cafeteria. Ce régime, hypercalorique et hyperlipidique, induit une hyperphagie suivie d'une obésité dont l'installation est rapide chez le rat Wistar.

Les rates âgées de deux mois et d'un poids initial de 100 ± 20 g, sont nourries pendant un mois, avec un régime témoin ou un régime cafeteria, enrichis ou non en l'huile de lin. le régime cafeteria est composé de 50% de régime standard et de 50% d'un mélange de saucisse-biscuit secs- fromage- chips- cacahuètes- chocolat, dont les proportions; 2: 2: 2: 1: 1: 1 selon le protocole de Darimont et al. (2004). L'huile de lin contient 56% de C18 :3 n-3, 15% C18 :1 n-9 et 5% d'acides gras saturés (Vandeputte huilerie, Mouscron, Belgique).

Ainsi quatre lots sont constitués :

- un lot témoin constitué de 6 femelles recevant le régime standard +2,5% d'huile de table isio (TS).
- un lot expérimental constitué de 6 femelles recevant le régime cafeteria (CS).
- un lot expérimental constitué de 6 femelles recevant le régime standard enrichi en l'huile de lin (2,5%) (TL).
- un lot expérimental constitué de 6 femelles recevant le régime cafeteria enrichi en l'huile de lin (2,5%) (CL).

La composition des différents régimes consommés par les rates est donnée dans le **Tableau3**.

Tableau 3: Composition des régimes consommés par les rates (en % pondéraux).

Constituant en %	régime			
	Témoin standard TS	Cafeteria CS	Témoin lin TL	Cafeteria lin CL
Protéines totales	19	21,50	18,50	21
Glucides totaux	56	33,50	56,50	32,50
Lipides totaux	8,50	30	8,50	32,50
Fibres	4	2	4	1,50
Humidité	7,50	9	7,50	8,50
Minéraux	4	3	4	3
Vitamines	1	1	1	1
Acides gras :				
-AGS	27	42	20	30
-AGMI	24	30	18	24
-C18 :2n-6	45	27	36	20
-C18 :3n-3	3	1	25	26
-C20 :4n-6	1	0	1	0

La composition des régimes est déterminée au laboratoire de Produit Naturels du département de Biologie, Faculté SNVTU, Université de Tlemcen. La composition en acides gras est déterminée au laboratoire UPRES lipides, Faculté des sciences Gabriel, Université de Bourgogne, Dijon, France.

Le poids des rates est noté chaque semaine, la nourriture ingérée est calculée en soustrayant le reste de la nourriture de celle administrée quotidiennement.

A la fin de l'expérimentation (après un mois de régime), les rates de chaque lot sont pesées puis anesthésiées au moyen d'une injection de pentobarbital sodique à 6,5 % (0,1ml par 100g de poids corporel), après 12 heures de jeûne. Le sang est prélevé par ponction dans l'aorte abdominale. Le sang prélevé est récupéré dans des tubes à EDTA pour les tests hématologiques et biochimiques. La rate est soigneusement prélevée, rincée avec du NaCl à 9‰, ensuite pesée. La rate est utilisée pour l'isolement des splénocytes.

II. Paramètres biochimiques

II.1. Détermination des teneurs en glucose

Le glucose plasmatique est déterminé par la méthode enzymatique et colorimétrique en présence de la glucose oxydase (GOD). Le glucose est oxydé en acide gluconique et peroxyde d'hydrogène. Ce dernier, en présence de peroxydase et de phénol, oxyde un chromogène (Le 4- amino-antipyrine) incolore en couleur rouge à structure quinonéimine. La coloration obtenue est proportionnelle à la concentration en glucose présente dans l'échantillon. La lecture se fait à une longueur d'onde de 505 nm (Kit PROCHIMA).

II.2. Détermination des protéines totales

Les protéines totales sont dosées sur le plasma par la méthode colorimétrique de Biuret (Kits QUIMICA CLINICA APLICADA S. A, Espagne). Les protéines forment avec les ions cuivriques, en milieu alcalin, un complexe coloré dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en protéines. L'absorption est mesurée à 550 nm.

II.3. Détermination des teneurs en créatinine

La créatinine plasmatique est dosée par une méthode colorimétrique basée sur la réaction de l'acide picrique avec la créatinine en milieu basique formant un complexe coloré en jaune orange. L'intensité de la coloration est mesurée à une longueur d'onde de 530 nm (Kit PROCHIMA).

II.4. Détermination des teneurs en urée

L'urée plasmatique est dosée par une méthode colorimétrique basée sur l'utilisation du diacétylmonooxine et des ions Fe^{3+} . L'urée réagit avec le diacétylmonooxine en présence d'ions Fe^{3+} et d'un réducteur, pour donner un complexe coloré en rose. L'intensité de la coloration obtenue est proportionnelle à la quantité d'urée présente dans l'échantillon. La lecture se fait à une longueur d'onde de 525 nm (Kit PROCHIMA).

II.5. Détermination des teneurs en acide urique

L'acide urique plasmatique est dosé par une méthode colorimétrique. L'acide urique est dosé par réduction d'un réactif phosphotungstique en milieu alcalinisé par le carbonate de sodium. L'intensité de la coloration bleue obtenue est proportionnelle à la quantité d'acide urique présent et est mesurée à une longueur d'onde égale à 620 nm (Kit PROCHIMA).

II.6. Détermination des teneurs en cholestérol total

Le cholestérol du plasma est dosé par une méthode colorimétrique enzymatique (Kit PROCHIMA). Les esters de cholestérol sont hydrolysés par la cholestérol ester hydrolase en cholestérol libre et acides gras. Le cholestérol libre, produit et celui préexistant, est oxydé par une enzyme cholestérol oxydase en Δ^4 cholesterone et peroxyde d'hydrogène. Ce dernier en présence de peroxydase oxyde le chromogène en un composé coloré en rouge. La concentration quinoneimine colorée mesurée à 500 nm est directement proportionnelle à la quantité de cholestérol obtenu dans le plasma et est exprimée en g/l.

II.7. Détermination des teneurs en triglycérides

Il s'agit d'une méthode colorimétrique enzymatique (Kit PROCHIMA). Les triglycérides plasmatiques sont déterminés après hydrolyse enzymatique en présence d'une lipase. L'indicateur est la quinoneimine formée à partir de peroxyde d'hydrogène, de 4-aminoantipyrine et de 4-chlorophénol sous l'action catalytique de la peroxydase. La concentration est déterminée à une longueur d'onde de 500 nm et est exprimée en g/l. La concentration en quinoneimine obtenue est proportionnelle à la quantité de triglycérides présente dans le plasma.

III. Hémogramme

III.1. Frottis sanguin

L'examen du frottis de sang permet d'étudier avec précision la morphologie cellulaire et de caractériser les différents types de cellules.

Une gouttelette de sang est déposée sur une lame en verre et sert à la préparation du frottis sanguin. La coloration permet l'identification des leucocytes grâce à leurs caractéristiques propres mises en évidence par un colorant approprié. On réalise la coloration du frottis par une solution de May-Grunwald-Giemsa, basée sur l'emploi successif de deux colorants : le May-Grunwald et le Giemsa. Le premier fixe le frottis par son alcool méthylique et colore les éléments acidophiles et les granulations spécifiques des leucocytes. Le second colore surtout les noyaux et les parties azurophiles.

Le frottis est examiné au microscope optique à l'aide de l'objectif 40, puis à immersion (objectif 100).

III.2. Numération globulaire

a)- Numération des hématies:

La numération des hématies permet de calculer le nombre absolu de cellules contenues dans un certain volume de sang. Le sang est amené à une dilution convenable à l'aide de l'eau physiologique à 9%. Le comptage se fait dans une cellule quadrillée placée sur un microscope (cellule de Thomas ou cellule de Malassez).

b)- Numération des leucocytes

La numération des leucocytes permet de calculer le nombre absolu de globules blancs contenus dans un certain volume de sang. Le sang est amené à une dilution convenable à l'aide du liquide de Hayem qui lyse les hématies et laisse subsister les leucocytes. Le comptage se fait dans une cellule quadrillée placée sur un microscope (cellule de Thomas ou cellule de Malassez).

III.3. Dosage de l'hémoglobine : Méthode de Drabkin

L'hémoglobine est dosée par la méthode colorimétrique de Drabkin (cyanométhémoglobine). Le Fe^{+2} de l'hémoglobine est oxydé en Fe^{+3} de la méthémoglobine par le ferricyanure de potassium qui est ensuite transformée en cyanométhémoglobine un composé stable par le cyanure de potassium (KCN). L'absorbance du cyanométhémoglobine directement proportionnelle à la concentration en hémoglobine, est mesurée à 546 nm.

IV. Paramètres immunologiques

IV.1. Préparation des splénocytes-T

La rate est écrasée doucement au dessus d'une grille dans un milieu RPMI 1640. La suspension cellulaire obtenue est filtrée afin d'éliminer les amas cellulaires restants. Après centrifugation (2000g x 10min), le culot est repris par 15ml de PBS (PH 7,4), puis déposé dans une boîte de pétri afin d'éliminer les macrophages qui vont adhérer à la surface plastique. Après incubation d'une heure à 37°C, les splénocytes lavés sont par la suite remis en suspension dans 400µl de milieu de culture RPMI 1640.

Afin de tester la viabilité des cellules isolées, 20µl de cette suspension cellulaire sont prélevés dans un tube sec et complétés à 1 ml avec du RPMI. Une goutte de bleu de Trypan (colorant permettant de distinguer les cellules vivantes) est ajoutée, la numération cellulaire est effectuée sur la chambre quadrillée de la cellule de Malassez. Par la suite, la suspension cellulaire est ajustée à une concentration de 4.10^6 cellules/ml et ainsi préparée pour les différentes incubations.

IV.2. Test de transformation lymphoblastique (TTL)

Le TTL permet d'étudier la prolifération in vitro des splénocytes T stimulés par l'agent mitogène spécifique la concanavaleine A (Con A Sigma, St. Louis, MO, USA), à une concentration finale de 5 µg/ml.

Les splénocytes T sont mis en culture (4.10^5 cellules/puits) dans le milieu RPMI 1640 au quel sont ajoutés le tampon HEPES (25 mM), L - Glutamine (2mM), et la streptomycine (100 µg/ml), en présence ou en absence de la Con A (5 µg/ml), et de l'insuline (5 µg/ml).

Les cultures sont réalisées sur des plaques ELISA de 96 puits à fond plat (Nunc- Elisa). Les essais sont réalisés en triple. Les cellules sont incubées en présence d'un mélange synthétique d'acides gras (SIGMA) afin d'évaluer leurs effets in vitro sur la prolifération des splénocytes.

Ce mélange est constitué d'acides gras oméga 3 et oméga 6 (DHA, acide docosahexaénoïque, C22 :6n-3 / EPA, acide écosapentaénoïque, C20 :5n-3 / AL, acide linoléique, C18 :2n-6).

La solution mère de ce mélange à une concentration de (3000 μ M DHA /1500 μ M EPA /20 μ M AL), est préalablement préparée dans de l'éthanol.

Une dilution au 1/10 est préparée dans le milieu RPMI afin d'obtenir la concentration (300 μ M DHA /150 μ M EPA /2 μ M AL).

A partir de cette solution, on prend un volume de 20 μ l pour le mettre dans les puits de la plaque d'incubation. Le milieu d'incubation contient 100 μ l de suspension cellulaire, 20 μ l de Con A et/ou 20 μ l de mélange d'acides gras, et est complété à 200 μ l avec le milieu RPMI. Ainsi, dans le milieu, les concentrations finales d'acides gras sont à (30 μ M DHA /15 μ M EPA /0,2 μ M AL) (**Figure 12**).






Les plaques sont incubées à 37 °C, 5% de CO₂ pendant 48 heures. A la fin de l'incubation, les cellules sont prélevées dans des tubes secs. Les puits sont lavés avec le milieu RPMI 1640 afin de récupérer l'ensemble des cellules.


La détermination de la prolifération lymphocytaire se fait par comptage des cellules (cellule de Malassez), confirmée par la méthode du MTT [3-(4,5-Diméthyl thiazol-2-yl)-2,5-diphényl tétrazolium bromide] et le dosage des protéines.


Une prise aliquote des suspensions cellulaires est centrifugée à 6000 tours/min pendant 15 minutes. Les cellules (culot) servent à la détermination des paramètres du statut oxydant/antioxydant intracellulaire, après lyse cellulaire.


IV.2.1. Comptage des splénocytes T :

Le comptage des splénocytes T se fait à l'aide de la cellule de Malassez. Le principe est basé sur le décompte au microscope optique des cellules colorées au bleu de Trypan, contenues dans un volume de suspension cellulaire déterminé et à dilution connue.

puits	1	2	3	4	6
composants					

 : Suspension cellulaire ($4 \cdot 10^6$ c/ml)

 : Insuline (5 μ g/ml)

 : Concanavaline A (5 μ g/ml)


 : acides gras (30 μ M) soit (30 μ M DHA /15 μ M EPA /0,2 μ M AL)

Figure 12: Représentation schématique de la plaque d'incubation.

IV.2.2. Détermination de la prolifération des splénocytes T par la méthode du MTT

La méthode du MTT est une méthode colorimétrique basée sur la capacité des enzymes mitochondriales (succinate déshydrogénase) dans les cellules vivantes de transformer les sels de tétrazolium (couleur jaune) en produits insolubles de formazan (couleur bleue violacée). La concentration de Formazan obtenue est directement proportionnelle au nombre de cellules présentes dans la suspension cellulaire. Cette technique permet de mesurer la viabilité et la prolifération des splénocytes T, et les résultats sont parallèles à ceux obtenus par la méthode de référence utilisant la thymidine radioactive incorporée dans l'ADN (Mosmann, 1983). La solution de MTT [3-(4,5-Dimethyl thiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tétrazolium bromide] (Sigma, USA) est préparée à une concentration de 5 mg/ml dans le tampon phosphate (PBS, PH 7,4), filtrée puis conservée à 4° C à l'abri de la lumière.

Après isolement des splénocytes, une suspension cellulaire de 1×10^6 cellules/ml, sert à la préparation de la gamme étalon suite à différentes dilutions. 100µL de suspension cellulaire de la gamme étalon ou des différentes incubations (puits) sont incubés en présence de 10µL de MTT (5 mg/ml) à 37° C, 5% CO₂ pendant 3 heures.

L'addition de 100 µL de HCL 0,04M dans l'isopropanol permet la dissolution des cristaux bleus Formazan.

La lecture des densités optiques se fait au spectrophotomètre à 630 nm. La courbe étalon permet d'obtenir directement le nombre de cellules/ml.

IV.2.3. Dosage des protéines cellulaires

Se fait selon la méthode de Lowry et al. (1951):

Après récolte et centrifugation des cellules, 50 µl de tampon de lyse (NaOH 0,5 N) sont ajoutés au culot cellulaire. 20 µl sont par la suite prélevés et serviront au dosage des protéines.

Pour la gamme étalon, l'albumine sérique bovine (Sigma Chemical Company, Saint Louis, MO) utilisée comme standard, est préparée à partir d'une solution mère de 1 mg/ml. Le dosage est réalisé grâce aux ions cuivre qui forment avec les protéines un complexe cuivrique en milieu alcalin. L'ajout du réactif de Folin réagit avec la protéine cuivrique et donne une

coloration proportionnelle à la quantité en protéines présentes dans l'échantillon. La lecture est réalisée à 695 nm.

V. Marqueurs du statut oxydant/antioxydant au niveau des splénocytes

Après récolte et centrifugation des splénocytes initiaux ou stimulés, les cellules sont lysées (avec du NaOH 0,5 N) et le surnageant est prélevé afin de déterminer quelques marqueurs du statut oxydant/antioxydant cellulaire.

V.1. Dosage des protéines carbonylées (Méthode de Levine et al., 1996)

Les protéines carbonylées (marqueurs de l'oxydation protéique) sont mesurées par la réaction au 2,4-dinitrophénylhydrazine. La réaction aboutit à la formation de la dinitrophénylhydrazone colorée. La concentration des groupements carbonylés est déterminée par lecture à une longueur d'onde de 360 nm. La concentration en protéines carbonylées est calculée selon un coefficient d'extinction ϵ ($\epsilon = 21,5 \text{ mmol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$ à 360 nm).

V.2. Dosage du malondialdéhyde (Méthode de Nourooz-Zadah et al., 1996)

Le malondialdéhyde (MDA) est le marqueur le plus utilisé en peroxydation lipidique, notamment par la simplicité et la sensibilité de la méthode de dosage. Après traitement acide à chaud, les aldéhydes réagissent avec l'acide thiobarbiturique (TBA) pour former un produit de condensation chromogénique de couleur rose et/ou jaune consistant en 2 molécules de TBA et une molécule de MDA. L'absorption intense de ce chromogène se fait à 532 nm.

La concentration en MDA est calculée en utilisant une courbe étalon de MDA ou seulement le coefficient d'extinction du complexe MDA – TBA ($\epsilon = 1,56 \times 10^5 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$ à 532 nm).

V. 3. Dosage de l'activité de la catalase (Méthode d'Aebi, 1974)

Cette activité enzymatique est mesurée par analyse spectrophotométrique du taux de la décomposition du peroxyde d'hydrogène (Aebi, 1974). En présence de la catalase, la décomposition du peroxyde d'hydrogène conduit à une diminution de l'absorption de la solution de H_2O_2 en fonction du temps.

Après incubation, les concentrations du H₂O₂ restant sont déterminées à partir d'une gamme étalon de H₂O₂. La lecture se fait à 420 nm. L'activité de la catalase est exprimée en Unité/ml ou en Unité/g de protéine.

VI. Analyse statistique

L'analyse statistique est effectuée en utilisant le logiciel STATISTICA (Version 4.1, Statsoft, Paris, France).

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm Ecart type.

Après analyse des variances, la comparaison des moyennes est réalisée par le test « t » de Student entre deux lots de rates différents :

- Comparaison entre les rates recevant le régime cafeteria et les rates recevant le régime standard = effet cafeteria – obésité.

- Comparaison entre les rates recevant le régime témoin ou cafeteria enrichi en l'huile de lin et les rates recevant le même régime sans supplémentation en huile = effet lin – AGPI n-3.

Les multiples comparaisons entre les différentes incubations sont réalisées par le test ANOVA à un facteur.

Les moyennes sont considérées significativement différentes à $P < 0,05$.

Interprétation des résultats

I. Evolution du poids corporel, nourriture ingérée et apport énergétique des rates témoins et expérimentales recevant différents régimes (Figure 13; Tableau A1 en Annexes)

Au début de l'expérimentation, les rates utilisées dans cette étude sont de poids homogènes (100 ± 20 g) et reçoivent pendant un mois les différents régimes : standard (TS), standard enrichi en huile de lin (TL), cafeteria (CS), cafeteria enrichi en huile de lin (CL).

I.1. Evolution du poids corporel

Effet cafeteria (CS versus TS et CL versus TL)

A la fin de l'expérimentation, les rates nourries au régime cafeteria (CS) présentent une prise de poids hautement significative ($p < 0,01$) par rapport aux témoins (TS). Cependant, le poids corporel des rates nourries au régime cafeteria enrichi en huile de lin (CL) augmente significativement ($p < 0,05$) par rapport aux rates nourries au régime standard enrichi en huile de lin (TL).

Effet huile de lin (TL versus TS et CL versus CS)

La prise de poids notée chez les rates recevant le régime cafeteria enrichi en huile de lin (CL) est très significativement ($p < 0,01$) inférieure à celle des rates recevant le régime cafeteria (CS). L'huile de lin réduit la prise de poids induite par le régime cafeteria. La présence de l'huile de lin dans le régime n'affecte pas le poids corporel des rates témoins (TL versus TS) (Figure 13).

I.2. Nourriture ingérée

La quantité de nourriture ingérée ne montre aucune différence significative entre les rates nourries au régime standard (TS), standard enrichi en huile de lin (TL) et cafeteria (CS). Cependant, les rates recevant le régime cafeteria enrichi en huile de lin (CL) présentent une quantité de nourriture ingérée significativement ($p < 0,05$) moins importante comparées aux rates nourries au régime standard enrichi en huile de lin (TL) et cafeteria (CS). Ainsi la supplémentation en huile de lin diminue la prise alimentaire chez les rates obèses (Figure 13).

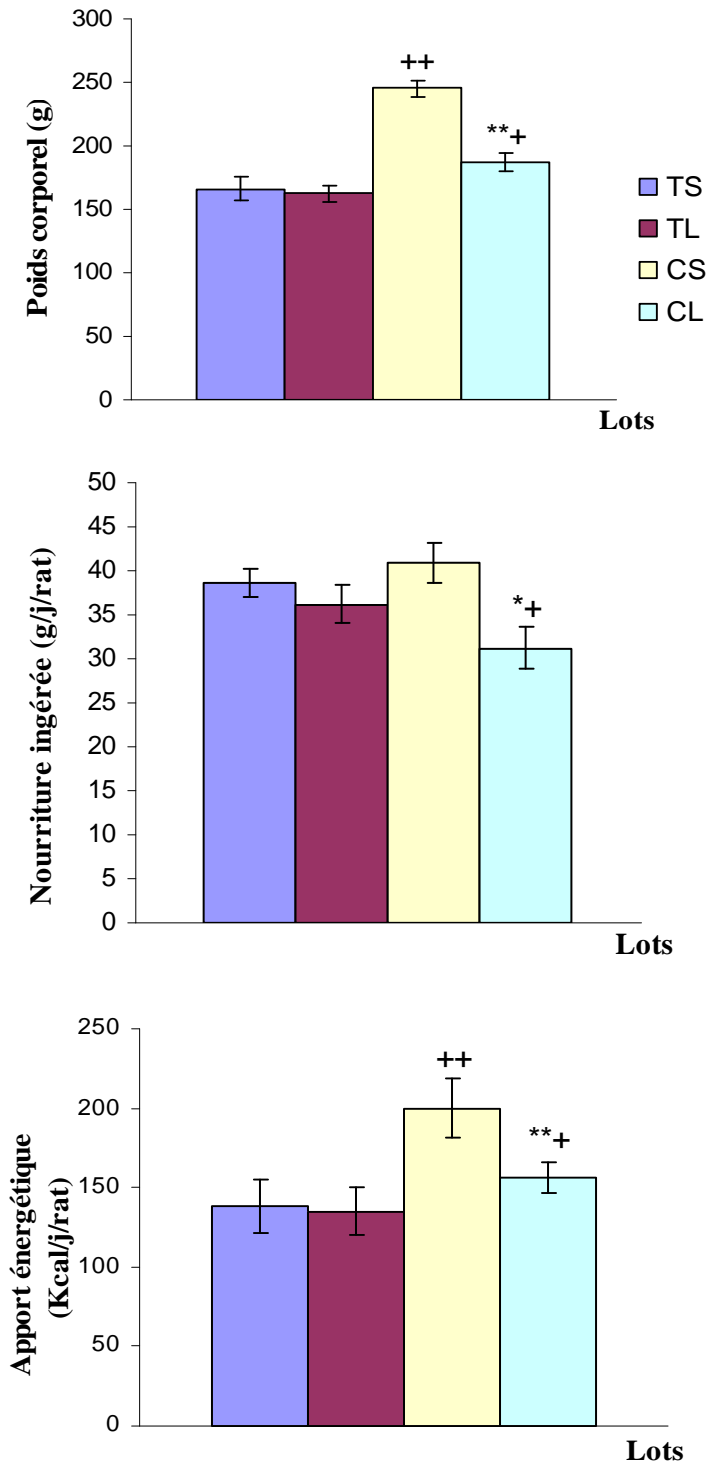


Figure 13 : Evolution du poids corporel exprimée en (g), nourriture ingérée exprimée en (g/j/rat) et apport énergétique (Kcal/j/rat) des rates témoins et expérimentales.

Chaque valeur représente la moyenne \pm Ecart type, n= 6. TS: rates témoins nourries au régime standard; TL: rates témoins nourries au régime standard enrichi en huile de lin; CS: rates obèses nourries au régime cafeteria; CL : rates obèses nourries au régime cafeteria enrichi en huile de lin. La comparaison des moyennes entre différents régimes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance:

* Comparaison entre TL et TS ou entre CL et CS (effet huile lin): * p < 0,05 ; ** p < 0,01.

+ Comparaison entre CS et TS ou entre CL et TL (effet cafeteria- obésité): + p < 0,05; ++ p < 0,01.

I.3. Apport énergétique

Effet cafeteria (CS versus TS et CL versus TL)

L'apport énergétique des rates recevant le régime cafeteria (CS) est augmenté d'une manière hautement significative ($p < 0,01$) par rapport aux témoins (TS). Cependant, chez les rates recevant le régime cafeteria enrichi en huile de lin (CL), cet apport est significativement ($p < 0,05$) augmenté par rapport aux rates nourries au régime standard enrichi en huile de lin (TL).

Effet huile de lin (TL versus TS et CL versus CS)

Aucune différence significative n'est notée dans l'apport énergétique lors d'une supplémentation du régime standard en huile de lin (TL versus TS). Cependant, cet apport est très significativement inférieur chez les rates recevant le régime cafeteria enrichi en huile de lin (CL) par rapport aux rates nourries au régime cafeteria (CS). La supplémentation du régime cafeteria par l'huile de lin réduit l'apport énergétique chez les rates obèses (Figure 13).

II. Etude biochimique

II.1. Teneurs plasmatiques en glucose et en protéines totales (Figure 14; Tableau A2 en Annexes)

Effet cafeteria (CS versus TS et CL versus TL)

Nos résultats montrent une augmentation des teneurs plasmatiques en glucose chez les rates recevant le régime cafeteria comparées aux rates témoins (CS versus TS). Par contre aucune différence de la glycémie n'est notée entre les rates consommant le régime cafeteria ou standard enrichi en huile de lin (CL versus TL). Le régime cafeteria ne modifie pas les teneurs plasmatiques en protéines totales.

Effet huile de lin (TL versus TS et CL versus CS)

Les teneurs plasmatiques en glucose ne varient pas entre les rates nourries au régime standard enrichi ou non en huile de lin (TS versus TL). Alors qu'on note une diminution significative ($p < 0,05$) de ces teneurs chez les rates recevant le régime cafeteria enrichi en huile de lin (CL) comparées aux rates recevant le régime cafeteria (CS). La supplémentation du régime cafeteria en huile de lin réduit les teneurs plasmatiques en glucose.

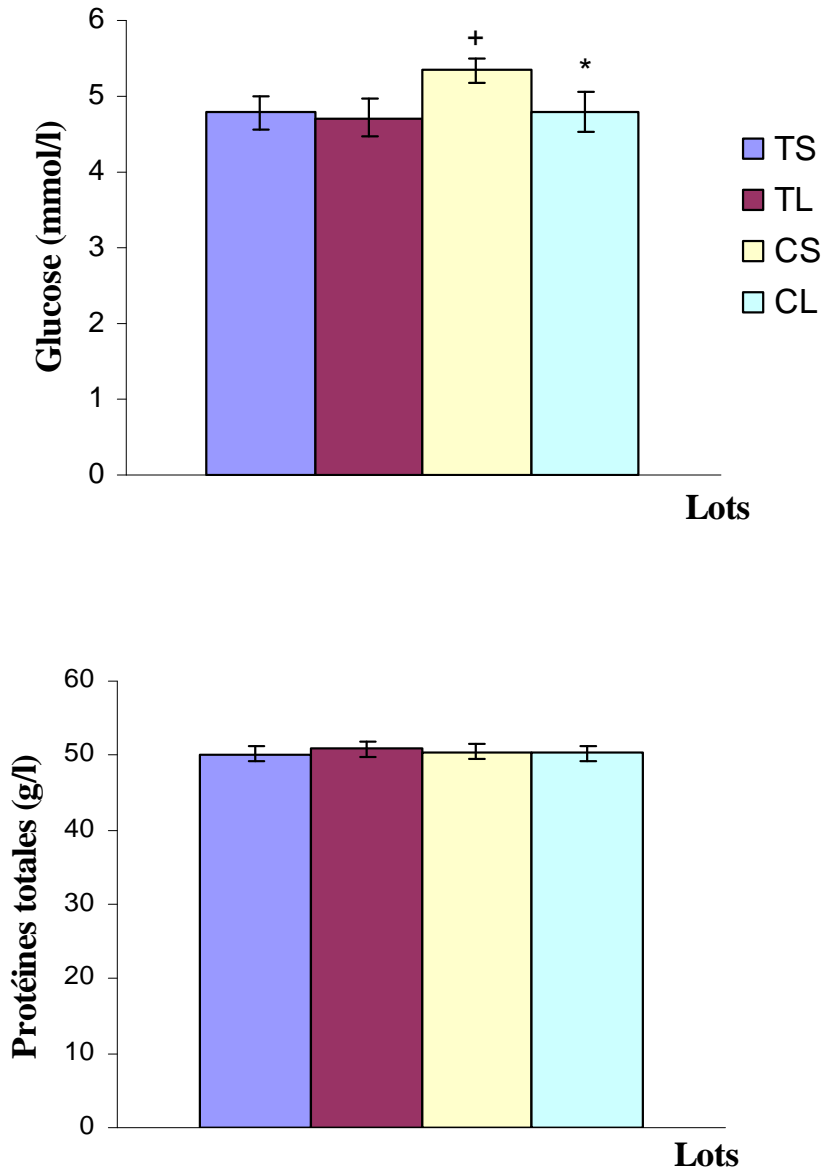


Figure 14 : Teneurs plasmatiques en glucose et en protéines totales.

Chaque valeur représente la moyenne \pm Ecart type, $n=6$. TS: rates témoins nourries au régime standard; TL: rates témoins nourries au régime standard enrichi en huile de lin; CS: rates obèses nourries au régime cafeteria; CL : rates obèses nourries au régime cafeteria enrichi en huile de lin. La comparaison des moyennes entre différents régimes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance:

* Comparaison entre TL et TS ou entre CL et CS (effet huile lin): * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

+ Comparaison entre CS et TS ou entre CL et TL (effet cafeteria- obésité): + $p < 0,05$; ++ $p < 0,01$.

Néanmoins, il n'y a aucune différence concernant les teneurs plasmatiques en protéines totales entre les différents lots de rates (Figure 14).

II.2. Teneurs plasmatiques en créatinine, en urée, et en acide urique (Figure 15 ; Tableau A2 en Annexes)

Effet cafeteria (CS versus TS et CL versus TL)

Aucune différence significative dans les teneurs plasmatiques en créatinine et en urée n'est notée entre les rates recevant le régime cafeteria enrichi ou non en l'huile de lin (CS et CL) comparées à leurs témoins respectifs (TS et TL). Le régime cafeteria entraîne une augmentation significative des teneurs en acide urique (CS versus TS).

Effet huile de lin (TL versus TS et CL versus CS)

La supplémentation du régime standard en huile de lin n'a aucun effet sur les teneurs plasmatiques en créatinine, en urée, et en acide urique puisque les teneurs plasmatiques de ces paramètres ne présentent aucune différence significative entre les rates sous régime standard enrichi ou non en huile de lin.

De même, nos résultats ne montrent aucune différence significative concernant les teneurs plasmatiques en créatinine et en urée suite à un enrichissement du régime cafeteria en huile de lin. Cependant, une diminution significative ($p < 0,05$) des teneurs plasmatiques en acide urique est notée chez les rates nourries au régime cafeteria enrichi en huile de lin (CL) par rapport aux rates recevant le régime cafeteria (CS) (Figure 15).

II.3. Teneurs plasmatiques en cholestérol et en triglycérides (Figure 16; Tableau A2 en Annexes)

Effet cafeteria (CS versus TS et CL versus TL)

Le régime cafeteria entraîne une augmentation significative des teneurs plasmatiques en lipides (cholestérol et triglycérides) chez les rates (CS versus TS). Par contre, ces lipides plasmatiques ne varient pas entre les rates CL et TL.

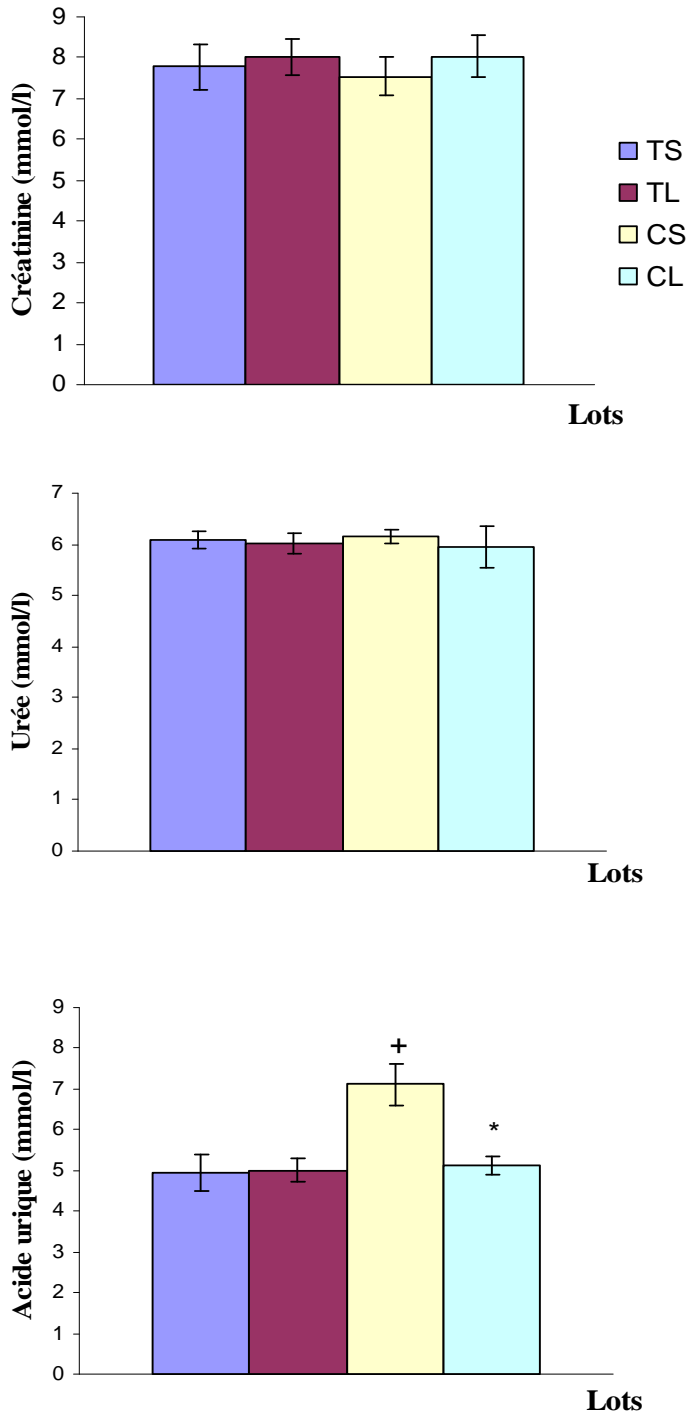


Figure 15 : Teneurs plasmatiques en créatinine, en urée, et en acide urique.

Chaque valeur représente la moyenne \pm Ecart type, n= 6. TS: rates témoins nourries au régime standard; TL: rates témoins nourries au régime standard enrichi en huile de lin; CS: rates obèses nourries au régime cafeteria; CL : rates obèses nourries au régime cafeteria enrichi en huile de lin. La comparaison des moyennes entre différents régimes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance:

* Comparaison entre TL et TS ou entre CL et CS (effet huile lin): * p < 0,05 ; ** p < 0,01.

+ Comparaison entre CS et TS ou entre CL et TL (effet cafeteria- obésité): + p < 0,05; ++ p < 0,01.

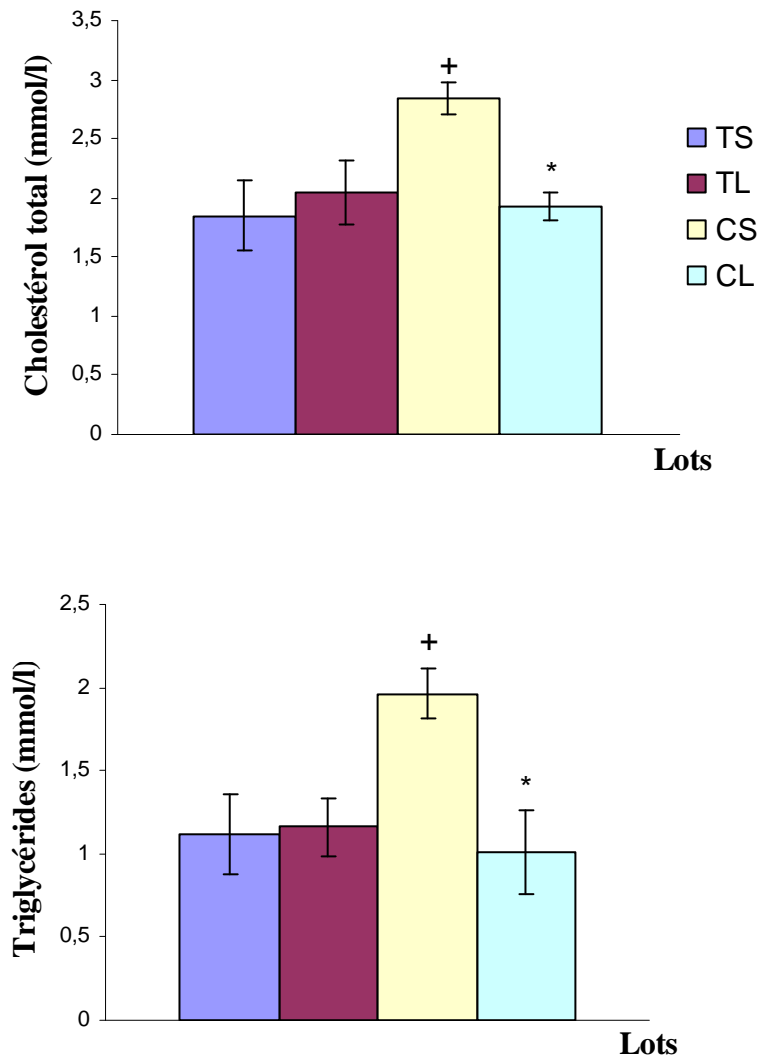


Figure 16 : Teneurs plasmatiques en cholestérol et en triglycérides.

Chaque valeur représente la moyenne \pm Ecart type, $n=6$. TS: rates témoins nourries au régime standard; TL: rates témoins nourries au régime standard enrichi en huile de lin; CS: rates obèses nourries au régime cafeteria; CL : rates obèses nourries au régime cafeteria enrichi en huile de lin. La comparaison des moyennes entre différents régimes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance:

* Comparaison entre TL et TS ou entre CL et CS (effet huile lin): * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

+ Comparaison entre CS et TS ou entre CL et TL (effet cafeteria- obésité): + $p < 0,05$; ++ $p < 0,01$.

Effet huile de lin (TL versus TS et CL versus CS)

Aucune différence significative n'est notée dans les teneurs plasmatiques en cholestérol et en triglycérides entre les rates nourries au régime standard enrichi ou non en l'huile de lin (TS et TL). Cependant, la supplémentation du régime cafeteria en l'huile de lin, entraîne une diminution significative dans ces teneurs chez les rates nourries au régime cafeteria enrichi en huile de lin (CL) par rapport aux rates recevant le régime cafeteria (CS) (Figure 16).

III. Etude hématologique

III.1. Hémogramme des rates témoins et expérimentales (Figure 17 ; Tableau A3 en Annexes)

Effet cafeteria (CS versus TS et CL versus TL)

Nos résultats montrent une augmentation significative ($p < 0,05$) du nombre de globules rouges et du taux d'hémoglobine et une augmentation hautement significative ($p < 0,01$) du nombre de globules blancs chez les rates nourries au régime cafeteria (CS) comparées à leurs témoins recevant le régime standard (TS). Par contre, aucune différence significative n'est notée concernant le nombre de globules rouges, nombre des globules blancs et le taux d'hémoglobine entre les rates nourries au régime cafeteria enrichi en l'huile de lin comparées aux rates recevant le régime standard enrichi en l'huile de lin (CL et TL).

Effet huile de lin (TL versus TS et CL versus CS)

Aucune différence significative n'est notée concernant le nombre de globules rouges, nombre des globules blanc et le taux d'hémoglobine entre les rates nourrie au régime standard enrichi ou non en l'huile de lin (TS et TL). Une supplémentation en huile de lin du régime standard n'a aucune influence pas l'hémogramme des rates étudiées.

Néanmoins, la supplémentation du régime cafeteria en l'huile de lin provoque une réduction significative du nombre de globules rouges, globules blancs et du taux d'hémoglobine chez les rates nourries au régime cafeteria enrichi en huile de lin (CL) comparée aux rates recevant le régime cafeteria (CS) (Figure 17).

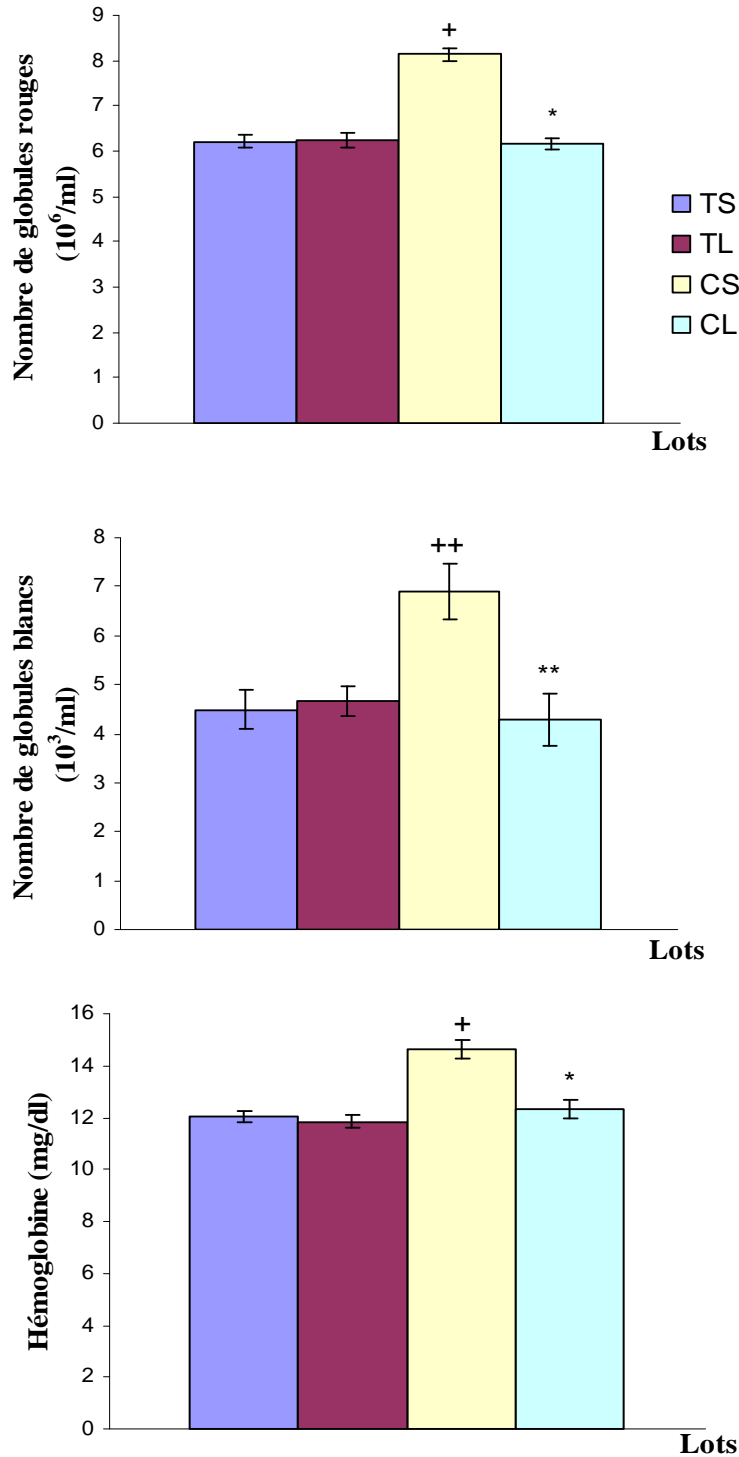


Figure 17 : Hémogramme des rates témoins et expérimentales.

Chaque valeur représente la moyenne \pm Ecart type, n= 6. TS: rates témoins nourries au régime standard; TL: rates témoins nourries au régime standard enrichi en huile de lin; CS: rates obèses nourries au régime cafeteria; CL : rates obèses nourries au régime cafeteria enrichi en huile de lin. La comparaison des moyennes entre différents régimes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance:

* Comparaison entre TL et TS ou entre CL et CS (effet huile lin): * p < 0,05 ; ** p < 0,01.

+ Comparaison entre CS et TS ou entre CL et TL (effet cafeteria- obésité): + p < 0,05; ++ p < 0,01.

III.2. Valeur de la formule leucocytaire chez les rates témoins et expérimentales recevant différents régimes (Figure 18 ; Tableau A4 en Annexes)

Effet cafeteria (CS versus TS et CL versus TL)

Le régime cafeteria entraîne une réduction des lymphocytes et une augmentation des polynucléaires et des monocytes chez les rates CS comparées aux TS. Par contre, seule une augmentation significative des polynucléaires est notée entre les rates recevant le régime cafeteria enrichi en huile de lin (CL) par rapport à leurs témoins (TL).

Effet huile de lin (TL versus TS et CL versus CS)

La supplémentation du régime standard en huile de lin n'affecte pas les nombres des lymphocytes, des polynucléaires et des monocytes (TL versus TS). Cependant, une supplémentation en lin du régime cafeteria entraîne une diminution hautement significative ($p < 0,01$) dans le nombre des polynucléaires et des monocytes et une augmentation hautement significative ($p < 0,01$) dans le nombre des lymphocytes chez les obèses (CL versus CS) (Figure 18).

IV. Etude immunologique

IV.1. Prolifération des cellules T stimulées par la Con A en présence d'insuline et d'acides gras chez les rates témoins et expérimentales (Figure 19 ; Tableau A5 en Annexes)

La prolifération des cellules T des différents lots de rates (TS, TL, CS, CL) augmente de manière nette et significative en présence de l'agent mitogène (Con A) par rapport à la prolifération basale (sans l'agent mitogène) marquant ainsi un effet stimulant de l'agent mitogène (Con A). Un supplément d'insuline potentialise l'effet de l'agent mitogène (Con A), où une augmentation de la prolifération des cellules T est observée, chez les quatre lots de rates étudiés, par rapport aux incubations initiales (en présence de l'agent mitogène et sans insuline).

L'ajout du mélange d'acides gras (30 μ M DHA /15 μ M EPA /0,2 μ M LA) diminue le taux de prolifération des cellules T stimulées par l'agent mitogène Con A seul ou avec l'insuline, chez

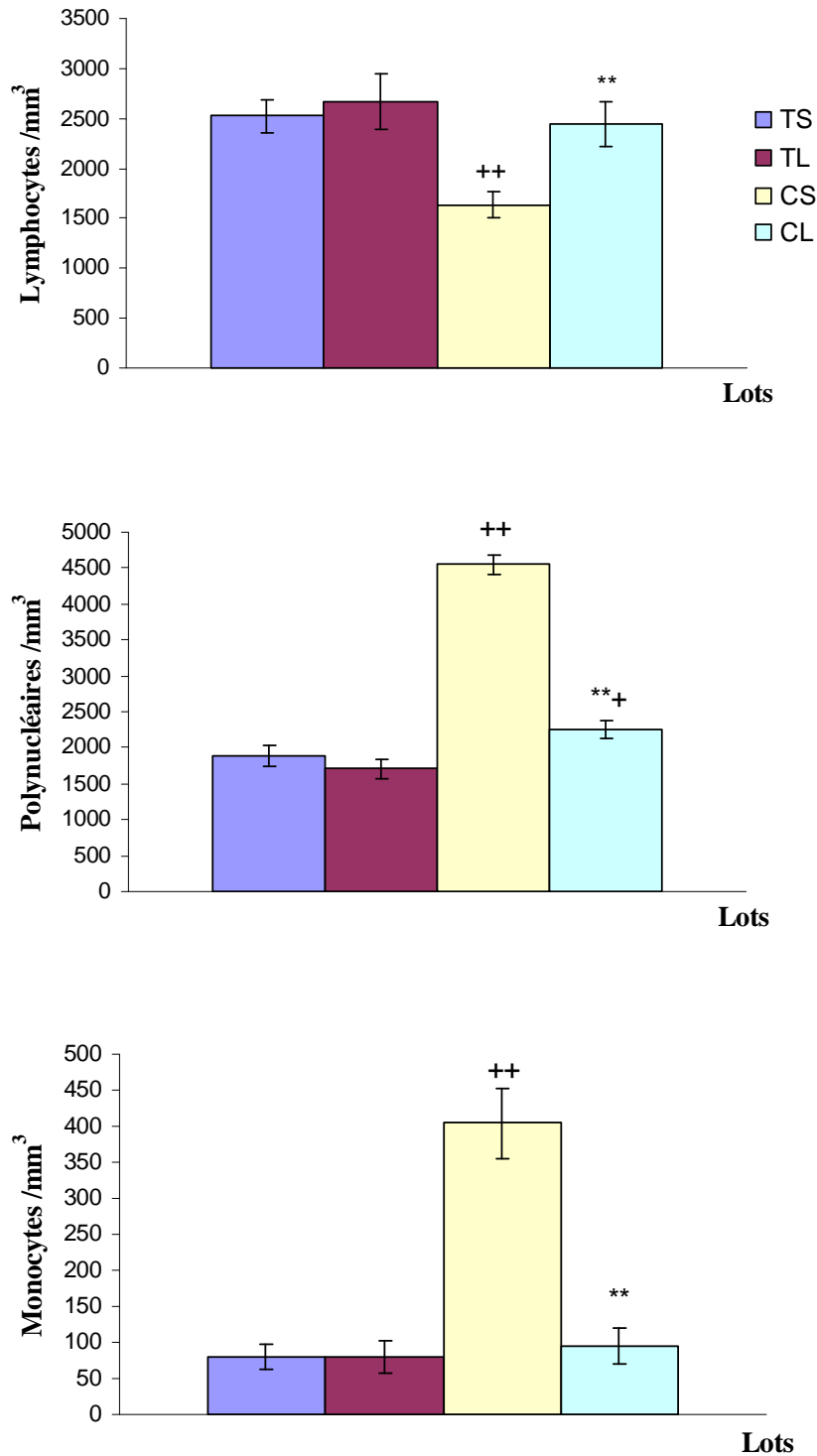


Figure 18 : Valeur de la formule leucocytaire chez les rates témoins et expérimentales recevant différents régimes.

Chaque valeur représente la moyenne \pm Ecart type, n= 6. TS: rates témoins nourries au régime standard; TL: rates témoins nourries au régime standard enrichi en huile de lin; CS: rates obèses nourries au régime cafeteria; CL : rates obèses nourries au régime cafeteria enrichi en huile de lin. La comparaison des moyennes entre différents régimes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance:

* Comparaison entre TL et TS ou entre CL et CS (effet huile lin): * p < 0,05 ; ** p < 0,01.

+ Comparaison entre CS et TS ou entre CL et TL (effet cafeteria- obésité): + p < 0,05; ++ p < 0,01.

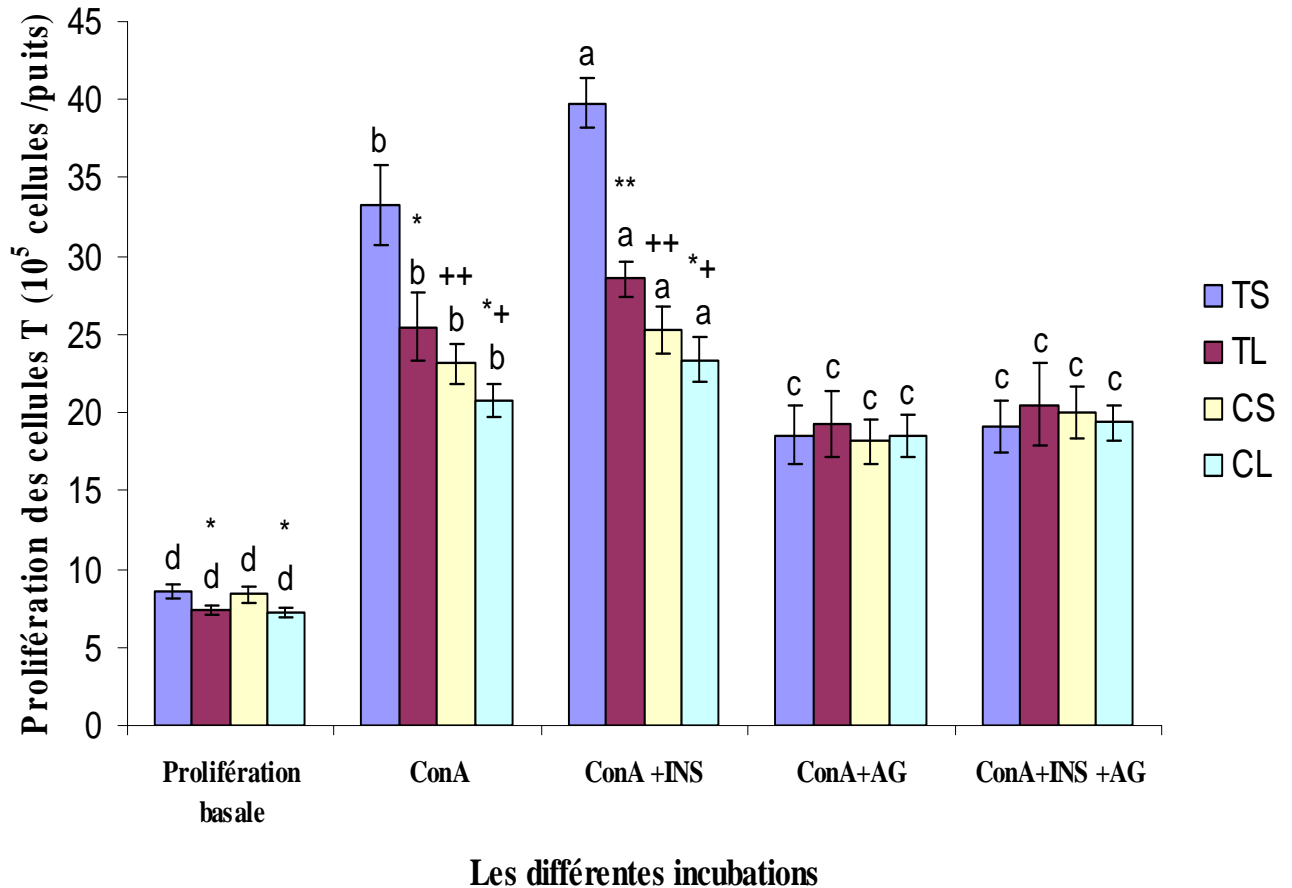


Figure 19: Prolifération cellulaire T (10^5 cellules / puits) stimulée par la ConA en présence d'insuline et d'acides gras chez les rates témoins et expérimentales.

Chaque valeur représente la moyenne \pm Ecart type, $n=6$. TS: rates témoins nourries au régime standard; TL: rates témoins nourries au régime standard enrichi en huile de lin; CS: rates obèses nourries au régime cafeteria; CL : rates obèses nourries au régime cafeteria enrichi en huile de lin. Les splénocytes sont incubés en présence de concanavaline A (ConA), insuline (INS) et d'un mélange d'acides gras (AG) (DHA/EPA/LA) à concentration (30/15/0,2 μ M). La comparaison des moyennes entre différents régimes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance:

* Comparaison entre TL et TS ou entre CL et CS (effet huile lin): * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

+ Comparaison entre CS et TS ou entre CL et TL (effet cafeteria- obésité): + $p < 0,05$; ++ $p < 0,01$.

Les multiples comparaisons (entre les différentes incubations) sont réalisées par le test ANOVA.

a, b, c, d indiquent les différences significatives obtenues entre les différentes incubations ($p < 0,05$) dans le même groupe.

les différents lots de rates, ceci indique que le mélange d'acides gras n-3 et n-6 a un effet inhibiteur de la prolifération.

Effet cafeteria (CS versus TS et CL versus TL)

Nos résultats montrent une réduction hautement significative ($p < 0,01$) du taux de la prolifération des cellules T stimulés par l'agent mitogène (Con A) seul ou avec l'insuline des rates recevant le régime cafeteria (CS) par rapport aux témoins (TS).

Le taux de la prolifération in vitro des cellules T stimulés des rates recevant le régime cafeteria enrichi en huile de lin (CL) est significativement ($p < 0,05$) moins importante que celle de leurs témoins (TL).

Effet huile de lin (TL versus TS et CL versus CS)

Un effet immunomodulateur de l'huile de lin est noté chez les rates nourries au régime standard enrichi en huile de lin (TL versus TS). En effet, une réduction significative de la prolifération cellulaire T, basale ou en présence de l'agent mitogène (Con A) et de l'insuline, est marquée chez les rates nourries au régime standard enrichi en huile de lin (TL) par rapport aux rates nourries au régime standard (TS). Aucune différence significative, entre ces deux lots (TL et TS) n'est notée en présence in vitro du mélange d'acides gras n-3 et n-6.

De même, la supplémentation du régime cafeteria par l'huile de lin diminue d'une manière significative la prolifération in vitro des cellules T basale, stimulée par la ConA seul ou avec l'insuline (CL versus CS) (Figure 19).

IV.2. Teneurs en protéines ($\mu\text{g/puits}$) des cellules T stimulées par la Con A en présence d'insuline et d'acides gras chez les rates témoins et expérimentales (Figure 20 ; Tableau A6 en Annexes)

Les teneurs en protéines des cellules T chez les différents lots de rates témoins et expérimentales augmente de manière nette en présence de l'agent mitogène (Con A) par rapport à l'incubation initiale (sans l'agent mitogène). L'ajout de l'insuline augmente ces teneurs chez tous les lots étudiés.

L'ajout du mélange d'acides gras à $30 \mu\text{M}$ ($30 \mu\text{M}$ DHA / $15 \mu\text{M}$ EPA / $0,2 \mu\text{M}$ LA) diminue le taux des protéines des cellules T stimulés chez les quatre lots de rates étudiés.

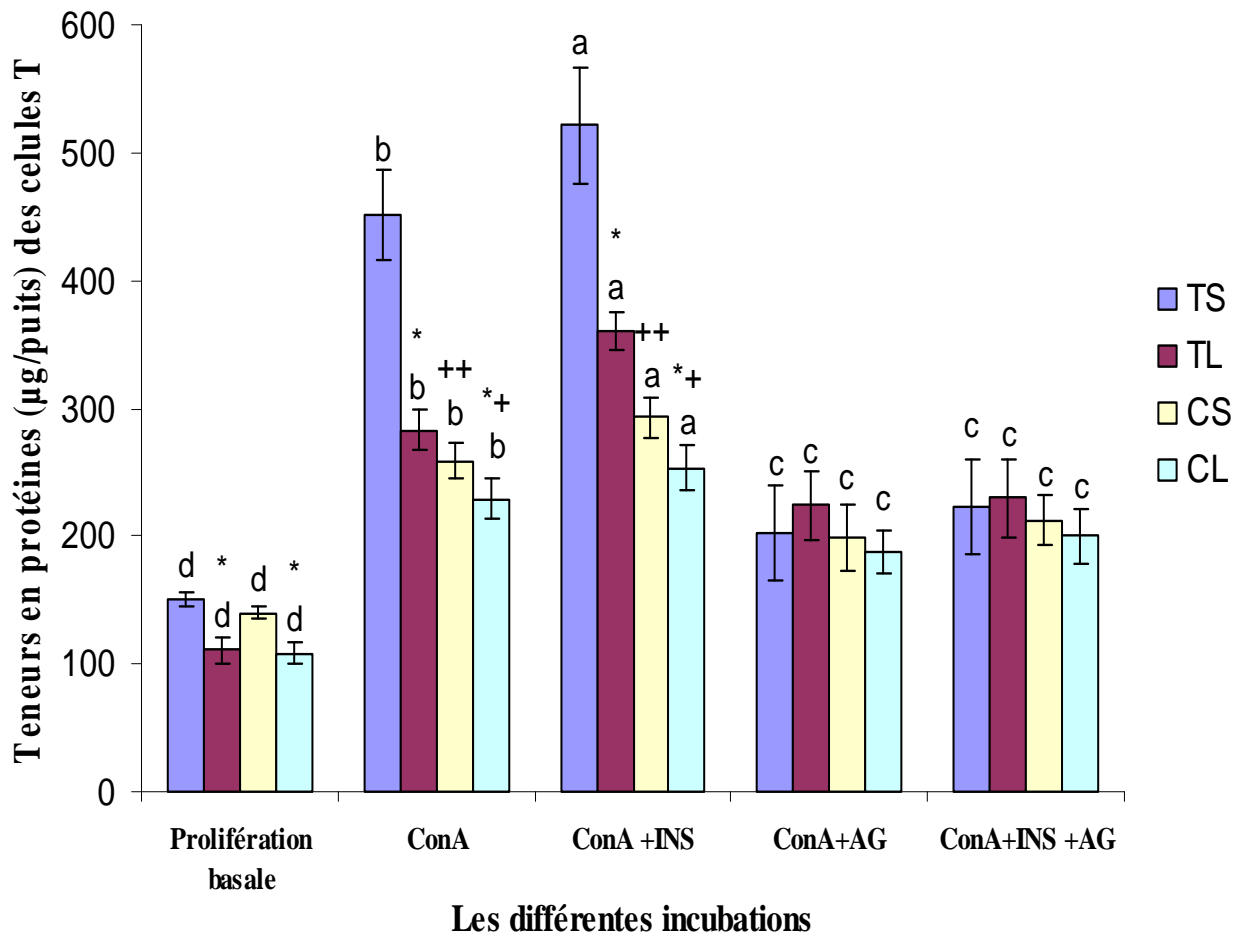


Figure 20 : Teneurs en protéines ($\mu\text{g/puits}$) des cellules T stimulées par la ConA en présence d'insuline et d'acides gras chez les rates témoins et expérimentales.

Chaque valeur représente la moyenne \pm Ecart type, $n=6$. TS: rates témoins nourries au régime standard; TL: rates témoins nourries au régime standard enrichi en huile de lin; CS: rates obèses nourries au régime cafeteria; CL : rates obèses nourries au régime cafeteria enrichi en huile de lin. Les splénocytes sont incubés en présence de concanavaline A (ConA), insuline (INS) et d'un mélange d'acides gras (AG) (DHA/EPA/LA) à concentration (30/15/0,2 μM). La comparaison des moyennes entre différents régimes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance:

* Comparaison entre TL et TS ou entre CL et CS (effet huile lin): * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

+ Comparaison entre CS et TS ou entre CL et TL (effet cafeteria- obésité): + $p < 0,05$; ++ $p < 0,01$.

Les multiples comparaisons (entre les différentes incubations) sont réalisées par le test ANOVA.

a, b, c, d indiquent les différences significatives obtenues entre les différentes incubations ($p < 0,05$) dans le même groupe.

Effet cafeteria (CS versus TS et CL versus TL)

Chez les rates nourries au régime cafeteria (CS), le taux des protéines des cellules T stimulées par l'agent mitogène (Con A) seul ou avec l'insuline est diminué d'une manière hautement significative ($p < 0,01$) par rapport à leurs témoins (TS). Ces teneurs sont identiques en présence du mélange d'acides gras n-3 et n-6.

Les rates recevant le régime cafeteria enrichi en huile de lin (CL) présentent des teneurs en protéines des cellules T stimulées significativement ($p < 0,05$) moins importantes que leurs témoins (TL).

Effet huile de lin (TL versus TS et CL versus CS)

L'enrichissement du régime standard en l'huile de lin induit une diminution significative ($p < 0,05$) des protéines des cellules T stimulées par l'agent mitogène (Con A) seul ou avec l'insuline. De même, la supplémentation du régime cafeteria enrichi en huile de lin provoque une diminution significative ($p < 0,05$) des protéines des cellules T stimulées. Cependant, aucune différence significative n'est marquée dans les taux des protéines cellulaires T entre les différents lots lors de l'ajout in vitro du mélange d'acides gras n-3 et n-6 (Figure 20).

V. Marqueurs du statut oxydant/antioxydant au niveau des cellules T

V.1. Teneurs en protéines carbonylées (nmol / 10^6 cellules) des cellules T stimulées par la ConA en présence d'insuline et d'acides gras chez les rates témoins et expérimentales (Figure 21 ; Tableau A7 en Annexes)

En présence de l'agent mitogène (Con A), les teneurs en protéines carbonylées des cellules T sont augmentées de manière significative ($p < 0,05$) chez les différents lots des rates témoins et expérimentales par rapport à la prolifération basale (sans l'agent mitogène). Un supplément d'insuline à l'agent mitogène (Con A) potentialise son effet.

En présence du mélange d'acides gras (30 μ M DHA /15 μ M EPA /0,2 μ M LA), les teneurs en protéines carbonylées des cellules T stimulées par l'agent mitogène seul ou avec l'insuline, augmentent chez les différents groupes de rates étudiés.

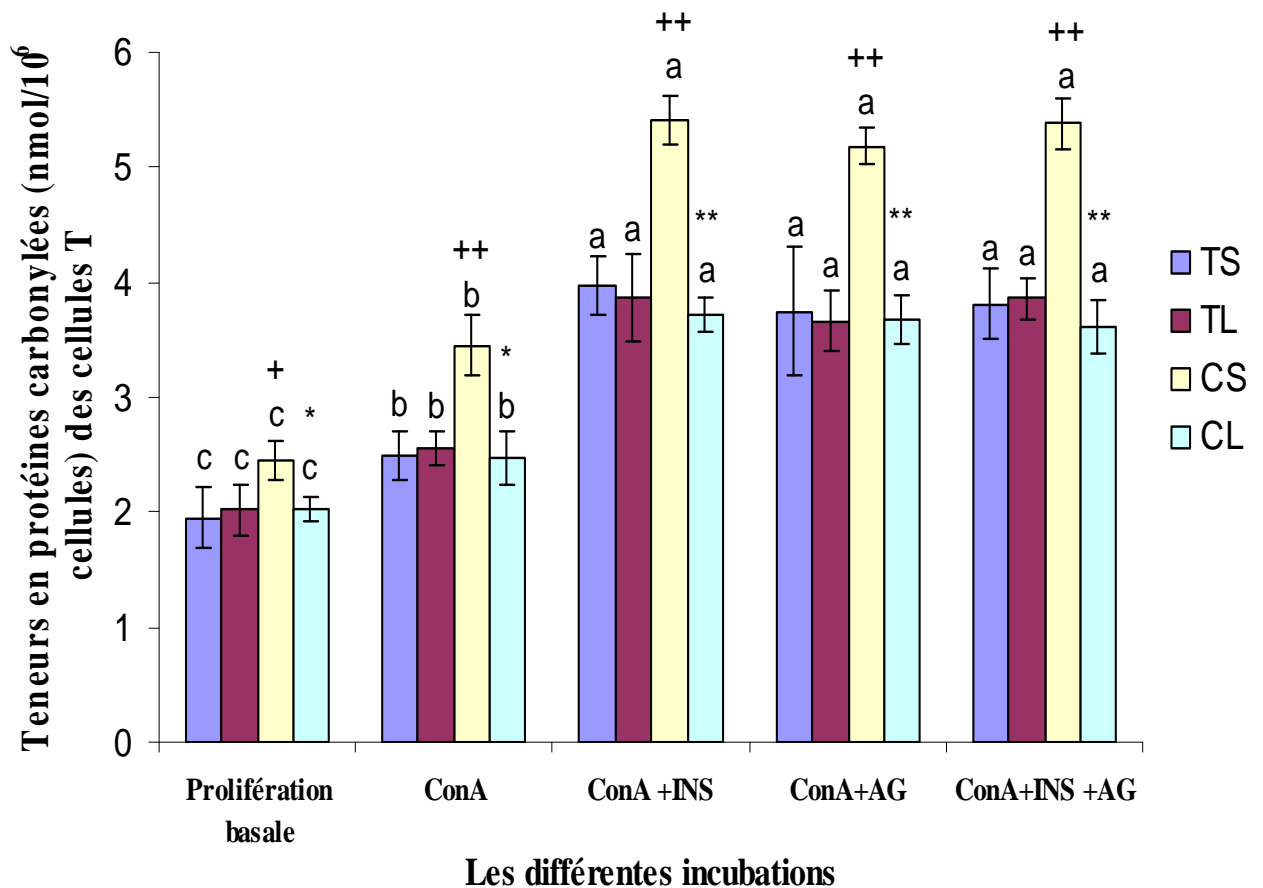


Figure 21: Teneurs en protéines carbonylées (nmol / 10⁶ cellules) des cellules T stimulées par la ConA en présence d'insuline et d'acides gras chez les rates témoins et expérimentales.

Chaque valeur représente la moyenne \pm Ecart type, n= 6. TS: rates témoins nourries au régime standard; TL: rates témoins nourries au régime standard enrichi en huile de lin; CS: rates obèses nourries au régime cafeteria; CL : rates obèses nourries au régime cafeteria enrichi en huile de lin. Les splénocytes sont incubés en présence de concanavaline A (ConA), insuline (INS) et d'un mélange d'acides gras (AG) (DHA/EPA/LA) à concentration (30/15/0,2 μ M). La comparaison des moyennes entre différents régimes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance:

* Comparaison entre TL et TS ou entre CL et CS (effet huile lin): * p < 0,05 ; ** p < 0,01.

+ Comparaison entre CS et TS ou entre CL et TL (effet cafeteria- obésité): + p < 0,05; ++ p < 0,01.

Les multiples comparaisons (entre les différentes incubations) sont réalisées par le test ANOVA.

a, b, c, d indiquent les différences significatives obtenues entre les différentes incubations (p < 0,05) dans le même groupe.

Effet cafeteria (CS versus TS et CL versus TL)

Chez les rates nourries au régime cafeteria (CS), on note une augmentation significative ($p < 0,05$) des teneurs en protéines carbonylées des cellules T non stimulées, et une augmentation hautement significative ($p < 0,01$) en présence de l'agent mitogène (Con A) seul ou avec l'insuline et/ou en présence du mélange d'acides gras par rapport aux témoins (TS).

Cependant aucune différence significative ($p < 0,05$) concernant les teneurs en protéines carbonylées des cellules T chez les rates recevant le régime cafeteria supplémenté en huile de lin (CL) comparées à leurs témoins (TL).

Effet huile de lin (TL versus TS et CL versus CS)

Aucune différence significative ($p < 0,05$) n'est notée dans les teneurs en protéines carbonylées des cellules T entre les rates recevant le régime standard enrichi ou non par l'huile de lin (TL et TS). Tandis qu'une supplémentation du régime cafeteria par l'huile de lin (CL) entraîne une diminution significative dans les teneurs en protéines carbonylées des cellules T stimulées ou non, par rapport à leurs témoins (CS) (Figure 21).

V.2. Teneurs en malondialdéhyde (MDA) ($\text{nmol}/10^6$ cellules) des cellules T stimulées par la ConA en présence d'insuline et d'acides gras chez les rates témoins et expérimentales (Figure 22 ; Tableau A8 en Annexes)

Les teneurs en malondialdéhyde (MDA) des cellules T des quatre lots de rates (TS, TL, CS, CL) augmentent d'une manière significative en présence de l'agent mitogène (Con A) par rapport à l'incubation initiale (sans additions). Un supplément d'insuline à l'agent mitogène (Con A) potentialise son effet. On remarque une augmentation importante des teneurs en malondialdéhyde (MDA) chez les différents lots étudiés.

Les teneurs en malondialdéhyde (MDA) des cellules T stimulées par l'agent mitogène (Con A) seul ou avec l'insuline augmentent significativement ($p < 0,05$) suite à l'ajout du mélange d'acides gras chez les quatre lots étudiés.

Effet cafeteria (CS versus TS et CL versus TL)

Les teneurs en malondialdéhyde (MDA) des cellules T stimulées ou pas par l'agent mitogène (ConA) seul ou avec l'insuline des rates recevant le régime cafeteria (CS) sont augmentées

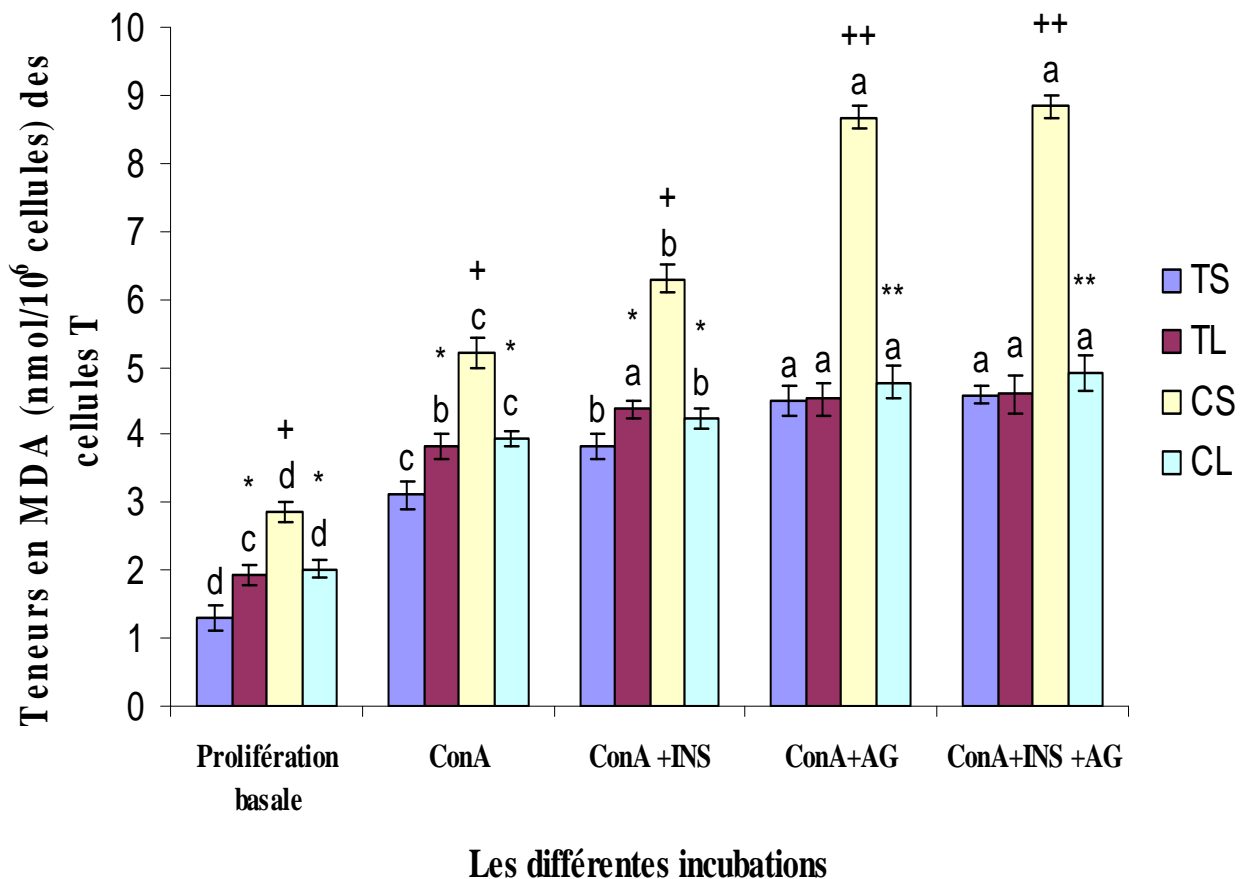


Figure 22 : Teneurs en malondialdéhyde (MDA) (nmol / 10⁶ cellules) des cellules T stimulées par la ConA en présence des deux acides gras chez les rates témoins et expérimentales.

Chaque valeur représente la moyenne \pm Ecart type, n= 6. TS: rates témoins nourries au régime standard; TL: rates témoins nourries au régime standard enrichi en huile de lin; CS: rates obèses nourries au régime cafeteria; CL : rates obèses nourries au régime cafeteria enrichi en huile de lin. Les splénocytes sont incubés en présence de concanavaline A (ConA), insuline (INS) et d'un mélange d'acides gras (AG) (DHA/EPA/LA) à concentration (30/15/0,2 μ M). La comparaison des moyennes entre différents régimes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance:

* Comparaison entre TL et TS ou entre CL et CS (effet huile lin): * p < 0,05 ; ** p < 0,01.

+ Comparaison entre CS et TS ou entre CL et TL (effet cafeteria- obésité): + p < 0,05; ++ p < 0,01.

Les multiples comparaisons (entre les différentes incubations) sont réalisées par le test ANOVA.

a, b, c, d indiquent les différences significatives obtenues entre les différentes incubations (p < 0,05) dans le même groupe.

d'une manière significative ($p < 0,05$) comparées à leurs témoins (TS). Ces teneurs augmentent d'une manière hautement significative ($p < 0,01$) en présence du mélange d'acides gras ($30 \mu\text{M DHA} / 15 \mu\text{M EPA} / 0,2 \mu\text{M LA}$). L'effet du régime cafeteria est supprimé lors de sa supplémentation en huile de lin. En effet, aucune différence significative n'est marquée dans les teneurs en MDA des cellules T des rates recevant le régime cafeteria supplémenté en huile de lin (CL) comparées à leurs témoins (TL).

Effet huile de lin (TL versus TS et CL versus CS)

L'enrichissement du régime standard en huile de lin (TL) provoque une augmentation significative ($p < 0,05$) dans les teneurs en MDA des cellules T stimulées ou non. En présence du mélange d'acides gras n-3 et n-6, aucune différence significative n'est notée dans les teneurs en MDA entre ces deux lots (TL et TS).

L'enrichissement du régime cafeteria en huile de lin (CL) entraîne une réduction significative ($p < 0,05$) dans les teneurs en MDA des cellules T stimulées ou non par rapport aux CS. Cette réduction est hautement significative ($p < 0,01$) en présence in vitro du mélange d'acides gras ($30 \mu\text{M DHA} / 15 \mu\text{M EPA} / 0,2 \mu\text{M LA}$) (Figure 22).

V.3. Activité de la catalase intracellulaire (U / ng de protéines) des cellules T stimulées par la ConA en présence d'insuline et d'acides gras chez les rates témoins et expérimentales (Figure 23 ; Tableau A9 en Annexes)

L'activité de la catalase intracellulaire des cellules T des différents lots de rates témoins et expérimentales augmente d'une manière significative ($p < 0,05$) en présence de l'agent mitogène (Con A) seul ou avec l'insuline, et/ou en présence du mélanges d'acides gras ($30 \mu\text{M DHA} / 15 \mu\text{M EPA} / 0,2 \mu\text{M LA}$) par rapport à l'incubation initiale (sans addition).

Effet cafeteria (CS versus TS et CL versus TL)

L'activité de la catalase intracellulaire des cellules T basale ou stimulées en présence du mélange d'acide gras des rates nourries au régime cafeteria (CS) est significativement réduite par rapport à celle de leurs témoins (TS). Alors qu'aucune différence significative n'est notée dans l'activité de la catalase des cellules T stimulés ou non en présence du mélange d'acides gras chez les rates recevant le régime cafeteria supplémenté par huile de lin (CL) comparées à leurs témoins (TL).

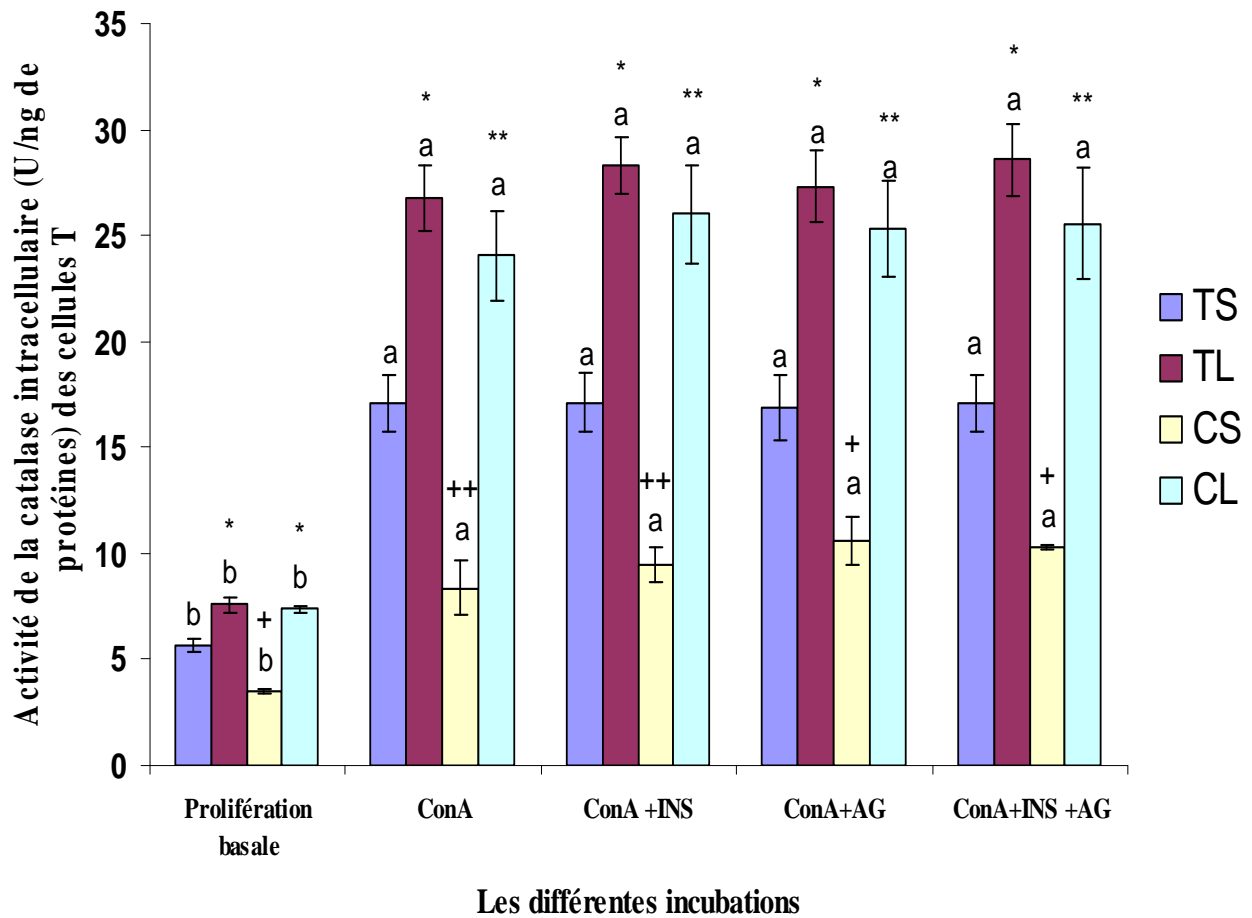


Figure 23 : Activité de la catalase intracellulaire (U / ng de protéines) des cellules T stimulées par la ConA en présence des deux acides gras chez les rates témoins et expérimentales.

Chaque valeur représente la moyenne \pm Ecart type, n= 6. TS: rates témoins nourries au régime standard; TL: rates témoins nourries au régime standard enrichi en huile de lin; CS: rates obèses nourries au régime cafeteria; CL : rates obèses nourries au régime cafeteria enrichi en huile de lin. Les splénocytes sont incubés en présence de concanavaline A (ConA), insuline (INS) et d'un mélange d'acides gras (AG) (DHA/EPA/LA) à concentration (30/15/0,2 μ M). La comparaison des moyennes entre différents régimes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance:

* Comparaison entre TL et TS ou entre CL et CS (effet huile lin): * p < 0,05 ; ** p < 0,01.

+ Comparaison entre CS et TS ou entre CL et TL (effet cafeteria- obésité): + p < 0,05; ++ p < 0,01.

Les multiples comparaisons (entre les différentes incubations) sont réalisées par le test ANOVA.

a, b, c, d indiquent les différences significatives obtenues entre les différentes incubations (p < 0,05) dans le même groupe.

Effet huile de lin (TL versus TS et CL versus CS)

Les rates nourries au régime standard supplémenté par l'huile de lin (TL) présentent une augmentation significative ($p < 0,05$) de l'activité de la catalase intracellulaire des cellules T par rapport à leurs témoins (TS) dans toutes les incubations.

La supplémentation du régime cafeteria par l'huile de lin (CL) provoque une augmentation significative ($p < 0,05$) de l'activité de la catalase intracellulaire des cellules T basales, et hautement significative ($p < 0,01$) dans les autres incubations (stimulées par la ConA seul ou avec l'insuline et/ou en présence du mélange d'acides gras) par rapport à leurs témoins (CS). La supplémentation en huile de lin des deux régimes (Cafeteria et standard) augmente donc l'activité catalase intracellulaire (Figure 23).

Discussion

Chez l'animal comme chez l'homme, des études longitudinales et transversales montrent une relation étroite entre un excédent calorique, le plus souvent apporté par un excès de lipides, et une augmentation de la masse adipeuse conduisant au surpoids et à l'obésité. Si l'importance d'un excès de lipides alimentaires dans l'augmentation de la prévalence du surpoids et de l'obésité reste controversée, les changements qualitatifs intervenus au cours des dernières décennies dans la composition en acides gras de la ration sont restés ignorés. Cependant divers travaux ont souligné que tous les acides gras ne sont pas équipotents ; les acides gras saturés et monoinsaturés sont plus adipogéniques que les acides gras polyinsaturés (AGPI) (Calder, 2001 ; Ailhaud, 2007).

Dans notre travail de Magister, nous essayons de déterminer les effets métaboliques d'un régime hypergras (cafeteria) et des AGPI n-3. Notre étude a abordé deux principales parties :

- La première partie est consacrée à l'étude nutritionnelle visant la détermination des effets d'une supplémentation de deux régimes, standard et cafeteria, en l'huile de lin administrée à des rats Wistar femelles âgées de 2 mois et pendant un mois, sur certains paramètres biochimiques et hématologiques.

- La deuxième partie est l'étude des effets d'un mélange d'acides gras (DHA/EPA/LA) à une concentration de (30 μ M/15 μ M /0,2 μ M) sur la fonction proliférative des cellules T isolées des rats recevant les différents régimes, cultivées in vitro en présence d'un agent mitogène qui est la concanavaline A, et/ou l'insuline, et sur la variation de quelques marqueurs du statut oxydant/ antioxydant intracellulaire.

L'obésité, facteur de morbimortalité, représente la maladie métabolique la plus fréquente dans le monde à tel point que sa prévention est devenue l'une des priorités de l'OMS (Le Goff et al., 2008; Didier et al., 2009). Pandémie des temps modernes, elle s'inscrit dans la problématique des maladies chroniques et systémiques (Schlienger et al., 2010), et prédispose les individus à un risque accru de développer de nombreuses maladies, y compris l'athérosclérose, le diabète, la stéatose hépatique, le cancer et les troubles à médiation immunitaire (Federico et al., 2010). Aussi, il a été constaté que ces maladies métaboliques induisent des troubles du système antioxydant (Bonfont-Rousselot et al., 2000 ; Merzouk et al., 2003). L'obésité et le surpoids sont fréquemment associés à des altérations du système immunitaire. Le taux de maladies infectieuses est élevé chez les obèses (Fève et al., 2006). Il existe, en effet, une relation causale entre l'obésité et divers processus dont

l'inflammation (Schlienger et al., 2010). Il y a chez l'obèse une diminution de l'activité des lymphocytes T, de la prolifération lymphocytaire et des réactions d'immunité retardée. On observe aussi une réduction de la production d'anticorps et de l'activité des cellules T tueuses (Natural Killers). De nombreux déficits nutritionnels y participent à ces altérations, parmi lesquels la baisse des stocks cellulaires en vitamines, minéraux et acides gras essentiels de l'organisme (Lamas et al., 2002).

La nutrition est un déterminant primaire ou secondaire des troubles immunitaires dans de nombreuses situations comme l'obésité et les troubles du comportement alimentaire (anorexie et boulimie) (Marcos et al., 2003). Les acides gras sont des nutriments qualitativement et quantitativement importants, impliqués dans la régulation de nombreux gènes potentiellement responsables de certains dysfonctionnements cellulaires. En effet, de nombreuses études nutritionnelles et épidémiologiques ont montré que les lipides alimentaires ont une action immunomodulatrice qui s'exerce à la fois sur les fonctions immunitaires spécifiques et aspécifiques (Ghisolfi, 1993 ; Calder et al., 2002). Plusieurs facteurs interviennent dans l'immunomodulation, et particulièrement l'équilibre subtil entre acides gras saturés et acides gras polyinsaturés et, parmi ces derniers, entre ceux de la série oméga-3 et ceux de la série oméga-6. L'influence des acides gras est déterminante dans l'inflammation qui est une réponse immunitaire non spécifique. Elle s'exerce également dans l'immunité spécifique, c'est-à-dire au niveau des lymphocytes T et des lymphocytes B. Les membranes de ces cellules sont constituées de lipides dont dépendent non seulement leur fluidité, mais également la mobilité des récepteurs dont elles sont pourvues (Youinou et al., 1993). L'idée que les acides gras polyinsaturés (AGPI) de la famille des oméga-3 diminuent les fonctions des cellules inflammatoires est interprétée dans un sens favorable, avec la conclusion qu'ils sont anti-inflammatoires et seront donc bénéfiques pour la santé (Rees et al. 2006 ; Shaikh et Edidin, 2006).

Plusieurs études expérimentales menées in vitro, sur des lymphocytes d'origine animale ou d'origine humaine, et in vivo chez l'animal et l'homme ont permis de mettre en évidence un effet immunomodulateur des acides gras. L'addition d'AGPI au milieu de culture de cellules immunitaires ou la supplémentation des régimes alimentaires par des AGPI altèrent divers paramètres de la réponse immunitaire, notamment la réponse proliférative des lymphocytes aux mitogènes (Verlengia et al., 2004).

L'huile de lin est composée de 50% d'AGPI, et elle est considérée comme la principale source alimentaire en acide α -linoléique (ALA, 18: 3 n-3) (Kaul et al., 2008 ; Riediger et al., 2008). Les avantages de l'huile de lin ont été démontrés dans un certain nombre d'études animales et humaines impliquant l'acide ALA dans l'inhibition de la synthèse des eicosanoïdes pro inflammatoires et des cytokines et dans la stimulation de la production d'eicosanoïdes anti-inflammatoires (Morris, 2003 ; Cohen et al., 2005).

L'huile de lin (1g) contient de l'acide α -linoléique (550 mg), l'acide linoléique (170 mg), l'acide palmitique (60 mg), l'acide stéarique (40 mg) et l'acide oléique (180 mg). L'acide α -linoléique donne après élongation et désaturation l'acide eicosapentaénoïque (EPA) et l'acide docosahexaénoïque (DHA) qui peuvent avoir des effets bénéfiques en matière de santé et de contrôle des maladies chroniques (Vijaimohan et al., 2006). Les conditions cliniques telles que les maladies cardio-vasculaires, l'hypertension artérielle, cancer, maladies de la peau et des troubles immunitaires comme l'insuffisance rénale, polyarthrite rhumatoïde et la sclérose en plaques peuvent être empêché par l'ALA contenu dans l'huile de lin (Kelley et al., 1991).

En outre, l'huile de lin contient 53,3% d'acide α -linoléique (18: 3 n-3) et de 12,7% de l'acide linoléique (18:2n-6), ce qui donne le ratio n-3/n-6 le plus élevé de toutes les sources végétales (Tzang et al., 2009).

La composition en acides gras (quantité et nature) de la ration lipidique alimentaire modifie la réponse immunitaire en changeant les propriétés de la membrane des lymphocytes et le nombre des récepteurs, en modifiant la production des leucotriènes (qui participent à cette réponse), et en interférant sur la réactivité des cellules immunitaires (Thies et al., 2001).

L'utilisation des acides gras exogènes polyinsaturés de la famille n-3 a des effets suppressifs et peut en occurrence affecter un grand nombre de paramètres immuns, tels que la prolifération des lymphocytes, la synthèse des cytokines, l'activité des cellules NK, la phagocytose ...etc. L'immunomodulation induite peut être appliquée dans l'amélioration des désordres inflammatoires, comme les maladies auto-immunes, pourtant, les mécanismes participants à ces processus ne sont pas encore bien compris. Il est probable que la modulation du système immunitaire par les acides gras polyinsaturés peut avoir lieu par l'altération de la fluidité membranaire, la formation de peroxyde lipidique, la libération du calcium, la

production des eicosanoïdes ou la régulation de l'expression génique (Pablo et Alzare De Cien Fuegos, 2000 ; Shaikh et Edidin, 2006).

Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) produites au cours du métabolisme basal sont neutralisées par divers système de défense. Cependant, au cours de l'obésité leur production accrue et/ou une baisse des systèmes de défense anti-radicalaire entraîne un stress oxydatif provoquant un dommage tissulaire causé par l'attaque des ROS sur les molécules cibles telles les lipides, les protéines et l'ADN (Codoner-Franch et al., 2004). Le stress oxydatif a été relié à l'hyperglycémie, l'insulinorésistance et la sécrétion anormale de nombreuses cytokines (Bastard et Vidal, 2004 ; Furukawa et al., 2004).

De plus, les effets des AGPI sur le stress oxydatif paraissent de plus en plus évidents, passant par la modulation des activités des enzymes antioxydantes et de la production des cytokines, la régulation des gènes et l'amélioration des systèmes de défense antioxydants de l'organisme (Kesavulu et al., 2002 ; Merzouk et al., 2008).

Les habitudes alimentaires, principalement ceux favorisant la graisse, ont souvent été responsables de l'augmentation de l'adiposité. Les régimes riches en graisses ont été utilisés pour induire l'obésité chez les animaux dans un premier modèle appelé l'obésité nutritionnelle mais renommé plus tard l'obésité alimentaire. Le paradigme de l'obésité alimentaire chez l'animal est un bon modèle pour l'étude de l'obésité de l'homme dans le contexte d'un environnement où les aliments denses en énergie et l'alimentation sont très disponibles (Hariri et al., 2010).

Le modèle de rat cafeteria en est une illustration expérimentale exemplaire. Si on remplace la nourriture monotone habituelle du rat de laboratoire par les aliments variés, gras et ou sucrés, les animaux dits « cafeteria » deviennent hyper phages, augmentent leur rendement énergétique et diminuent leurs activités (Basdevant et Guy-Grand, 2004). Un régime hyperlipidique et hypercalorique est associé à une accumulation et à une prise de poids aussi bien chez l'homme que chez le rat (Golay, 1998). En effet, l'élévation de l'apport énergétique peut expliquer l'augmentation du poids corporel chez les rats consommant le régime cafeteria.

L'augmentation de l'apport énergétique est un déterminant important dans la genèse de l'obésité. Cet apport pourra provenir d'une augmentation importante de la quantité d'aliments ou de la consommation d'une alimentation à haute densité énergétique. Les principaux

déterminants de la densité énergétique d'une consommation alimentaire sont les lipides. Les lipides forment un élément qui a le plus d'impact sur la satiété et la prise de poids. Il est bien établi qu'une alimentation à haute densité énergétique, riche en lipides comme le régime cafeteria diminue la satiété et augmente le poids corporel. L'obésité induite par le régime cafeteria est due uniquement à la suralimentation, et donc l'interprétation des changements métaboliques observés est plus facile, car ils ne sont pas masqués par d'autres anomalies associées à l'obésité d'origine génétique.

L'augmentation du poids chez les rats nourris au régime cafeteria est associée à l'augmentation du poids du tissu adipeux et son enrichissement en lipides, confirmant les propriétés obésogènes du régime cafeteria. Cette obésité est associée à des altérations des métabolismes glucidique, lipidique et protéique similaires à celles observées au cours de l'obésité humaine (Kopelman, 2000).

Après analyse de nos résultats concernant l'évolution du poids corporel et la prise alimentaire, on a observé une augmentation du poids corporel chez les rates recevant le régime cafeteria comparées aux rates recevant le régime standard. L'excès pondéral est associé à une augmentation de l'apport énergétique total chez les rates sous cafeteria. Ces résultats sont en accord avec ceux de Bouanane et al. (2009) et Scoaris et al. (2010), confirmant l'effet obésogène du régime cafeteria. La supplémentation du régime standard en huile de lin n'affecte pas le poids corporel des rates témoins (TL versus TS). Par contre, le régime cafeteria enrichi en huile de lin induit une réduction du poids corporel chez les rates (CL) comparées aux rates sous cafeteria (CS). Néanmoins, le poids des rates CL reste plus élevé que celui des rates TL. Il est à noter que chez les rates sous régime cafeteria enrichi en lin (CL), la quantité de nourriture ingérée et l'apport énergétique sont plus faibles que ceux des rates sous cafeteria (CS). L'huile de lin semble diminuer l'appétit chez les rates obèses. Les expérimentations animales ont par ailleurs montré que les AGS et AGMI étaient plus efficaces que les AGPI pour induire une prise de poids (Simon, 2004).

La composition en acides gras des graisses alimentaires peut donc jouer un rôle important dans la régulation du poids corporel, surtout chez les obèses. Des études chez l'animal et chez l'homme ont montré que les acides gras polyinsaturés (AGPI) sont plus facilement utilisés comme combustible, tandis que les acides gras saturés (AGS) sont plus susceptibles d'être accumuler dans les tissus adipeux (Hariri et al., 2010).

La teneur en matières grasses et la densité d'énergie ont également été impliqués dans l'apparition de l'hyperphagie et le gain de poids chez les rats et l'homme (Shafat et al., 2009). D'après Ailhaud (2008), une forte alimentation riche en graisses favorise le développement de l'obésité avec une corrélation directe entre la ration lipidique et le degré d'obésité. Les études menées chez l'animal et l'homme ont montré que les régimes hyperlipidiques induisent une consommation alimentaire accrue et une prise de poids plus élevées que les régimes hyperglucidiques. Les graisses alimentaires n'ont que peu d'effet sur la satiété, et l'exposition périodique à une alimentation hyperlipidique, notamment en cas de forte sensation de faim, peut suffire à entraîner, chez l'obèse, une surconsommation de calories sous forme de graisses (Golay, 1998).

Nos résultats montrent une augmentation des teneurs plasmatiques en glucose chez les rates recevant le régime cafeteria. Chez l'homme, l'installation progressive de l'obésité est aussi associée à un état d'hypersensibilité à l'insuline, et le maintien de l'obésité entraîne une résistance à cette hormone (Delprato et al., 1990 ; Frayn et Coppack, 1992). Une réduction de la glycémie est notée chez le groupe de rates nourries au régime cafeteria enrichi en huile de lin (CL) comparées aux rates CS. Plusieurs études ont montré que les AGPI de la série n-3 exercent un effets hypoglycémiant (Harris, 1989 ; Lichtenstein et al., 1998). D'autres études ont démontré qu'une supplémentation de l'alimentation par de l'huile de poisson contenant les AGPI n-3 exerçait un effet bénéfique dans la progression des maladies cardio-vasculaires y compris le diabète et l'obésité. Par contre, une étude récente a montrée que l'apport en huile de lin ne modifie pas la glycémie ou l'insulinémie (Nelson et al., 2007). Dans notre étude, la supplémentation en huile de lin ne modifie pas la glycémie chez les rates témoins, par contre elle l'abaisse chez les rates obèses, marquant un effet positif et bénéfique en cas d'obésité.

Les teneurs en créatinine et en urée sont les mêmes pour les quatre lots de rates, ceci est peut être en faveur d'une fonction rénale normale et non affectée par le régime cafeteria et par l'huile de lin. Concernant l'uricémie, nos résultats montrent une augmentation significative chez les rates recevant le régime cafeteria (CS) par rapport aux témoins (TS et TL) et à celles recevant le régime cafeteria enrichi en l'huile de lin (CL). Ces résultats concordent avec ceux de Wortmann (2002) qui a montré que le taux sanguin d'acide urique est sous l'influence de plusieurs facteurs génétique et environnementaux : l'obésité, toxémie, l'hypertension artérielle... De plus, l'acide urique est un important antioxydant qui peut augmenter dans une situation de stress oxydatif comme c'est le cas de l'obésité.

Concernant le profil lipidique, nos résultats montrent une augmentation significative des teneurs plasmatiques en cholestérol et en triglycérides chez les rates nourries au régime cafeteria par rapport aux témoins et aux rates recevant le régime cafeteria enrichi en huile de lin. L'hypertriglycéridémie et l'hypercholestérolémie chez les rates obèses sont probablement dûes à une augmentation de synthèse et sécrétion des lipoprotéines, conséquence de l'hyperinsulinisme et de l'hyperlipogénèse hépatique. Ces modifications lipidiques sont classiques au cours de l'obésité et sont les conséquences, soit d'une augmentation de la production hépatique des VLDL, soit d'une réduction du catabolisme de ces lipoprotéines (Moulin et Berthezene, 1996).

Un régime riche en graisses saturées entraîne une augmentation du taux de triglycérides plasmatiques ainsi que leur accumulation dans le foie (Ailhaud, 2002). En revanche, l'ALA dans l'huile de lin peut contribuer à une réduction de la synthèse des acides gras hépatiques, qui à son tour diminue le niveau des triglycérides plasmatiques (Cho et al., 2009). Ce point de vue va de pair avec une diminution des taux de triglycérides plasmatiques dans le groupe de rats recevant le régime cafeteria enrichi en huile de lin dans notre étude.

L'huile de lin possède le ratio n-3/n-6 le plus élevé de toutes les huiles végétales (Tzang et al., 2009). Il peut également être observé que la baisse du ratio n-6/n-3 du régime alimentaire se rapporte à une réduction plus importante des lipides plasmatiques (Rosa et al., 2010).

Les effets hypolipémiants des acides gras n-3 sont similaires à ceux des acides gras n-6, à condition qu'ils remplacent les graisses saturées dans l'alimentation. Les AGPI n-3 diminuent, chez les patients hypertriglycéridémiques, les concentrations sériques des triglycérides, alors que les acides gras n-6 ne le font pas et pourraient même augmenter leur taux. Les études chez l'homme ont montré que les huiles de poisson réduisent le taux de sécrétion hépatique des lipoprotéines de très faible densité et les triglycérides. Les AGPI n-3 préviennent et inversent rapidement une hypertriglycéridémie induite par les glucides (Benatti et al., 2004). Des études récentes ont démontré que l'ingestion d'acides gras polyinsaturés (n-3 et n-6), présents dans les huiles végétales, est inversement proportionnelle à l'incidence des maladies cardiaques en diminuant le cholestérol plasmatique et les niveaux de triglycérides (Simopoulos, 1999 ; Craig, 1999). L'effet hypolipémiant fort des AGPI n-3 de l'huile de lin, a été rapporté par Balasubramaniam et al. (1985) ; Stangl et al. (1994) ; Eder et Kirchgessner (1997). Par contre Kelly et al. (1993) a démontré chez l'homme et Prasad (1997) a démontré chez le lapin que l'huile de lin ne réduit pas les niveaux de cholestérol dans le sang. Une supplémentation en

huile de lin est capable d'exercer des effets hypocholestérolémiants et, en partie, des effets anti-athérosclérotiques chez la souris apo E -/- (Cho et al., 2009).

Une augmentation de l'apport en AGPI n-3 s'accompagne d'une diminution prononcée de la réaction inflammatoire par diminution de la synthèse des leucotriènes de la série 4, secondairement à la compétition au niveau de la Δ^6 - désaturase ou au niveau des lipooxygénases en cas d'apport d'AGPI-LC n-3 (EPA et DHA). Cet effet inhibiteur de la réaction inflammatoire *per se* peut rendre compte en partie de leur effet anti-catabolique (Delarue, 2000).

D'après nos résultats, une augmentation significative du nombre de globules rouges et des globules blancs est notée chez les rates nourries au régime cafeteria (CS) comparées aux rates témoins (TS et TL) et à celles recevant le régime cafeteria enrichi en huile de lin (CL). De plus, le taux d'hémoglobine est élevé chez les rates CS comparées aux autres lots de rates. Ces résultats concordent avec ceux d'Adams et Murphy (2000) qui ont montré une augmentation des globules rouges et de l'hémoglobine suite à une élévation de la demande métabolique et du débit cardiaque chez le patient obèse proportionnellement à la surcharge graisseuse. L'augmentation du nombre de globules blancs est probablement en relation avec la présence d'une inflammation chez les rates obèses.

Nos résultats montrent aussi une augmentation du nombre de monocytes et de polynucléaires et une réduction du nombre de lymphocytes chez les rates CS comparées aux autres lots. Ces résultats sont en accord avec plusieurs études qui montrent que l'obésité est associée à un état inflammatoire chronique qui se caractérise par une augmentation du nombre des monocytes et de polynucléaires (Nieman et al., 1999 ; Zaldivar et al., 2006). Plusieurs auteurs rapportent que l'obésité s'accompagne de modifications importantes du système immunitaire marquées particulièrement par des anomalies fonctionnelles des cellules immunitaires et une production inefficace de cytokines en faveur de l'apparition d'infections (Das, 2010). Il a été démontré qu'un apport excessif en énergie et en lipides peut entraver le bon fonctionnement du système immunitaire (Simon, 2004). La supplémentation en huile de lin semble corriger le profil hématologique chez les rates obèses puisque les rates sous régime cafeteria enrichi en lin présentent des taux de globules rouges et blancs, hémoglobine, polynucléaires, monocytes et lymphocytes semblables à ceux des rates témoins. Il a été bien établi que les AGPI n-3 régulent les fonctions des cellules immunocompétentes. Ces modifications sont associées à un

changement de la composition en acides gras des membranes des lymphocytes avec enrichissement en AGPI n-3 (Kelly, 2001).

Dans la seconde partie de notre travail, nous avons testé l'effet d'un mélange d'AGPI n-3 et n-6 sur la prolifération in vitro et le statut redox intracellulaire des splénocytes isolés des rates ayant reçu les régimes témoin ou cafeteria, enrichis ou non en huile de lin.

La prolifération des cellules T a été estimée par le nombre de cellules et les teneurs en protéines totales. Nos résultats montrent que la prolifération des cellules T in vitro augmente significativement en présence de l'agent mitogène (Con A) par rapport à la prolifération basale (sans l'agent mitogène). Cette augmentation est accentuée en présence d'insuline. Il est à noter qu'en présence de Con A et d'insuline, les splénocytes isolés des rates obèses réagissent de la même façon que ceux isolés des rates témoins. Cependant, la prolifération des cellules T stimulées est réduite chez les rates CS comparées aux autres lots. Il a été démontré que la prolifération des cellules T in vitro est réduite suite à la diminution de la production de l'interleukine IL-2 au cours de l'obésité (Mito et al., 2000). De plus, les splénocytes isolés de rates témoins ou obèses ayant reçu le régime enrichi en huile de lin (TL et CL) prolifèrent moins que ceux des rates sous régime non supplémenté en huile (TS et CS). Ces effets peuvent être liés à l'enrichissement in vivo (consommation de l'huile de lin) des membranes des cellules T en AGPI n-3 dont les effets immunosuppresseurs sont bien connus.

L'ajout in vitro du mélange d'acides gras n-3 et n-6 (30 μ M DHA /15 μ M EPA /0,2 μ M LA) diminue le taux de prolifération des cellules T stimulées par l'agent mitogène Con A seul ou avec l'insuline chez tous les lots étudiés. Ceci indique que le mélange d'acides gras à cette concentration a un effet inhibiteur de la prolifération in vitro, et est considéré comme un immunosuppresseur. De plus, en présence de ce mélange d'acides gras n-3 et n-6, aucune variation significative des taux de prolifération des splénocytes n'est observée entre les différents lots.

Les acides gras polyinsaturés à longue chaîne n-3 (DHA/EPA) sont synthétisés par l'élongation et la désaturation de l'acide α -linoléique ou apportés dans l'alimentation par des produits d'origine marine. Ils s'incorporent dans les phospholipides membranaires, sont les précurseurs des eicosanoïdes et modulent l'expression de certains gènes. Ils ont un effet anti-catabolique en inhibant la production de cytokines pro inflammatoires (TNF- α , IL-1 β , IL-6) par les macrophages, ils ont aussi un effet modulateur de la sensibilité à l'insuline en

prévenant, chez le rat, l'insulino-résistance induite par le régime hyperlipidique. Cet effet est lié à un moindre stockage des triglycérides musculaires et à un effet sur la signalisation de l'insuline (Delarue, 2000).

L'acide linoléique (LA) est métabolisé en acide arachidonique (AA), le précurseur de eicosanoïdes pro-inflammatoires, telles que, principalement, la prostaglandine E2 (PGE2), thromboxane A2 (TXA2) et les leucotriènes B4, alors que l'acide α -linoléique (ALA) est métabolisé en EPA et le DHA, qui sont des précurseurs des eicosanoïdes anti-inflammatoires, tels que PGE3 et PGF3 (Rosa et al., 2010).

Caughey et al. (1996) ont soumis deux groupes comparables de volontaires à un régime au sein duquel les huiles et les margarines usuelles d'assaisonnement (riches en acides gras n-6) étaient remplacées par de l'huile de lin (56 % de 18:3 n-3 + 18 % 18:2 n-6), de la margarine et du beurre à base d'huile de lin (23 % 18:3 n-3 + 8 % 18:2 n-6) avec parallèlement réduction maximale de l'apport en AG n-6. Le deuxième groupe pris comme témoin devait maintenir une alimentation riche en AG n-6 en utilisant de l'huile et de la margarine de tournesol. Ces deux types d'alimentation étaient maintenus pendant huit semaines. Pendant les quatre dernières semaines, l'alimentation des deux groupes de sujets était supplémentée par 9 g/j d'huile de poisson (1,62 g/j d'EPA +1,08 g/j de DHA). Après quatre semaines de régime « tournesol », la production de TNF- α , d'IL- β , du thromboxane B2 (TXB2) et de la prostaglandine E2 (PGE2) n'était pas affectée, alors qu'elle diminuait de 30 % avec le régime « lin » pour ces quatre facteurs.

Les effets des acides gras polyinsaturés (AGPI) ont été énormément étudiés sur les cellules mononucléaires. Plusieurs études nutritionnelles menées chez l'animal et chez l'homme ont montré, que les régimes riches en huile de poisson ou huile d'olive ont un effet suppressif sur la prolifération des lymphocytes (Thies et al., 2001).

Il a été démontré également que le DHA, EPA, l'acide oléique et l'acide linoléique inhibent in vitro la prolifération des lymphocytes stimulés par des mitogènes. Cette inhibition dépend de la concentration et du degré d'insaturation de l'acide gras utilisé. Les acides gras les plus inhibiteurs sont de la série n-3 (Calder, 2001).

De nombreux travaux rapportent une augmentation du stress oxydatif au cours de l'obésité suite à un déficit des systèmes protecteurs anti-radicalaires intracellulaires (Furukawa et al.,

2004). L'augmentation de la formation des ROS contribue au développement de plusieurs pathologies telles que l'obésité et les maladies cardio-vasculaires (Fenster et al., 2002). En effet, il est bien établi aujourd'hui que le stress oxydatif est à l'origine des complications associées à l'obésité.

Les molécules les plus sensibles au stress oxydant sont les acides gras polyinsaturés, présents dans les phospholipides des membranes cellulaires. Les acides gras polyinsaturés sont des cibles privilégiées des radicaux libres en raison de leurs doubles liaisons. Plus l'acide gras est insaturé, plus il est peroxydable (Pré, 1991). L'acide docosahexaénoïque (DHA) est particulièrement oxydable du fait de la présence de six doubles liaisons (Van kuijk et al., 1995).

La peroxydation des lipides membranaires, notamment des AGPI des phospholipides, génère des peroxydes réactifs responsables d'une autocatalyse de cette réaction tandis que l'oxydation des protéines déréglera les signaux cellulaires de prolifération ou de défense (Buttke et Sandstrom, 1994).

La peroxydation lipidique a été estimée par la mesure de malondialdéhyde (MDA). Il s'agit d'un aldéhyde formé lors de la coupure des acides gras polyinsaturés possédant au moins trois doubles liaisons ou à partir de composés non lipidiques tel que l'acide ascorbique, les acides aminés, le désoxyribose ou le saccharose lorsqu'ils sont exposés à l'action des radicaux hydroxyles, en présence de métaux (Lefevre et al., 1998).

Par ailleurs, nous avons dosé le taux des protéines carbonylées. Elles sont considérées comme des marqueurs de l'oxydation des protéines (Mayne, 2003). Ces carbonyles protéinés sont formés lorsque les espèces réactives de l'oxygène attaquent les résidus d'acides aminés (particulièrement l'histidine, proline, arginine et lysine) (Lean et Burn, 2007).

Comme antioxydant, nous avons dosé la catalase intracellulaire. Les catalases réduisent le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 en libérant de l'oxygène et de l'eau. Leur rôle est très important surtout en présence d'ions ferreux en permettant d'éliminer l'excès de peroxyde (Lindau-Sehpard et Shaffer, 1993).

Nos résultats montrent que les splénocytes isolés des rates sous régime cafeteria (CS) présentent un stress oxydatif intracellulaire marqué par une augmentation des taux en protéines carbonylées et en MDA et une réduction de la catalase intracellulaire comparées aux valeurs trouvées chez les rates témoins, quelque soit l'incubation considérée (basale ou stimulée). Ces données sont en accord avec ceux de Vincent et al. (2007) et de Uzun et al. (2007) qui montrent que les teneurs en protéines carbonylées et en MDA augmentent chez les obèses. En effet, l'oxydation des protéines et des lipides est un signe de l'endommagement tissulaire, causé par le stress oxydatif, l'augmentation du taux des glucides, ou les deux (Mayne, 2003). L'existence de ce stress oxydatif intracellulaire peut être à l'origine des perturbations de la prolifération des lymphocytes chez les rates obèses.

L'obésité est considérée comme un état inflammatoire caractérisé par une augmentation du stress oxydant systémique (Urakawa et al., 2003 ; Pou et al., 2007). En effet, l'induction de l'obésité chez des souris, par un régime hyperlipidique, augmente significativement les concentrations des marqueurs de la peroxydation lipidique (Yamato et al., 2007). De plus, la concentration des protéines carbonylées dans le tissu adipeux (conséquence directe d'un stress oxydant) est de 2 à 3 fois plus élevée chez les souris obèses que chez leurs témoins (Grimsrud et al., 2007).

Dans notre travail, la supplémentation des régimes en huile de lin semble corriger ce statut redox chez les obèses puisque les taux en protéines carbonylées, en MDA et la catalase intracellulaire chez les CL sont semblables à ceux des TL.

Nos résultats montrent aussi que les teneurs en protéines carbonylées et en MDA des cellules T stimulées par la Con A ou l'insuline augmentent significativement en présence du mélange d'acide gras n-3 et n-6 chez les différents lots des rates témoins et expérimentales. Ceci indique que les acides gras *in vitro* se comportent comme des substrats de lipoperoxydation en augmentant l'action oxydante des radicaux libres sur les protéines et les lipides des cellules T.

De plus, nos résultats montrent également que la présence *in vitro* du mélange d'acide gras n'affecte pas l'activité de catalase intracellulaire des différents groupes de rats.

Il apparaît clairement que le régime cafeteria induit une obésité chez la rate accompagnée d'anomalies métaboliques et immunologiques importantes. L'enrichissement de ce régime en huile de lin semble corriger ces anomalies chez la rate obèse.

Conclusion

Les acides gras alimentaires sont d'une grande importance pour plusieurs maladies courantes dans les sociétés modernes. Un des aspects les plus intéressants de la biologie des acides gras polyinsaturés (AGPI) est lié à leur rapport n3/n6. Les différentes preuves cliniques ont poussé de nombreuses organisations et les gouvernements à reconnaître aujourd'hui les AGPI comme une nouvelle approche thérapeutique à un large spectre de maladies modernes.

Ce travail a été orienté pour examiner si l'enrichissement d'un régime alimentaire hyperlipidique en huile de lin, riche en acides gras polyinsaturés de la famille des n-3 (acide α linoléique), peut entraîner une amélioration des troubles métaboliques, de la réponse immunitaire et du statut oxydant/antioxydant intracellulaire chez les obèses.

Nos résultats montrent que le régime hypergras (cafeteria) entraîne une obésité associée à des anomalies métaboliques (hyperglycémie et hyperlipidémie) et hématologiques (augmentation des taux de globules rouges, blancs et hémoglobine) chez la rate Wistar. Ces perturbations sont corrigées par la supplémentation du régime cafeteria en huile de lin.

Le système immunitaire et le statut oxydant/antioxydant sont altérés par un régime hyperlipidique. Nos résultats mettent aussi en évidence les perturbations de la fonction proliférative *in vitro* et de la balance oxydante/antioxydante intracellulaire chez les rats sous régime cafeteria, et une amélioration par l'enrichissement par l'huile de lin. De plus, les effets immunomodulateurs des différents acides gras (AGPI n-3) et leurs effets bénéfiques sur le statut oxydant/antioxydant intracellulaire sont confirmés.

Ainsi, des approches nutritionnelles utilisant un supplément d'acides gras surtout les AGPI n-3 dans les régimes amaigrissants soit comme thérapie complémentaire soit comme thérapie alternative sont potentiellement très importants, car la régulation de l'expression génique, la production des eicosanoïdes et des cytokines, l'action des enzymes anti-oxydantes sont tous des mécanismes par lesquels les acides gras polyinsaturés peuvent exercer des effets bénéfiques sur le système immunitaire.

Nous souhaitons utiliser ce modèle animal pour l'identification de nouvelles hormones et de nouveaux récepteurs contrôlant la prise alimentaire et le poids corporel. Il serait aussi possible de déterminer la sécrétion de certaines cytokines. Ainsi, pour mieux comprendre les effets de la suralimentation, toutes les fonctions de l'organisme animal doivent être prises en considération (nutrition, métabolisme, système nerveux, système neuroendocrinien, fonctions

musculosquelettiques, fonction cardiovasculaire...), avec leur régulation, leurs interactions et leur contribution à l'adaptation de l'organisme à son milieu.

L'huile de lin riche en AGPI n-3 a des effets bénéfiques sur les altérations métaboliques, hématologiques et immunitaires chez les obèses. Son intégration dans l'alimentation humaine peut participer à améliorer le profil métabolique et réduire l'incidence de l'obésité et ses complications à long terme.

Références bibliographiques

1. Abdel-Moneim AE, Dkhil MA, Al-Quraishy S (2010). The Redox Status in Rats Treated with Flaxseed Oil and Lead-Induced Hepatotoxicity. *Biol Trace Elem Res.* 2010 Oct 20. [Epub ahead of print].
2. Adams JP, Murphy PG (2000). Obesity in anaesthesia and intensive care. *Br J Anaesth.* 85: 91-108.
3. Aebi H (1974). Catalase. In *methods of enzymatic analysis.* Verlag Chemie GmbH Weinheim. 2: 673 - 684.
4. Ailhaud G (2001). Le tissu adipeux au cours du développement : quelles conséquences sur la prévention de l'obésité infantile ? *J Pédiatr Puériculture.* 14: 457- 460.
5. Ailhaud G (2002). Développement du tissu adipeux : pour le meilleur et pour le pire. *CHOLE-DOC.* 74: 1-6.
6. Ailhaud G (2007). Lipides alimentaires et masse adipeuse excédentaire : le statut des acides gras $\omega 6$ et $\omega 3$ n'est plus ce qu'il était. *Obes.* 2: 155-157.
7. Ailhaud G (2008). Apports lipidiques et prise de poids : aspects qualitatifs. *OCL.* 15: 37-40.
8. Amin TT, I-Sultan AI, Ali A (2008). Overweight and obesity and their relation to dietary habits and socio-demographic characteristics among male primary school children in Al-Hassa, Kingdom of Saudi Arabia. *Eur J Nutr.* 47: 310-318.
9. Antuna-Puenté B, Fève B, Fellahi S, Bastard JP (2008). Adipokines: The missing link between insulin resistance and obesity. *Diabetes & Metabolism.* 34: 2-11.
10. Archer ZA, Mercer JG (2007). Brain responses to obesogenic diets and diet-induced obesity. *The Proceedings of the Nutrition Society.* 66: 124-130.
11. Balasubramaniam S, Simons LA, Chang S, Hickie JB (1985). Reduction in plasma cholesterol and increase in biliary cholesterol by a diet rich in n-3 fatty acids in the rat. *J Lipid Res.* 26: 684-689.
12. Barber T, Vina JT, Cabo J (1985). Decreased urea synthesis in cafeteria-diet-induced obesity in the rat. *Biochem J.* 230: 675-681.
13. Basdevant A (2002). Rôle délétère du tissu adipeux sur les maladies cardiovasculaires. Deleterious role of adipose tissue on cardiovascular disease. *Annales de cardiologie et d'angéiologie.* 51: 346-350.
14. Basdevant A (2006). L'obésité : origines et conséquences d'une épidémie. *C R Biologies.* 329: 562-569.
15. Basdevant A (2008). Obésité : évolution des conceptions physiopathologiques. Obesity: Pathophysiological concepts. *Revue du Rhumatisme.* 75 : 935-936.

16. Basdevant A, Guy-Grand A (2004). Médecine de l'obésité. Ed: flammariion. 30-40.
17. Bastard JP, Maachi M, Lagathu C, Kim MJ, Caron M, Vidal H, Capeau J, Fève B (2006). Recent advances in the relationship between obesity, inflammation, and insulin resistance. *Eur Cytokine Netw.* 17: 4-12.
18. Bastard JP, Vidal H (2004). Adipokines, inflammation and insulin resistance in obesity. *Sang thrombose vaisseaux.* 36-41.
19. Baumann H, Morella KK, White DW, Dembski M, Bailon PS, Kim H, Lai CF, Tartaglia LA (1996). The full-length leptin receptor has signaling capabilities of interleukin 6-type cytokine receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 93: 8374-8378.
20. Bazan NG (2005). Lipid signaling in neural plasticity, brain repair, and neuroprotection. *Mol Neurobiol.* 32: 89-104.
21. Benatti P, Peluso G, Nicolai R, Calvani M (2004). Polyunsaturated Fatty Acids: Biochemical, Nutritional and Epigenetic Properties. *Journal of the American College of Nutrition.* 23: 281-302.
22. Berdah C (2010). Obésité et troubles psychopathologiques. Obesity and psychiatric disorders. *Annales Médico-Psychologiques.* 168: 184-190.
23. Berger MM (2006). Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances. *Nutrition clinique et métabolisme.* 20: 48-53.
24. Berraondo B, Bonafonte A, Fernandez-Otero MP, Martinez JA (1997). Effects on energy utilization of a beta3-adrenergic agonist in rats fed on a cafeteria diet. *Eat Weight Disord.* 2: 130-137.
25. Binnert C, Tappy L (2001). Physiopathologie de l'obésité. *Nutr Clin Métabol.* 15: 194-197.
26. Blondeau N, Schneider SM (2006). Les acides gras essentiels de la famille des oméga-3 et la santé de la mère et de l'enfant. *Nutrition clinique et métabolisme.* 20: 68-72.
27. Bonnefont-Rousselot D, Bastard JP, Jaudon MC, Delattre J (2000). Consequences of the diabetic statut on the oxidant/antioxidant balance. *Diabetes Metab.* 26: 163-176.
28. Bouanane S, Benkalfat NB, Baba Ahmed F-Z, Merzouk H, Mokhtari NS, Merzouk S, Gresti J, Tessier C, Narce M (2009). Time course of changes in serum oxidant/antioxidant status in overfed obese rats and their offspring. *Clinical Science.* 116: 669-680.

29. Bouglé A, Annane D (2009). Les effets de l'insuline : de la cellule à l'organisme entier. Effect of insulin: From the cell to the total body. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation*. 28: 193-199.
30. Buettner R, Parhofer KG, Woenckhaus M, Wrede CE, Kunz-Schughart LA, Schölmerich J, Bollheimer LC (2006). Defining high-fat-diet rat models: metabolic and molecular effects of different fat types. *Journal of Molecular Endocrinology*. 36: 485-501.
31. Buttke TM, Sandstrom PA (1994). Oxidative stress as a mediator of apoptosis. *Immunol Today*. 15: 7-10.
32. Caldefie-Chézet F, Guillot J, Vasson M-P (2003). La leptine : hormone et cytokine impliquée dans la réponse à l'agression. *Nutr Clin Metabol*. 17: 15-23.
33. Calder PC (2001). Polyunsaturated fatty acids, inflammation and immunity. *Lipids*. 36: 1007-1024.
34. Calder PC (2007). Immunomodulation by omega-3 fatty acids. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 77: 327-335.
35. Calder PC, Yaqoob P, Thies F, Wallace FA, Miles EA (2002). Fatty acids and lymphocyte functions. *Br J Nutr*. 87: 31-42.
36. Calmels B (2004). Immunologie et cancer. 1^{re} partie : réponse immunitaire antitumorale. *Oncologie*. 6: 467-476.
37. Carroll L, Voisey J, Van Daal A (2004). Mouse models of obesity. *Clinics in dermatology*. 22: 345-349.
38. Castetbon K, Vernay M, Deschamps V, Salanave B, Malon A, Hercberg S (2008). Situation nutritionnelle en France selon les indicateurs d'objectif et les repères du Programme national nutrition santé (PNNS) – Etude nationale nutrition santé (ENNS, 2006) : prévalences de l'obésité, de l'hypertension artérielle et des dyslipidémies. *Obes*. 3: 19-26.
39. Caughey GE, Mantzioris E, Gibson RA, Cleland LG, James MJ (1996). The effect on human tumor necrosis factor α and interleukin 1 β production of diets enriched in n-3 fatty acids from vegetable oil or fish oil. *Am J Clin Nutr*. 63: 116-122.
40. Charlesl MA, Eschwege E, Basdevant A (2008). Épidémiologie de l'obésité de l'adulte en France, Les études Obépi 1997-2006. *Obes*. 3: 258-263.
41. Cho YY, Kwon EY, Kim HJ, Park YB, Lee KT, Park T, Choi MS (2009). Low trans structured fat from flaxseed oil improves plasma and hepatic lipid metabolism in apo E^{-/-} mice. *Food and Chemical Toxicology*. 47: 1550-1555.

42. Clément K, Vignes S (2009). Inflammation, adipokines et obésité. *La Revue de médecine interne*. 30: 824-832.
43. Codoner-Franch P, Valls-Belles P, Boix L, Torres MC, Hernández-Marco R (2004). L'enfant obèse a-t-il un risque d'avoir un stress oxydatif ? *SNFGE.P1*.
44. Cohen SL, Moore AM, Ward WE (2005). Flaxseed oil and inflammation associated bone abnormalities in interleukin-10 knockout mice. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 16: 368-374.
45. Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, Ohannesian JP, Marco CC, McKee LJ, Bauer TL, Caro JF (1996). Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *The New England journal of medicine*. 334: 292-295.
46. Craig WJ (1999). Health-promoting properties of common herbs. *Am J Clin Nutr*. 70: 491-499.
47. Cuvelier C, Cabaraux JF, Dufrasne I, Hornick JL, Istasse L (2004). Acides gras: nomenclature et sources alimentaires. *Ann Méd Vét*. 148: 133-140.
48. Darimont C, Yurini M, Epitoux M, Zbinden I, Richelle M, Montell E, Martinez AF, Mace K (2004). β 3-adrenoceptor agonist prevents alterations of muscle diacylglycerol and adipose tissue phospholipids induced by a cafeteria diet. *Nutrition Metabolism*. 1: 4-12.
49. Das UN (2010). Obesity: Genes, brain, gut, and environment. *Nutrition*. 26: 459-473.
50. De Bandt JP (2004). Nutrition et Obésité. *Nutrition clinique et métabolisme*. 18: 147-155.
51. De Ferranti S, Mozaffarian D (2008). The Perfect Storm: Obesity, Adipocyte Dysfunction, and Metabolic Consequences. *Clinical Chemistry*. 54: 945-955.
52. De Rosa V, Procaccini C, La Cava A, Chieffi P, Nicoletti GF, Fontana S, Zappacosta S, Matarese G (2006). Leptin neutralization interferes with pathogenic T cell autoreactivity in autoimmune encephalomyelitis. *J Clin Invest*. 116: 447-455.
53. Defranco AL, Richard JD, Blum JH, Stevren TL, Law DA, Chan VW, Datta SK, Foy SP, Hourihane SL, Gold MR (1995). Signal transduction by the B-cell antigen receptor. *Ann N Y Acad Sci*. 766:195-201.
54. Delarue J (2000). Acides gras polyinsaturés n-3 : anti-catabolisme et prévention de l'insulino-résistance. *Nutr Clin Métabol*. 14: 221-234.
55. Delobel A, Fabry C, Schoonheere N, Istasse L, Hornick JL (2008). Linseed oil supplementation in diet for horses: Effects on palatability and digestibility. *Livestock Science*. 116:15-21.

56. Del-Prato S, Enzi G, Vigilli De Kreutzeberg S, Lisato G, Riccio A, Maifreni L, Iori E, Zurlo F, Sergi G, Tiengo A (1990). Insulin regulation of glucose and lipid metabolism in massive obesity. *Diabetologia*. 33: 228-236.
57. Demigné C, Bloch-Faure M, Picard N, Sabboh H, Besson C, Rémésy C, Geoffroy V, Gaston AT, Nicoletti A, Hagège A, Ménard J, Meneton P (2006). Mice chronically fed a westernized experimental diet as a model of obesity, metabolic syndrome and osteoporosis. *Eur J Nutr*. 45: 298-306.
58. Despres JP (1994). Dyslipidaemia and obesity. *Baillieres Clin Endocrinol Metabol*. 8: 629-660.
59. Didier A, Postigo MA, Mailhol C (2009). Asthme et obésité. *Revue française d'allergologie*. 49: 13-15.
60. Dranoff G (2004). Cytokines in cancer pathogenesis and cancer therapy. *Nat Rev Cancer*. 4: 11-22.
61. Dray C, Valet P, Castan-Laurell I (2008). Adipokines : quelles nouvelles ? *Obes*. 3: 33-41.
62. Drewnowski A (2007). The real contribution of added sugars and fats to obesity. *Epidemiologic reviews*. 29: 160-171.
63. Ebbeling CB, Ockene IS (1998). Obesity and dyslipidemia. *Nutr Clin Care*. 1: 15-30.
64. Eder K, Kirchgessner M (1997). Concentrations of lipids in plasma and lipoproteins and oxidative susceptibility of low-density lipoproteins in zinc-deficient rats fed linseed oil or olive oil. *J Nutr Biochem*. 8: 461-468.
65. Esteve M, Rafecas I, Fernandez-Lopez JA, Remesar X, Alemany M (1994). Effect of a Cafeteria Diet on Energy Intake and Balance in Wistar Rats. *Physiology & Behavior*. 56: 65-71.
66. Fantuzzi G (2005). Adipose tissue, adipokines, and inflammation. *J Allergy Clin Immunol*. 115: 911-919.
67. Fantuzzi G (2009). Three questions about leptin and immunity. *Brain Behavior and Immunity*. 23: 405-410.
68. Favier A (2003). Le stress oxydant: intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*. 108-115.
69. Federico A, D'Aiuto E, Borriello F, Barra G, Gravina AG, Romano M, De Palma R (2010). Fat: A matter of disturbance for the immune system. *World J Gastroenterol*. 16: 4762-4772.

70. Fenster CP, Weinsier RL, Darley-Usmar VM, Patel RP (2002). Obesity, aerobic exercise and vascular disease: the role of oxidant stress. *Obes Res.* 10: 964-968.
71. Fève B, Bastard JP, Vidal H (2006). Les relations entre obésité, inflammation et insulino-résistance : acquisitions récentes. *C R Biologies.* 329: 587-597.
72. Frayn KN, Coppack SW (1992). Insulin resistance, adipose tissue and coronary heart disease. *Clinical Science.* 82: 1-8.
73. Friedman JM (2000). Obesity in the new millennium. *Nature.* 404: 632-634.
74. Friedman JM, Halaas JL (1998). Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature.* 395: 763-770.
75. Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, Iwaki M, Yamada Y, Nakajima O (2004). Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Invest.* 114: 1752-1761.
76. Gaucher EA, Miyamoto MM, Benner SA (2003). Evolutionary, structural and biochemical evidence for a new interaction site of the leptin obesity protein. *Genetics.* 163: 1549-1553.
77. Ghisolfi J (1993). Lipides, acides gras polyinsaturés et fonctions immunitaires. *Nutr Clin Métabol.* 7: 289-295.
78. Golay A (1998). Rôle des graisses alimentaire dans le développement de l'obésité : obésité et lipides. *Oléagineux, corps gras, lipides.* 5: 25-207.
79. Goudable J, Favier A (1997). Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutr Clin Métabol.* 11: 115-120.
80. Gouranton E, Landrier JF (2007). Les facteurs modulant l'expression des adipokines en relation avec l'insulino-résistance associée à l'obésité. *Obes.* 2: 272-279.
81. Grimsrud PA, Picklo MJ, Griffin TJ, Bernlohr DA (2007). Carbonylation of adipose proteins in obesity and insulin resistance: identification of adipose fatty acid-binding protein as a cellular target of 4-hydroxynonenal. *Mol Cell Proteomics.* 6: 624-637.
82. Groubet R, Pallet V, Delage B, Redonnet A, Higuieret P, Cassand P (2003). Hyperlipidic diets induce early alterations of the vitamin A signalling pathway in rat colonic mucosa. *Endocrine regulations.* 37: 137-144.
83. Grunfeld C, Zhao C, Fuller J, Pollack A, Moser A, Friedman J, Feingold KR (1996). Endotoxin and cytokines induce expression of leptin, the ob gene product, in hamsters. *The Journal of Clinical Investigation.* 97: 2152-2157.

84. Hainault I, Carlotti M, Hajduchi E, Guichard C, Lavau M (1993). Fish oil in a high fat diet prevents obesity, hyperlipemia, and adipocyte insulin resistance in rats. *Ann NY Acad Sci.* 683: 98-101.
85. Halaas JL, Gajiwala KS, Maffei M, Cohen SL, Chait BT, Rabinowitz D, Lallone RL, Burley SK, Friedman JM (1995). Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. *Science (New York, N.Y).* 269: 543-546.
86. Hariri N, Gougeon R, Thibault L (2010). A highly saturated fat-rich diet is more obesogenic than diets with lower saturated fat content. *Nutrition Research.* 30: 632–643.
87. Harris WS (1989). Fish oils and plasma lipid and lipoprotein metabolism in humans: A critical review. *J Lipid Res.* 30: 785- 807.
88. Hasselmann M, Reimund JM (2004). Lipids in the nutritional support of the critically ill patients. *Curr Opin Crit Care.* 10: 449-455.
89. Hattori Y, Hattori S, Kasai K (2006). Globular adiponectin activates nuclear factor-kappa B in vascular endothelial cells, which in turn induces expression of proinflammatory and adhesion molecule genes. *Diabetes Care.* 29: 139-141.
90. Hossain P, Kavar B, El Nahas M (2007). Obesity and diabetes in the developing world – a growing challenge. *N Engl J Med.* 356: 213-215.
91. Kaithwas G, Majumdar DK (2010). Therapeutic effect of *Linum usitatissimum* (flaxseed/linseed) fixed oil on acute and chronic arthritic models in albino rats. *Inflammopharmacol.* 18:127–136.
92. Katagiri K, Arakawa S, Kurahashi R, Hatano Y (2007). Impaired contact hypersensitivity in diet-induced obese mice. *Journal of Dermatological Science.* 46: 117-126.
93. Kaul N, Kreml R, Austria JA, Richard MN, Edel AL, Dibrov E, Hirono S, Zettler ME, Pierce GN (2008). A Comparison of Fish Oil, Flaxseed Oil and Hempseed Oil Supplementation on Selected Parameters of Cardiovascular Health in Healthy Volunteers. *Journal of the American College of Nutrition.* 27: 51-58.
94. Kelley DS, Branch LB, Love JF (1991). Dietary ALA and immunocompetence humans. *American Journal of Clinical Nutrition.* 53: 40-46.
95. Kelly DS (2001). Modulation of human immune and inflammatory responses by dietary fatty acids. *Nutrition.* 17: 669-673.
96. Kelly DS, Nelson GJ, Love JE, Branch LB, Taylor PC, Schmidt PC, Mackey BE, Lacono JM (1993). Dietary α -Linolenic Acid Alters Tissue Fatty Acid Composition but Not Blood Lipids, Lipoproteins or Coagulation Status in Humans. *Lipids.* 28: 533-537.

97. Kesavulu M, Kameswararao B, Apparao CH, Kumar EG (2002). Effects of omega-3 fatty acids on lipid peroxidation and antioxidant enzyme status in type 2 diabetic and obese patients. *Diabetes Metab.* 28: 20-26.
98. Kim MJ, Maachi M, Capeau J, Bastard JP (2006). Adiponectine et syndrome métabolique; Adiponectin and the metabolic syndrome. *Immuno-analyse & Biologie spécialisée.* 21 : 1-7.
99. Koechlin-Ramonatxo C (2006). Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. Oxygen, oxidative stress and anti oxidant supplementation, or another way for nutrition in respiratory diseases *Nutrition. Clinique et métabolisme.* 20: 165-177.
100. Kopelman PG (2000). Obesity as a medical problem. *Nature.* 404: 635-643.
101. L'IASO (International Association for the Study of Obesity (2007). Prévalence du surpoids et de l'obésité en Europe - Données récentes de l'IASO. *Obes.* 2: 152-153.
102. Lafontan M (2003). Activités métaboliques et sécrétoires des adipocytes. *Metabolic and secretory activities of adipocytes. Pathologie Biologie.* 51: 238-240.
103. Lamas O, Marti A, Martinez JA (2002). Obesity and immunocompetence. *European Journal of Clinical Nutrition.* 56: 42-45.
104. Lamas O, Martínez JA, Marti A (2004). Energy restriction restores the impaired immune response in overweight (cafeteria) rats. *Journal of Nutritional Biochemistry.* 15: 418-425.
105. Le Goff S, Lédée N, Bader G (2008). Obésité et reproduction : revue de la littérature. Obesity and reproduction: A literature review. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité.* 36: 543-550.
106. Lean MEJ, Burn J (2007). Tentatives pharmacologiques et nutritionnelles pour corriger le stress oxydatif. *Journées annuelles de diabétologie de l'Hôpital Dieu.* 1-10.
107. Lefevre G, Beljean-Leymarie M, Beyerle F, Bonnefont-Rousselot D, Cristol JP, Theron P, Torreilles J (1998). Evaluation de la peroxydation lipidique par le dosage des substances réagissant avec l'acide thiobarbiturique. *Annales de Biologie clinique.* 56: 305-319.
108. Legrand P, Schmitt B, Mourot J, Catheline D, Chesneau G, Mireaux M, Kerhoas N, Weill P (2010). The Consumption of Food Products from Linseed-Fed Animals. Maintains Erythrocyte Omega-3 Fatty Acids in Obese Humans. *Lipids.* 45: 11-19.
109. Levine RL, Garland D, Olivier CN, Amici A, Lenz AG, Shantirl S, Stadan ER (1996). Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol.* 186: 464-478.

- 110.** Lichtenstein AH, Kennedy E, Barrier P (1998). Dietary fatty consumption and health. *Nutr Rev.* 56: 3-19.
- 111.** Lindau-Sehpar B, Shaffer J (1993). Expression of human catalase in acatalasemic murine SVB2 cells confers protection from oxidative damage. *Free Rad Biol Med.* 15: 581-588.
- 112.** Louis-Sylvestre J (1984). Mécanisme de l'induction de l'hyperphagie et d l'obésité par le regime cafeteria. *Cahier de nutrition et de diététique.* 4: 197-204.
- 113.** Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RI (1951). Protein measurement with folin phenol reagent. *J Biol Chem.* 193: 265-275.
- 114.** Marcos A, Nova E, Montero A (2003). Changes in the immune system are conditioned by nutrition. *Eur J Clin Nutr.* 57: 66-69.
- 115.** Masek J, Fabry P (1959). High-fat diet and the development of obesity in albino rats. *Experientia.* 15: 444-445.
- 116.** Mayne ST (2003). Antioxidant nutrient and chronic disease: use of biomarkers of exposure and oxidative stress status in epidemiologic research. *J Nutri.* 133: 933-940.
- 117.** Merzouk S, Hichami A, Madani S, Merzouk H, Yahia Berrouiguet A, Prost J, Montairo K, Chabane Sari N, Khan NA (2003). Antioxydant status levels of different vitamins determined by high performance liquid chromatography in diabetic subjects with complications. *Gen Physiol Biophys.* 22: 15-57.
- 118.** Merzouk S, Saker M, Briksi K, Soulimane N, Merzouk H, Guermouche B, Yahia Berrouiguet A, Hichami A, Khan NA, Narce M (2008). N-3 polyunsaturated fatty acids modulate in vitro T-cell function in diabetic patients. *Lipids.* 43: 485-497.
- 119.** Meydani M (1995). Vitamin E. *Lancet.* 345: 170-175.
- 120.** Mito N, Hosoda T, Kato C, Sato K (2000). Change of cytokine balance in diet-induced obese mice. *Metabolism.* 49: 1295-1300.
- 121.** Moinard C (2006). Immunomodulation par les nutriments. Intervention nutritionnelle : de la prévention à la thérapeutique. *Nutrition clinique et métabolisme.* 20 : 79-84.
- 122.** Morel Y, Barouki R (1999). Repression of gene expression by oxidative stress. *Biochem J.* 342: 481-496.
- 123.** Morris DH (2003). Methodologic challenges in designing clinical studies to measure differences in the bioequivalence of n-3 fatty acids. *Mol Cell Biochem.* 246: 83-90.
- 124.** Mosmann T (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Method.* 65: 55-63.

- 125.** Moulin P, Berthezene F (1996). Dyslipoprotéïnémie et insulino-résistance lors de l'obésité. *Médecine et Nutrition. Cah Nutr Diét.* 31: 109-118.
- 126.** Ndiaye MF (2007). Obésité en Afrique : définitions et épidémiologie. *J Afr Hepato Gastroenterol.* 1: 71-75.
- 127.** Nelson TL, Stevens JR, Hickey MS (2007). Adiponectin levels are reduced, independent of polymorphisms in the adiponectin gene, after supplementation with alpha-linolenic acid among healthy adults. *Metabolism.* 56: 1209-1215.
- 128.** Nieman DC, Henson DA, Nehlsen-Cannarella SL, Ekkens M, Utter AC, Butterworth DE, Fagoaga OR (1999). Influence of obesity on immune function. *J Am Diet Assoc.* 99: 294-299.
- 129.** Nourooz-Zadeh J, Ling Kle, Wolef SP (1996). Low density lipoprotein is the major carrier of lipid hydroperoxydes in plasma. *Biochem J.* 313: 781-786.
- 130.** Pablo MA, Alvarez De Cien Fuegos G (2000). Modulatory effects of dietary lipids on immune system functions. *Immunol Cell Biol.* 78: 31-39.
- 131.** Pan A, Yu D, Demark-Wahnefried W, Franco OH, Lin X (2009). Meta-analysis of the effects of flaxseed interventions on blood lipids. *Am J Clin Nutr.* 90: 288-97.
- 132.** Pou KM, Massaro JM, Hoffmann U, Vasan RS, Maurovich-Horvat P, Lipinska I, Kathiresan S, Murabito JM, O'donnell CJ, Benjamin EJ, Fox CS (2007). Visceral and subcutaneous adipose tissue volumes are cross-sectionally related to markers of inflammation and oxidative stress: the Framingham Heart Study. *Circulation.* 116: 1234-1241.
- 133.** Prasad K (1997). Dietary Flax Seed in Prevention of Hypercholesterolemic Atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 132: 69-76.
- 134.** Pré J (1991). Lipid peroxidation. *Pathol Biol (Paris).* 39: 716-736.
- 135.** Raclot T, Oudart H (2000). Corps gras et obésité. Acides gras alimentaires et obésité : aspects qualitatifs et quantitatifs. *Oléagineux Corps Gras Lipides.* 77-85.
- 136.** Ravanan P, Rouch C, Lefebvre d'Hellencourt C (2008). Influence de l'obésité sur les phénomènes neurodégénératifs. *Obes.* 3: 27-32.
- 137.** Rees D, Miles EA, Banerjee T, Wells SJ, Roynette CE, Wahle KWJ, Calder PC (2006). Dose-related effects of eicosapentaenoic acid on innate immune function in healthy humans: a comparison of young and older man. *Am J Clin Nutr.* 83: 331-342.
- 138.** Reimund JM (2002). Stress oxydant au cours des syndromes inflammatoires chroniques. Oxidative stress in chronic inflammatory syndromes. *Nutrition clinique et métabolisme.* 16: 275-284.

- 139.** Riediger ND, Othman R, Fitz E, Pierce GN, Suh M, Moghadasian MH (2008). Low n-6:n-3 fatty acid ratio, with fish or flaxseed oil, in a high fat diet improves plasma lipids and beneficially alters tissue fatty acid composition in mice. *Eur J Nutr.* 47: 153-160.
- 140.** Rosa DD, Lopes de Sales R, De Sousa Moraes LF, Lourenço FC, Neves CA, Sabareense CM, Rocha Ribeiro SM, Gouveia Peluzio MC (2010). Flaxseed, olive and fish oil influence plasmatic lipids, lymphocyte migration and morphometry of the intestinal of Wistar rats. *Acta Cirúrgica Brasileira.* 25: 275-280.
- 141.** Rouas N, Bidart JM, Bellet D (1993). Interactions cellulaires au cours de la réponse immunitaire. *Immuno-analyse et Biologie Spécialisée.* 8: 9-15.
- 142.** Roussel AM, Ferry M (2002). Stress oxydant et vieillissement. *Oxidative stress, nutrition and aging. Nutrition clinique et métabolisme.* 16: 285-291.
- 143.** Rustan AC, Hustvedt BE, Drevon CA (1993). Dietary supplementation of very long-chain n-3 fatty acids decreases whole lipid utilization in the rat. *J Lipid Res.* 34: 1299-1309.
- 144.** Ruth MR, Taylor CG, Zahradka P, Field CJ (2008). Abnormal Immune Responses in fa/fa Zucker Rats and Effects of Feeding Conjugated Linoleic Acid. *Obesity.* 16: 1770-1779.
- 145.** Sanz J, Moreno PR, Fuster V (2008). The Year in Atherothrombosis. *J Am Coll Cardiol.* 51: 944-955.
- 146.** Schlienger JL, Luca F, Pradignac A (2010). Quoi de neuf dans la prise en charge de l'obésité? What's new in the treatment of obesity? *La Revue de médecine interne.* 31: 185-187.
- 147.** Scoaris CR, Vasconcelos Rizo G, Roldi LP, Franzoi de Moraes SM, Gomes de Proenc AR, Peralta RM, Marçal NMR (2010). Effects of cafeteria diet on the jejunum in sedentary and physically trained rats. *Nutrition.* 26: 312-320.
- 148.** Shafat A, Murray B, Rumsey D (2009). Energy density in cafeteria diet induced hyperphagia in the rat. *Appetite.* 52: 34-38.
- 149.** Shaikh SR, Edidin M (2006). Polyunsaturated fatty acids, membrane organization, T cells, and antigen presentation. *Am J Clin Nutr.* 84: 1277-1289.
- 150.** Simon C (2004). Alimentation, gain de poids et obésité. *Médecine de l'Obésité, Paris: Médecine-Sciences, Flammarion.* pp. 52-58.
- 151.** Simone R, Zicca A, Saverino D (2008). The frequency of regulatory CD3+CD8+CD28-CD25+ T lymphocytes in human peripheral blood increases with age. *Journal of Leukocyte Biology.* 84: 1454-1461.
- 152.** Simopoulos AP (1999). Essential fatty acids in health and chronic disease. *Am J Clin Nutr.* 70: 560-569.

- 153.** Simopoulos AP, Robinson J (1998). The Omega plan. New York, Harper Collins. 1-55.
- 154.** Smith AG, Sheridan PA, Harp JB, Beck MA (2007). Diet-Induced Obese Mice Have Increased Mortality and Altered Immune Responses When Infected with Influenza Virus. *J Nutr.* 137: 1236-1243.
- 155.** Sorser SA, Hazan TB, Piper M, Maas LC (2009). Obesity and complicated diverticular disease: is there an association? *South Med J.* 102: 350-353.
- 156.** Stangl GI, Kirchgessner M, Reichlmayr-Lais AM, Eder K (1994). Serum lipids and lipoproteins from rats fed different dietary oils. *J Anim Physiol Anim Nutr.* 7: 87-97.
- 157.** Storlien LH, Hulbert AJ, Else PL (1998). Polyunsaturated fatty acids, membrane function and metabolic diseases such as diabetes and obesity. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 1: 559-563.
- 158.** Taleb S, Agli A (2009). Obésité de l'enfant : rôle des facteurs socioéconomiques, obésité parentale, comportement alimentaire et activité physique, chez des enfants scolarisés dans une ville de l'Est algérien. *Cahiers de Nutrition et de Diététique.* 44: 198-206.
- 159.** Thies F, Nebe-Von-Caron G, Powell JR, Yaqob P, Newsholme EA, Calder PC (2001). Dietary supplementation with gamma linolenic acid or fish oil decreases T lymphocyte proliferation in healthy older humans. *J Nutr.* 1918-1927.
- 160.** Tounian P (2004). Régulation du poids chez l'enfant: application à la compréhension de l'obésité. *Archives de pédiatrie.* 11: 240-244.
- 161.** Tzang BS, Yang SF, Fu SG, Yang HC, Sun HL, Chen YC (2009). Effects of dietary flaxseed oil on cholesterol metabolism of hamsters. *Food Chemistry.* 114: 1450-1455.
- 162.** Urakawa H, Katsuki A, Sumida Y, Gabazza EC, Murashima S, Moiooka k, Maruyama N, Kitagawa N, Takana T, Hori Y, Nakatani K, Yano Y, Adachi Y (2003). Oxidative stress is associated with adiposity and insulin resistance in men. *J clin endocrinol metab.* 88: 4673-4676.
- 163.** Uzun H, Konukoglu D, Gelisgen R, Zengin K, Taskin M (2007). Plasma protein carbonyl and thiol stress before and after laparoscopic gastric banding in morbidly obese patients. *Obes Surg.* 17: 1367-1373.
- 164.** Van Dielen FM, Buurman WA, Hadfoune M, Nijhuis J, Greve JW (2004). Macrophage inhibitory factor, plasminogen activator inhibitor-1, other acute phase proteins, and inflammatory mediators normalize as a result of weight loss in morbidly obese subjects treated with gastric restrictive surgery. *J Clin Endocrinol Metab.* 89: 4062-4068.

- 165.** Van kuijk FJ, Siakotos AN, Fong LG, Stephens RG, Thomas TW (1995). Quantitative measurement of 4-hydroxyalkenals in oxidized low-density lipoprotein by gas chromatography mass spectrometry. *J BioChem.* 224: 420-424.
- 166.** Verlengia R, Gorjao R, Kanumfre CC, Bordin S, Marin De Lima T, Martins EF, Curi R (2004). Comparative effects of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on proliferation, cytokine production and pleiotropic gene expression in Jurkat Cells. *J Nutr Biochem.* 37: 657-665.
- 167.** Verwaerde C, Delanoye A, Macia L, Tailleux A, Wolowczuk I (2006). Influence of High-Fat Feeding on Both Naive and Antigen-Experienced T-Cell Immune Response in DO10.11 Mice. *Scandinavian Journal of Immunology.* 64: 457-466.
- 168.** Vijaimohan K, Jainu M, Sabitha KE, Subramaniyam S, Anandhan C, Devi CSS (2006). Beneficial effects of alpha linolenic acid rich flaxseed oil on growth performance and hepatic cholesterol metabolism in high fat diet fed rats. *Life Sciences.* 79: 448-54.
- 169.** Vincent HK, Innes KE, Vincent KR (2007). Oxidative stress and potential interventions to reduce oxidative stress in overweight and obesity. *Diabetes Obes Metab.* 9: 813-839.
- 170.** Vitoux D, Chappuis P, Arnaud J, Bost M, Accominotti M, Roussel AM (1996). Sélénium, glutathion peroxydase, peroxydes et fonctions plaquettaires. *Ann Biol Clin.* 54: 181-187.
- 171.** Walrand S, Fisch F, Bourre JM (2010). Tous les acides gras saturés ont-ils le même effet métabolique ? Do saturated fatty acids have the same metabolic effect? *Nutrition clinique et métabolisme.* 24: 63-75.
- 172.** Wortmann RL (2002). Gout and hyperuricemia. *Curr Opin Rheumatol.* 14: 281-286.
- 173.** Wu D (2004). Modulation of immune and inflammatory responses by dietary lipids. *Curr Opin Lipidol.* 15: 43-47.
- 174.** Xiao E, Xia-Zhang L, Vulliamoz NR, Ferin M, Wardlaw SL (2003). Leptin modulates inflammatory cytokine and neuroendocrine responses to endotoxin in the primate. *Endocrinology.* 144: 4350-4353.
- 175.** Yamato M, Shiba T, Yoshida M, Ide T, Seri N, Kudou W, Kinugawa S, Tsutsui H (2007). Fatty acids increase the circulating levels of oxidative stress factors in mice with diet-induced obesity via redox changes of albumin. *Febs J.* 274: 3855-3863.
- 176.** Youinou P, Menez JF, Le Goff P, Boles JM (1993). Lipides et immunité. *Nutr Clin Métabol.* 7: 131-135.
- 177.** Zaldivar F, Mc Marray RG, Nemet D, Galassetti P, Mills PJ, Cooper DM (2006). Body fat and circulating leukocytes in children. *Int J Obes.* 30: 906-911.

- 178.** Zeghichi S, Kallithraka S, Simopoulos AP, Kyriotakis Z (2003). Nutritional Composition of Selected Wild Plants in the Diet of Crete. Simopoulos AP, Gopalan C (eds): Plants in Human Health and Nutrition Policy. World Rev Nutr Diet. 22-40.
- 179.** Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM (1994). Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. Nature. 372: 425-432.
- 180.** Ziegler O (2009). Faut-il « démedicaliser » le traitement de l'obésité ? Obésité. 4: 87-88.

Annexes

Tableau A1: Evolution du poids corporel (g), nourriture ingérée (g/j/rat) et apport énergétique (Kcal/j/rat) chez les rates témoins et expérimentales.

Rates N= 6	Poids corporel (g)	Nourriture ingérée (g/j/rat)	Apport énergétique (Kcal/j/rat)
TS	166,12 ± 8,90	38,64 ± 1,57	138,33 ± 16,95
TL	162,34 ± 6,67	36,20 ± 2,17	135,12 ± 15,30
CS	245,40 ± 6,30 ++	40,82 ± 2,28	200,02 ± 18,88 ++
CL	186,68 ± 7,33 ** +	31,25 ± 2,34 * +	156,27 ± 10,04 ** +

Chaque valeur représente la moyenne ± Ecart type, n= 6. TS: rates témoins nourries au régime standard; TL: rates témoins nourries au régime standard enrichi en huile de lin; CS: rates obèses nourries au régime cafeteria; CL : rates obèses nourries au régime cafeteria enrichi en huile de lin. La comparaison des moyennes entre différents régimes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance:

* Comparaison entre TL et TS ou entre CL et CS (effet huile lin): * p < 0,05 ; ** p < 0,01.

+ Comparaison entre CS et TS ou entre CL et TL (effet cafeteria- obésité): + p < 0,05; ++ p < 0,01.

Tableau A2: Paramètres biochimiques chez les rates témoins et expérimentales.

Rates N= 6	TS	TL	CS	CL
Glucose (mmol/l)	4,78 ± 0,23	4,72 ± 0,24	5,34 ± 0,16 +	4,80 ± 0,26 *
Protéines totales (g/l)	50,14 ± 0,18	50,86 ± 0,67	50,47 ± 0,25	50,26 ± 0,22
Créatinine (mmol/l)	7,78 ± 0,54	8,01 ± 0,45	7,55 ± 0,45	8,04 ± 0,50
Urée (mmol/l)	6,10 ± 0,17	6,02 ± 0,21	6,15 ± 0,14	5,96 ± 0,40
Acide urique (mmol/l)	4,94 ± 0,45	5,01 ± 0,27	7,11 ± 0,53 +	5,12 ± 0,21 *
CT (mmol/l)	1,85 ± 0,29	2,04 ± 0,27	2,84 ± 0,13 +	1,93 ± 0,12 *
TG (mmol/l)	1,12 ± 0,24	1,16 ± 0,17	1,96 ± 0,15 +	1,01 ± 0,25 *

Chaque valeur représente la moyenne ± Ecart type, n= 6. TS: rates témoins nourries au régime standard; TL: rates témoins nourries au régime standard enrichi en huile de lin; CS: rates obèses nourries au régime cafeteria; CL : rates obèses nourries au régime cafeteria enrichi en huile de lin. La comparaison des moyennes entre différents régimes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance:

* Comparaison entre TL et TS ou entre CL et CS (effet huile lin): * p < 0,05 ; ** p < 0,01.

+ Comparaison entre CS et TS ou entre CL et TL (effet cafeteria- obésité): + p < 0,05; ++ p < 0,01.

Tableau A3: Hémogramme des rates témoins et expérimentales.

Rates N= 6	TS	TL	CS	CL
Globules rouges (10⁶/ml)	6,22 ± 0,15	6,26 ± 0,16	8,13 ± 0,13 +	6,15 ± 0,12 *
Globules blancs (10³/ml)	4,49 ± 0,40	4,66 ± 0,31	6,89 ± 0,57 ++	4,28 ± 0,52 **
Hémoglobine (mg/dl)	12,03 ± 0,22	11,85 ± 0,27	14,65 ± 0,36 +	12,31 ± 0,35 *

Chaque valeur représente la moyenne ± Ecart type, n= 6. TS: rates témoins nourries au régime standard; TL: rates témoins nourries au régime standard enrichi en huile de lin; CS: rates obèses nourries au régime cafeteria; CL : rates obèses nourries au régime cafeteria enrichi en huile de lin. La comparaison des moyennes entre différents régimes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance:

* Comparaison entre TL et TS ou entre CL et CS (effet huile lin): * p < 0,05 ; ** p < 0,01.

+ Comparaison entre CS et TS ou entre CL et TL (effet cafeteria- obésité): + p < 0,05; ++ p < 0,01.

Tableau A4: Valeurs de la formule leucocytaire chez les rates témoins et expérimentales recevant différents régimes.

Rates N= 6	TS	TL	CS	CL
Lymphocytes / mm³	2525,75 ± 167	2666,12 ± 281	1632,24 ± 130 ++	2439,16 ± 222 **
polynucléaires / mm³	1884,25 ± 144	1714,43 ± 134	4553,76 ± 138 ++	2253,76 ± 128 +**
Monocytes / mm³	80,00 ± 17	79,33 ± 23	404 ± 48 ++	96 ± 25 **

Chaque valeur représente la moyenne ± Ecart type, n= 6. TS: rates témoins nourries au régime standard; TL: rates témoins nourries au régime standard enrichi en huile de lin; CS: rates obèses nourries au régime cafeteria; CL : rates obèses nourries au régime cafeteria enrichi en huile de lin. La comparaison des moyennes entre différents régimes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance:

* Comparaison entre TL et TS ou entre CL et CS (effet huile lin): * p < 0,05 ; ** p < 0,01.

+ Comparaison entre CS et TS ou entre CL et TL (effet cafeteria- obésité): + p < 0,05; ++ p < 0,01.

Tableau A5: Prolifération cellulaire T (10^5 cellules/puits) stimulée par la ConA en présence d'insuline et d'acides gras chez les rates témoins et expérimentales.

10^5 cellules / puits	TS	TL	CS	CL
Prolifération basale	$8,61 \pm 0,43^d$	$7,37 \pm 0,36^{*d}$	$8,36 \pm 0,46^d$	$7,19 \pm 0,31^{*d}$
ConA	$33,23 \pm 2,56^b$	$25,48 \pm 2,15^{*b}$	$23,14 \pm 1,26^{++b}$	$20,76 \pm 1,11^{*+b}$
ConA+ INS	$39,80 \pm 1,52^a$	$28,54 \pm 1,16^{**a}$	$25,30 \pm 1,46^{++a}$	$23,40 \pm 1,40^{*+a}$
ConA+ AG	$18,54 \pm 1,87^c$	$19,23 \pm 2,11^c$	$18,14 \pm 1,43^c$	$18,54 \pm 1,37^c$
ConA+ INS+ AG	$19,12 \pm 1,68^c$	$20,54 \pm 2,61^c$	$19,98 \pm 1,63^c$	$19,35 \pm 1,11^c$

Chaque valeur représente la moyenne \pm Ecart type, n= 6. TS: rates témoins nourries au régime standard; TL: rates témoins nourries au régime standard enrichi en huile de lin; CS: rates obèses nourries au régime cafeteria; CL : rates obèses nourries au régime cafeteria enrichi en huile de lin. Les splénocytes sont incubés en présence de concanavaleine A (ConA), insuline (INS) et d'un mélange d'acides gras (AG) (DHA/EPA/LA) à concentration (30/15/0,2 μ M).

La comparaison des moyennes entre différents régimes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance:

* Comparaison entre TL et TS ou entre CL et CS (effet huile lin): * p < 0,05 ; ** p < 0,01.

+ Comparaison entre CS et TS ou entre CL et TL (effet cafeteria- obésité): + p < 0,05; ++ p < 0,01.

Les multiples comparaisons (entre les différentes incubations) sont réalisées par le test ANOVA.

a, b, c, d indiquent les différences significatives obtenues entre les différentes incubations (p < 0,05) dans le même groupe.

Tableau A6: Teneurs en protéines cellulaires ($\mu\text{g/puits}$) des cellules T stimulées par la ConA en présence d'insuline et d'acides gras chez les rates témoins et expérimentales.

$\mu\text{g/puits}$	TS	TL	CS	CL
Prolifération basale	150,34 \pm 6,19 ^d	111 \pm 10,19 * ^d	140,11 \pm 5,06 ^d	108,23 \pm 8,43 * ^d
ConA	451,02 \pm 35,56 ^b	283,13 \pm 15,56 * ^b	259 \pm 14,62 ++ ^b	229,32 \pm 15 *+ ^b
ConA+ INS	521,12 \pm 45,36 ^a	360,12 \pm 15,36 * ^a	292,90 \pm 15,21 ++ ^a	253,32 \pm 18 *+ ^a
ConA+AG	202,44 \pm 36,56 ^c	224,04 \pm 26,56 ^c	198,54 \pm 25,35 ^c	187,32 \pm 17 ^c
ConA+ INS+ AG	222,94 \pm 37,56 ^c	230,04 \pm 30,56 ^c	212,54 \pm 20,18 ^c	200,12 \pm 21 ^c

Chaque valeur représente la moyenne \pm Ecart type, n= 6. TS: rates témoins nourries au régime standard; TL: rates témoins nourries au régime standard enrichi en huile de lin; CS: rates obèses nourries au régime cafeteria; CL : rates obèses nourries au régime cafeteria enrichi en huile de lin. Les splénocytes sont incubés en présence de concanavaline A (ConA), insuline (INS) et d'un mélange d'acides gras (AG) (DHA/EPA/LA) à concentration (30/15/0,2 μM).

La comparaison des moyennes entre différents régimes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance:

* Comparaison entre TL et TS ou entre CL et CS (effet huile lin): * p < 0,05 ; ** p < 0,01.

+ Comparaison entre CS et TS ou entre CL et TL (effet cafeteria- obésité): + p < 0,05; ++ p < 0,01.

Les multiples comparaisons (entre les différentes incubations) sont réalisées par le test ANOVA.

a, b, c, d indiquent les différences significatives obtenues entre les différentes incubations (p < 0,05) dans le même groupe.

Tableau A7: Teneurs en protéines carbonylées (nmol / 10⁶ cellules) des cellules T stimulées par la ConA en présence d'insuline et d'acides gras chez les rates témoins et expérimentales.

nmol / 10 ⁶ cellules	TS	TL	CS	CL
Prolifération basale	1,95 ± 0,26 ^c	2,02 ± 0,22 ^c	2,46 ± 0,17 ^{+c}	2,03 ± 0,11 ^{*c}
ConA	2,50 ± 0,21 ^b	2,56 ± 0,15 ^b	3,45 ± 0,26 ^{++b}	2,48 ± 0,23 ^{*b}
ConA+ INS	3,97 ± 0,25 ^a	3,87 ± 0,38 ^a	5,40 ± 0,21 ^{++a}	3,72 ± 0,14 ^{**a}
ConA+AG	3,75 ± 0,56 ^a	3,66 ± 0,26 ^a	5,18 ± 0,16 ^{++a}	3,68 ± 0,21 ^{**a}
ConA+ INS+ AG	3,81 ± 0,3 ^a	3,86 ± 0,18 ^a	5,38 ± 0,22 ^{++a}	3,62 ± 0,23 ^{**a}

Chaque valeur représente la moyenne ± Ecart type, n= 6. TS: rates témoins nourries au régime standard; TL: rates témoins nourries au régime standard enrichi en huile de lin; CS: rates obèses nourries au régime cafeteria; CL : rates obèses nourries au régime cafeteria enrichi en huile de lin. Les splénocytes sont incubés en présence de concanavoline A (ConA), insuline (INS) et d'un mélange d'acides gras (AG) (DHA/EPA/LA) à concentration (30/15/0,2µM).

La comparaison des moyennes entre différents régimes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance:

* Comparaison entre TL et TS ou entre CL et CS (effet huile lin): * p < 0,05 ; ** p < 0,01.

+ Comparaison entre CS et TS ou entre CL et TL (effet cafeteria- obésité): + p < 0,05; ++ p < 0,01.

Les multiples comparaisons (entre les différentes incubations) sont réalisées par le test ANOVA.

a, b, c, d indiquent les différences significatives obtenues entre les différentes incubations (p<0,05) dans le même groupe.

Tableau A8: Teneurs en malondialdéhyde (MDA) (nmol / 10⁶ cellules) des cellules T stimulées par la ConA en présence d'insuline et d'acides gras chez les rates témoins et expérimentales.

nmol / 10 ⁶ cellules	TS	TL	CS	CL
Prolifération basale	1,30 ± 0,19 ^d	1,93 ± 0,15 * ^c	2,86 ± 0,16 + ^d	2,02 ± 0,13 * ^d
ConA	3,11 ± 0,20 ^c	3,83 ± 0,18 * ^b	5,19 ± 0,22 + ^c	3,93 ± 0,11 * ^c
ConA+ INS	3,83 ± 0,18 ^b	4,37 ± 0,13 * ^a	6,30 ± 0,21 + ^b	4,23 ± 0,15 * ^b
CONA+AG	4,51 ± 0,22 ^a	4,52 ± 0,25 ^a	8,68 ± 0,18 ++ ^a	4,77 ± 0,24 ** ^a
CONA+INS+ AG	4,58 ± 0,13 ^a	4,60 ± 0,28 ^a	8,83 ± 0,17 ++ ^a	4,89 ± 0,26 ** ^a

Chaque valeur représente la moyenne ± Ecart type, n= 6. TS: rates témoins nourries au régime standard; TL: rates témoins nourries au régime standard enrichi en huile de lin; CS: rates obèses nourries au régime cafeteria; CL : rates obèses nourries au régime cafeteria enrichi en huile de lin. Les splénocytes sont incubés en présence de concanavaline A (ConA), insuline (INS) et d'un mélange d'acides gras (AG) (DHA/EPA/LA) à concentration (30/15/0,2µM).

La comparaison des moyennes entre différents régimes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance:

* Comparaison entre TL et TS ou entre CL et CS (effet huile lin): * p < 0,05 ; ** p < 0,01.

+ Comparaison entre CS et TS ou entre CL et TL (effet cafeteria- obésité): + p < 0,05; ++ p < 0,01.

Les multiples comparaisons (entre les différentes incubations) sont réalisées par le test ANOVA.

a, b, c, d indiquent les différences significatives obtenues entre les différentes incubations (p < 0,05) dans le même groupe.

Tableau A9: Activité de la catalase intracellulaire (U / ng de protéines) des cellules T stimulées par la ConA en présence d'insuline et d'acides gras chez les rates témoins et expérimentales.

U / ng de protéines	TS	TL	CS	CL
Prolifération basale	5,64 ± 0,29 ^b	7,58 ± 0,39 * ^b	3,46 ± 0,11 + ^b	7,37 ± 0,13 * ^b
ConA	17,05 ± 1,35 ^a	26,75 ± 1,58 * ^a	8,38 ± 1,26 ++ ^a	24,07 ± 2,11 ** ^a
ConA+ INS	17,12 ± 1,36 ^a	28,32 ± 1,36 * ^a	9,45 ± 0,81 ++ ^a	26,02 ± 2,31 ** ^a
ConA+AG	16,87 ± 1,56 ^a	27,31 ± 1,68 * ^a	10,58 ± 1,14 + ^a	25,33 ± 2,22 ** ^a
ConA+ INS+ AG	17,06 ± 1,34 ^a	28,58 ± 1,68 * ^a	10,33 ± 0,11 + ^a	25,55 ± 2,63 ** ^a

Chaque valeur représente la moyenne ± Ecart type, n= 6. TS: rates témoins nourries au régime standard; TL: rates témoins nourries au régime standard enrichi en huile de lin; CS: rates obèses nourries au régime cafeteria; CL : rates obèses nourries au régime cafeteria enrichi en huile de lin. Les splénocytes sont incubés en présence de concanavaleine A (ConA), insuline (INS) et d'un mélange d'acides gras (AG) (DHA/EPA/LA) à concentration (30/15/0,2µM).

La comparaison des moyennes entre différents régimes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance:

* Comparaison entre TL et TS ou entre CL et CS (effet huile lin): * p < 0,05 ; ** p < 0,01.

+ Comparaison entre CS et TS ou entre CL et TL (effet cafeteria- obésité): + p < 0,05; ++ p < 0,01.

Les multiples comparaisons (entre les différentes incubations) sont réalisées par le test ANOVA.

a, b, c, d, e indiquent les différences significatives obtenues entre les différentes incubations (p<0,05) dans le même groupe.

Résumé

Pour mieux comprendre l'effet bénéfique des acides gras polyinsaturés de la famille des n-3 de l'huile de lin sur l'obésité et le désordre immunitaire associé, un modèle animal est utilisé. Le but de ce travail est de déterminer les effets in vivo de la supplémentation d'un régime hyperlipidique (cafeteria) en l'huile de lin sur certains paramètres biochimiques et hématologiques chez les rats femelles Wistar et l'effet in vitro des acides gras polyinsaturés (AGPI n-6 et AGPI n-3) (DHA, EPA et LA) sur la prolifération des splénocytes T, et la variation de quelques marqueurs du statut oxydant/ antioxydant intracellulaire.

Les rates adultes reçoivent pendant un mois le régime témoin ou cafeteria enrichi ou non en l'huile de lin. A la fin de l'expérimentation le sang est récupéré pour déterminer les paramètres biochimiques et hématologiques. Les splénocytes T sont isolés à partir de la rate et sont incubés en présence d'un agent mitogène (la Concanavaline A), d'insuline et d'un mélange d'acide gras (DHA, EPA et LA) pendant 48 heures. A la fin du traitement, les cellules sont comptées et utilisées pour déterminer les paramètres du statut redox intracellulaire.

Les teneurs en triglycérides et cholestérol, sont significativement augmentées chez les rates sous régime cafeteria comparées aux rates sous régime cafeteria enrichi en l'huile de lin ou sous régime témoin.

Le nombre de globules rouges et de globules blanc (monocytes et polynucléaires) et taux d'hémoglobine sont augmentés de manière significative chez les rates sous régime cafeteria comparées aux rates sous régime cafeteria enrichi en l'huile de lin ou sous régime témoin.

Une diminution de la prolifération cellulaire, basale ou stimulée par l'agent mitogène (Con A) est observée chez les rates recevant le régime cafeteria par rapport aux autres lots de rates. Le mélange d'acides gras réduit la prolifération in vitro des cellules T aussi bien chez les rates nourries au régime hyperlipidique que chez les témoins. Les rates sous régime cafeteria présentent des taux élevés en protéines carbonylées et MDA et une diminution de l'activité de la catalase intracellulaire. Le stress oxydatif intracellulaire semble être corrigé par une supplémentation en huile de lin.

L'ensemble de nos résultats indique que les acides gras (AGPI n-6 et AGPI n-3) ont des effets bénéfiques et peuvent moduler l'activité des cellules T in vitro et améliorer le statut oxydant/ antioxydant intracellulaire chez les obèses.

Mots clés : régime hyperlipidique, rat Wistar, acides gras polyinsaturés, splénocytes T, DHA, EPA, LA, stress oxydatif.

Summary

To better understand the effect of polyunsaturated fatty acids n-3 from lin oil on obesity and the immune disorder, an animal model is used. The aim of this study is to determine in vivo the effects of a high fat diet (cafeteria) supplemented with lin oil on some biochemical and hematological parameters in Wistar female rats and to determine the in vitro effect of polyunsaturated fatty acids (PUFA n-6, PUFA n-3) (DHA, EPA and LA) on the proliferation of T splenocytes, and the variation of some markers of oxidant / antioxidant intracellular status.

The rats consumed for one month the control diet or cafeteria diet enriched or not with lin oil. At the end of the procedure, blood was collected to determine hematological and biochemical parameters. T splenocytes are isolated from the spleen. These cells were incubated in the presence of Con A, insulin and mixture of fatty acid (DHA, EPA and LA) for 48 hours. At the end of treatment, cells were counted and used to determine redox intracellular status.

The levels of triglycerides and cholesterol are significantly increased in cafeteria fed rats compared with cafeteria enriched lin oil fed rats and control rats.

The number of red blood cells and white blood cells (monocytes and polynuclears) and hemoglobin are significantly increased in cafeteria fed rats compared with the other groups.

A decrease in cell proliferation, basal or stimulated by the mitogen (Con A) was observed in cafeteria fed rats compared to other groups. The mixture of fatty acids reduced the proliferation of T cells both in control and obese rats. Cafeteria diet increases the levels of protein carbonyls and MDA and decreases the intracellular catalase activity of T cells. This oxidative stress appears to be regulated by lin oil supplementation.

Our results indicate that fatty acids (PUFA n-6 and n-3 PUFA) have beneficial effects and may modulate the activity of T cells in vitro and improve the intracellular oxidant / antioxidant status.

Keywords: fat diet, Wistar rats, polyunsaturated fatty acids, T splenocytes, DHA, EPA, LA, oxidative stress.

ملخص

من اجل فهم أفضل لتأثير الأحماض الدهنية المتعددة غير المشبعة ن-3 المحتوية في زيت بذور الكتان على السمنة واضطرابات المناعة ، تم استخدام نموذج حيواني. تهدف هذه الدراسة إلى تحديد آثار تدعيم النظام الغذائي ذو نسبة عالية من الدهون (كافيتريا) بزيت بذور الكتان على بعض العلامات البيوكيميائية والدموية في فئران ويستار وأنثى وتحديد مجرياً تأثير الأحماض الدهنية المتعددة غير المشبعة (ن-6 ، ن-3) على تكاثر الخلايا التائية T ، وعلى بعض علامات النظام المؤكسد داخل الخلية.

استهلك الفئران لمدة شهر النظام الغذائي العادي أو النظام الغذائي كافيتريا مخصين أو لا مع زيت بذور الكتان. في نهاية هذا الإجراء ، تم جمع الدم لتحديد قياسات الدم والكيمياء الحيوية. تم عزل الخلايا التائية T من الطحال. وقد حصدت هذه الخلايا في وجود العامل التكاثري (الكونكانافالين أ) ، الانسولين وخليط من الأحماض الدهنية (DHA, EPA, LA) لمدة 48 ساعة. في نهاية العلاج تحصى الخلايا وتستخدم لتحديد حالة الأكسدة داخلها. سجلت زيادة كبيرة في مستويات الشحوم الثلاثية والكوليسترول في الفئران التي تغذت على نظام كافيتريا مقارنة مع الفئران التي تغذت على نظام كافيتريا مخصب بزيت بذور الكتان والشواهد.

زيادة كبيرة في عدد الخلايا الدموية الحمراء والبيضاء وكذا نسبة الهيموغلوبين في الفئران التي تغذت على نظام كافيتريا بالمقارنة مع المجموعات الأخرى. لوحظ انخفاض في تكاثر الخلايا التائية T ، القاعدي أو الخففر بالكونكانافالين أ عند الفئران التي تغذت على نظام كافيتريا بالمقارنة مع المجموعات الأخرى. خفض مزيج الأحماض الدهنية غير المشبعة تكاثر الخلايا التائية عند الفئران السمنة والشواهد. رفع النظام الغذائي كافيتريا مستوى البروتينات المؤكسدة وكميات MDA ، وخفض نشاط الكاتالاز على مستوى الخلايا التائية T. يبدو أن إضافة زيت بذور الكتان عدلت على تنظيم الأكسدة الخلوية. نتائجه تشير إلى أن الأحماض الدهنية غير المشبعة (ن-6 ، ن-3) لها آثار مفيدة ويمكن أن تعدل من نشاط الخلايا T في المختبر وتحسين نظام المؤكسد الخلوي. الكلمات المفتاحية: نظام غذائي دهني، فئران ويستار، الأحماض الدهنية غير المشبعة، الخلايا T، DHA, EPA, LA، نظام المؤكسد.