

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

**Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen
Faculté des Sciences
Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire**

**THESE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE DOCTORAT
EN
BIOLOGIE MOLECULAIRE ET CELLULAIRE**

Présentée par

Mme BOUANANE SAMIRA

***EFFET D'UN REGIME CAFETERIA SUR LE
METABOLISME ET LE STATUT OXYDANT/ANTIOXYDANT
CHEZ LA RATE GESTANTE OBESE ET SA PROGENITURE***

Soutenue le -06 - 2009, devant la commission d'examen :

Président	M.A. KHELIL	Professeur	Université de Tlemcen
Examineur	M. NARCE	Professeur	Université de Bourgogne (Dijon)
Examineur	M. BENALI	Professeur	Université de Sidi Belabbes
Examineur	A. RIAZI	Professeur	Université de Mostaganem
Examineur	M. BELARBI	Professeur	Université de Tlemcen
Directeur de thèse	H. MERZOUK	Professeur	Université de Tlemcen

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

**Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen
Faculté des Sciences
Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire**

**THESE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE DOCTORAT
EN
BIOLOGIE MOLECULAIRE ET CELLULAIRE**

Présentée par

Mme BOUANANE SAMIRA

***EFFET D'UN REGIME CAFETERIA SUR LE
METABOLISME ET LE STATUT OXYDANT/ANTIOXYDANT
CHEZ LA RATE GESTANTE OBESE ET SA PROGENITURE***

Soutenue le _____ **, devant la commission d'examen :**

Président _____ **Professeur**

Examineur _____ **Professeur**

Examineur _____ **Professeur**

Examineur _____ **Professeur**

Examineur _____ **Professeur**

Directeur de thèse H. Merzouk _____ **Professeur Univ. Tlemcen (Algérie)**

DEDICACES

À la mémoire de ma mère

À mon mari Abdeshakim

À mes filles Linda et Katia

À mon fils Mohammed Amine

À mon père

À toute ma famille

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

Je dédie ce travail.

REMERCIEMENTS

En premier lieu, je remercie **Madame MERZOUK H**, professeur à l'Université de Tlemcen ma directrice de thèse, qui a guidé judicieusement ces recherches. Je garde en mémoire ses qualités d'encadrement et ses conseils bienveillants. Je tiens à lui exprimer ma profonde reconnaissance et gratitude. Je vous remercie pour m'avoir donné la chance de travailler avec vous sur un sujet aussi passionnant, d'être toujours présente et prête à aider vos étudiants, d'être rigoureuse et enthousiaste. Travailler sous votre direction était une très belle expérience. J'ai appris avec vous le goût de la recherche et l'ouverture d'esprit sur plusieurs domaines scientifiques.

J'exprime toute ma reconnaissance à **Monsieur KHELIL M.A**, professeur à l'Université de Tlemcen, de m'avoir fait l'honneur de présider le jury de cette thèse. Je le remercie également pour sa compréhension. Trouvez ici l'expression de mes sincères remerciements.

Je remercie également **Monsieur NARCE M**, professeur à l'Université de Bourgogne, Dijon, d'avoir accepté de juger ce travail et pour l'aide qu'il m'a apportée au niveau de la partie expérimentale et sa disponibilité. Qu'il trouve ici l'expression de mon entière reconnaissance et toute ma gratitude.

Je remercie également **Monsieur BENALI M**, professeur à l'Université de Sidi Belabbes, de l'intérêt qu'il a bien voulu porter à ce travail en acceptant de le juger et de faire partie du jury de thèse. Qu'il soit assuré de ma profonde gratitude.

Je remercie également **Monsieur RIAZI A**, professeur à l'Université de MOSTAGANEM, pour l'attention qu'il a bien voulu porter à ce travail en acceptant de le juger. Qu'il soit assuré de ma sincère reconnaissance.

Je tiens à remercier **Madame BELARBI M**, professeur à l'Université de Tlemcen, d'avoir accepté d'examiner ce travail. Qu'elle trouve ici, ma profonde reconnaissance et toute ma gratitude.

Je remercie également, **Monsieur MERZOUK SA**, Maître de conférence au Département de Physique, Faculté des Sciences, Université de Tlemcen, pour son aide dans l'étude statistique.

J'aimerais remercier toute l'équipe du laboratoire de l'INSERM UMR 866, « Lipids Nutrition Cancer », Université de Bourgogne, Dijon, pour leur accueil très chaleureux et leur aide ainsi que leur sympathie et gentillesse, particulièrement Mr GRESTI Joseph et Mr TESSIER Christian.

Enfin, je remercie tout ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

PUBLICATIONS

Ce travail a fait l'objet d'une publication internationale :

Publication Internationale dans clinical science (2009): Time course of changes in serum oxidant/antioxidant status in overfed obese rats and their offspring. *Clin. Sci.* 116: 669-680.

BOUANANE S, BENKALFAT NB, BABA AHMED FZ, MERZOUK H, SOULIMANE MOKHTARI N, MERZOUK S, GREYTI J, TESSIER CH, NARCE M

Publication Internationale dans pathologie biologie (2008): 2-hydroxy-methyl-1(N-phtaloyltryptophyl) aziridine stimule la prolifération in vitro des lymphocytes humains et la sécrétion des interleukines. *Pathologie Biologie* 56: 137-142.

BABA AHMED FZ, BOUANANE S, MERZOUK SA, MERZOUK H, MEDJAHED W, KAJIMA MULENGI J, PROST J

COMMUNICATIONS

***1^{ères} journées sur la protection de l'environnement, 28-29 Mai, Tlemcen, Algérie, 2003.**

Etude in vivo de l'amphotéricine B liée aux solvants organiques DMF et DMSO sur quelques paramètres sériques et urinaires chez les rats Wistar.

BOUANANE-TALEB BENDIAB S., CHABANE SARI D.

***Semaine Scientifique Pratique (SSP), 27 Mars au 1^{er} Avril, Tlemcen, Algérie, 2004.**

BOUANANE S., MERZOUK H., BABAAHMED FZ. Troubles du métabolisme lipidique.

***3^{ème} Forum sur la recherche en santé, 20 juin, Tlemcen, Algérie, 2004.**

Etude de l'effet de l'amphotéricine B désoxycholate (fungizone) liée aux solvants organiques DMF et DMSO sur la filtration glomérulaire et la taux du potassium urinaire chez les rats Wistar.

BOUANANE S., CHABANE SARI D.

***Forum S.N.V écologie et environnement, 17-18, Tlemcen, Algérie, 2005.**

Contribution à l'étude d'un isostère de peptide sur la prolifération lymphocytaire.

BOUANANE S., BABAAHMED FZ., MEDJAHED W., MERZOUK H., KAJIMA M. J.

Etude de l'activité des Aziridines sur la prolifération des lymphocytes.

BABA AHMED FZ., BOUANANE S., MEDJAHED W., MERZOUK H., KAJIMA M.J.

***IV^{èmes} Journées Scientifiques de l'ANDRS ,06-08 Septembre, Tlemcen,Algérie, 2005.**

Etude in vitro de l'effet d'un isostère de peptide sur la prolifération lymphocytaire.

BOUANANE S., BABAAHMED FZ., MERZOUK H., MEDJAHED W., KAJIMA M.J.

Effets in vitro des N-Acyl-2-Hydroxymethyl Aziridines sur la prolifération des lymphocytes stimulés par les agents mitogènes.

BABAAHMED FZ., BOUANANE S., MEDJAHED W., MERZOUK H., KAJIMA M. J.

***Forum Scientifique international écologie et environnement, 18-19 Avril, Tlemcen, Algérie, 2006.**

Détermination in vitro de l'effet d'une substance chimique à noyau aziridine sur la prolifération lymphocytaire.

BOUANANE S., BABAAHMED FZ., MEDJAHED W., MERZOUK H., KAJIMA M.J.

Contribution à l'étude in vitro des effets des Aziridines sur la prolifération lymphocytaire chez les femmes atteintes d'un cancer du sein.

BABAAHMED FZ., BOUANANE S., MEDJAHED W., MERZOUK H., KAJIMA M. J.

***5^{èmes} Journées Scientifiques de l'ANDRS, 9,10et 11 Avril, Annaba, Algérie, 2007.**

Facteurs prédictifs de l'obésité infantile dans la région de Tlemcen

SAKER M., MERZOUK S., LOUKIDI B., MERZOUK H., MOKHTARI-SOULIMANE N., BABAAHMED FZ., TALEB S., BERBER L. et SMAHI MC.

***Forum scientifique SNV environnement, nutrition et santé, 17-18 Avril, Tlemcen, Algérie, 2007.**

Modèles d'études expérimentaux de l'obésité infantile.

BOUANANE S., BABAAHMED FZ., BENKALFAT B.N., MERZOUK H.

Comportement alimentaire chez les enfants obèses.

BABAAHMED FZ., BOUANANE S., MERZOUK SA., MERZOUK H.

***Journée d'étude « protection des végétaux », 23 Mai, Tlemcen, Algérie, 2007.**

Fruits et légumes contre le stress oxydatif

MERZOUK H., BABAAHMED FZ., BOUANANE S., BENKALFAT BN.

***Bio Tech World 2007, 24-25 Mai 2007, Oran, Algérie.**

Effets des aziridines de synthèse sur la lymphoprolifération chez les personnes obèses.

BABAAHMED FZ., BOUANANE S., BENKALFAT BN., MERZOUK H., MEDJAHED W., KAJIMA MULENGI J.

*** Séminaire « Biologie et Santé » 15-16 Avril, Tlemcen, 2008**

Effet d'un régime hyperlipidique sur les paramètres du stress oxydatif chez les rats wistar.

BOUANANE S., BABA AHMED FZ., BENKALFAT NB., MERZOUK H.

Contribution à l'analyse de quelques paramètres sériques chez les rats obèses recevant un régime hyperlipidique.

BABA AHMED FZ., BOUANANE S., MERZOUK SA., MERZOUK H., BABA AHMED S.

Etude de quelques paramètres lipidiques (lipides totaux, cholestérol et triglycérides) de certains organes (foie, muscle et tissu adipeux) chez les rats wistar obèses.

BENKALFAT BN., BOUANANE S., MERZOUK H.

*** 2^{ème} Journée Sur la Protection de l'Environnement, 06-07 Mai, Tlemcen, 2008**

Etude de quelques paramètres sériques chez les enfants obèses de la région de Tlemcen

BOUANANE S., BABA AHMED FZ., BENKALFAT NB., MERZOUK H.

Contribution à l'analyse de quelques paramètres hématologiques des enfants obèses dans la wilaya de Tlemcen

BABA AHMED FZ., BOUANANE S., MERZOUK SA., MERZOUK H., BABA AHMED S.

*** Séminaire National sur l'alimentation et santé (SNAS), 13-14 Mai, Sidi Bel Abbes, 2008**

Modulation des lymphocytes grâce à l'effet immunosuppresseur des AGPI n-3 exogènes chez les diabétiques de type 1 et de type 2.

SAKER M., MOKHTARI N., BABA AHMED FZ., BOUANANE S., MERZOUK H.

*** Deuxième congrès international de nutrition de Tunisie, 17-18 octobre, Hammamet, 2008**

Effet d'un régime hyperlipidique (cafeteria) sur le métabolisme chez le rat.

MOKHTARI SOULIMANE N., BOUANANE S., BENKALFAT B., SAKER M., MERZOUK H., NARCE M.

*** Symposium Aliment Santé, SAS, 22-23 Janvier, Toulouse, France, 2009**

Apport et statut en vitamines antioxydantes chez des enfants obèses de la région de Tlemcen

BABA AHMED FZ., SOULIMANE N., MERZOUK H., SAKER M., MERZOUK SA., BOUANANE S., BABA AHMED S., NARCE M.

SOMMAIRE

AVANT PROPOS

INTRODUCTION 1

MATERIELS ET METHODES 31

I. Protocole expérimental.....	31
II. Bilan nutritionnel.....	32
II.1.Détermination du contenu en azote.....	32
II.2.Détermination des teneurs en urée.....	33
II.3.Détermination des teneurs en créatinine.....	33
II.3.Détermination des teneurs en lipides.....	33
III. Sacrifice et prélèvements de sang et d'organes.....	33
IV. Analyses biochimiques.....	35
IV.1. Détermination des teneurs en glucose.....	35
IV.2. Dosage de l'insuline.....	35
IV.3. Dosage de la leptine.....	36
IV.4.Détermination des paramètres lipidiques et protéiques au niveau du sérum, des lipoprotéines et des organes.....	36
IV.4.1. Séparation des lipoprotéines.....	36
IV.4.2. Détermination des teneurs en cholestérol et triglycérides.....	37
IV.4.3. Détermination des protéines totales.....	37
IV.4.4. Extraction des lipides du sérum et des organes et détermination de la composition en acides gras.....	37
V. Détermination du statut oxydant/antioxydant.....	39
V.1.Dosage des vitamines plasmatiques.....	39
V.1.1.Dosage des vitamines A et E.....	39
V.1.2.Dosage de la vitamine C.....	40
V.2.Détermination du pouvoir antioxydant total du plasma (ORAC).....	40
V.3. Détermination du taux des hydroperoxydes.....	41
V.4. Détermination des protéines carbonylées.....	42
V.5. Dosage du malondialdéhyde (MDA).....	42
V.6. Oxydation in vitro des lipoprotéines plasmatiques.....	43
V.7. Détermination de l'activité des enzymes antioxydantes des érythrocytes.....	44
V.7.1. Dosage de l'activité de la catalase (CAT ; EC 1.11.1.6).....	44
V.7.2. Dosage de l'activité de la superoxyde dismutase (SOD ; EC1.15.1.1).....	45
V.7.3. Dosage de l'activité de la glutathion peroxydase (GSH-Px ; EC 1.11.1.9).....	45
V.7.4. Dosage de l'activité de la glutathion réductase (GSSG-Red ; EC 1.6.4.2).....	46
VI. Analyse statistique.....	48

RESULTATS ET INTERPRETATIONS..... 49

Bilans nutritionnels

I. Poids corporel et bilans nutritionnels	49
I.1. Evolution du poids corporel, consommation alimentaire et apport énergétique.....	49
I.1.1. Chez les mères témoins et obèses	49
I.1.2. Chez les rats témoins et obèses (progéniture).....	49
I.2. Bilans nutritionnels	52
I.2.1. Poids corporel, consommation alimentaire et apport énergétique chez les rats nés de rates témoins ou obèses au cours des bilans nutritionnels	52
I.2.2. Azote ingéré et excrété.....	52
I.2.3. Coefficient d'utilisation digestive apparente de l'azote (CUD _N) et bilan azoté (BA)	55
I.2.4. Lipides ingérés et fécaux et coefficient d'utilisation digestive apparente des lipides (CUD _L)	57
I.2.5. Teneurs urinaires en urée et créatinine.....	57

Métabolisme du glucose, des lipides et des lipoprotéines

I. Teneurs sériques en glucose, insuline et leptine	60
I.1. Chez les mères témoins et obèses	60
I.2. Chez les rats témoins et obèses (progéniture)	60
II. Teneurs en lipides du sérum et des lipoprotéines	60
II.1. Chez les mères	60
II.2. Chez la progéniture	64
III. Poids et composition des organes.....	67
III.1. Poids des organes	67
III.1.1. Chez les rates (mères) témoins et obèses	67
III.1.2. Chez la progéniture	67
III.2. Teneurs en lipides totaux des organes.....	67
III.2.1. Chez les rates (mères).....	67
III.2.2. Chez la progéniture.....	70
III.3. Teneurs en protéines totales des organes.....	70
III.3.1. Chez les rates (mères).....	70
III.3.2. Chez la progéniture	70
IV. Evolution de la composition en acides gras des lipides sériques	72
IV.1. Chez les mères.....	72
IV.2. Chez la progéniture	72
V. Evolution de la composition en acides gras des lipides des organes	72
V.1. Chez les mères	72
V.2. Chez la progéniture	77

Statut oxydant/antioxydant

I. Pouvoir antioxydant total (ORAC).....	82
I.1. Chez les mères	82
I.2. Chez la progéniture.....	82
II. Teneurs plasmatiques en vitamines A, C et E.....	82
II.1. Chez les mères.....	82
II.2. Chez la progéniture.....	82

III. Marqueurs du statut oxydant.....	82
III.1. Chez les mères.....	82
III.2. Chez la progéniture.....	86
IV. Marqueurs de l'oxydation in vitro des lipoprotéines plasmatiques.....	86
IV.1. Chez les mères.....	86
IV.2. Chez la progéniture.....	86
V. Activités des enzymes érythrocytaires antioxydantes.....	86
V.1. Chez les mères.....	86
V.2. Chez la progéniture.....	90
VI. Marqueurs du statut oxydant/antioxydant du foie	90
VI.1. Chez les mères.....	90
VI.2. Chez la progéniture.....	94
VII. Marqueurs du statut oxydant/antioxydant du muscle.....	94
VII.1. Chez les mères.....	94
VII.2. Chez la progéniture.....	99
VIII. Marqueurs du statut oxydant/antioxydant du tissu adipeux.....	99
VIII.1. Chez les mères.....	99
VIII.2. Chez la progéniture.....	104
DISCUSSION.....	107
CONCLUSION.....	133
REFERENCES	
BIBLIOGRAPHIQUES.....	138
ANNEXES.....	156

ABREVIATIONS

- AG : acides gras
- AGMI : acides gras monoinsaturés
- AGPI : acides gras polyinsaturés
- AGS : acides gras saturés
- BA : bilan azoté
- CCM : chromatographie sur couche mince
- CT : cholestérol total
- CUD_L : coefficient d'utilisation apparente des lipides
- CUD_N : coefficient d'utilisation digestive apparente de l'azote
- EDTA : acide éthylènediamine-tétraacétique
- EOA : espèces oxygénées activées
- FAS : fatty acid synthase
- FIAF : fasting induced adipose factor
- GPX : glutathion peroxydase
- GRED : glutathion réductase
- HDL: High density lipoprotein (lipoprotéines de haute densité)
- HFARP: hepatic fibrinogen/angiopoietin-related protein
- HYDP: hydroperoxydes
- IGF: facteur de croissance
- LDL: Low density lipoprotein (lipoprotéines de basse densité)
- LPL: lipoprotéine lipase
- MCH: melanine concentrating hormone
- MDA: malondialdehyde
- ORAC: oxygen radical absorbance capacity
- ORC: obèses régime cafeteria
- ORS: obèses régime standard
- PBS: physiological buffer serum
- PCAR: protéines carbonylées
- PGAR: PPAR γ angiopoietin related
- PPAR γ : peroxisome proliferators activated receptors gamma
- RAR_S: récepteurs de l'acide rétinoïque

RXR: récepteur nucléaire de l'acide 9-cis rétinolique

SOD: superoxyde dismutase

TG: triglycérides

TNF α : tumor necrosis factor α

TRC: témoins régime cafeteria

TRS: témoins régime standard

VLDL: Very low density lipoprotein (lipoprotéines de très basse densité)

LISTE DES TABLEAUX

- Tableau I :** Composition en acides gras des lipides totaux sériques chez les rates mères témoins et obèses.....P73
- Tableau II :** Composition en acides gras des lipides totaux sériques chez les rats témoins et obèses (progéniture) à l'âge adulte (J90).....P74
- Tableau III :** Composition en acides gras des lipides hépatiques chez les rates mères témoins et obèses.....P75
- Tableau IV :** Composition en acides gras des lipides hépatiques chez les rats témoins et obèses (progéniture) à l'âge adulte (J90).....P76
- Tableau V :** Composition en acides gras des lipides du muscle chez les rates mères témoins et obèses.....P78
- Tableau VI :** Composition en acides gras des lipides du muscle chez les rats témoins et obèses (progéniture) à l'âge adulte (J90).....P79
- Tableau VII :** Composition en acides gras des lipides du tissu adipeux chez les rates mères témoins et obèses.....P80
- Tableau VIII :** Composition en acides gras des lipides du tissu adipeux chez les rats témoins et obèses (progéniture) à l'âge adulte (J90).....P81

LISTE DES TABLEAUX EN ANNEXE

- Tableau A1 :** Poids corporel et consommation alimentaire chez les mères témoins et obèses.....P156
- Tableau A2:** Poids corporel et consommation alimentaire chez les rats témoins et obèses (progéniture).....P157
- Tableau A3:** Poids corporel, nourriture ingérée et apport énergétique au cours des bilans nutritionnels chez les rats mâles témoins et obèsesP158
- Tableau A4:** Azote ingéré, urinaire, fécal et excrété au cours des bilans nutritionnels chez les rats mâles témoins et obèses.....P159
- Tableau A5:** Coefficient d'utilisation digestive apparente de l'azote (CUDN) et bilan azoté (BA) au cours des bilans nutritionnels chez les rats mâles témoins et obèses.....P160
- Tableau A6:** Lipides ingérés et fécaux et coefficient d'utilisation digestive apparente des lipides (CUDL) au cours des bilans nutritionnels chez les rats mâles témoins et obèses....P161
- Tableau A7:** Teneurs urinaires en urée et créatinine au cours des bilans nutritionnels chez les rats mâles témoins et obèses.....P162
- Tableau A8:** Teneurs sériques en glucose, insuline et leptine chez les rates mères témoins et obèses.....P163
- Tableau A9:** Teneurs sériques en glucose, insuline et leptine chez les rats témoins et obèses (progéniture).....P164
- Tableau A10:** Teneurs en lipides du sérum et des lipoprotéines chez les rates mères témoins et obèses.....P165
- Tableau A11:** Teneurs en cholestérol total du sérum et des lipoprotéines chez les rats témoins et obèses (progéniture).....P166

Tableau A12: Teneurs en triglycérides du sérum et des lipoprotéines chez les rats témoins et obèses (progéniture).....	P167
Tableau A13: Poids relatif des organes chez les rates mères témoins et obèses.....	P168
Tableau A14: Poids relatif des organes chez les rats témoins et obèses (progéniture).....	P169
Tableau A15: Teneurs en lipides totaux des organes chez les mères témoins et obèses...	P170
Tableau A16: Teneurs en lipides totaux des organes chez les rats témoins et obèses (progéniture).....	P171
Tableau A17: Teneurs en protéines totales des organes chez les rates témoins et obèses.	P172
Tableau A18: Teneurs en protéines totales chez les rats témoins et obèses (progéniture)..	P173
Tableau A19: Pouvoir antioxydant total (ORAC) et marqueurs du statut oxydant chez les rates mères témoins et obèses.....	P174
Tableau A20: Pouvoir antioxydant total (ORAC) et marqueurs du statut oxydant chez les rats témoins et obèses (progéniture).....	P175
Tableau A21: Teneurs plasmatiques en vitamines antioxydantes (A, C, E) chez les rates mères témoins et obèses.....	P176
Tableau A22: Teneurs plasmatiques en vitamines antioxydantes (A, C, E) chez les rats témoins et obèses (progéniture).....	P177
Tableau A23: Marqueurs de l'oxydation in vitro des lipoprotéines plasmatiques chez les rates mères témoins et obèses.....	P178
Tableau A24: Marqueurs de l'oxydation in vitro des lipoprotéines plasmatiques chez les rats témoins et obèses (progéniture).....	P179

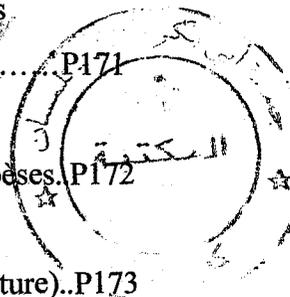


Tableau A25: Activités des enzymes érythrocytaires antioxydantes chez les rates mères témoins et obèses.....P180

Tableau A26: Activités des enzymes érythrocytaires antioxydantes chez les rats témoins et obèses (progéniture).....P181

Tableau A27: Marqueurs du statut oxydant/antioxydant du foie chez les rates mères témoins et obèses.....P182

Tableau A28: Marqueurs du statut oxydant/antioxydant du foie chez les rats témoins et obèses (progéniture).....P183

Tableau A29: Marqueurs du statut oxydant/antioxydant du muscle chez les rates mères témoins et obèses.....P184

Tableau A30: Marqueurs du statut oxydant/antioxydant du muscle chez les rats témoins et obèses (progéniture).....P185

Tableau A31: Marqueurs du statut oxydant/antioxydant du tissu adipeux chez les rates mères témoins et obèses.....P186

Tableau A32: Marqueurs du statut oxydant/antioxydant du tissu adipeux chez les rats témoins et obèses (progéniture).....P187

LISTE DES FIGURES

FIG 1 : Concept de l'hypothèse de Barker (programmation fœtale) (BARKER, 1998)...	P4
FIG 2 : Schéma récapitulatif sur les principales fonctions de la leptine (FAGGIONI et al., 2001).....	P6
FIG 3 : Relations Leptine-Insulinorésistance (AHIMA et al., 2000).....	P8
FIG 4 : Modèles d'obésité chez le rat et la souris.....	P9
FIG 5 : Rôle de l'adiponectine dans l'homéostasie glucidique, l'oxydation des acides gras libres (AGL) et les mécanismes anti-athérosclérotiques.....	P15
FIG 6 : L'effet de l'obésité sur le développement du tissu adipeux (FRUHBECK et al., 2001).....	P19
FIG 7 : Séquence des événements conduisant à l'obésité (Insulinorésistance = phénomène primitif) (VERGES, 2001).....	P20
FIG 8 : Séquence des événements conduisant à l'obésité (hyperinsulinisme = phénomène primitif) (VERGES, 2001).....	P21
FIG 9 : Facteurs liés à l'hypo et à l'hyperadiponectinémie (SCHERER, 2006).....	P23
FIG 10 : Principales sources cellulaires de radicaux libres (BONNEFONT-ROUSSELOT et al., 2003).....	P25
FIG 11 : Conséquences de l'effet des radicaux libres sur les différents organes de l'homme (MOREL et al., 1999).....	P27
FIG 12 : Hypothèse de la programmation métabolique de l'obésité	P30
FIG 13 : Evolution du poids corporel, de la nourriture ingérée et de l'apport énergétique chez les mères témoins et obèses.....	P50
FIG 14 : Evolution du poids corporel, de la nourriture ingérée et de l'apport énergétique chez les rats témoins et obèses (progéniture).....	P51
FIG 15 : Poids corporel, nourriture ingérée et apport énergétique au cours des bilans nutritionnels chez les rats mâles témoins et obèses.....	P53
FIG 16 : Azote ingéré, urinaire, fécal et excrété au cours des bilans nutritionnels chez les rats mâles témoins et obèses.....	P54
FIG 17 : Coefficient d'utilisation digestive apparente (CUD_N) et bilan azoté au cours des bilans nutritionnels chez les rats mâles témoins et obèses.....	P56
FIG 18 : Lipides ingérés et fécaux et coefficient d'utilisation digestive apparente des lipides (CUD_L) au cours des bilans nutritionnels chez les rats mâles témoins et obèses.....	P58

FIG 19 : Teneurs urinaires en urée et créatinine au cours des bilans nutritionnels chez les rats mâles témoins et obèses.....	P59
FIG 20: Teneurs sériques en glucose, insuline et leptine chez les mères témoins et obèses et chez leurs progénitures.....	P61
FIG 21: Teneurs en cholestérol du sérum et des lipoprotéines chez les rates mères témoins et obèses.....	P62
FIG 22: Teneurs en triglycérides du sérum et des lipoprotéines chez les rates mères témoins et obèses.....	P63
FIG 23: Teneurs en cholestérol total du sérum et des lipoprotéines chez les rats témoins et obèses (progéniture).....	P65
FIG 24: Teneurs en triglycérides du sérum et des lipoprotéines chez les rats témoins et obèses (progéniture).....	P66
FIG 25: Poids relatif des organes chez les mères témoins et obèses et chez leurs progénitures.....	P68
FIG 26: Teneurs en lipides totaux des organes chez les mères témoins et obèses et chez leurs progénitures.....	P69
FIG 27: Teneurs en protéines totales des organes chez les rates témoins et obèses et chez leurs progénitures.....	P71
FIG 28: Pouvoir antioxydant total (ORAC) chez les rates mères témoins et obèses et leurs progénitures.....	P83
FIG 29: Teneurs plasmatiques en vitamines antioxydantes (A, C, E) chez les rates mères témoins et obèses et leurs progénitures.....	P84
FIG 30: Marqueurs du stress oxydant chez les rates mères témoins et obèses et leurs progénitures.....	P85
FIG 31: Marqueurs de l'oxydation in vitro des lipoprotéines plasmatiques chez les rates mères témoins et obèses.....	P87
FIG 32: Marqueurs de l'oxydation des lipoprotéines plasmatiques chez les rats témoins et obèses (progéniture).....	P88
FIG 33: Activités des enzymes érythrocytaires antioxydantes chez les rates mères témoins et obèses.....	P89
FIG 34 : Activités des enzymes érythrocytaires antioxydantes chez les rats témoins et obèses (progéniture).....	P91
FIG 35: Marqueurs du statut oxydant du foie chez les rates mères témoins et obèses.....	P92

FIG 36: Marqueurs du statut oxydant du foie chez les rats témoins et obèses (progéniture).....	P93
FIG 37: Activités des enzymes antioxydantes hépatiques chez les rates mères témoins et obèses.....	P95
FIG 38 : Activités des enzymes antioxydantes hépatiques chez les rats témoins et obèses (progéniture).....	P96
FIG 39: Marqueurs du statut oxydant du muscle chez les rates mères témoins et obèses..	P97
FIG 40: Marqueurs du statut oxydant du muscle chez les rats témoins et obèses (progéniture).....	P98
FIG 41: Activités des enzymes antioxydantes du muscle chez les rates mères témoins et obèses.....	P100
FIG 42: Activités des enzymes antioxydantes du muscle chez les rats témoins et obèses (progéniture).....	P101
FIG 43: Marqueurs du statut oxydant du tissu adipeux chez les rates mères témoins et obèses.....	P102
FIG 44: Marqueurs du statut oxydant du tissu adipeux chez les rats témoins et obèses (progéniture).....	P103
FIG 45 : Activités des enzymes antioxydantes du tissu adipeux chez les rates mères témoins et obèses.....	P105
FIG 46 : Activités des enzymes antioxydantes du tissu adipeux chez les rats témoins et obèses (progéniture).....	P106

AVANT PROPOS

Tout phénotype est la résultante d'un étroit dialogue entre un génotype et l'environnement.

Un génotype peut-être aussi bien un avantage sélectif dans un espace temps, qu'extrêmement délétère dans des conditions différentes. La qualité de vie résulte donc d'une myriade d'interactions entre un génome individuel et un environnement précis. La nutrition tient une place toute particulière dans l'environnement : c'est tout à la fois une composante des plus importantes et la fraction de notre milieu que nous sommes probablement le mieux à même de maîtriser. Il est donc légitime de vouloir comprendre le lien entre l'alimentation et l'apparition de pathologies. Ceci, au-delà du simple désir de mieux comprendre le mode d'apparition et de développement de certaines pathologies de pléthore (diabète, obésité, athérosclérose, etc...), peut permettre d'être plus efficace dans la lutte contre ces affections, ou fournir les bases d'une véritable prévention nutritionnelle. Aussi, une stratégie d'actions de prévention doit viser de façon coordonnée les facteurs associés à ces pathologies et à ses conséquences sur l'état de santé. Dans ce contexte, certains nutriments peuvent fortement contribuer, en tant que molécules biologiquement actives à engendrer ou à l'inverse à prévenir les conséquences physiopathologiques de ces maladies. C'est pourquoi, notre équipe de Biochimie et Physiologie de la nutrition du laboratoire Valorisation des actions de l'homme pour la protection de l'environnement et application en santé publique (VAHPEASAP) au niveau de l'université de Tlemcen, Faculté des Sciences, s'est fixée l'objectif de comprendre quels peuvent être les effets de différents nutriments du régime alimentaire sur le diabète ou l'obésité. La complémentarité des approches et des modèles d'étude utilisés dans notre équipe permettra d'obtenir une vision intégrée du métabolisme suite à une approche physiologique intégrative.

Mon travail de recherche s'inscrit dans le cadre de projets nationaux et internationaux (ANDRS, CNEPRU, TASSILI) portant sur la détermination de la place de la nutrition dans une stratégie de prévention de l'obésité et des désordres associés. Mon sujet de thèse de doctorat est consacré à une partie intéressante de ces projets, concernant la programmation des troubles métaboliques associés à l'obésité. Cette notion est basée sur l'hypothèse que la nutrition de la mère au cours de la grossesse conditionne le milieu intra-utérin et modifie le métabolisme de sa progéniture pendant la vie fœtale, post-natale et jusqu'à l'âge adulte. De plus, la nutrition pendant les deux premières années de vie influence aussi l'apparition des maladies métaboliques de l'âge adulte. Ces éléments qui concernent la période postnatale s'associent à ceux de la période prénatale pour établir une "programmation métabolique précoce de la santé à l'âge adulte".

Mon travail de recherche est basé sur l'utilisation d'un modèle expérimental d'obésité nutritionnelle, le rat wistar soumis à un régime hyperlipidique et hypercalorique nommé le régime cafeteria. Ce régime est donné à la rate pendant la gestation et la lactation. Sa progéniture est par la suite suivie de la naissance jusqu'à l'âge adulte. Ce protocole expérimental permet de mieux comprendre l'impact de la suralimentation maternelle, la physiopathologie du développement de l'obésité, et une définition plus précise de ses effets sur le métabolisme et de ses conséquences à long terme. De plus, il est possible de bien caractériser les altérations métaboliques en étudiant non seulement les paramètres sanguins mais aussi les organes (foie, tissu adipeux, muscle), et de définir les périodes critiques de l'apparition de ces altérations métaboliques.

Ainsi, je souhaite que les résultats obtenus dans cette thèse de doctorat permettent aux médecins une meilleure analyse des anomalies métaboliques associées à l'obésité et des périodes critiques de leurs apparitions dans le but d'une intervention précoce et d'une amélioration du pronostic, voire même la réduction de sa prévalence.

INTRODUCTION

Introduction

L'obésité pose aujourd'hui un véritable problème de santé publique. De plus en plus de preuves scientifiques suggèrent que la fréquence de l'obésité augmente dramatiquement dans le monde et que ce problème semble aussi bien s'accroître rapidement chez les enfants que chez les adultes (WHO, 2000 ; LECLERF, 2005). Cette tendance est observée dans la plupart des pays industrialisés et s'étend désormais aussi aux pays en voie de développement (WHO, 2006). Aux Etats-Unis, la prévalence de l'obésité infantile est de 25% alors qu'en Europe, elle varie entre 19 et 14% marquant ainsi son évolution dans les sociétés de consommation (FLEGAL et al., 2001 ; LOBSTEIN et al., 2003). Au niveau mondial, l'OMS a estimé que près de 18 millions d'enfants de moins de 5 ans étaient en surpoids (WHO, 2006). Qualifiée de véritable épidémie, l'obésité infantile touche aussi bien les filles que les garçons (LECLERF, 2005). L'augmentation de l'obésité serait probablement en rapport avec les changements de mode de vie liés à une sédentarité accrue et à des facteurs nutritionnels susceptibles de jouer un rôle dès la première enfance (MARTINEZ, 2000 ; TOUNIAN, 2004 ; KNERR et al., 2005).

Qu'en est-il dans un pays en développement comme l'Algérie qui n'a pas atteint son autosuffisance alimentaire et qui est toujours confronté à la sous alimentation de certaines de ses couches sociales? L'Algérie, comme les autres pays du Maghreb, n'est pas épargnée par ce fléau des temps modernes (KEMALI, 2003). Une étude de l'indice de masse corporelle (IMC) montre que 15% de la population Algérienne présente une obésité (KEMALI, 2003). L'obésité représente dans ce cas l'un des phénomènes générés par les changements socio-économiques en Algérie de nos jours, l'évolution de notre environnement et de notre mode de vie. Mais il faut souligner que l'obésité est sous l'influence d'énormément de facteurs incluant l'hérédité, les facteurs environnementaux et comportementaux.

Selon les statistiques de l'organisation mondiale de la santé (OMS), l'obésité représente 3 à 8% des dépenses de la santé dans le monde (WHO, 2006). En effet, les conséquences sanitaires de l'obésité sont multiples pouvant être somatiques ou psychologiques avec augmentation de la mortalité précoce (WADDEN et al., 1985 ; LEAN, 2000 ; TOUNIAN et al., 2001 ; REILLY et al., 2005). (L'obésité constitue un facteur de risque pour le développement de plusieurs maladies chroniques telles que les maladies cardiovasculaires, et respiratoires, le diabète de type II, l'hypertension et certaines formes de cancer, altérant profondément la qualité de vie (SPAHN et al., 1982 ; VALLE et al., 2000 ; FREEDMAN et al., 2001 ; TOUNIAN et al., 2001 ; TOUNIAN, 2002 ; VINER et al., 2005).) Cette pathologie est aussi caractérisée par une augmentation de l'activité des radicaux libres et une réduction

des défenses antioxydantes, marquant ainsi un stress oxydatif évident (SHIMABUKURO et al., 1999 ; MORROW, 2003 ; FURUKAWA et al., 2004).

Les enfants obèses deviendront dans la majorité des cas des adultes obèses, qui auront toutes les chances de développer les maladies chroniques et de voir leur espérance de vie réduite (TOUNIAN et al., 2001 ; BORYS, 2005 ; IMPERATORE, 2006). Il faut préciser que l'obésité, chez l'enfant est associée à des troubles orthopédiques, métaboliques et endocriniens qui s'aggravent avec l'âge de l'enfant (KANNEL, 1984 ; VALLE et al., 2000 ; AGGOUN et al., 2002).

Toutes ces complications justifient d'une prévention et d'un dépistage précoce. La surcharge adipeuse est souvent cliniquement asymptomatique chez l'enfant et ne suscite donc pas de prise en charge. Pourtant, elle peut être préjudiciable à court terme (même si les conséquences aiguës sont rares), à moyen et long terme, les conséquences médicales de l'obésité chez l'enfant apparaissant plusieurs années plus tard.

Comprendre les mécanismes à la base des anomalies associées au développement de l'obésité représente donc un enjeu majeur de santé publique et peuvent constituer des pistes de prévention. Le risque à long terme de pathologies associées ne peut être évalué qu'au moyen d'études épidémiologiques reliant le degré d'obésité dans l'enfance et la survenue de pathologies et de décès pendant une période d'observation prolongée. Ces études sont longues et très difficiles chez l'homme en raison de la durée des différentes étapes de la vie et des multiples facteurs environnementaux.

L'augmentation de l'apport énergétique est un déterminant important dans la genèse de l'obésité. Cette pathologie est due à un déséquilibre chronique entre apports et dépenses énergétiques lié lui-même à des facteurs de l'environnement (abondance d'aliments gras et sucrés, de produits alimentaires industriels) et comportementaux (absence d'activité physique, « grignotage »...) qui progressivement entraînent des modifications métaboliques et cellulaires difficilement réversibles.

Dans les pays à revenus moyens ou faibles, les glissements observables vers des profils alimentaires occidentalisés et des styles de vie sédentaires, caractéristiques de la transition nutritionnelle, représentent un facteur important. Cette transition nutritionnelle est accélérée par la mondialisation, l'industrialisation et l'urbanisation. Des pratiques alimentaires «obésogènes » qui sont typiques des pays industrialisés, telles qu'une utilisation fréquente des aliments de restauration rapide et le grignotage d'aliments et boissons riches en énergie mais de faible densité nutritionnelle se répandent maintenant rapidement avec un marketing et des profils de consommation mondialisés, notamment chez les enfants et les adolescents.

L'impact de la transition nutritionnelle sur le risque d'obésité ou d'autres maladies chroniques pourrait même être plus marqué dans les populations à forts taux de malnutrition maternelle et infantile, selon la théorie de l'origine précoce des maladies chroniques. Il a été montré, par exemple, que des enfants, présentant un retard de croissance d'origine nutritionnelle, étaient plus prédisposés à l'obésité. Il a aussi été démontré qu'un gain de poids rapide pendant l'enfance est associé à une prévalence à l'obésité plus tard au cours de la vie. Il est maintenant largement admis que les individus atteints du syndrome métabolique peuvent avoir souffert d'une « programmation épigénétique » incorrecte au début de leur développement liée à une insuffisance placentaire ou à une nutrition maternelle inadéquate (JUNIEN et al., 2005). En effet, le phénotype de chaque individu, sa « vulnérabilité » face à la sur ou sous-nutrition, et sa capacité à réagir à un moment donné, ne sont qu'en partie seulement conditionnés par son héritage génétique. A cette part, purement génétique, vient s'ajouter une mal programmation épigénétique au cours du développement de l'enfant, due en partie à de potentiels effets délétères de l'environnement intra-utérin : obésité, diabète, ou stress et nutrition déséquilibrée de la mère représentent autant de facteurs d'influence. De même, après la naissance, l'allaitement ou des apports protéiques trop importants moduleront l'expression des gènes du nourrisson. Puis, au cours de la vie, l'environnement se comportera comme l'indispensable « révélateur » de cette « vulnérabilité » à la fois innée et acquise (précocement). Parmi les éléments pouvant entraîner une mal programmation épigénétique et être à l'origine d'une vulnérabilité à l'obésité à l'âge adulte, l'exposition pendant la période gestationnelle et l'allaitement à un excès de nutriments et l'obésité maternelle représentent des facteurs très importants. Ces altérations épigénétiques peuvent conduire à des changements permanents dans la structure et la fonction des organes et des tissus et être à l'origine des complications associées à l'obésité. Le concept que la nutrition foetale influence le risque d'apparition de certaines maladies à l'âge adulte est souvent appelé hypothèse de Barker (figure 1). Le fœtus soumis à une malnutrition ou à une suralimentation serait « reprogrammé » vers un phénotype responsable d'un risque accru de maladies métaboliques à l'âge adulte en cas d'exposition postnatale à des apports alimentaires excessifs ou simplement normaux.

Du fait de l'importance et de l'augmentation de la proportion de femmes en surpoids ou obèses pendant la grossesse (GALTIER et al., 2003), il devient urgent de s'intéresser aux nouveau-nés de ces femmes. De plus, améliorer l'environnement auquel le fœtus est exposé au cours de son développement devient aussi important que tout autre effort de santé publique visant à l'amélioration de la santé en général.

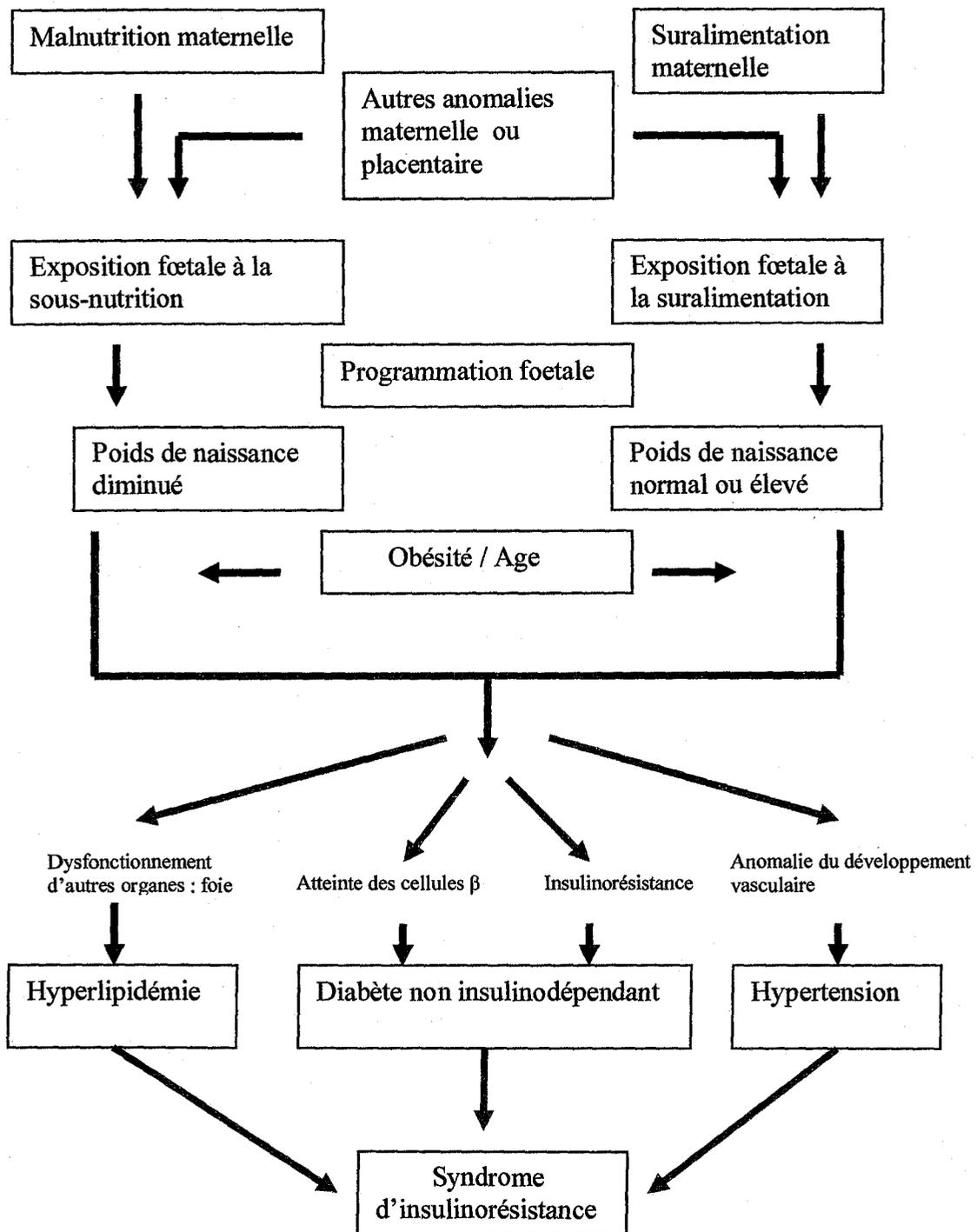


Figure 1: Concept de l'hypothèse de Barker (programmation fœtale) (BARKER, 1998)

Il devient maintenant évident que des événements intervenant au niveau foetal, placentaire ou chez la mère pendant la grossesse influencent le développement de l'obésité et de ses complications à l'âge adulte (CATALANO, 2003). Les premières indications en faveur d'événements précoces ont été apportées par les études épidémiologiques montrant que le statut nutritionnel de la mère influence la croissance foetale et la prédisposition à développer un syndrome métabolique à l'âge adulte (BARKER et al., 1993 ; JUNIEN et al., 2005). Les mécanismes cellulaires et moléculaires, impliqués, qui mettent en jeu des signaux épigénétiques, commencent à être décryptés (JUNIEN et al., 2005).

La surcharge pondérale pendant la grossesse est une situation fréquente, dont l'impact médical et économique est important. Le surpoids ou l'obésité maternels pendant la grossesse favorise la survenue de complications métaboliques, vasculaires et périnatales. Les perturbations métaboliques associées à l'obésité maternelle modifient profondément l'environnement intra-utérin, favorisant la croissance pondérale excessive du fœtus (CATALANO, 2003)

Par ailleurs, la nutrition en cours de grossesse influence également la croissance et le bien-être foetaux. Mais si la surmorbidity maternelle et foetale sont bien démontrées à court terme, les conséquences à plus long terme (notamment les troubles métaboliques ultérieurs chez l'enfant) restent mal connues.

Il a été démontré, que dans la majorité des cas, les nouveau-nés de mères obèses sont obèses à la naissance (MERZOUK et al., 2000 ; EHRENBURG et al., 2004). La quantité de tissu adipeux foetal peut augmenter dans des proportions importantes, ce qui caractérise un « état d'obésité » chez le nouveau-né (CATALANO et al., 2003). Comme chez l'adulte, le tissu adipeux du fœtus est capable de sécréter de la leptine en relation avec l'importance de la masse adipeuse. La leptine est une petite protéine de type cytokine qui permet le maintien de l'homéostasie énergétique en exerçant un contrôle négatif sur la prise alimentaire via les centres hypothalamiques (AHIMA et al., 2000). La résultante de son action est l'activation des voies neuropeptidergiques anorexigènes, doublée d'une inhibition des voies orexigènes. Outre cet effet central, la leptine influence diverses grandes fonctions telles que le métabolisme glucidolipidique, l'angiogenèse, l'hématopoïèse, la réponse immunitaire et la croissance de certains tissus (figure 2). Ses concentrations circulantes sont augmentées chez l'obèse en relation avec l'importance de la masse grasse (BRAVO et al., 2006). Cette augmentation de leptinémie ne s'accompagne pas de l'effet biologique attendu, à savoir une baisse des ingestats, ce qui est révélateur d'un état de résistance à la leptine. Via ses effets proangiogéniques, la leptine pourrait participer aux processus de vascularisation placentaire et favoriser ainsi la croissance pondérale du fœtus (SIERRA-HONIGMANN et al., 1998).

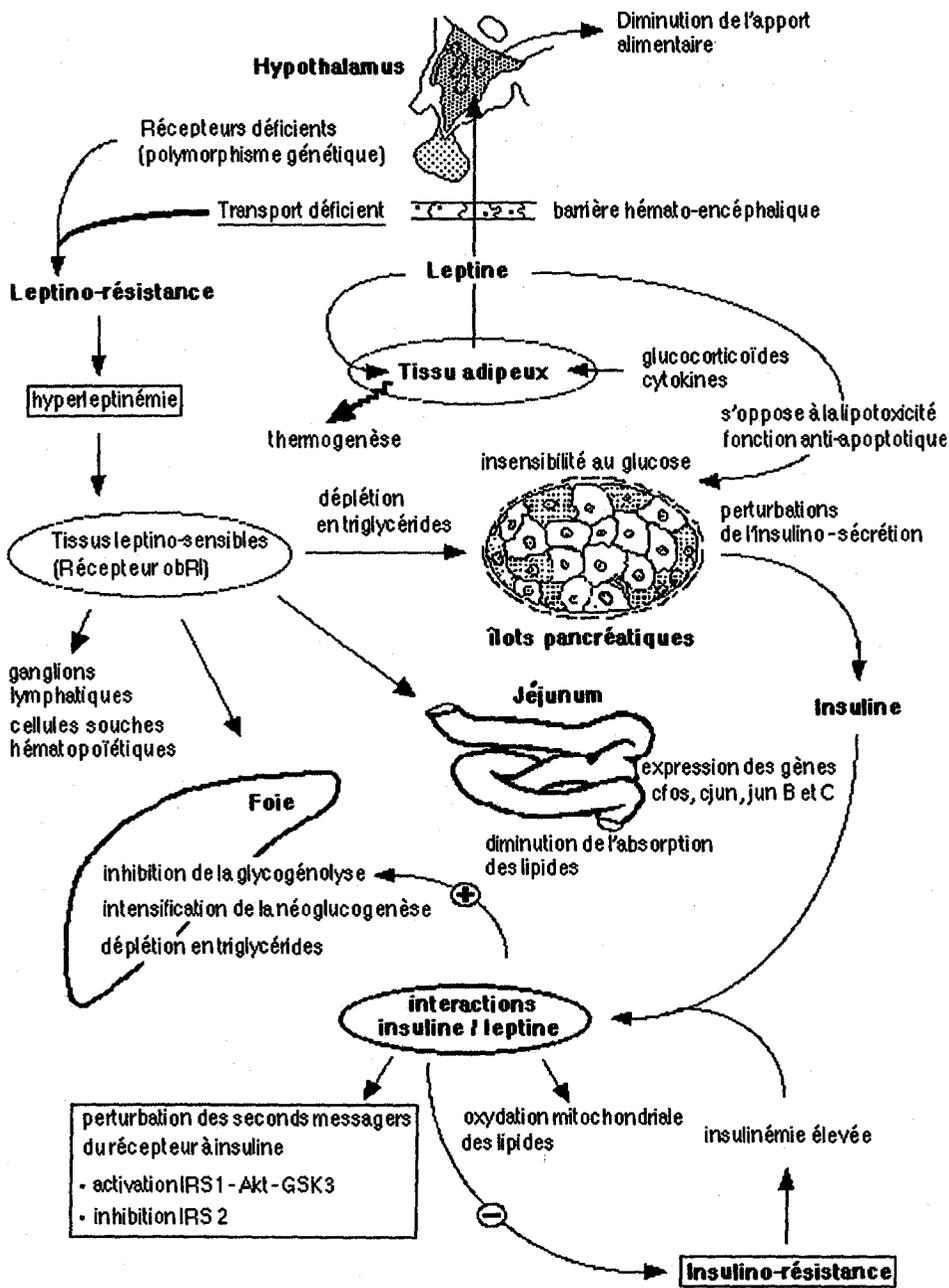


Figure 2: Interactions entre la leptine et l'insuline (AHIMA et al., 2000)

Ainsi, dans les grossesses avec obésité maternelle, la concentration de leptine ombilicale est augmentée proportionnellement au pourcentage de masse grasse chez le nouveau-né (HAUGUEL-DE MOUZON et al., 2001).

En plus de l'excès de tissu adipeux, ces nouveau-nés présentent une hypertrophie et une hyperplasie de la plupart des organes. La croissance fœtale accélérée est le résultat de l'effet combiné d'un hyperinsulinisme fœtal et d'un apport important de nutriments provenant de la mère. A long terme, la fréquence de survenue de l'obésité est accrue chez ces nouveau-nés de mères obèses. En effet, ces nouveau-nés sont plus prédisposés à l'obésité durant l'adolescence et à l'âge adulte, avec apparition d'un hyperinsulinisme et d'une insulino-résistance très précoces (figure 3).

Pour essayer d'y voir plus clair et d'étudier l'impact possible de modifications de la nutrition maternelle sur la santé de sa progéniture, ainsi qu'étudier l'étiologie de l'obésité en raison de la gravité de ses nombreuses répercussions métaboliques et dégénératives, plusieurs modèles animaux ont été utilisés. Ces expérimentations ont permis de raccourcir les étapes de la vie et d'étudier les relations entre l'alimentation et le métabolisme maternels, le métabolisme fœtal, la croissance fœtale et post-natale et le développement de l'obésité à l'âge adulte. L'utilisation de modèles expérimentaux représente autant de voies d'accès dans la compréhension de la genèse et des complications de cette pathologie.

Durant ces dernières années, les études entreprises visant à la mise au point de modèles adéquats d'obésité chez l'animal ont abouti à différents types de modèles obtenus essentiellement chez le rat (figure 4). Dans ce contexte, une étude récente montre qu'il est possible d'utiliser des indicateurs anthropologiques pour évaluer l'obésité chez le rat, notamment l'indice de masse corporelle (IMC ou BMI, Poids/Taille², g/cm²) ou la circonférence abdominale (NOVELLI et al., 2007). Cette étude montre qu'en présence d'obésité chez le rat, le BMI est corrélé positivement à la présence d'une dyslipidémie et au stress oxydatif.

Les modèles animaux d'obésité génétique peuvent fournir des indications précieuses sur la nature des gènes susceptibles de déterminer l'obésité chez l'homme. Le clonage du gène ob a révélé l'existence de la leptine, sécrétée par la cellule adipeuse (ZHANG et al., 1995). C'est l'absence de leptine fonctionnelle qui détermine l'obésité de la souris ob/ob, modèle d'obésité caractérisé par une hyperphagie, une dépense énergétique réduite et un excès de tissu adipeux (MAFFEI et al., 1995, GUERRE-MILLO et al., 1996). On sait que la leptine provoque une réduction d'appétit et une augmentation de dépense énergétique.

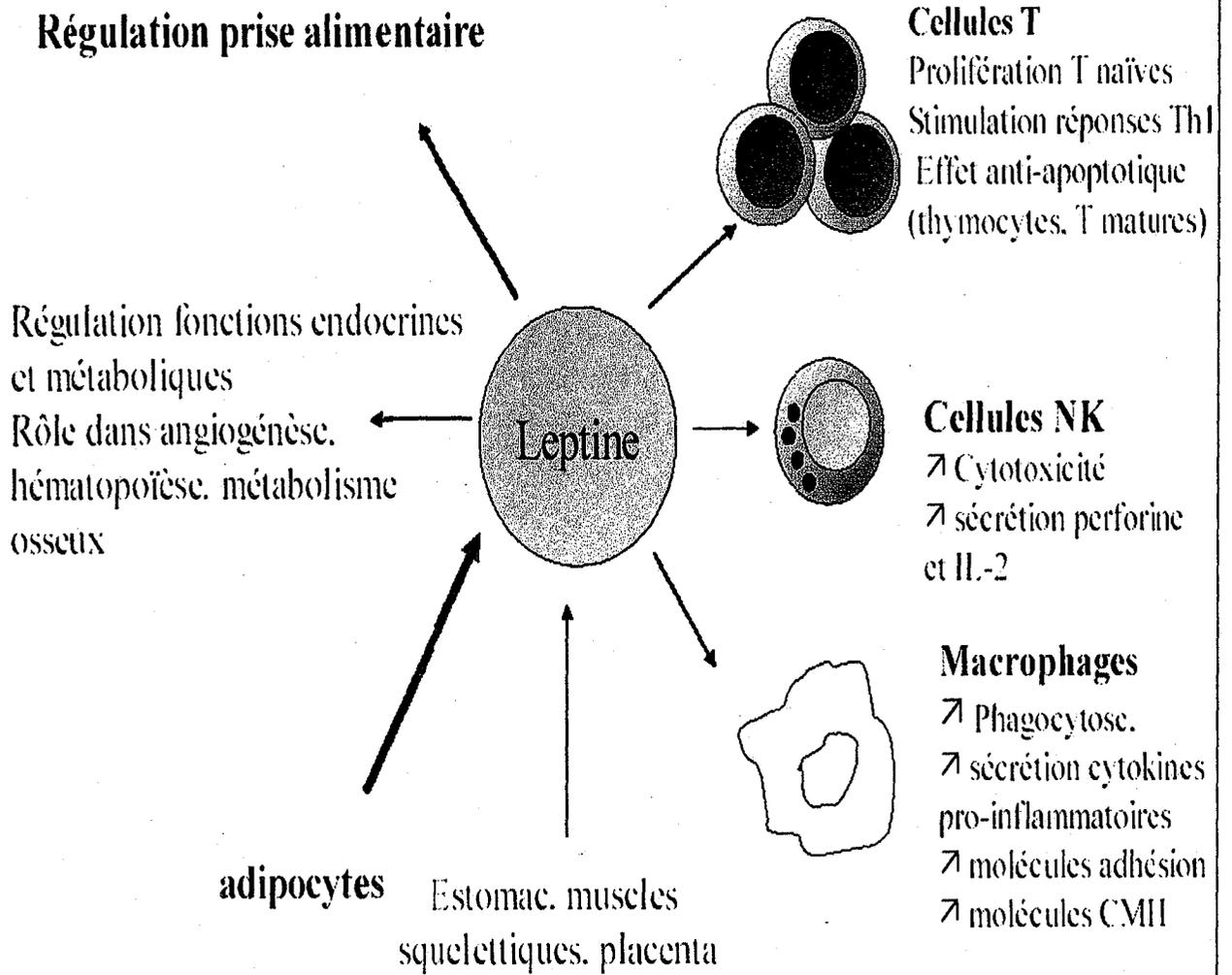


Figure 3: Les principales fonctions de la leptine (FAZZIONI et al.,2001)

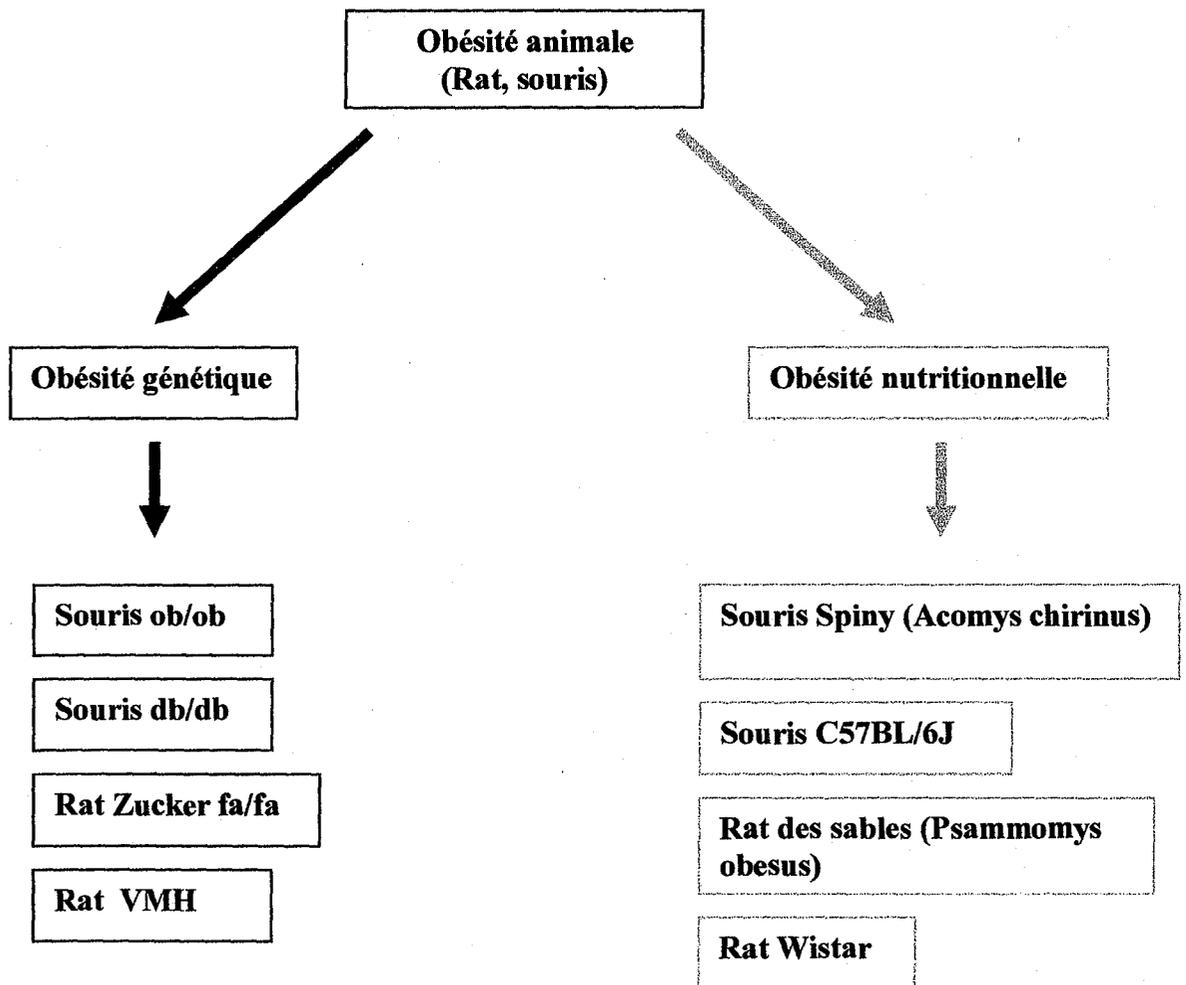


Figure 4: Modèles d'obésité chez le rat et la souris

Le maintien d'un poids corporel constant chez l'individu normal suppose une régulation fine de la synthèse et de la sécrétion de leptine. Chez la souris ob/ob, une mutation du gène ob aboutit à l'absence de protéine leptine fonctionnelle. Chez ces animaux, l'ARNm muté est surexprimé, atteignant des niveaux d'expression vingt fois supérieurs à ceux des témoins (MAFFEI et al., 1995). Chez les souris db/db (le gène db code pour le récepteur hypothalamique de la leptine), un autre modèle d'obésité caractérisé par une accumulation de tissu adipeux et une hyperleptinémie non fonctionnelle, le récepteur de la leptine est muté bloquant ainsi l'action de la leptine (MAFFEI et al., 1995). Il est intéressant de noter qu'une synthèse exagérée de l'ARNm de ob est également présente dans deux modèles d'obésité chez le rat : le rat Zucker fa/fa, porteur d'une mutation du récepteur de la leptine, et le rat «VMH», lésé au niveau de l'hypothalamus au niveau du site potentiel d'expression du gène ob (OGAWA et al., 1995 ; UNGER, 2003). Ces deux modèles sont caractérisés par un excès de tissu adipeux et une accumulation de lipides dans le muscle et le foie. Chez le rat Zucker fa/fa, il a été démontré que l'hyperplasie du tissu adipeux avec accumulation excessive de triglycérides commence très précocement de la naissance jusqu'au sevrage. Après le sevrage, et vers la puberté (rats âgés de 55 jours), une hyperplasie des cellules adipeuses est observée alors que chez les rats Zucker non obèses elle est observée pendant la période d'allaitement soit avant le sevrage (POUTEAU et al., 2008).

(Les modèles animaux d'obésité induite par le régime alimentaire ont permis de mettre en évidence le rôle de la consommation hypercalorique et/ou hyperlipidique. La souris Spiny (*Acomys chirinus*) vit dans les régions désertiques et semi désertiques autour du bassin méditerranéen. Un régime de laboratoire riche en lipides induit une obésité, une intolérance au glucose, une hyperinsulinémie, une augmentation du glucagon plasmatique avec une hyperglycémie mais sans changement dans le contenu pancréatique en insuline (WEST et al., 1995). La souris C57BL/6J soumise à un régime hyperlipidique, devient obèse avec excès de tissu adipeux et présente une insulino-résistance (RAUSCH et al., 2008).

Le rat des sables (*Psammomys obesus*), dans son milieu naturel, se nourrit de plantes salées pauvres en calories, alors que soumis à un régime standard de laboratoire, 40% des animaux deviennent obèses et développent un diabète non insulino-dépendant à partir du 3^{ème} mois. Les 60% restants ne présentent pas de diabète mais restent obèses avec des taux élevés d'insuline plasmatique. Le rat des sables répond à l'augmentation alimentaire provoquant une surcharge calorique par un accroissement du poids corporel dû à une augmentation de la taille des adipocytes ou cellules graisseuses, une hyperinsulinémie et une intolérance au glucose à différents degrés (BENNANI-KABCHI et al., 2000). Chez le rat Wistar, un régime

hyperlipidique pendant deux mois induit une augmentation de la prise alimentaire, du poids corporel, une accumulation des lipides dans le tissu adipeux, une élévation des concentrations sériques en glucose, insuline, leptine, et des taux hépatiques en malondialdéhyde (MDA) marqueur de la peroxydation lipidique et du stress oxydatif (MILAGRO et al., 2006).

(Il a été démontré qu'un régime hyperlipidique induit une obésité même en l'absence d'un excès calorique, indiquant une importante efficacité métabolique des régimes hyper gras (OSCAI et al., 1984 ; PELLIZZON et al., 2002) . Sur ce point, les données expérimentales et épidémiologiques suggèrent qu'une alimentation riche en graisses favorise le développement de l'obésité et qu'il existe une corrélation directe entre la ration lipidique et le degré d'obésité (AILHAUD, 2008). Les études menées chez l'animal et chez 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). Chez les témoins non obèses, la balance calorique est étroitement corrélée à la balance lipidique, alors qu'elle ne l'est pas aux balances glucidique et protéique. La corrélation positive entre ration et oxydation lipidiques telle qu'elle est observée chez le témoin non obèse ne semble pas exister chez le patient ou l'animal obèse. (Les chercheurs ont, depuis de nombreuses années, établi un lien entre les lipides alimentaires et la formation d'adipocytes, donc de la masse grasseuse. Les acides gras naturels se comportent comme de véritables hormones actives sur les pré adipocytes (MAC DOUGALD et al., 1995). Tous les acides gras n'ont pas la même puissance pour stimuler le développement du tissu adipeux. Les acides gras saturés induisent une prise de poids plus importante que celle obtenue avec les acides gras monoinsaturés et polyinsaturés, associée à une résistance à l'insuline (HILL et al., 1992 ; PELLIZZON et al., 2002) . Les acides gras polyinsaturés de la famille n-3 provoquent une réduction pondérale, améliorent la sensibilité à l'insuline et ont un effet protecteur contre l'obésité (JEN et al., 1989 ; SOMOVA et al., 1999 ; PELLIZZON et al., 2002) .)

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-SYLVESTRE, 1984). Ce modèle est proche au développement de l'obésité nutritionnelle chez l'homme suite à la surconsommation

volontaire de ces aliments savoureux. (Les rats nourris au régime cafeteria excrètent moins d'azote que les rats nourris au régime standard, ce qui entraîne un bilan azoté plus élevé et une bonne efficacité nutritionnelle (BARBER et al., 1985)) La diminution de l'excrétion d'azote est liée à celle de l'azote urinaire chez ces rats. (La réduction des pertes urinaires d'azote a été expliquée par une diminution de la dégradation des protéines, donc une diminution de la synthèse d'urée) accompagnée d'une faible captation des acides aminés par le foie et une réduction des activités des enzymes hépatiques intervenant dans le cycle de l'urée notamment la carbamoyl phosphatase et l'arginino- succinate synthétase (BARBER et al., 1985). De plus, LLADO et al. (1995) ont montré une augmentation de la captation des acides aminés par les tissus autres que le foie d'où synthèse des protéines tissulaires plus importante. MA et al. (1989) montrent que les rats soumis au régime cafeteria présentent une augmentation du métabolisme basal et de la thermogénèse avec modifications structurales au niveau du tissu adipeux brun (élévation du nombre de mitochondries, de la masse protéique). La dépense énergétique est l'un des facteurs importants dans le maintien du poids corporel, et la thermogénèse adaptative est une façon efficace de dépenser de l'énergie. Elle consiste en la production de chaleur, en réponse à des facteurs environnementaux, tels que le régime alimentaire en abondance ou la température ambiante. Elle représente une protection efficace qui permet également de brûler d'éventuelles calories excédentaires. Dans ce contexte, le tissu adipeux brun, dont les adipocytes particulièrement riches en mitochondries sont distincts des adipocytes blancs sur le plan morphologique et fonctionnel, joue un rôle essentiel (MICHALIK et al., 2000). Les rats nourris avec le régime cafeteria présentent une augmentation du tissu adipeux blanc et une surexpression de l'ARNm du PPAR γ , récepteur nucléaire de la famille des peroxisome proliferator-activated receptors traduisant une activation de la voie des PPAR (GROUBET et al., 2003). Le facteur FIAF (fasting induced adipose factor), également décrit sous le nom de PGAR (PPAR γ angiopoietin related) ou HFARP (hepatic fibrinogen/angiopoietin-related protein) est une glycoprotéine, apparentée au fibrinogène et aux angiopoïétines, produite essentiellement par les tissus adipeux blanc et brun, le placenta, et en quantité moindre par le foie. Il s'agit d'une protéine sécrétée, et sa présence dans le plasma suggère qu'elle pourrait avoir une fonction endocrine, participant aux mécanismes de maintien de l'équilibre énergétique. Dans les tissus adipeux blanc et brun, l'ARNm du PPAR (PPAR γ pour le tissu adipeux blanc, PPAR α pour tissu adipeux brun) est présent en quantité deux à trois fois supérieure chez des souris obèses ob/ob ou db/db (YOON et al., 2000). De nombreuses observations permettent de souligner les rôles opposés et complémentaires de PPAR α et PPAR γ dans la régulation du métabolisme lipidique. PPAR α

contrôle un ensemble de gènes impliqués dans diverses étapes du catabolisme des lipides, telles que le transport des acides gras à travers les membranes, leur transport intra cytoplasmique, et leur oxydation microsomale, peroxisomale et mitochondriale. PPAR γ , à l'inverse de PPAR α , contrôle positivement des gènes impliqués dans la lipogenèse et fait partie intégrante du processus de différenciation adipocytaire (MICHALIK et al., 2000). Lorsque la quantité moyenne d'énergie absorbée est supérieure à la quantité moyenne d'énergie consommée, l'excédent est mis en réserve dans le tissu adipeux blanc (triglycérides) et le foie (glycogène). L'excès de stockage sous forme de lipides dans le tissu adipeux blanc, caractéristique de l'obésité, fait intervenir à la fois une augmentation de la taille (hypertrophie) et du nombre (hyperplasie) des adipocytes. PPAR γ est un élément-clé dans ce processus, qui régit à la fois la différenciation du tissu adipeux blanc et la lipogenèse (MICHALIK et al., 2000). Ces résultats soulignent le rôle clé de PPAR γ dans la stimulation du stockage de lipides dans le tissu adipeux blanc, et expliquent l'augmentation des PPAR γ observée chez les rats nourris au régime cafeteria (GROUBET et al., 2003). Des données bibliographiques font état d'interférences entre les voies de signalisation cellulaire des acides gras, des rétinoïdes et des hormones thyroïdiennes. En effet, les récepteurs nucléaires activés par les acides gras (PPARs) ainsi que les récepteurs de l'acide rétinoïque (RARs) et de la triiodothyronine (TRs) ont la propriété d'interagir, en s'hétérodimérisant, avec un partenaire commun, le RXR (récepteur nucléaire de l'acide 9-cis rétinoïque) pour réguler l'expression génique (CHAMBON, 1996). GROUBET et al. (2003) montrent qu'à l'inverse de l'augmentation significative des taux des ARNm des PPAR chez les rats nourris au régime cafeteria, les taux des ARNm des TR et des RAR étaient significativement diminués après 28 jours de régime cafétéria. Ces résultats montrent qu'un régime « cafeteria » induit à la fois une activation des PPARs et une sous-expression de la voie des TRs et des RARs du rat. Ce nouveau profil « expression des récepteurs nucléaires » contribuerait à augmenter les risques de dysfonctionnement cellulaire.

Une étude récente montre que le régime cafeteria induit une accumulation du tissu adipeux viscéral et une diminution de la production d'adiponectine et de resistine par ce tissu, chez les rats après quinze jours de régime (RIBOT et al., 2008). L'adiponectine est une protéine produite par les cellules adipeuses et sécrétée dans la circulation. Bien que son rôle biologique ne soit pas encore complètement élucidé, de nombreuses observations expérimentales et cliniques impliquent la réduction de ses taux circulants dans les complications de l'obésité, principalement la résistance à l'insuline et les maladies cardiovasculaires (GUERRE MILLO, 2007) (figure 5).

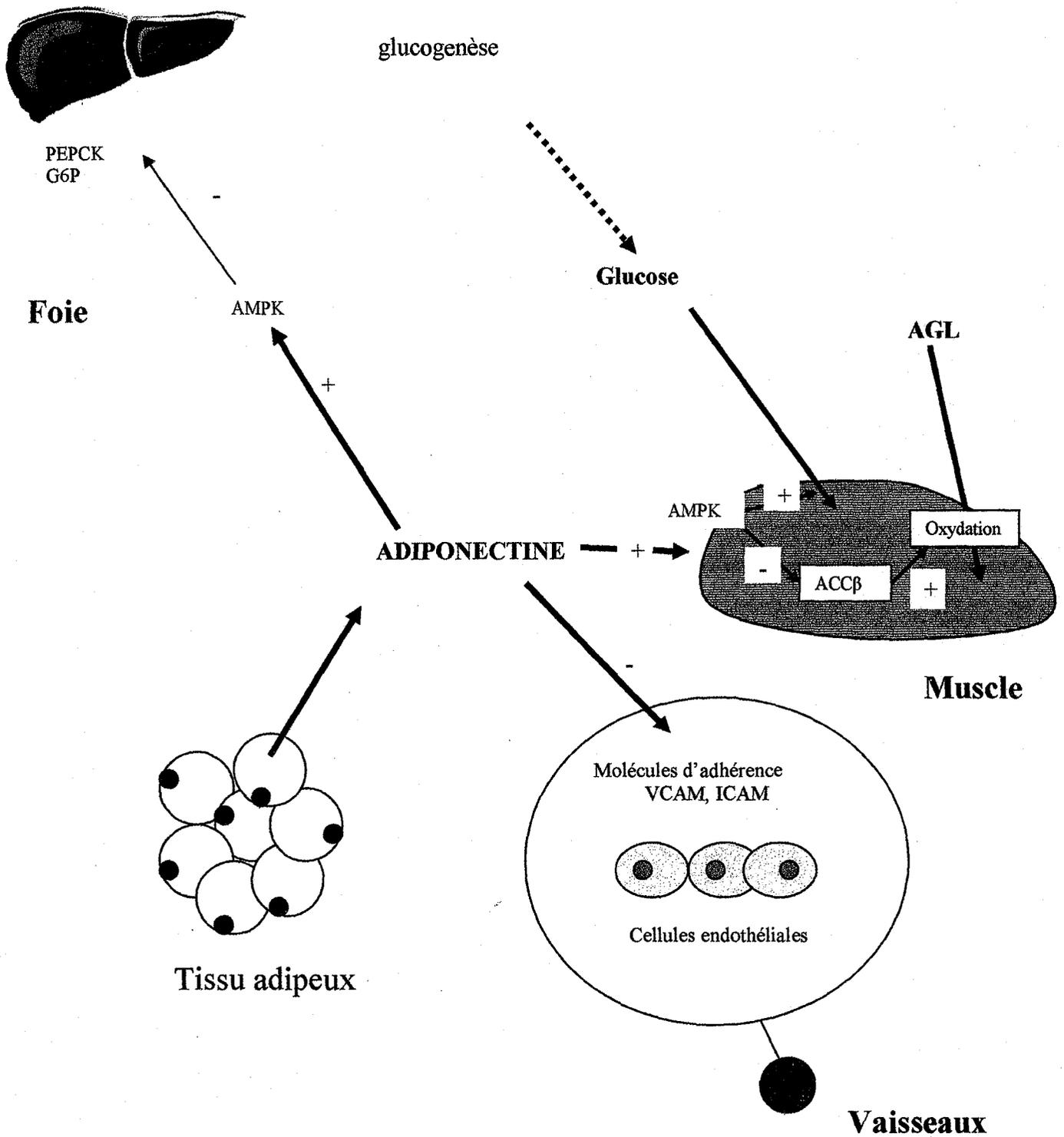


Figure 5 : Rôle de l'adiponectine dans l'homéostasie glucidique, l'oxydation des acides gras libres (AGL) et les mécanismes anti-athérosclérotiques.

PEPCK: phosphoénolpyruvate carboxykinase;
 G6P: glucose 6-phosphate; VCAM, ICAM: vascular et intercellular cell adhesion molecule;
 AMPK: AMP activated protein kinase; ACCβ: isoforme β de la coenzyme A carboxylase.

Il est également établi que l'absence d'adiponectine chez la souris ne produit pas de phénotype majeur sous régime normal, mais aggrave la résistance à l'insuline en réponse au régime gras, suggérant un effet protecteur de l'adiponectine contre l'insulinorésistance nutritionnelle (KADOWAKI et al., 2006). La première action métabolique de l'adiponectine démontrée expérimentalement est sa capacité à réduire l'élévation des acides gras libres plasmatiques causée par un repas gras chez la souris (GUERRE MILLO, 2007). Cet effet fut attribué à la stimulation de l'oxydation des acides gras dans le muscle par l'adiponectine et confirmé ultérieurement dans plusieurs modèles de souris obèses (YAMAUCHI et al., 2003). L'autre effet métabolique bien établi de l'adiponectine est de réduire la production hépatique de glucose, démontrée sur hépatocytes en culture et chez le rongeur (GUERRE MILLO, 2008). Chez l'homme, une corrélation négative entre adiponectinémie et production endogène de glucose a été démontrée, confortant l'idée que l'adiponectine contrôle négativement la production hépatique de glucose (GUERRE MILLO, 2008). Ces observations identifient le muscle et le foie comme les principaux tissus cibles des effets métaboliques de l'adiponectine qui concourent à améliorer la sensibilité à l'insuline et l'homéostasie glucidique. La réduction de la production d'adiponectine chez le rat sous le régime cafeteria (RIBOT et al., 2008) peut facilement expliquer les résultats obtenus par CHAVES et al. (2006) qui notent une augmentation de la production hépatique du glucose, une augmentation de la captation du glucose, de la synthèse des acides gras et des triglycérides par le tissu adipeux. La résistine, est une hormone dont le nom provient de son effet tissulaire, l'insulinorésistance, induit par sa fixation sur les récepteurs à l'insuline des adipocytes, du foie et des muscles (MEIER, 2001). Elle est de ce fait également responsable d'un hyperinsulinisme réactionnel. Au niveau du tissu adipeux, la résistine accélère la différenciation des pré-adipocytes en adipocytes. Chez l'homme la résistine est exprimée par la moelle osseuse, et les macrophages ont le rôle de transporteur de cette protéine vers les adipocytes alors que chez les rongeurs, la résistine est directement produite par les adipocytes. Les taux sériques de cette protéine sont élevés chez les souris obèses soit génétiquement (ob/ob) ou suite à un régime hypergras et résistantes à l'insuline (SHULDINER et al., 2001). En plus de ces anomalies hormonales, les rats soumis au régime cafeteria présentent des anomalies du métabolisme des glucides (hyperglycémie et hyperinsulinisme) et du métabolisme des lipides (hypertriglycéridémie, hypercholestérolémie, réduction du HDL-cholestérol, augmentation de la lipoprotéine lipase adipocytaire, élévation des taux de lipides hépatiques et tissulaires) (DESHAIES et al., 1983 ; 1988 ; ESTADELLA et al., 2004).

Le régime cafeteria a été aussi largement utilisé pour étudier les effets d'une alimentation excessive chez la mère sur la « programmation foetale » (CALUWAERTS et al., 2007). En effet, l'alimentation de la mère et du nouveau-né pendant les premières années peut moduler le risque de voir s'installer plus tard une obésité, selon un mécanisme appelé "programmation métabolique", ou encore "imprégnation métabolique". Les rates soumises au régime cafeteria pendant la gestation et la lactation ont des nouveau-nés obèses présentant une croissance post-natale accélérée avec accumulation de tissu adipeux (STOCKER et al., 2005 ; TAYLOR et al., 2007 ; SHANKAR et al., 2008). La croissance foetale accélérée est le résultat de l'effet combiné d'un hyperinsulinisme foetal et d'un apport important de nutriments provenant de la mère. Il faut noter que le régime cafeteria induit chez la rate gestante une hyperphagie et une obésité avec excès de tissu adipeux (ROTHWELL et al., 1986). L'hyperglycémie maternelle est responsable de l'hyperglycémie foetale qui stimule le pancréas foetal et entraîne une hyperplasie des cellules bêta et un hyperinsulinisme (REMACLE et al., 2007). L'insuline est une hormone anabolisante qui régule la croissance foetale. Ainsi, l'hyperinsulinisme est à l'origine d'un accroissement de synthèse des protéines et des lipides d'où organomégalie et obésité foetale (TAYLOR et POSTON, 2007). L'augmentation de transfert des autres nutriments notamment les acides gras de la mère nourrie à un régime hypergras au fœtus est aussi à l'origine de l'accumulation du tissu adipeux foetal qui persiste jusqu'à l'âge adulte avec apparition de nombreuses complications métaboliques (KHAN et al., 2005). On a également montré que des ratons nés de rates soumises à un excès calorique en période de gestation et lactation avaient, en dépit d'une alimentation normale après le sevrage, un excès pondéral et de tissu adipeux et des anomalies de la composition corporelle se pérennisant jusqu'à l'âge adulte avec installation progressive d'une insulino-résistance et d'un syndrome métabolique (ARMITAGE et al., 2005 ; CALUWAERTS et al., 2007). BAYLOR et al. (2005) indiquent que chez des ratons nés puis allaités par des mères nourries avec un régime cafeteria, on observe après sevrage une augmentation de leur poids corporel et du tissu adipeux mais une réduction de la masse musculaire par rapport aux animaux nourris avec un régime standard. De plus, ces ratons présentent une réduction du nombre des récepteurs à l'insuline et des transporteurs du glucose GLUT 4 au niveau du muscle. Ces différences sont maintenues à l'âge adulte. Une altération importante de la fonction des mitochondries a été mise en évidence chez la progéniture des rates nourries au régime cafeteria (diminution du cytochrome c, génération excessive de H₂O₂ et de l'anion superoxyde) marquant un lien entre les complications métaboliques associées à l'obésité et les anomalies de la fonction mitochondriale, notamment l'apparition d'un stress oxydatif (TAYLOR et al., 2005).

Au vu de ces données bibliographiques, il apparaît clairement que la progéniture des rates obèses suite au régime cafeteria pendant la gestation et la lactation présente une obésité et un phénotype semblable à celui observé dans le syndrome métabolique chez l'homme (ARMITAGE et al., 2004). En effet, l'exploitation de ces modèles d'obésité apporte des confirmations en faveur de l'idée selon laquelle l'obésité est associée à des anomalies de l'insulinosécrétion et de la sensibilité à l'insuline et à des altérations métaboliques touchant le métabolisme lipidique, protéique, glucidique et hormonal pouvant débuter pendant la vie intra-utérine et s'accroître avec l'âge. Ces modifications métaboliques, associées les unes aux autres pendant une longue période comme dans le cas de la programmation fœtale, conduisent à une situation pathologique extrême, le syndrome métabolique.

L'augmentation de l'apport énergétique est un déterminant important dans la genèse de l'obésité. Au niveau de l'organisme, deux tissus clés, le foie et le tissu adipeux, participent au maintien de l'homéostasie énergétique et sont des acteurs importants dans l'apparition d'anomalies métaboliques en réponse à différents stimuli hormonaux ou nutritionnels.

Les cellules adipeuses ou adipocytes sont surtout connues pour leur rôle essentiel dans la régulation de la masse adipeuse, que ce soit en mobilisant les graisses stockées pour assurer les besoins énergétiques de l'organisme ou en mettant en réserve les graisses ingérées. Ainsi, des excès alimentaires répétés sans changement de la dépense énergétique provoquent une augmentation du nombre et de la taille des cellules adipeuses, ce qui se traduit par la mise en place de l'obésité (SEELEY et al., 1999). Mais les adipocytes ne seraient pas uniquement impliqués dans le métabolisme lipidique. En effet, d'après des travaux précédents, ces cellules sont également productrices de lactate, molécule qui, captée et transformée par le foie, pourrait aboutir à la production de glucose et à sa mise en circulation dans le sang (FAINTRENIE et al., 1996). Ainsi les adipocytes déjà responsables de la formation des graisses pourraient également participer à la surcharge en sucre de l'organisme.

L'effet métabolique principal de l'insuline est de promouvoir le stockage des nutriments ingérés (UNGER, 2003). Les principaux tissus bénéficiant de cette hormone sont le foie, le tissu adipeux et le muscle. Au niveau du foie, l'insuline induit un phénomène anabolique, puisqu'elle stimule la production de glycogène, la synthèse de protéines, de triglycérides et de VLDL. En augmentant le transport des acides aminés et la fonction ribosomale, l'insuline stimule la synthèse protéique du muscle. De plus, la synthèse de glycogène est accrue pour palier aux dépenses musculaires. L'insuline augmente la formation de triglycéride dans l'adipocyte par l'intermédiaire de l'activation de la lipoprotéine lipase, de l'augmentation du transport de glucose vers les adipocytes d'où meilleure utilisation du glycérol phosphate,

important dans l'estérification des acides gras libres en triglycérides, et l'inhibition de la lipolyse intracellulaire. Les capacités de lipogénèse du tissu adipeux et celles du foie sont essentiellement contrôlées par une enzyme fatty acid synthase (FAS) qui catalyse la synthèse des acides gras de longues chaînes à partir de l'acétyl CoA et du malonyl CoA (WAKIL et al., 1983). Un régime riche en glucides et en lipides augmente l'activité de cette enzyme (SEMENKOVICH et al., 1993).

Le tissu adipeux se développe in utero et après la naissance. Et on sait aujourd'hui qu'il restera mobilisable tout au long de la vie d'un individu. Il se forme à partir de cellules dites préadipocytes. En cas de besoin, ces cellules sont capables de se transformer – phase dite de différenciation – pour devenir des adipocytes. Lors d'un excès de lipides, on note une hypertrophie des adipocytes qui une fois saturées, recrutent des préadipocytes qui entrent à leur tour en différenciation. Et ainsi de suite. L'adipocyte stocke les triglycérides, mais aussi de grandes quantités de cholestérol (LE LAY et al., 2001). Ainsi donc, la sensibilité à l'insuline est un facteur favorisant le surpoids. Or, l'obésité est constamment associée à une insulino-résistance (figure 6). L'insulino-résistance est un trouble métabolique complexe, due à un défaut d'efficacité de l'insuline. Il en résulte une faible utilisation du glucose par les tissus périphériques (tissu adipeux, foie, muscle squelettique), et ce malgré la présence d'une quantité importante d'insuline dans la circulation sanguine. Les mécanismes de cette insulino-résistance sont complexes, ils se situent en aval du récepteur à l'insuline au niveau du système de transmission du message et de la biosynthèse des effecteurs enzymatiques (PALOMO et al., 2006). L'augmentation des acides gras libres circulant, consécutive à un défaut d'action de l'insuline qui libère la lipolyse, contribue à inhiber l'effet de l'insuline sur le métabolisme glucidique (AGUILERA et al., 2008).

Les relations entre l'insuline et l'obésité sont complexes. L'insuline constitue un des maillons indispensables à la constitution d'une obésité (GALASSI et al., 2006). Reste encore à préciser si l'hyperinsulinisme est le phénomène primaire responsable de l'obésité ou seulement sa conséquence (figure 7 et 8). Le niveau d'insulinémie reflète fidèlement l'importance des réserves adipeuses ; il est corrélé à l'indice de masse corporelle chez un individu donné (VERGES, 2001). L'hyperinsulinisme est-il le résultat d'une hypersécrétion d'insuline par les cellules bêta-pancréatiques et/ou d'une réduction de la clairance métabolique de cette hormone ? Hypersécrétion d'insuline et hyperplasie des cellules bêta sont d'origine encore indéterminée. Elles peuvent être secondaire à une adaptation physiologique à un état d'insulino-résistance primaire ou à des conditions nutritionnelles favorisant cette situation : la suralimentation (AZAIS-BRAESCO et al., 2006).

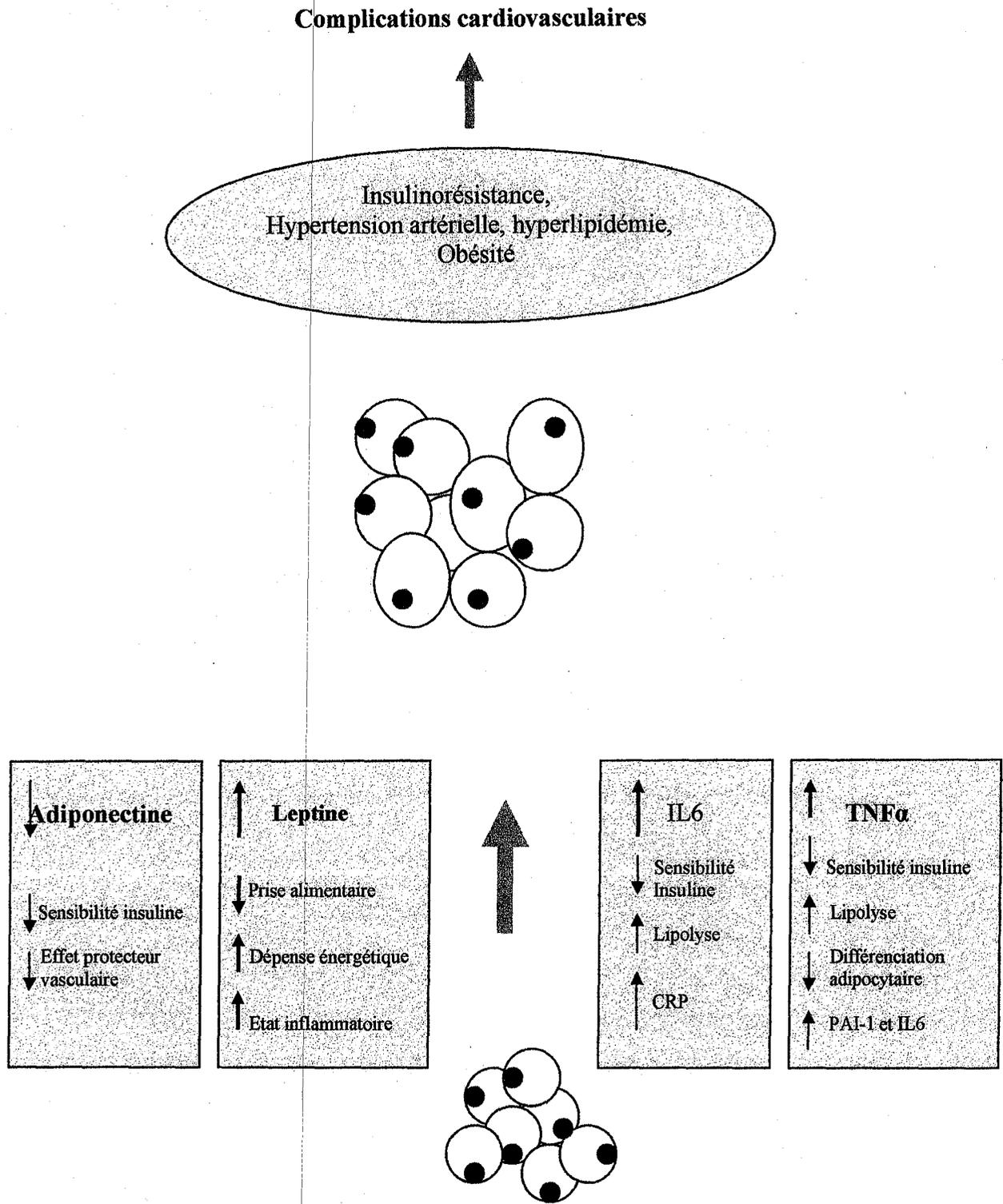


Figure 6: L'effet de l'obésité sur le développement du tissu adipeux (FRUHBECK et al., 2001)

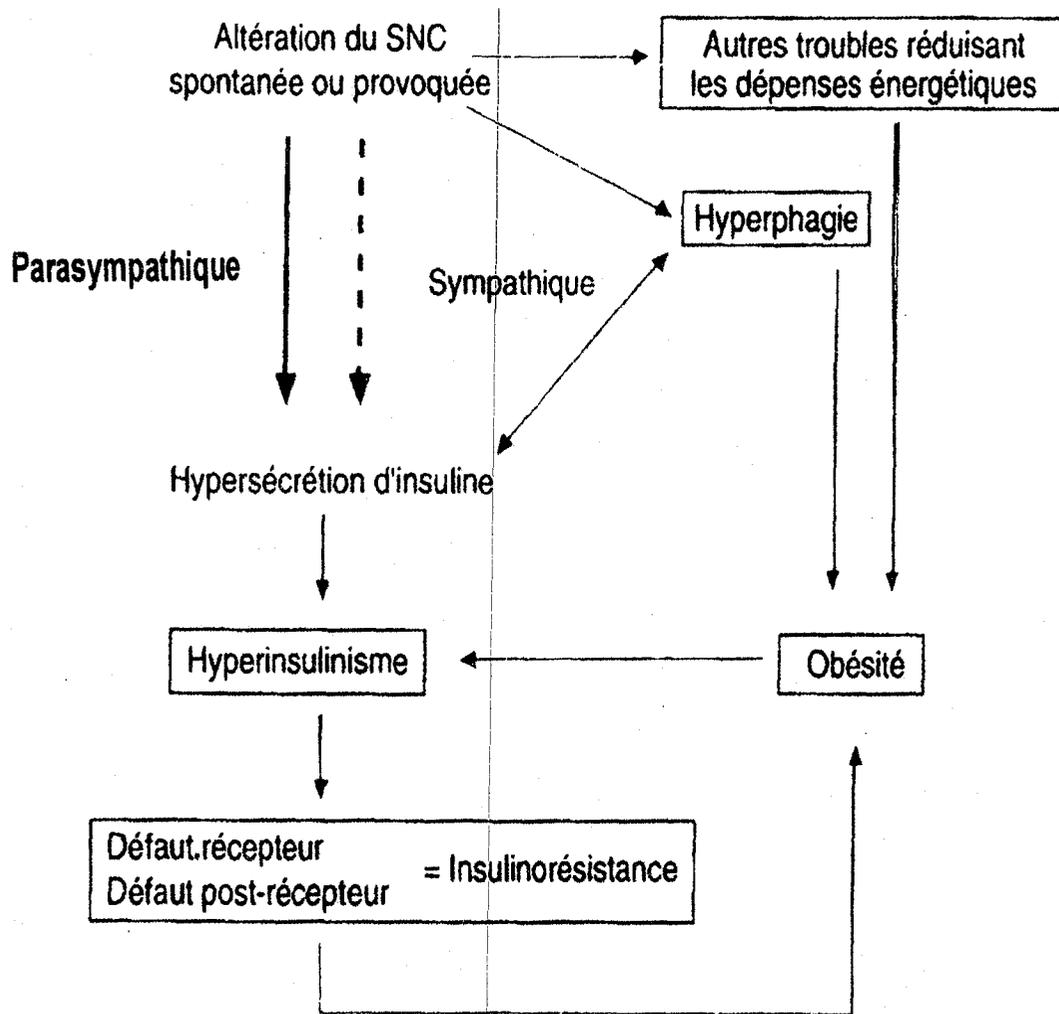


Figure 8 : Séquence des événements conduisant à l'obésité (hyperinsulinisme= phénomène primitif) (VERGES, 2001)

Mais l'hyperproduction d'insuline par le pancréas n'explique pas seule l'hyperinsulinisme de l'obèse. Il existe de nombreux arguments en faveur d'une réduction de la clairance métabolique de l'insuline. Certains travaux suggèrent que l'insuline, sécrétée par voie portale, est moins extraite par le foie chez les obèses que chez les non obèses. Ce degré d'extraction hépatique de l'insuline jouant sur la concentration sus-hépatique de l'insuline, l'hyperinsulinisme serait ainsi accentué (PALOMO et al., 2006).

Au cours de l'obésité, l'hyperinsulinisme s'accompagne d'anomalies du métabolisme des lipides et des lipoprotéines (REAVEN, 2005 ; GIL-CAMPOS et al., 2004). Les principales modifications lipidiques observées lors de l'obésité constituent en une hypertriglycéridémie et une hypoalphalipoprotéinémie associée (AGUILERA et al., 2008). Elles correspondent à une augmentation des lipoprotéines contenant de l'apoB. Inversement, l'existence d'une nette diminution des HDL se traduit par une baisse des concentrations en cholestérol HDL et en apoA-I. Ce phénotype lipidique correspond à une diminution de la proportion des lipoprotéines associées à une protection vis-à-vis de l'athérosclérose par rapport aux lipoprotéines athérogènes (GALASSI et al., 2006).

Le syndrome d'insulinorésistance met bien en évidence les liens existants entre les métabolismes des lipides et celui du glucose, ou l'insuline semble être un agent clé du dialogue entre ces voies métaboliques (BODEN, 2002 ; REAVEN, 2005). Il paraît donc important de ne pas restreindre l'analyse du syndrome de l'obésité au tissu adipeux, mais plutôt de l'élargir à celle d'une plate-forme physiologique, dans laquelle le foie agit comme un régulateur de la production de substrats énergétiques, le tissu adipeux comme lieu de réserve des graisses, le muscle et le cerveau étant des sites majeurs d'utilisation de ces sources d'énergie. Les interactions entre ces tissus sont en partie contrôlées par l'insuline. De plus, au cours de l'obésité, l'augmentation de l'insuline est corrélée positivement aux teneurs en leptine et négativement à celles de l'adiponectine (figure 9). Les teneurs basses en adiponectine observées au cours de l'obésité sont corrélées négativement aux teneurs en triglycérides et cholestérol total et positivement à celles en HDL-cholestérol (GIL-CAMPOS et al., 2004 ; PALOMO et al., 2006).

De nombreux travaux rapportent une augmentation du stress oxydatif au cours de l'obésité tenant à la fois à l'augmentation de la production des radicaux oxygénés et la diminution des capacités de défenses antioxydantes par la baisse des activités des enzymes antioxydantes et des taux de vitamines antioxydantes (MORROW, 2003 ; FURUKAWA et al., 2004 ; SHIGETADA et al., 2004).

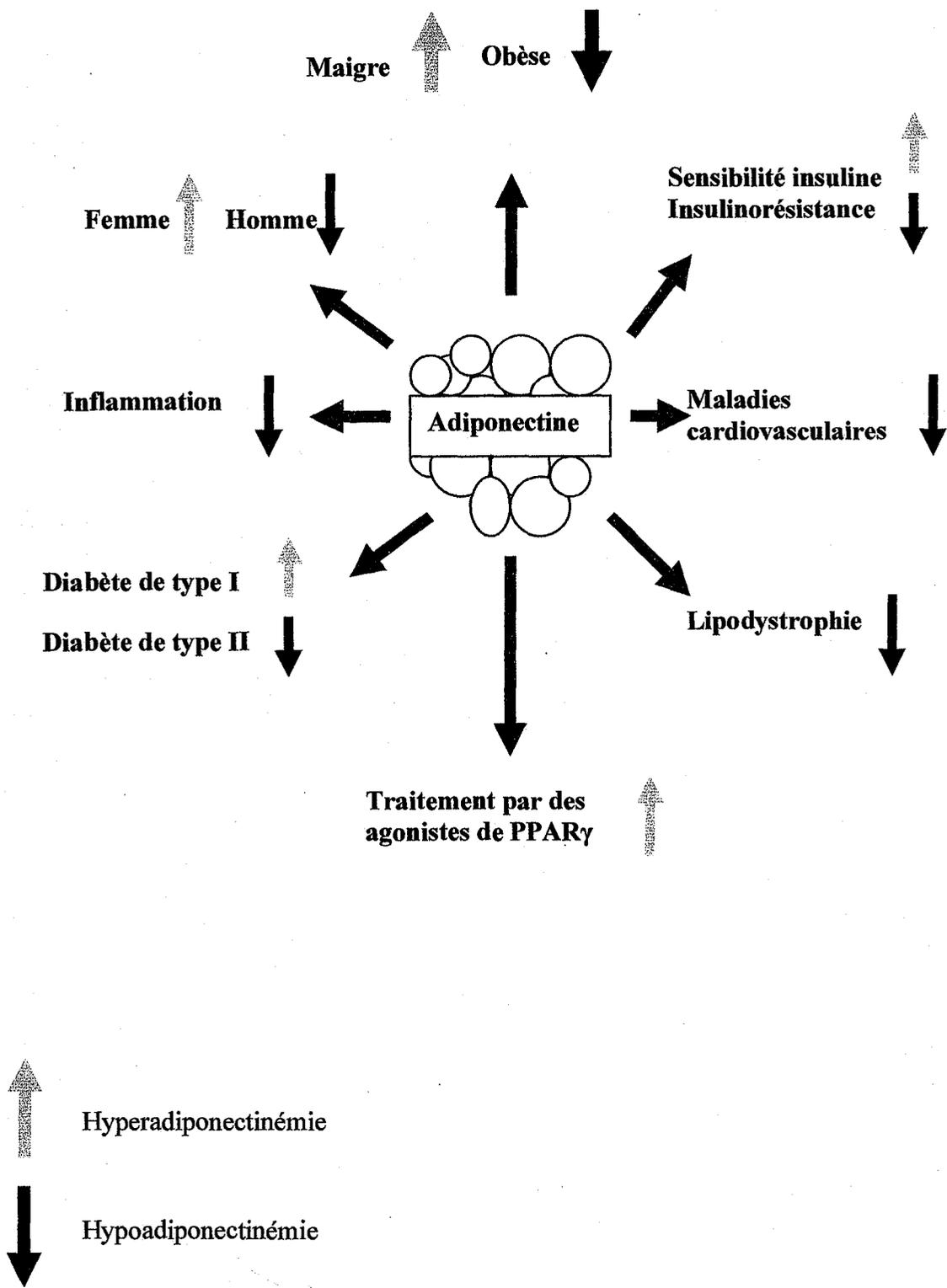


Figure 9: Facteurs liés à l'hypo et à l'hyperadiponectinémie (SCHERER, 2006)

Le stress oxydatif est également présent chez les enfants obèses (MOHN et al., 2005), et peut même exister pendant la vie intra-utérine chez le fœtus et à la naissance chez le nouveau-né (BUONOCORE et al., 2006).

Notre organisme produit en permanence des espèces oxygénées activées (EOA) appelées aussi radicaux libres résultant du métabolisme oxydatif de l'oxygène. Les radicaux libres sont des espèces chimiques (atomes ou molécules) qui possèdent un ou plusieurs électrons célibataires (électron non apparié) sur leur couche externe et capables d'existence indépendante (HALLIWELL et al., 1999). Ils peuvent être dérivés de l'oxygène ou d'autres atomes comme l'azote. La présence d'un électron célibataire confère aux radicaux libres une grande réactivité (demi-vie courte) et ils peuvent être aussi bien des espèces oxydantes que réductrices. Parmi ces radicaux libres, l'anion superoxyde, le radical hydroxyle, l'oxygène singulet, le peroxyde d'hydrogène, ou le nitroperoxyde, le monoxyde d'azote, les radicaux peroxydes et le radical hydroxyle sont les plus connus. De par leur grande réactivité, les EOA sont susceptibles d'entraîner des dégâts cellulaires importants, en provoquant des mutations au sein de l'acide désoxyribonucléique (ADN), en inactivant des protéines, ou encore en induisant des processus de peroxydation lipidique au sein des acides gras poly insaturés des lipoprotéines ou de la membrane cellulaire. Les origines cellulaires des EOA sont essentiellement enzymatiques et découlent de plusieurs sources. Deux sources majeures sont principalement concernées. La première résulte d'imperfections de la chaîne respiratoire mitochondriale qui produit par réduction monoélectronique des EOA. La deuxième source majeure de production des EOA est constituée par la NAD(P)H oxydase, essentiellement localisée au niveau de la membrane plasmique, qui interagit avec le substrat intracellulaire (NADH,H⁺, ou NADPH,H⁺) et libère l'ion superoxyde de façon préférentielle à l'extérieur ou à l'intérieur de la cellule (BEAUDEUX et al., 2005). A côté de ces deux sources majeures d'EOA, d'autres sources cytosoliques ou présentes dans divers organites cellulaires peuvent jouer un rôle dans la modulation de la signalisation cellulaire, telles que la xanthine oxydase, les enzymes du réticulum endoplasmique lisse (cytochromes P450), les NO synthases et les enzymes de la voie de l'acide arachidonique. Les principales sources d'espèces réactives de l'oxygène et de l'azote sont représentées dans la figure 10.

Afin de contrôler cette production physiologique d'EOA, notre organisme dispose de moyens de protection composés d'enzymes (superoxyde dismutase Cu-Zn et Mn, catalase, glutathion peroxydases et réductases), de protéines transporteuses du fer (transferrine, ferritine), de molécules antioxydantes de petite taille (glutathion, acide urique, bilirubine, glucose, vitamine A, C, E, ubiquinone, caroténoïdes) et d'oligo-éléments (cuivre, zinc, sélénium) (PINCEMAIL et al., 2001). Un système de défense secondaire, composé d'enzymes protéolytiques, dont le rôle consiste à empêcher l'accumulation dans la cellule de protéines ou d'ADN oxydés et à dégrader leurs fragments toxiques, complète la panoplie des moyens de protection contre les EOA. Dans certaines situations, plusieurs mécanismes biochimiques vont s'activer et produisent de manière excessive, des EOA, qui vont dès lors submerger toutes les défenses antioxydantes. Cette situation est nommée stress oxydatif et décrit le déséquilibre entre la formation massive des espèces réactives à l'oxygène et les antioxydants. Ceci conduit à des dégâts cellulaires souvent irréversibles. De nombreux facteurs, telles que des perturbations métaboliques, l'inflammation, des agents physiques, des cytokines, la présence d'oxydants exogènes, peuvent conduire à la formation de radicaux libres (MOREL et al., 1999). 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 (figure 11).

La corrélation entre stress oxydatif et hyperglycémie est bien connue dans le domaine des complications secondaires de l'obésité. Le stress oxydatif représente un mécanisme par lequel l'hyperglycémie aggrave le dysfonctionnement de la cellule bêta aboutissant au diabète de type 2 (MORROW, 2003 ; SHIGETADA et al., 2004). De plus, les radicaux libres inhibent la sécrétion d'insuline (KRIPPEIT-DREEWS et al., 1994). Ils interfèrent avec différentes étapes du couplage stimulus-sécrétion. Ils inhibent l'activation du métabolisme mitochondrial par le glucose (MAECHLER et al., 1999). D'un autre côté, la génération des radicaux libres est probablement un médiateur des effets du TNF α sur la sensibilité des tissus périphériques, et pourrait être impliquée dans l'insulinorésistance (HOTAMISLIGIL et al., 1994). Le TNF α (tumor necrosis factor α), cytokine produite par les adipocytes, stimule la lipolyse et provoque une augmentation de la quantité d'acides gras libres circulant qui entre en composition avec le glucose comme source d'énergie. De plus, TNF α contre-carre l'action de l'insuline et est donc impliqué dans le développement de l'insulinorésistance (HOTAMISLIGIL et al., 1994). Il apparaît clairement que le stress oxydatif, au cours de l'obésité, intervient dans l'apparition des troubles de l'insulinosensibilité et du diabète de type 2.

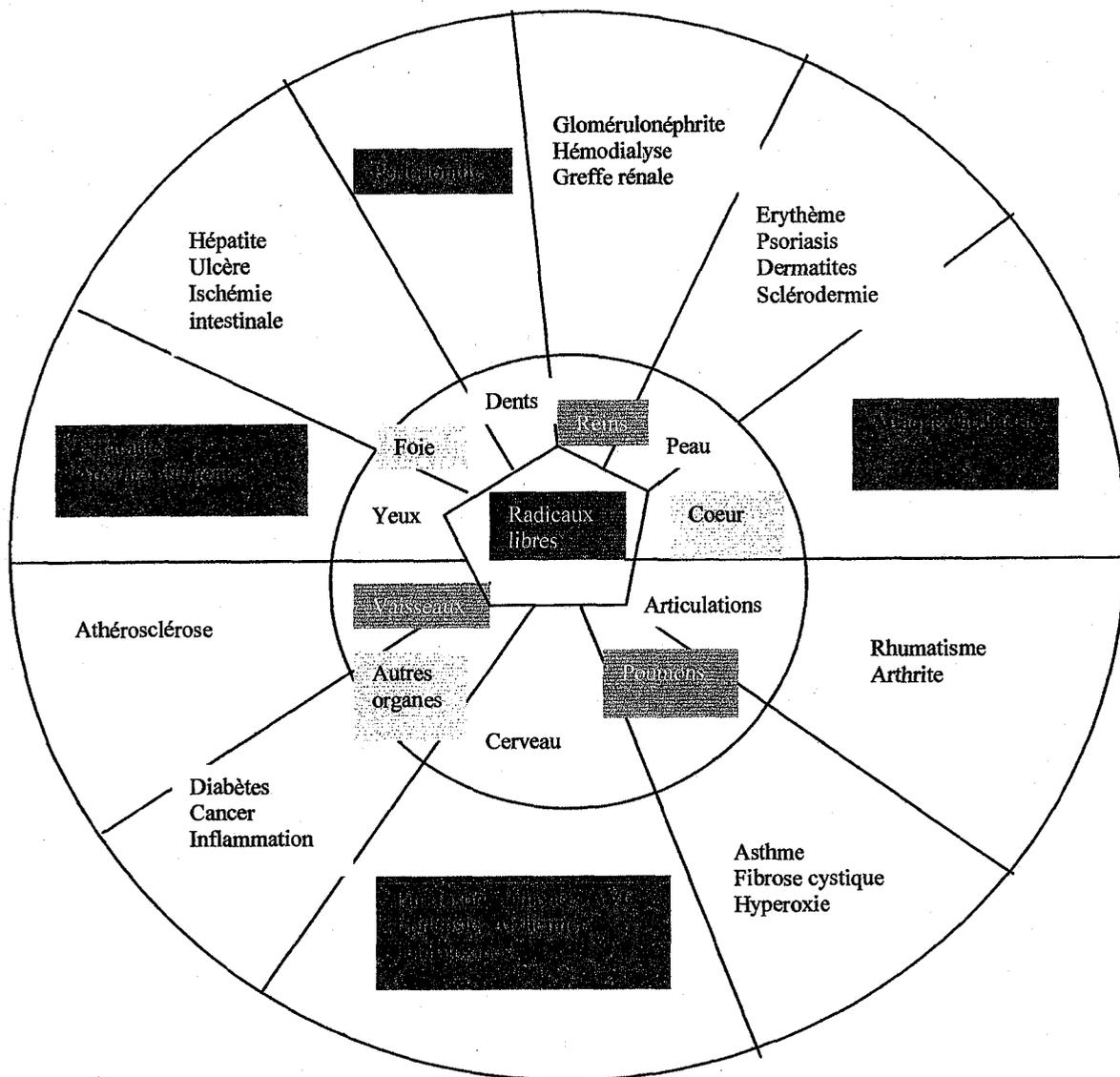


Figure 11 : Conséquences de l'effet des radicaux libres sur les différents organes de l'homme (MOREL et al., 1999)

L'existence d'un stress oxydatif chez le fœtus soumis à une programmation pourrait être à l'origine des complications métaboliques à l'âge adulte. Une nouvelle hypothèse implique l'intervention du stress oxydatif dans l'altération de la sensibilité à l'insuline, l'oxydation des lipoprotéines, les altérations lipidiques et l'apparition de pathologies à l'âge adulte comme le diabète et l'athérosclérose chez la progéniture des mères obèses.

Les perturbations métaboliques sont donc nombreuses au cours de l'obésité et peuvent exister dès la naissance et constituer un facteur prédisposant à l'apparition de nombreuses complications à l'âge adulte. L'étude des modifications du métabolisme et du statut oxydant/antioxydant chez la mère obèse et chez son nouveau-né de la naissance à l'âge adulte devrait permettre de mieux comprendre la physiopathologie du développement de l'obésité, et de mettre en place, en particulier une prévention d'ordre nutritionnel.

C'est dans cette optique que nous avons entrepris ce travail de recherche. Nous avons utilisé un modèle expérimental d'obésité nutritionnelle, le rat wistar nourri au régime cafeteria. Ce régime cafeteria est donné aux rates pendant la gestation et la lactation, ce qui permet de développer une obésité maternelle. Par la suite, au sevrage, les ratons sont nourris soit avec le régime cafeteria soit avec le régime standard et sont suivis jusqu'à l'âge adulte. Ceci implique de suivre l'évolution du poids corporel, des bilans nutritionnels, de certaines hormones (insuline, leptine) et du glucose, de différents paramètres lipidiques (cholestérol, triglycérides, phospholipides, lipoprotéines), de la composition de différents organes notamment le tissu adipeux, foie et muscle, et des marqueurs du stress oxydatif (pouvoir antioxydant total, vitamines et enzymes antioxydantes, malondialdéhyde et hydroperoxydes, protéines carbonylées, diènes conjuguées et oxydation des lipoprotéines).

Nous nous sommes donc fixés plusieurs objectifs :

1. Le premier objectif est de déterminer les effets du régime cafeteria (hyperlipidique et hypercalorique) sur le métabolisme et le statut oxydant/antioxydant chez la rate pendant la gestation et la lactation, et chez le jeune rat sevré et nourri avec ce type de régime jusqu'à l'âge adulte.
2. Le deuxième objectif est de déterminer les troubles métaboliques chez le nouveau-né de la rate nourrie au régime cafeteria donc voir l'impact de l'alimentation maternelle sur le métabolisme fœtal.
3. Le troisième objectif est de déterminer par une étude chronologique chez le rat, si les modifications métaboliques observées chez la progéniture obèse persistent ou s'accroissent à l'âge adulte. Dans le cas où les ratons obèses sont nourris au régime standard au sevrage, les modifications métaboliques peuvent être reliées à une

programmation métabolique induite par la suralimentation maternelle. Mais dans le cas où les rats obèses sont nourris au régime cafeteria au sevrage, les modifications métaboliques peuvent être reliées à une programmation métabolique induite par la suralimentation maternelle associée à une suralimentation postnatale.

L'étude chronologique permettra de suivre l'apparition des différentes anomalies métaboliques et de déterminer le temps et l'âge de leur apparition ainsi que leurs interactions et leur gravité. Ce travail peut constituer un bon moyen pour améliorer les stratégies de prévention de l'obésité dès le jeune âge et de ses effets à long terme, selon la figure 12.

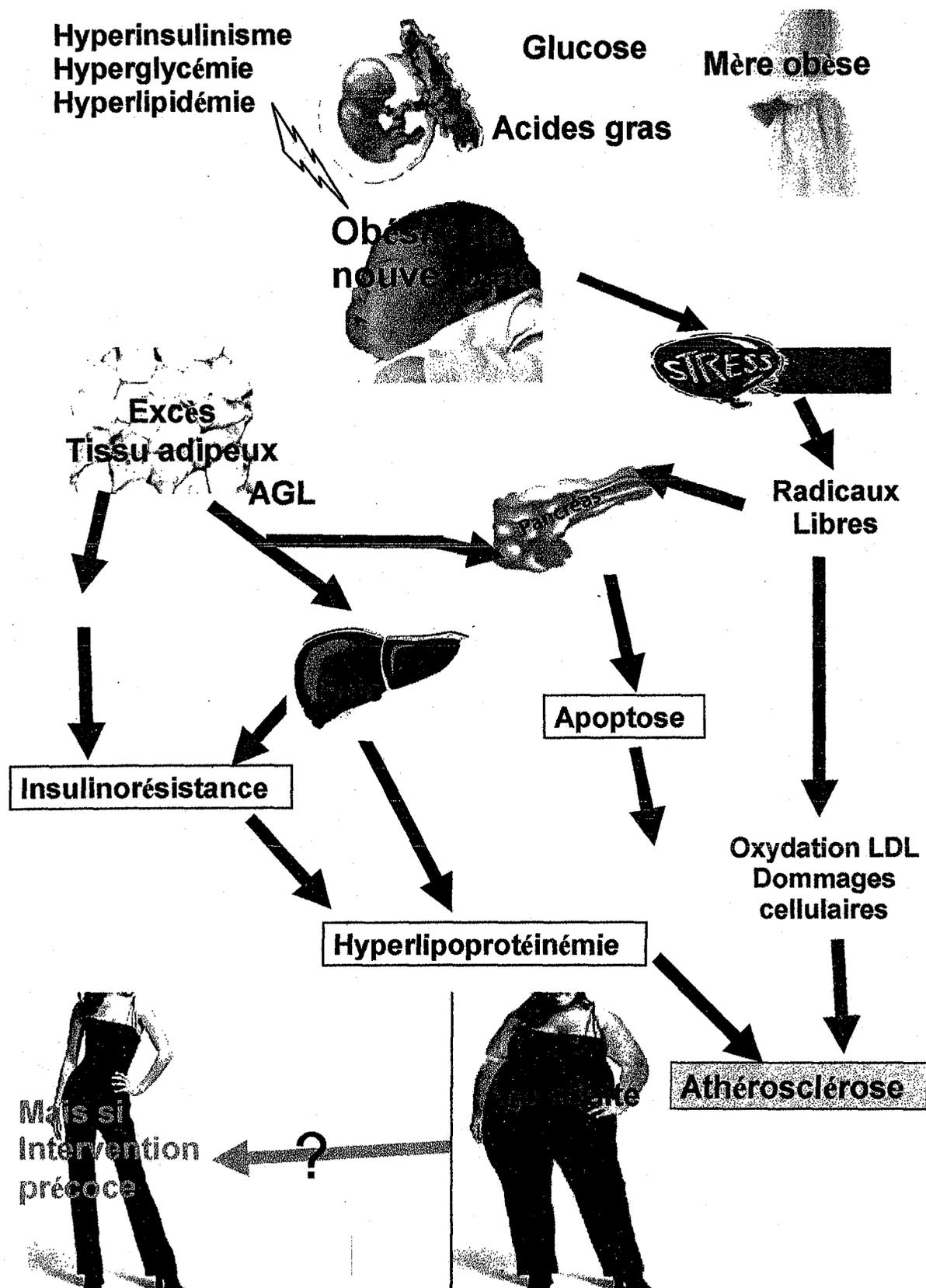


Figure 12. Hypothèse de la programmation métabolique de l'obésité.
 La prévention précoce peut se faire par l'alimentation. Certains nutriments peuvent corriger les anomalies métaboliques dès le jeune âge.

MATERIEL ET METHODES

I. Protocole expérimental :

L'étude est réalisée sur des rats de type Wistar (élevés à l'animalerie au niveau du département de Biologie Moléculaire et Cellulaire (BMC), Faculté des Sciences, 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 et à la nourriture.

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. Après accouplement de rats Wistar adultes, le 1^{er} jour de gestation est déterminé par la présence de spermatozoïdes sur le frottis vaginal des femelles. Les rates gestantes sont divisées en deux groupes :

-Un lot témoin constitué de 20 femelles qui consomment le régime standard commercial, composé de 21% de protéines ; 4% de lipides ; 63,5% de glucides ; 4,5% de cellulose ; 5,5% de cendres et 11% d'humidité.

-Un lot expérimental constitué de 20 femelles qui consomment le régime cafeteria, composé de 30g de régime standard et de 30g d'un mélange de saucisse- biscuits secs – fromage- chips- chocolat- cacahuètes dans les proportions 2 : 2 : 2 : 1 : 1 : 1 selon le protocole de Darimont et al. (2004). Ce régime contient 26% de protéines, 27% de glucides et 47% de lipides.

A la mise bas, les nouveaux-nés sont pesés puis laissés avec leurs mamans jusqu'au sevrage (3 semaines). Chaque semaine le poids des rats est noté.

Le poids moyen des nouveau-nés témoins est de $4,89 \pm 0,23$ g. Les nouveau-nés issus de mères soumises au régime cafeteria ont un poids supérieur à 6,5g ($6,97 \pm 0,31$ g).

Comme le nombre de petits par portée influence la croissance postnatale (CHA et al., 1987), la sélection des portées est importante pour tous les lots étudiés. Seules les portées entre six et

huit naissances sont incluses dans ce travail. Ceci permet aux mères d'allaiter leurs nouveaux-nés de façon identique pour les différents lots étudiés.

A 3 semaines, les petits sont sevrés et reçoivent soit le régime standard, soit le régime cafeteria. Les mâles sont séparés des femelles et les rats sont suivis jusqu'à l'âge adulte (3 mois). Ainsi, quatre lots sont constitués :

- rats témoins soumis à un régime standard
- rats témoins soumis à un régime cafeteria
- rats obèses soumis à un régime cafeteria
- rats obèses soumis à un régime témoin

Au sevrage, quelques rats mâles de chaque lot sont mis dans des cages individuelles à métabolisme, afin de réaliser les bilans nutritionnels pour étudier l'utilisation métabolique des deux régimes.

II. Bilan nutritionnel

Ce bilan est réalisé sur une période de deux mois, allant de 4 semaines à 12 semaines (3 mois) de l'âge des rats, après une semaine d'adaptation des rats aux régimes et aux cages à métabolisme. La nourriture ingérée est pesée tous les jours. Les urines et les fèces sont collectés durant des périodes de 7 jours, du 30^{ème} au 37^{ème} jour (BI), du 53^{ème} au 60^{ème} jour (BII), du 60^{ème} au 67^{ème} jour (BIII), et du 83^{ème} au 90^{ème} jour (BIV). Les urines sont centrifugées puis conservées à 4°C après l'ajout du thymol/isopropanol à 10%. Les fèces sont séchés à l'étuve à 60°C pendant 24h puis pesés, finement broyés et conservés à -20°C.

II.1. Détermination du contenu en azote

le contenu en azote des régimes, des urines et des fèces est déterminé par la méthode de KJELDHAL (1883) qui comporte une minéralisation, une distillation et une titration.

Les bilans azotés (BA) et les coefficients d'utilisation digestive de l'azote (CUD_N) sont calculés selon les formules suivantes :

$$\text{CUD}_N(\%) = [(\text{N ingéré} - \text{N fèces}) / \text{N ingéré}] \times 100$$

$$\text{BA}(\%) = [(\text{N ingéré} - (\text{N urines} + \text{N fèces}) / \text{N ingéré})] \times 100$$

II.2. Détermination des teneurs en urée

L'urée urinaire est dosée par une méthode colorimétrique basée sur l'utilisation du diacétylmonooxine et des ions Fe^{+3} (Kit Prochima). En présence d'ions Fe^{+3} et d'un réducteur, l'urée réagit avec le diacétylmonooxine pour donner un complexe coloré en rose. 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.

II.3. Détermination des teneurs en créatinine

La créatinine est dosée sur les urines par la méthode de Jaffé 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 lipides

Les lipides des régimes et des fèces sont extraits par un mélange chloroforme : méthanol (2 : 1 / v : v) selon la méthode de FOLCH et al. (1957). Après évaporation totale du chloroforme, l'extrait lipidique (lipides totaux) est pesé plusieurs fois, jusqu'à poids constant. Entre chaque pesée, l'extrait lipidique est maintenu sous vide au dessiccateur.

Les coefficients d'utilisation digestive apparente des lipides (CUD_L) sont déterminés.

$$\text{CUD}_L(\%) = [(\text{Lipides ingérés} - \text{Lipides fécaux}) / \text{lipides ingérés}] \times 100.$$

III. Sacrifices et prélèvements de sang et d'organes

A la naissance (J_0), quelques rats de chaque lot (témoins et obèses) sont décapités et le sang est recueilli par pool de 4 rats du même lot selon le protocole de GARCIA-MOLINA et al. (1996).

A la mise bas (J₀) et à la fin de l'allaitement (J₂₁) pour les mères ; à la naissance (J₀), à l'âge de trois semaines (J₂₁) et de trois mois (J₉₀) pour la progéniture (mâles et femelles), 6 rats de chaque lot sont anesthésiés au pentobarbital sodique à 6,5% (0,1 ml par 100g de poids corporel) et sont sacrifiés après 12h de jeûne. Le sang est prélevé par ponction dans l'aorte abdominale. Une quantité de sang prélevé est récupérée dans des tubes à EDTA et l'autre partie est recueillie dans des tubes secs.

Les échantillons prélevés sur tubes EDTA sont centrifugés à 3000 tr/min pendant 15 min. Le plasma est prélevé pour le dosage des paramètres du stress oxydatif (vitamines A, C, E, taux d'hydroperoxydes, protéines carbonylées, MDA, catalase et la détermination de l'ORAC). Les érythrocytes restants sont lavés avec de l'eau physiologique trois fois de suite, puis sont lysés par addition de l'eau distillée glacée et incubation pendant 15 min dans la glace. Les débris cellulaires sont éliminés par centrifugation à 5000 t/min pendant 5 min. Le lysat est ensuite récupéré afin de doser les enzymes antioxydants érythrocytaires, le MDA, les hydroperoxydes et les protéines carbonylées érythrocytaires.

Après coagulation du sang prélevé sur tubes secs, et centrifugation 3000 tr/min pendant 15 min, le sérum est récupéré et est conservé avec une solution NaN₃ à 0,2% et de Na₂ EDTA à 10%, à raison de 10 µl/ml, à -20°C en vue du dosage des différents paramètres biochimiques. Le dosage du glucose se fait le jour même du prélèvement sur du sérum frais.

Après le prélèvement sanguin, le foie, le muscle gastrocnémien et le tissu adipeux sont soigneusement prélevés, rincés avec du NaCl à 9%, ensuite pesés. Une partie aliquote des différents organes est immédiatement broyée dans le tampon PBS, pH 7,4. L'homogénat obtenu est utilisé pour la détermination des différents paramètres du statut oxydant/antioxydant. Les restes des organes sont conservés à -20°C, en vue des dosages lipidiques, protéiques et la détermination de leur composition en acides gras.

IV. Analyses biochimiques

IV.1. Détermination des teneurs en glucose

Le glucose sérique 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).

IV.2. Dosage de l'insuline

Le taux d'insuline est déterminé par la méthode de dosage immunoenzymatique en phase solide, ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) selon le kit LINCO (St Louis, MO, USA). Le principe de la méthode est basé sur l'utilisation des plaques ELISA dont les micropuits ont un revêtement d'anticorps monoclonal anti-insuline de rat. L'insuline présente dans l'échantillon se lie aux anticorps adsorbés dans les micropuits. Un deuxième anticorps polyclonal anti-insuline conjugué à la biotine est ajouté et se lie à l'insuline capturée par le premier anticorps. Après lavage qui permet d'éliminer l'anticorps biotinylé non lié, une enzyme (Peroxydase de Raifort appelée Horse dish peroxydase HRP) est ajoutée et se lie à l'anticorps biotinylé immobilisé. Après lavage, le substrat de la peroxydase (3,3', 5,5'tetra methylbenzidine) est ajouté aux puits. La quantification du complexe anticorps-enzyme est réalisée en suivant l'activité de la peroxydase en présence de son substrat. Ainsi, un produit coloré est formé proportionnellement à la quantité d'insuline présente dans l'échantillon. La réaction est terminée par l'addition d'un acide et l'absorbance est mesurée à 450 nm.

La concentration en insuline est déterminée à l'aide d'une gamme étalon d'insuline de rat.

IV.3. Dosage de la leptine

Le taux de leptine est déterminé par la méthode ELISA selon le Kit LINCO (St Louis, MO, USA).

Le principe de la méthode est basé sur l'utilisation de micropuits avec un revêtement d'anticorps anti-leptine de rat, d'anticorps anti-leptine conjugué à la biotine, de l'enzyme peroxydase de Raifort et de son substrat le tetramethylbenzidine. Le protocole expérimental est semblable à celui utilisé pour l'insuline. La coloration du milieu est directement proportionnelle à la concentration de leptine de l'échantillon. Cette concentration est déterminée à l'aide d'une gamme étalon de leptine de rat.

IV.4. Détermination des paramètres lipidiques et protéiques au niveau du sérum, des lipoprotéines et des organes

IV.4.1. Séparation des lipoprotéines

Les lipoprotéines totales sont isolées à partir du sérum par précipitation selon la méthode de BURSTEIN et al. (1970,1989). A pH neutre, les poly anions, en présence de cations divalents, peuvent former des complexes insolubles avec les lipoprotéines (lipopolyanions-cations) donc la précipitation se fait grâce aux poly anions qui se combinent aux lipides des lipoprotéines. Généralement, les poly anions utilisés sont les sulfates (SO_4^{2-}), les polysaccharides (héparine) et l'acide phosphotungstique, alors que les cations sont les Ca^{2+} , Mn^{2+} et Mg^{2+} . L'utilisation du même réactif de précipitation à différentes concentrations, permet de précipiter sélectivement les fractions des lipoprotéines ; et ainsi à concentration de plus en plus élevée, ce réactif permet la séparation à partir du sérum, d'abord des VLDL ensuite des LDL et en dernier des HDL. Ce principe est analogue à celui de l'ultracentrifugation en gradient de densité des lipoprotéines. En effet, lorsque la concentration varie, la densité du milieu varie aussi et permet une précipitation sélective. Les lipoprotéines, précipitées par l'acide phosphotungstique et le MgCl_2 à différentes

concentrations, sont par la suite solubilisées grâce à une solution de solubilisation contenant du tampon citrate trisodique et NaCl.

IV.4.2. Détermination des teneurs en cholestérol et triglycérides

Le cholestérol total et les triglycérides sont dosés par des méthodes enzymatiques (Kit Prochima), sur le sérum total, les différentes fractions lipoprotéiques, et les organes (après broyage d'une partie aliquote dans du tampon phosphate/ EDTA, pH 7,2, ajout de lauryl sulfate de sodium (SDS 1%) (1/1, v/v), et centrifugation à 3000 t/min pendant 10 min).

Les lipides totaux des organes sont déterminés par la méthode de FOLCH et al. (1957) comme il a été décrit précédemment.

IV.4.3. Détermination des teneurs en protéines totales

Les protéines totales sont dosées sur les fractions de lipoprotéines et sur les organes (après leur broyage comme précédemment décrit) par la méthode de LOWRY et al. (1951) utilisant l'albumine sérique bovine comme standard (Sigma Chemical Company, St Louis, MO, USA). En milieu alcalin, le complexe formé par les ions Cu^{2+} et les groupements tyrosine et tryptophane des protéines est réduit par le réactif de Folin. La coloration bleue développée est proportionnelle à la quantité de protéines de l'échantillon. La lecture se fait à une longueur d'onde de 689 nm.

Sur le sérum total, les protéines totales sont déterminées grâce à l'utilisation du réactif de biuret décrit par GORNALL et al. (1949).

IV.4.4. Extraction des lipides du sérum et des organes et détermination de la composition en acides gras

L'extraction lipidique se fait à partir :

- Du sérum par un mélange méthanol/chloroforme/NaCl (2M) (1 /1/0,9 ; v/v/v) pour 0,5 ml d'échantillon, selon la méthode de BLIGH et DYER (1959).

- Des organes (foie, muscle gastrocnémien, tissu adipeux) par la méthode de FOLCH et al. (1957) après le broyage d'une partie aliquote de l'organe (300 mg) dans 1 ml de NaCl (2M) par l'ultraturax (Bioblock scientific, III Kirch, France).

Une quantité déterminée (30 µl) d'étalon interne (acide heptadécanoïque 17 :0, C₁₇H₃₄O₂ dilué dans du benzène à 2mg/ml) est ajoutée.

Après extraction, les acides gras sont :

- Saponifiés avec 1ml de NaOH méthanolique 0.5N, mélangés au vortex et chauffés à 80°C pendant 15 min. La réaction est arrêtée par un choc thermique en mettant les tubes dans de la glace.
- Méthylés en ajoutant 2 ml de BF₃ méthanol (Bromotrifluorométhanol à 14%) (SLOVER et LANZA, 1979). Après mélange au vortex, les tubes sont fermés sous azote, étuvés à 80°C pendant 20 min. La réaction est par la suite arrêtée par un choc thermique. 2 ml de NaCl saturé (35%) et 2 ml d'hexane sont ensuite ajoutés aux tubes. Après passage au vortex, deux phases se forment. La phase supérieure est prélevée pour l'injection dans le chromatographe.
- Analysés par la CPG (chromatographie en phase gazeuse ; Becker instruments, downers grove, IL) ; la colonne capillaire (Applied Sciences Labs, State college, PA) est en pyrex de 50 m de longueur et 0,3 mm de diamètre interne, remplie avec du carbowax 20m (Spiral-RD, Couternon, France). Le chromatographe est équipé d'un injecteur de type ROS et d'un détecteur à ionisation de flamme relié à un intégrateur- calculateur Enica 21 (DELSI instruments, Suresnes, France). L'identification des acides gras est réalisée par comparaison de leur temps de rétention avec ceux des standards d'acides gras (Nucheck-prep, Elysiam, MN, USA). La surface des pics d'acides gras est proportionnelle à leur quantité ; elle est calculée à l'aide d'un intégrateur.

V. Détermination du statut oxydant/antioxydant

V.1. Dosage des vitamines plasmatiques

V.1. 1. Dosage des vitamines A et E

Les vitamines A (rétinol) et E (α tocophérol) sériques, sont analysées sur le plasma des différents groupes de rats par chromatographie liquide haute performance (HPLC) en phase inverse selon la méthode de ZAMAN et al. (1993). Cette méthode permet une analyse quantitative basée sur le fait que l'aire des pics chromatographiques est proportionnelle à la concentration des vitamines A ou E présente dans le sérum, par comparaison au pic de l'étalon interne, Tocol (Lara Spiral, Couternon, France), introduit dans l'échantillon avant l'injection dans le chromatographe.

La phase stationnaire inverse est composée de silice greffée par des chaînes linéaires de 18 atomes de carbones (colonne C18; HP ODS Hypersil C18 ; 200 mm x 4,6 mm; Lara Spiral, maintenance temperature of analytical column, 35°C). La phase mobile est constituée par le mélange méthanol/eau (98/2, V/V), délivrée à un débit constant, 1ml/min grâce à une pompe (Waters 501 HPLC Pomp).

Après précipitation des protéines par l'éthanol et addition de l'étalon interne (5 μ g de tocol pour 200 μ l de plasma), les vitamines A et E, sont extraites du plasma par 2ml d'hexane. La phase supérieure est reprise soigneusement et est évaporée sous vide. Le résidu est repris dans 50 μ l de diethyl éther, et complété avec 150 μ l de la phase mobile méthanol/eau (95/5 ; v/v). Les dosages des vitamines A et E sont réalisés par HPLC équipé d'un détecteur à absorption UV qui permet de détecter le pic correspondant à la vitamine E à 292 nm et celui de la vitamine A à 325 nm.

V.1. 2. Dosage de la vitamine C

La vitamine C plasmatique est dosée selon la méthode de ROE et KUETHER (1943) utilisant le réactif de coloration, le Dinitrophenylhydrazine- Thiourée- Cuivre (DTC) et une gamme étalon d'acide ascorbique.

Après précipitation des protéines plasmatiques par l'acide trichloroacétique (10%) et centrifugation ; 500 µl de surnageant sont mélangés à 100µl de réactif de DTC (acide sulfurique 9 N, contenant 2,4-dinitrophenylhydrazine à 3%, la thiourée à 0,4% et du sulfate de cuivre à 0,05%) et incubés pendant 3 heures à 37°C. La réaction est stoppée par addition de 750µl d'acide sulfurique à 65% (v/v), et la lecture de l'absorbance se fait à 520 nm. L'intensité de la coloration obtenue est proportionnelle à la concentration en vitamine C présente dans l'échantillon. La concentration est déterminée à partir de la courbe étalon obtenue grâce à une solution d'acide ascorbique.

V.2. Détermination du pouvoir antioxydant total du plasma (ORAC)

Le pouvoir antioxydant total du plasma, c'est à dire sa capacité à absorber les radicaux oxygènes libres (ORAC) est estimé par la capacité des hématies à résister à l'hémolyse induite par les radicaux libres in vitro en présence du plasma, selon la méthode de BLACHE et PROST (1992). Cette méthode est basée sur le suivi en fonction du temps de l'hémolyse des globules rouges induite par un générateur de radicaux libres. Il s'agit de soumettre une suspension d'hématies à une agression radicalaire dans des conditions strictement contrôlées et standardisées .Tous les systèmes enzymatiques et chimiques de l'échantillon se mobilisent pour protéger l'intégrité des cellules jusqu'à leur lyse. Ainsi, l'hémolyse se fait graduellement en fonction du temps. La mesure de l'augmentation de l'absorbance à 450 nm toutes les dix minutes permet de suivre la cinétique de l'hémolyse. L'addition d'une quantité déterminée d'un antioxydant, vitamine E (Trolox) ou vitamine C (acide ascorbique) permet de neutraliser une quantité de radicaux libres dans le milieu

d'incubation et permet ainsi la protection des globules rouges contre l'attaque des radicaux libres et l'hémolyse. La courbe de cinétique de lyse des globules rouges est déviée et un décalage de la courbe est observé en fonction du temps. Le plasma contient plusieurs systèmes de défenses antioxydantes et permet aussi la protection des globules rouges contre l'attaque radicalaire. En présence du plasma, un décalage de la courbe de la cinétique d'hémolyse des globules rouges est aussi observé. Le pouvoir antioxydant total du plasma représente la capacité du plasma à neutraliser les radicaux libres générés in vitro (ORAC) et donc à freiner l'hémolyse des globules rouges attaqués, donc indirectement ralentir l'augmentation de la densité optique à 450 nm. Afin de permettre une quantification de ce pouvoir antioxydant total, l'utilisation des antioxydants purifiés (Trolox, Vitamine C) à concentrations connues permet l'étalonnage. Ainsi, une unité ORAC correspond à la surface de protection donnée par 1 μ M Trolox ou 2 μ M Vitamine C (concentration finale). L'ORAC de chaque échantillon de plasma est calculé en mesurant la surface nette de protection sous la courbe cinétique de l'hémolyse.

ORAC échantillon = $(S_{\text{Blanc}} - S_{\text{Echantillon}}) / (S_{\text{Blanc}} - S_{\text{Antiox}})$, où S = aire sous la courbe cinétique de l'hémolyse ; Antiox = Trolox (1 μ M) ou Vitamine (2 μ M).

V.3. Détermination du taux d'hydroperoxydes

Les hydroperoxydes plasmatiques, érythrocytaires et d'homogénats d'organes sont mesurés par l'oxydation d'ions ferriques utilisant le xylénol orange (Fox2 ; kit Peroxoquant méthanol-compatible formulation, Rockford, IL, USA) en conjugaison avec le ROOH réducteur spécifique de la triphenylphosphine (TPP), selon la méthode de NOUROOZ-ZADEH et al. (1996). Cette méthode est basée sur une peroxydation rapide transformant le Fe²⁺ en Fe³⁺ en milieu acide. Les ions Fe³⁺ en présence du xylénol orange [(O-cresolsulfonphthalein-3',3''-bis (methyliminodiacetic acid sodium)], forment un complexe Fe³⁺-xylénol orange.

90 µl de plasma ou de lysat érythrocytaire ou d'homogénat d'organes sont incubés à température ambiante pendant 30 min avec 10 µl de méthanol (pour l'essai), ou 10µl de triphenylphosphine (TPP) (pour le blanc). A ce mélange sont ajoutés 900 µl de réactif Fox (contenant 250 mmol/l de sulfate d'ammonium ferrique, 25 mmol/l de H₂SO₄, 4 mmol/l de BHT et 100 µmol de xylénol orange). Après incubation pendant 30 min et centrifugation à 6000 t/ min pendant 10 min, la lecture se fait à 560 nm.

Le taux d'hydroperoxydes plasmatiques, érythrocytaires ou tissulaires correspond à la différence entre l'absorbance de l'échantillon et l'absorbance du blanc.

V.4. Détermination des protéines carbonylées :

Les protéines carbonylées du plasma ou érythrocytaires ou tissulaires (marqueurs de l'oxydation protéique) sont mesurées par la réaction au 2,4- dinitrophénylhydrazine selon la méthode de LEVINE et al. (1990). 50 µl de plasma ou de lysat ou d'homogénat d'organes sont incubés 1h à température ambiante avec 1 ml de dinitrophénylhydrazine (DNPH) à 2 g/l dans 2 mol/l de HCl ou avec seulement 1 ml de HCl à 2 mol/l pour le blanc. Ensuite, les protéines sont précipitées avec 200 µl d'acide trichloroacétique à 500 g/l (TCA) et lavées 3 fois par l'éthanol: ethylacetate 1:1 (v/v) et 3 fois par le TCA à 100g/l.

Le culot est solubilisé dans 6 mol/l de guanidine.

Les lectures se font à 350, 360 et 375nm. La concentration des groupements carbonylés est calculée selon un coefficient d'extinction ($E = 21,5 \text{ mmol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$).

V.5. Dosage du malondialdehyde (MDA):

Le malondialdehyde (MDA) est le marqueur le plus utilisé en peroxydation lipidique.

Ce dosage est réalisé selon la méthode de NOUROOZ-ZADEH et al. (1996), par un traitement acide à chaud, grâce à l'utilisation de l'acide thiobarbiturique (TBA) à 0,67%.

100µl de plasma ou de lysat érythrocytaire ou d'homogénat d'organes sont incubés 20

minutes à 100°C avec 1ml de TBA à 0,67% et 500µl d'acide trichloroacétique (TCA) à 20%. Après incubation, refroidissement et une centrifugation à 4000t/mn pendant 10 mn ; la lecture est réalisée sur le surnageant qui contient le MDA. Le TBA réagit avec les aldéhydes pour former un produit de condensation chromogénique consistant en 2 molécules de TBA et une molécule de MDA dont l'absorption se fait à 532 nm. La concentration en MDA plasmatique, érythrocytaire ou tissulaire est calculée en utilisant une courbe étalon de MDA ou le coefficient d'extinction du complexe MDA-TBA ($E=1,56 \times 10^5 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$ à 532 nm)

V.6. Oxydation in vitro des lipoprotéines plasmatiques

L'oxydation in vitro des lipoprotéines plasmatiques, induite par les métaux (cuivre), est déterminée par le suivi au cours du temps de la formation des diènes conjugués selon la méthode d'ESTERBAUER et al. (1989). Les diènes sont considérés comme les produits primaires de l'oxydation lipidique et présentent une absorption dans l'ultraviolet à 234 nm. L'addition du CuSO_4 (100µM) au plasma provoque l'oxydation des lipoprotéines plasmatiques qui se traduit in vitro par l'augmentation progressive de la densité optique à 234 nm, après une phase de latence. Cette augmentation de l'absorbance marque la formation de plus en plus importante des diènes conjugués dont la concentration est estimée en utilisant le coefficient d'extinction ($E = 29,50 \text{ mmol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$; à 234 nm). Les variations de l'absorbance des diènes conjugués en fonction du temps permettent de tracer la courbe cinétique où trois phases consécutives sont déterminées : phase de latence, phase de propagation et phase de décomposition. A partir de cette courbe cinétique, plusieurs marqueurs de l'oxydation in vitro des lipoprotéines plasmatiques sont déterminées:

- t (lag)_{min} correspond à la durée de la phase de latence et marque le début de l'augmentation de la densité optique par rapport à la valeur initiale. Le t (lag) permet de d'estimer la résistance des lipoprotéines à l'oxydation in vitro.

- Taux initial des diènes conjugués ($\mu\text{mol/l}$)

- Taux maximum des diènes conjugués ($\mu\text{mol/l}$)

- t (max)_{min} correspond au temps nécessaire pour obtenir l'oxydation maximale. Il marque la fin de la phase de propagation et le début de la phase de décomposition. Il se calcule sur la courbe cinétique en projetant la valeur de densité optique maximale sur l'axe des X (temps exprimé en minutes)

V.7. Détermination de l'activité des enzymes antioxydantes des érythrocytes

Afin de doser ces enzymes, le lysat érythrocytaire est préparé à partir du culot des globules rouges comme précédemment décrit. L'activité de ces enzymes est aussi déterminée sur l'homogénat des organes

V.7.1. Dosage de l'activité de la catalase (CAT ; EC 1.11.1.6)

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. Le milieu réactionnel contient 1ml de surnageant (lysate dilué au 1/500 ou homogénat d'organes), 1 ml d' H_2O_2 , et 1ml de tampon phosphate (50mmol/l, pH 7,0). Après incubation de 5 min, 1 ml du réactif titanium oxyde sulfate (TiOSO_4) (1,7 g dans 500 ml d' H_2SO_4 2N) est ajouté. La lecture se fait à 420 nm. Les concentrations du H_2O_2 restant sont déterminées à partir d'une gamme étalon de H_2O_2 avec le tampon phosphate et le réactif TiOSO_4 de façon à obtenir dans le milieu réactionnel des concentrations de 0,5 à 2 mmol/l.

Le calcul d'une unité d'activité enzymatique est :

$A = \log A_1 - \log A_2$.

A1 est la concentration de H₂O₂ de départ

A2 est la concentration de H₂O₂ après incubation (au bout de 5 min)

L'activité spécifique est exprimée en U/g Hb ou en U/ml.

V.7.2. Dosage de l'activité de la Superoxyde dismutase (SOD ; EC 1.15.1.1)

L'activité de cette enzyme est mesurée selon la méthode de ELSTNER et al. (1983). Le principe est basé sur la réaction chimique qui génère l'ion superoxyde (O²⁻) à partir de l'oxygène moléculaire en présence d'EDTA, de MnCl₂ et du mercaptoéthanol.

L'oxydation du NADPH est liée à la disponibilité des ions superoxyde dans le milieu. Dès que la SOD est ajoutée dans le milieu réactionnel, elle entraîne l'inhibition de l'oxydation du NADPH.

400 µl de réactif (éthanol/ chloroforme ; 62,5/ 37,5 ; v/v) sont ajoutés à 250 µl de lysat ou d'homogénat d'organes, afin de précipiter les protéines. Après centrifugation à 4000 t/min pendant 5 min, le surnageant est récupéré.

Le milieu réactionnel contient 5µl de lysat ou d'homogénat d'organes, 10µl de tampon et 100 µl de réactif 1 (contenant 5 ml de tampon phosphate (0,2 mol/l, pH 7,8), 1 ml d'hydroxylamine chloride (0,69 mg/ml), 1 ml d'antraquinone (0,132 mg/ml) et 1 ml de diaphorase (1mg/ml d'une solution de 15 U/ml)). Le mélange est ensuite incubé avec 10 µl de NADPH pendant 15 min à température ambiante. Puis 100 µl de réactif 2 (contenant 6 ml de sulfanilamide à 10 mg/ml d'HCl à 25% et 6 ml de naphthylethylène diamine à 0,2 mg/ml) sont ajoutés. La lecture se fait à 540 nm, après incubation de 20 min.

La gamme d'activité est réalisée avec la SOD étalon.

V.7.3. Dosage de l'activité de la Glutathion peroxydase (GSH-Px ; EC 1.11.1.9)

L'activité enzymatique est estimée par la méthode de PAGLIA et VALENTINE (1967) modifiée par LAWRENCE et BURK (1976). Le principe de cette méthode est de mesurer

la capacité d'une solution à catalyser l'oxydation du glutathion réduit par l' H_2O_2 . Pour cela, on utilise le recyclage du glutathion par la glutathion réductase. L'oxydation du NADPH qui lui est couplé, est utilisée pour suivre la réaction. La vitesse de formation du GSH est donc mesurée en suivant la diminution de l'absorbance à 340 nm liée à la conversion du NADPH en NADP^+ .

Le milieu réactionnel contient 10 μl de lysat, 150 μl de réactif contenant dans 1 ml de tampon phosphate à 50 mM, pH 7,0 (0,3 mg de glutathion réduit, 1 μl de glutathion réductase à 1 U/l et 0,26 mg de NADPH) et 10 μl de cumène à 1,5 mM. La lecture se fait à 340 nm toutes les 30 sec pendant 10 min.

Une gamme d'activité est nécessaire avec une enzyme d'activité connue. Pour la Glutathion réductase (100U/ 0,22 ml), 6,6 μl de la solution mère sont prélevés et mis dans 3 ml d'eau distillée, soit une solution de 1U/ml. Des dilutions de $1/2 = 500$ U/l à $1/64 = 15,63$ U/l sont effectuées.

Une unité de glutathion peroxydase est égale à 1 μM de NADPH oxydé par min et par mg de protéine.

V.7.4. Dosage de l'activité de la Glutathion réductase (GSSG-Red ; EC 1.6.4.2)

Cette activité enzymatique est déterminée par la mesure du taux de l'oxydation du NADPH en présence du glutathion oxydé (GOLDBERG et SPOONER, 1992).

Le milieu réactionnel contient 13,5 ml de tampon phosphate (0,12 mol/l, pH 7,2 + EDTA 1 mol/l), 0,5 ml de FAD (155 $\mu\text{mol/l}$), 0,5 ml de glutathion oxydé (40 mg/ml), 0,5 ml de DTNB (colorant), 10 μl d'échantillon (lysate), et au bout de 5 min d'incubation, 10 μl de NADPH (9,6 mmol/l dans Na_2HCO_3 à 1%) sont ajoutés au mélange.

L'activité de la glutathion réductase est déterminée en suivant l'oxydation du NADPH et donc par conséquent la disparition du NADPH du milieu réactionnel. Par action de la

glutathion réductase et en présence du NADPH, le glutathion oxydé GSSG est réduit en GSH.

La gamme d'activité est celle de la Glut réductase (100U/ 0,22 ml), à partir des dilutions de $1/2 = 500 \text{ U/l}$ à $1/64 = 15,63 \text{ U/l}$.

La lecture de la densité optique (qui régresse) se fait à 340 nm toutes les 30 sec. L'activité enzymatique est exprimée en unité. Une unité de l'activité de la glutathion réductase est définie comme le taux d'enzyme capable d'oxyder 1mM de NADPH oxydé par min.

VI. Analyse statistique

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm erreur standard. Après analyse de la variance, la comparaison des moyennes est réalisée par le test « t » de student pour les différents groupes :

1- Effet régime cafeteria maternel:

- Mères obèses (régime cafeteria) comparées aux mères témoins (régime standard).
- Progéniture des mères obèses (sevrée au régime standard) comparée à celle des mères témoins (sevrée au régime standard), aux différents temps (J_0, J_{21}, J_{90}).

2- Effet régime cafeteria maternel et post-natal :

- Progéniture des mères obèses (sevrée au régime cafeteria) comparée à celle des mères témoins (sevrée au régime standard).

3- Effet régime cafeteria post-natal :

- Progéniture des mères témoins (sevrée au régime cafeteria) comparée à celle des mères témoins (sevrée au régime standard).
- Progéniture des mères obèses (sevrée au régime cafeteria) comparée à celle des mères obèses (sevrée au régime standard)

Cette analyse est réalisée grâce à un logiciel STATISTICA, version 4.1 (STATSOFT, TULSA, OK). Les différences sont considérées significatives à $P < 0,05$ et hautement significatives à $P < 0,01$.

RESULTATS ET INTERPRETATIONS

Bilans nutritionnels

I. Poids corporel et bilans nutritionnels

I.1. Evolution du poids corporel, consommation alimentaire et apport énergétique

I.1.1. Chez les mères témoins et obèses (fig 13 et Tableau A1 en annexe)

Le poids corporel des rates obèses nourries au régime cafeteria à la mise bas (J_0) et à la fin de la lactation (J_{21}) est significativement plus élevé que celui des rates témoins nourries au régime standard. La nourriture ingérée (exprimée en g/j/rat) est significativement élevée chez les rates obèses à J_0 par rapport aux témoins. Par contre à J_{21} , aucune différence n'est notée entre les deux groupes.

Quand à l'apport énergétique, une augmentation significative est notée chez le groupe obèse, à J_0 et à J_{21} , comparé au groupe témoin ($p < 0.01$).

I.1.2. Chez les rats témoins et obèses (progéniture) (fig 14 et Tableau A2 en annexe)

Le poids corporel des nouveaux-nés obèses (ORS et ORC), à la naissance (J_0) et au sevrage (J_{21}) est significativement plus élevé que celui des nouveaux-nés témoins (TRS et TRC).

A l'âge adulte (J_{90}), les rats obèses nourris au sevrage au régime standard (ORS) présentent un poids corporel significativement plus élevé que celui des rats témoins nourris au régime standard. Le régime cafeteria consommé au sevrage induit une élévation significative du poids corporel chez les rats témoins (TRC) et chez les rats obèses (ORC). Ainsi, à J_{90} , les rats consommant le régime cafeteria qu'ils soient témoins ou obèses présentent le même poids corporel. En outre, la nourriture ingérée à l'âge adulte (J_{90}) est augmentée significativement chez les rats obèses (ORS et ORC) par rapport aux témoins (TRS). Le régime cafeteria provoque une augmentation de la consommation alimentaire aussi bien chez les rats témoins (TRC) que chez les rats obèses (ORC). Une augmentation significative (exprimée en Kcal/j/rat) est notée de l'apport énergétique. Chez les rats adultes obèses (ORS et ORC) par rapport aux rats témoins (TRS). L'apport énergétique est plus élevé chez les rats adultes consommant le régime cafeteria, qu'ils soient témoins (TRC) ou obèses (ORC).

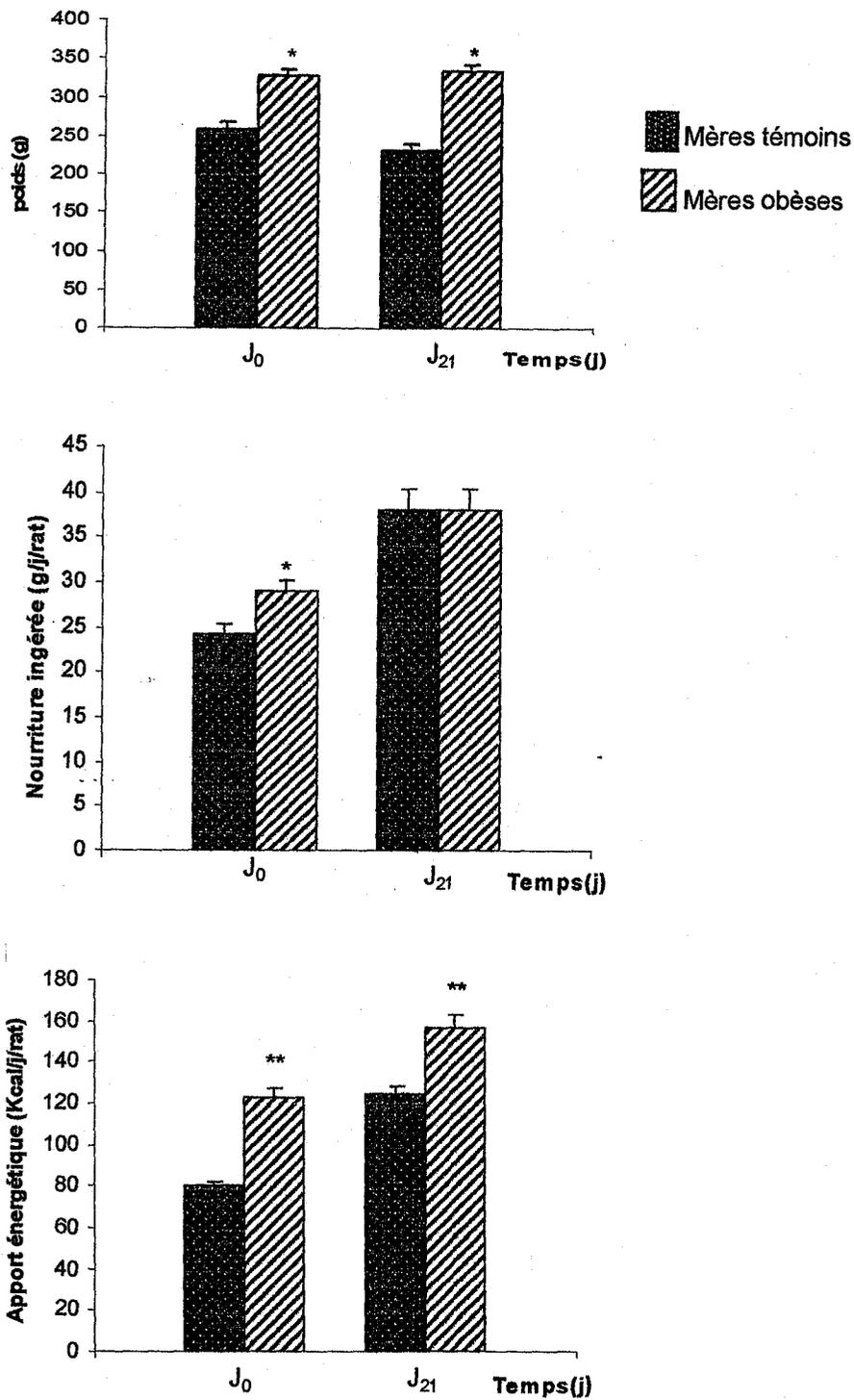


Fig 13 : Evolution du poids corporel, de la nourriture ingérée et de l'apport énergétique chez les mères témoins et obèses

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES, n=6. Les rates témoins sont nourries au régime standard, alors que les rates obèses sont nourries au régime cafeteria. J₀: jour de la mise bas; J₂₁: fin de la lactation. La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de student après analyse de variance

Obèses comparés aux témoins, au même âge : *p<0,05; **p<0,01

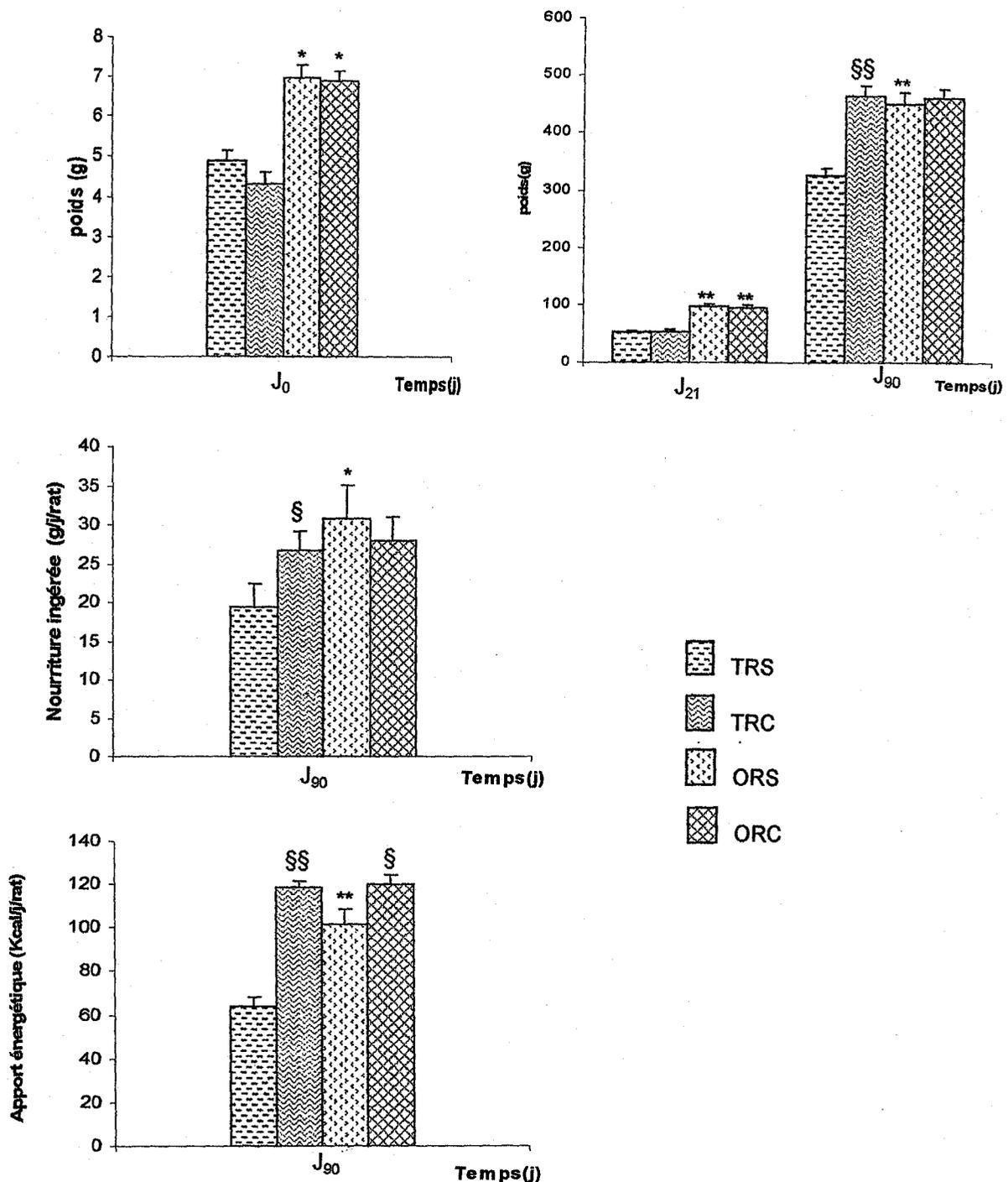


Fig 14 : Evolution du poids corporel , de la nourriture ingérée et de l'apport énergétique chez les rats témoins et obèses (progéniture).
 Chaque valeur représente la moyenne \pm ES, n=6. TRS: rats témoins nourris au régime standard au sevrage; TRC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage; ORS: rats obèses nourris au régime standard au sevrage; ORC: rats obèses nourris au régime cafeteria au sevrage. J₀: naissance; J₂₁: vingt et un jours de vie post-natale, qui correspond au sevrage, J₉₀: trois mois de la vie post-natale, qui correspond à l'âge adulte. La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de student après analyse de variance
 Obèses comparés aux témoins au même âge et au même régime (ORS versus TRS ou ORC versus TRC) : *p<0,05; **p<0,01
 Régime cafeteria comparé au régime standard dans le même groupe (TRC versus TRS ou ORC versus ORS) : \$p<0,05; \$\$p<0,01

I.2. Bilans nutritionnels

I.2.1. Poids corporel, consommation alimentaire et apport énergétique chez les rats nés de rates témoins ou obèses au cours des bilans nutritionnels (fig 15 et Tableau A3)

Au sevrage (J₂₁), les rats témoins ou obèses sont séparés de leurs mères et consomment soit le régime standard (TRS ; ORS) ou le régime cafeteria (TRC ; ORC). Après une semaine d'adaptation, les bilans nutritionnels commencent à J₃₀ et se terminent à J₉₀.

De BI (30^{ème} -37^{ème} j) à BIV (83^{ème} -90^{ème} j), le poids corporel est significativement élevé chez les obèses nourris au régime standard (ORS) comparés aux témoins du même régime (TRS). D'autre part, les variations du poids corporel entre les obèses nourris au régime cafeteria (ORC) et les témoins du même régime (TRC) ne sont pas significatives à l'exception de l'augmentation significative notée au BI.

Au cours des bilans II (53^{ème} -60^{ème} j), III (60^{ème} -67^{ème} j) et IV (83^{ème} -90^{ème} j), une élévation du poids corporel est notée chez les témoins recevant le régime cafeteria (TRC) comparés aux témoins recevant régime standard (TRS).

La consommation alimentaire augmente significativement chez les obèses ORS par rapport à leurs témoins TRS et chez les témoins TRC par rapport aux témoins TRS, quelque soit le bilan.

Quand à l'apport énergétique, une différence est notée entre les différents groupes quelque soit le type de régime ; en effet, une élévation est observée chez les obèses ORS comparés aux témoins du même régime (TRS), chez les témoins TRC par rapport aux témoins TRS et chez les obèses ORC par rapport aux obèses ORS.

I.2.2. Azote ingéré et excrété (fig 16 et Tableau A4 en annexe)

■ **Azote ingéré** : Une augmentation significative de l'azote ingéré (exprimé en mg/j/rat) est notée avec l'âge des animaux (de BI à BIV). L'azote ingéré est plus élevé ($p < 0.01$) chez les rats obèses comparés aux rats témoins du même régime (ORS/TRS) et chez les rats témoins

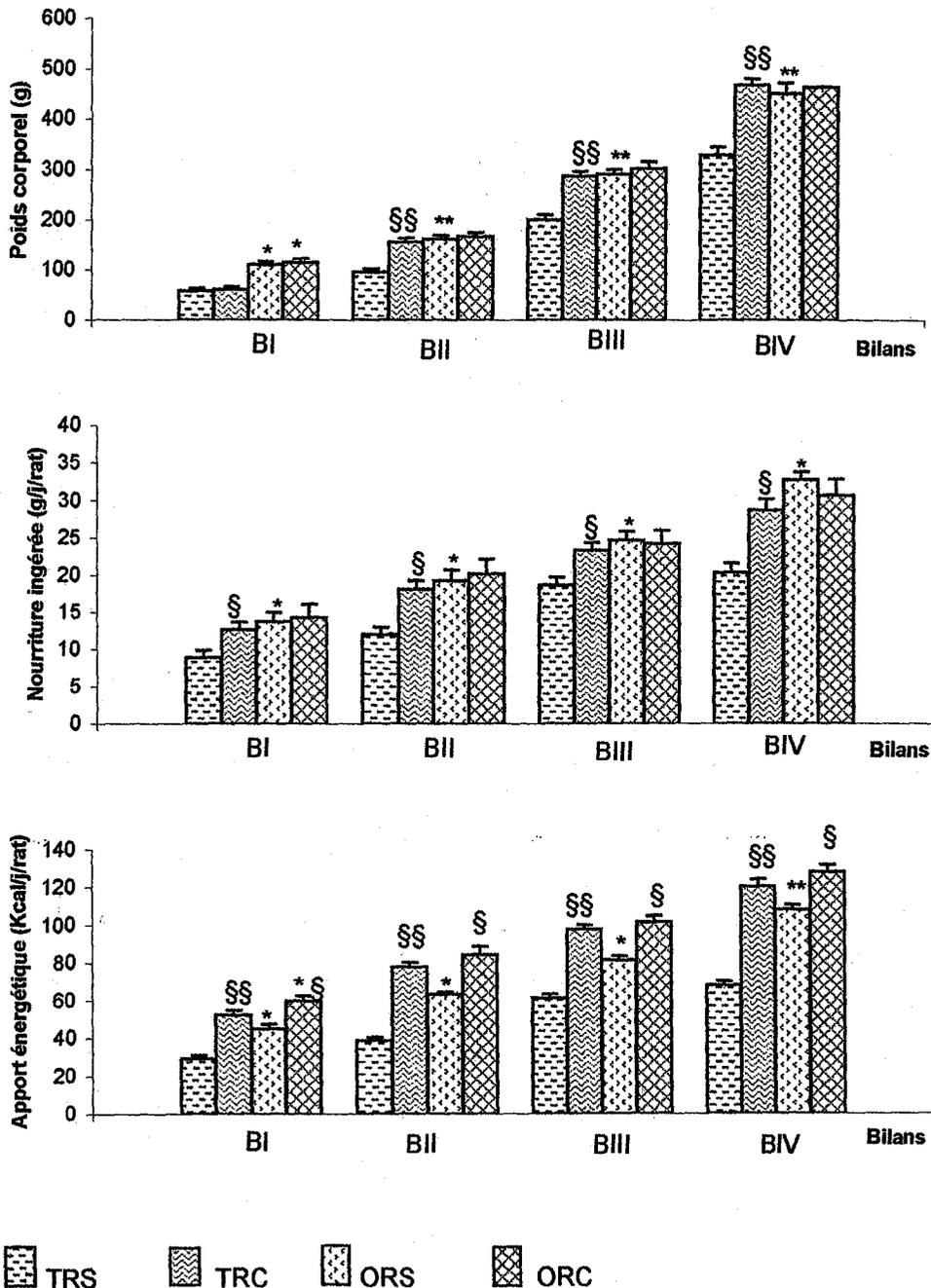


Fig 15 : Poids corporel, nourriture ingérée et apport énergétique au cours des bilans nutritionnels chez les rats mâles témoins et obèses

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES, n=6. TRS: rats témoins nourris au régime standard au sevrage; TRC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage; ORS: rats obèses nourris au régime standard au sevrage; ORC: rats obèses nourris au régime cafeteria au sevrage; BI: 30^{ème}-37^{ème} j; BII: 53^{ème}-60^{ème} j; BIII: 60^{ème}-67^{ème} j; BIV: 83^{ème}-90^{ème} j de l'expérimentation. La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance

Obèses comparés aux témoins, au même bilan et au même régime (ORS versus TRS ou ORC versus TRC) : *p<0,05; **p<0,01

Régime cafeteria comparé au régime standard dans le même groupe (TRC versus TRS ou ORC versus ORS) : §p<0,05; §§p<0,01

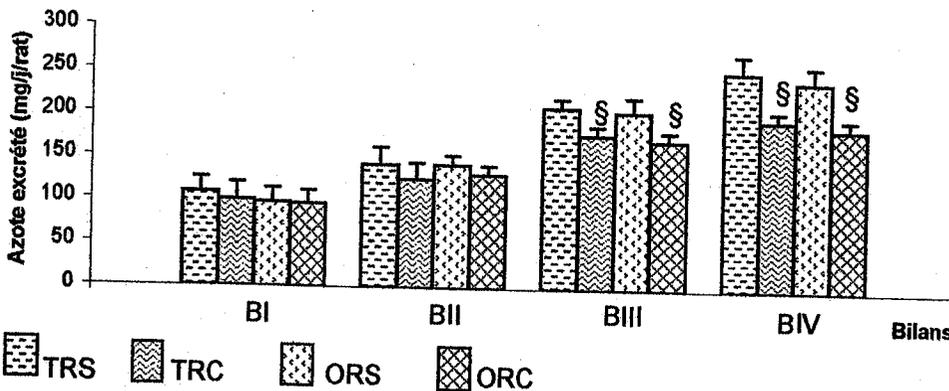
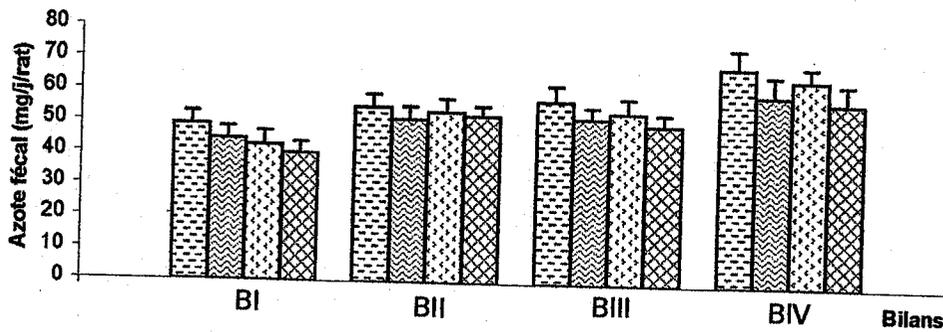
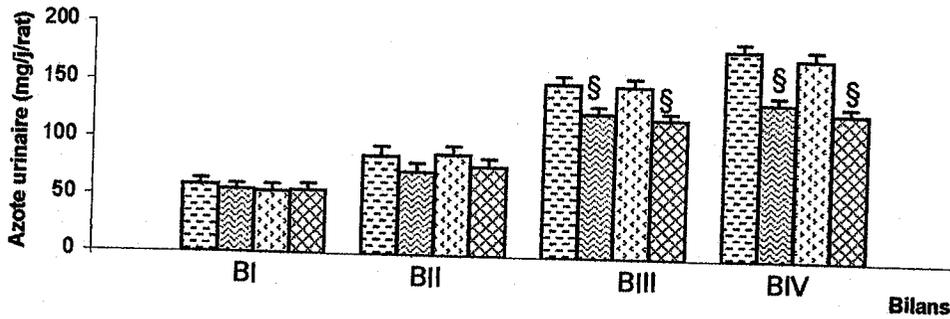
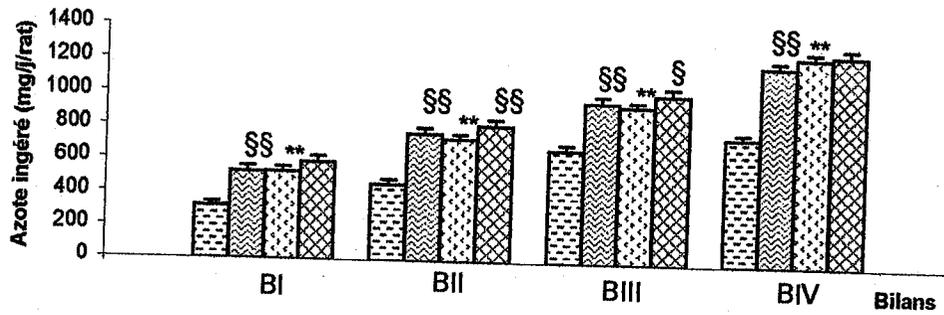


Fig 16: Azote ingéré, urinaire, fécal et excrété au cours des bilans nutritionnels chez les rats mâles témoins et obèses

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES, n=6. TRS: rats témoins nourris au régime standard au sevrage; TRC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage; ORS: rats obèses nourris au régime standard au sevrage; ORC: rats obèses nourris au régime cafeteria au sevrage; BI: 30^{ème}-37^{ème} j; BII: 53^{ème}-60^{ème} j; BIII: 60^{ème}-67^{ème} j; BIV: 83^{ème}-90^{ème} j de l'expérimentation. La comparaison des moyennes est effectuée pare test "t" de Student après analyse de variance

Obèses comparés aux témoins, au même bilan et au même régime (ORS versus TRS ou ORC versus TRC) : *p<0,05; **p<0,01

Régime cafeteria comparé au régime standard dans le même groupe (TRC versus TRS ou ORC versus ORS) : §p<0,05; §§p<0,01

nourris au régime cafeteria (TRC) par rapport au régime standard (TRS) aux différents bilans. Les rats obèses recevant le régime cafeteria (ORC) présentent un taux d'azote ingéré plus élevé que celui des rats du même groupe nourris au régime standard (ORS) et cela à BII et BIII. Cette évolution est proportionnelle à la nature du régime consommé.

■ **Azote excrété :** Aux bilans I et II, aucune différence significative de l'azote excrété (urinaire et fécal) n'est observée entre les rats obèses comparés aux rats témoins quelque soit le régime consommé. Aux bilans BIII et BIV, une diminution significative de l'azote excrété est notée d'une part dans le même groupe entre les témoins nourris au régime cafeteria (TRC) et les témoins du régime standard (TRS), d'autre part, entre les obèses nourris au régime cafeteria (ORC) comparés aux obèses standard (ORS).

L'évolution de l'azote fécal et urinaire est similaire à celle de l'azote excrété aux différents bilans.

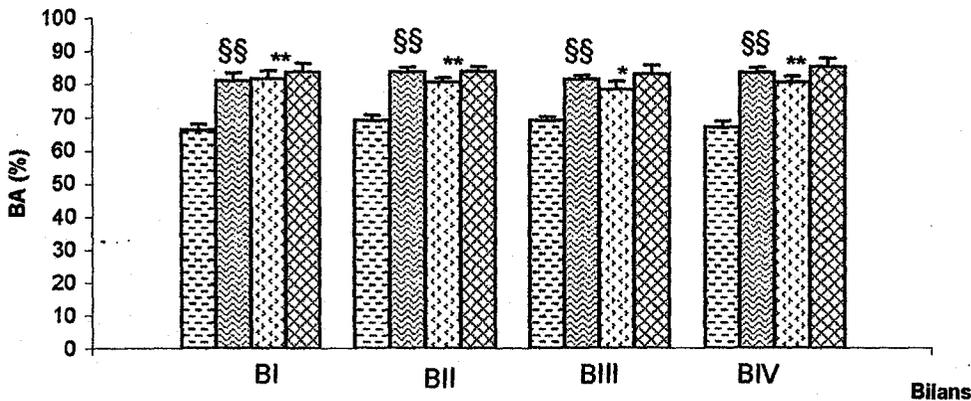
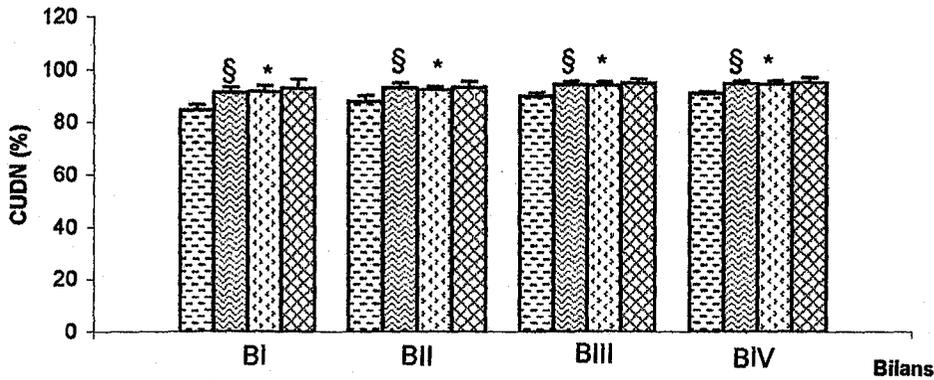
I.2.3. Coefficient d'utilisation digestive apparente de l'azote (CUD_N) et bilan azoté (BA) (fig 17 et Tableau A5 en annexe)

Aux bilans BI, B II, B III et B IV, les CUD_N et BA sont élevés chez les rats obèses comparés à leurs témoins. En effet, une augmentation significative du CUD_N et du BA est notée chez les rats obèses soumis au régime cafeteria (ORC) comparés aux rats témoins nourris au régime standard (TRS) et chez les rats témoins recevant le régime cafeteria (TRC) par rapport aux témoins régime standard (TRS).

Les rats consommant le régime cafeteria, qu'ils soient témoins (TRC) ou obèses (ORC) présentent des CUD_N et BA similaires aux différents bilans.

I.2.4. Lipides ingérés et fécaux et coefficient d'utilisation digestive apparente des lipides (CUD_L) (fig 18 et Tableau A6 en annexe)

Les quantités de lipides ingérés par les rats obèses recevant le régime standard ou cafeteria (mg/j/rat) sont significativement élevées par rapport à leurs témoins respectifs aux différents



 TRS
  TRC
  ORS
  ORC

Fig17: Coefficient d'utilisation digestive apparente (CUD_N) et bilan azoté au cours des bilans nutritionnels chez les rats mâles témoins et obèses

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES, n=6. TRS: rats témoins nourris au régime standard au sevrage; TRC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage; ORS: rats obèses nourris au régime standard au sevrage; ORC: rats obèses nourris au régime cafeteria au sevrage; BI: 30^{ème}-37^{ème} j; BII: 53^{ème}-60^{ème} j; BIII: 60^{ème}-67^{ème} j; BIV: 83^{ème}-90^{ème} j de l'expérimentation. La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance

Obèses comparés aux témoins, au même bilan et au même régime (ORS versus TRS ou ORC versus TRC) : *p<0,05; **p<0,01

Régime cafeteria comparé au régime standard dans le même groupe (TRC versus TRS ou ORC versus ORS) : §P<0,05; §§p<0,01

bilans (ORS versus TRS et ORC versus TRC). Le régime cafeteria comparé au régime standard est associé à une augmentation des teneurs en lipides ingérés (TRC par rapport aux TRS et ORC par rapport aux ORS).

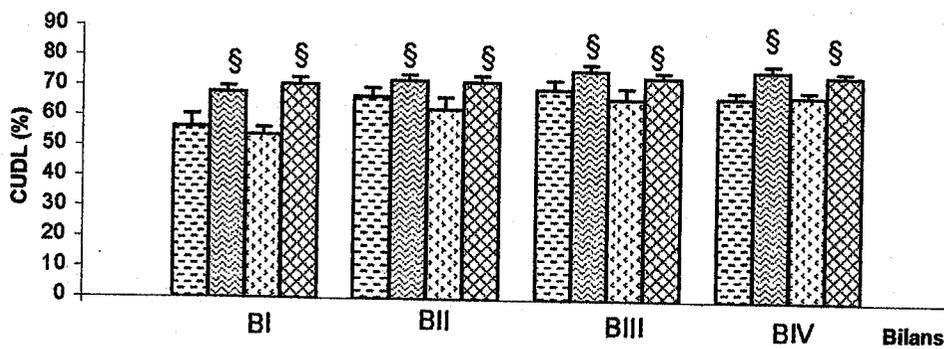
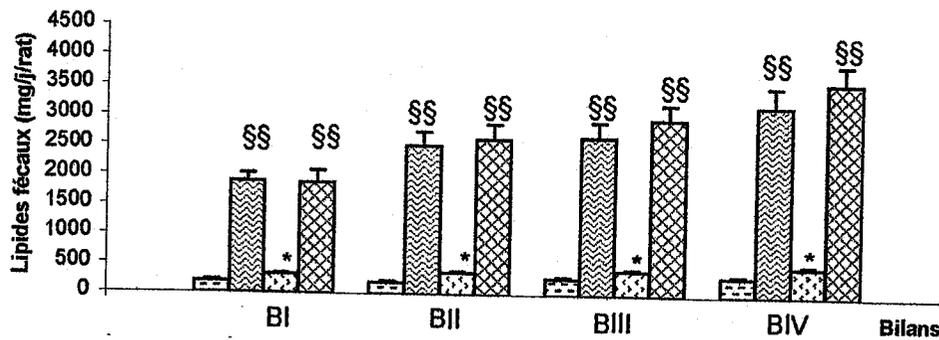
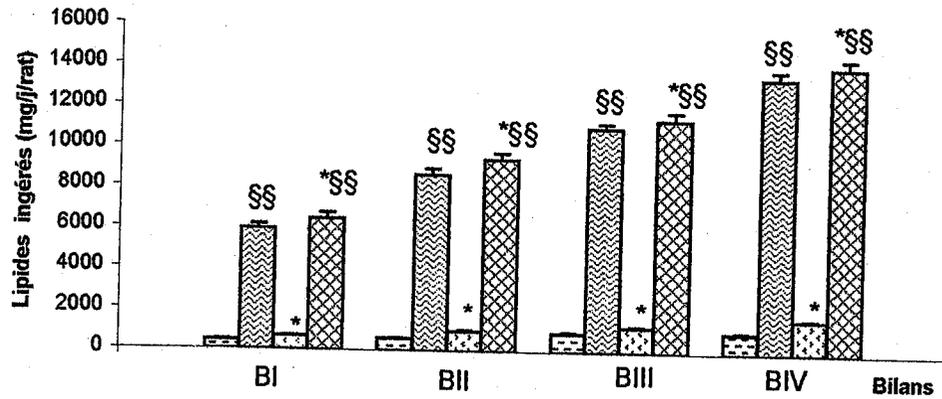
Du bilan BI à BIV, l'excrétion fécale des lipides (mg/j/rat) est significativement élevée chez les rats obèses consommant le régime standard comparés aux rats témoins du même régime. Chez les rats consommant le régime cafeteria comparés à ceux soumis au régime standard, obèses ou témoins, les taux des lipides fécaux sont très élevés (TRC par rapport aux TRS ; ORC par rapport aux ORS).

Ainsi, aux quatre bilans, les CUD_L chez les rats obèses nourris au régime cafeteria sont plus élevés que ceux des rats obèses consommant le régime standard. La même variation est notée chez les rats témoins nourris au régime cafeteria par rapport aux rats témoins nourris au régime standard.

I.2.5. Teneurs urinaires en urée et créatinine (fig 19 et Tableau A7 en annexe)

Les teneurs en urée au niveau des urines sont significativement diminuées chez les rats recevant le régime cafeteria par rapport à ceux recevant le régime standard dans le groupe témoin et obèse, aux quatre bilans.

Aucune différence n'est notée pour la créatinine urinaire chez tous les groupes de rats, et quelque soit le bilan.



 TRS
  TRC
  ORS
  ORC

Fig 18 :Lipides ingérés et fécaux et coefficient d'utilisation digestive apparente des lipides (CUD_L)

au cours des bilans nutritionnels chez les rats mâles témoins et obèses

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES, n=6. TRS: rats témoins nourris au régime standard au sevrage; TRC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage; ORS: rats obèses nourris au régime standard au sevrage; ORC: rats obèses nourris au régime cafeteria au sevrage; BI: 30^{ème}-37^{ème} j; BII: 53^{ème}-60^{ème} j; BIII: 60^{ème}-67^{ème} j; BIV: 83^{ème}-90^{ème} j de l'expérimentation. La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance

Obèses comparés aux témoins, au même bilan et au même régime (ORS versus TRS ou ORC versus TRC):

*p<0,05; **p<0,01

Régime cafeteria comparé au régime standard dans le même groupe (TRC versus TRS ou ORC versus ORS): §P<0,05; §§p<0,01

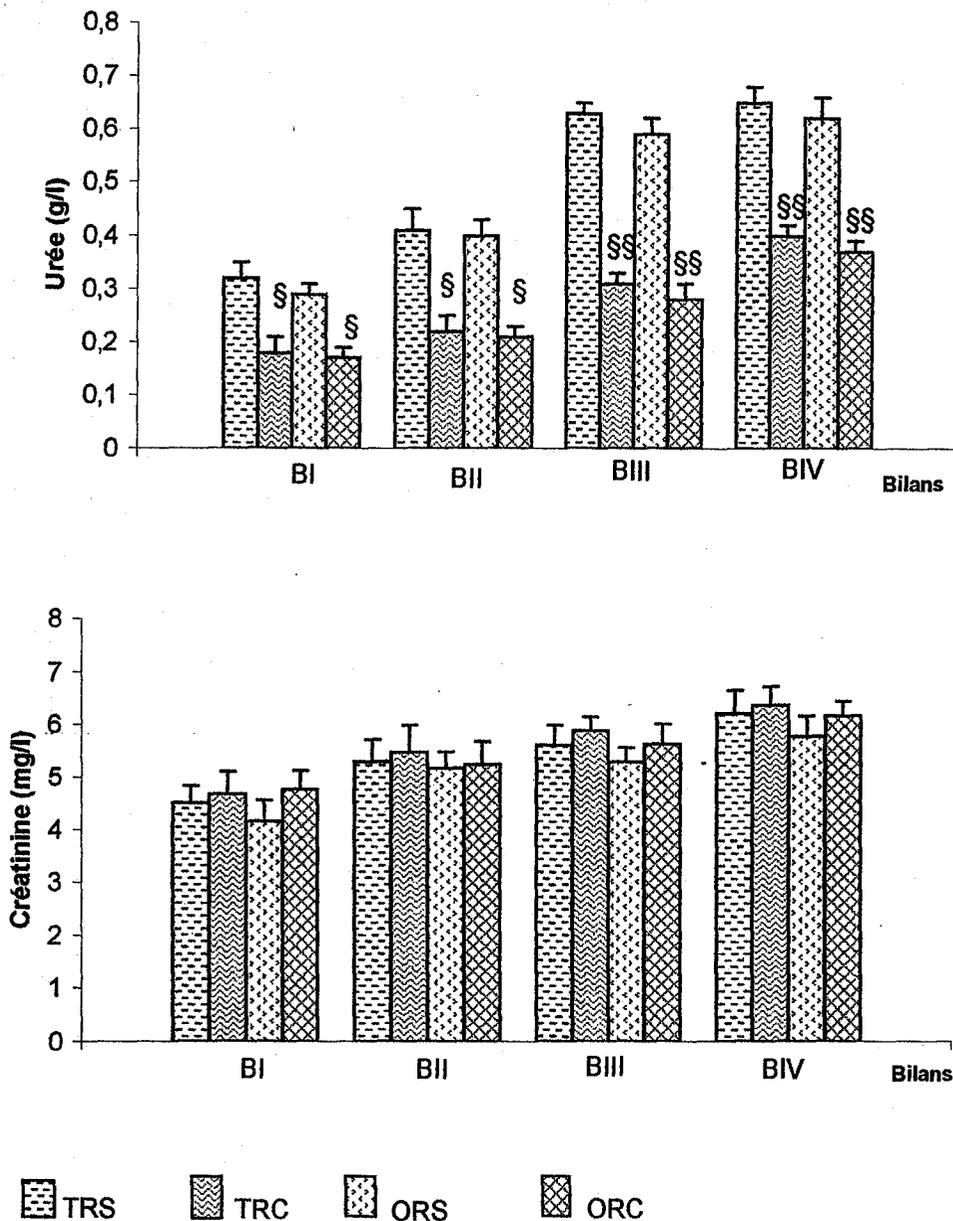


Fig 19 : Teneurs urinaires en urée et créatinine au cours des bilans nutritionnels chez les rats mâles témoins et obèses
 Chaque valeur représente la moyenne \pm ES, n=6. TRS: rats témoins nourris au régime standard au sevrage; TRC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage; ORS: rats obèses nourris au régime standard au sevrage; ORC: rats obèses nourris au régime cafeteria au sevrage; BI: 30^{ème}-37^{ème} j; BII: 53^{ème}-60^{ème} j; BIII: 60^{ème}-67^{ème} j; BIV: 83^{ème}-90^{ème} j de l'expérimentation. La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance
 Obèses comparés aux témoins, au même bilan et au même régime (ORS versus TRS ou ORC versus TRC): *p<0,05; **p<0,01
 Régime cafeteria comparé au régime standard dans le même groupe (TRC versus TRS ou ORC versus ORS): §P<0,05; §§p<0,01

Métabolisme du glucose, des lipides et des lipoprotéines

I. Teneurs sériques en glucose, insuline et leptine (fig 20 et Tableau A8 et A9 en annexe)

I.1. Chez les mères témoins et obèses

A la mise bas (J_0) et à la fin de la lactation (J_{21}), une augmentation significative des teneurs sériques en glucose, en insuline et en leptine est observée chez les rates obèses comparées aux rates témoins au même âge.

I.2. Chez les rats témoins et obèses (progéniture)

A la naissance et jusqu'au sevrage (J_{21}) les rats obèses sont hyperglycémiques, hyperinsulinémiques et hyperleptinémiques comparés aux rats témoins. Ces élévations sont maintenues jusqu'à l'âge adulte chez les rats obèses. Une augmentation significative de la glycémie, de l'insulinémie et de la leptinémie est notée chez les rats témoins nourris au régime cafeteria comparés aux rats témoins nourris au régime standard. Le régime cafeteria n'accentue pas les altérations chez les obèses puisque les obèses nourris au régime cafeteria présentent des teneurs en glucose, insuline et leptine similaires à celles obèses nourris au régime standard.

II. Teneurs en lipides du sérum et des lipoprotéines

II.1. Chez les mères (fig 21 et 22 ; Tableau A10 en annexe)

Les lipides du sérum et des lipoprotéines chez les mères obèses présentent des variations comparées aux valeurs témoins. En effet, les rates obèses sous régime cafeteria montrent une hypercholestérolémie aux différents temps (J_0 et J_{21}) par rapport aux rates témoins. Cette élévation concerne également le C-VLDL et le C-LDL-HDL₁; alors que le C-HDL₂-HDL₃ n'indique aucune variation.

Les teneurs en triglycérides sériques et lipoprotéiques montrent une augmentation à J_0 et J_{21} chez les rates obèses comparées à leurs témoins, à l'exception des teneurs en TG de HDL₂-HDL₃ qui ne présentent pas de modifications.

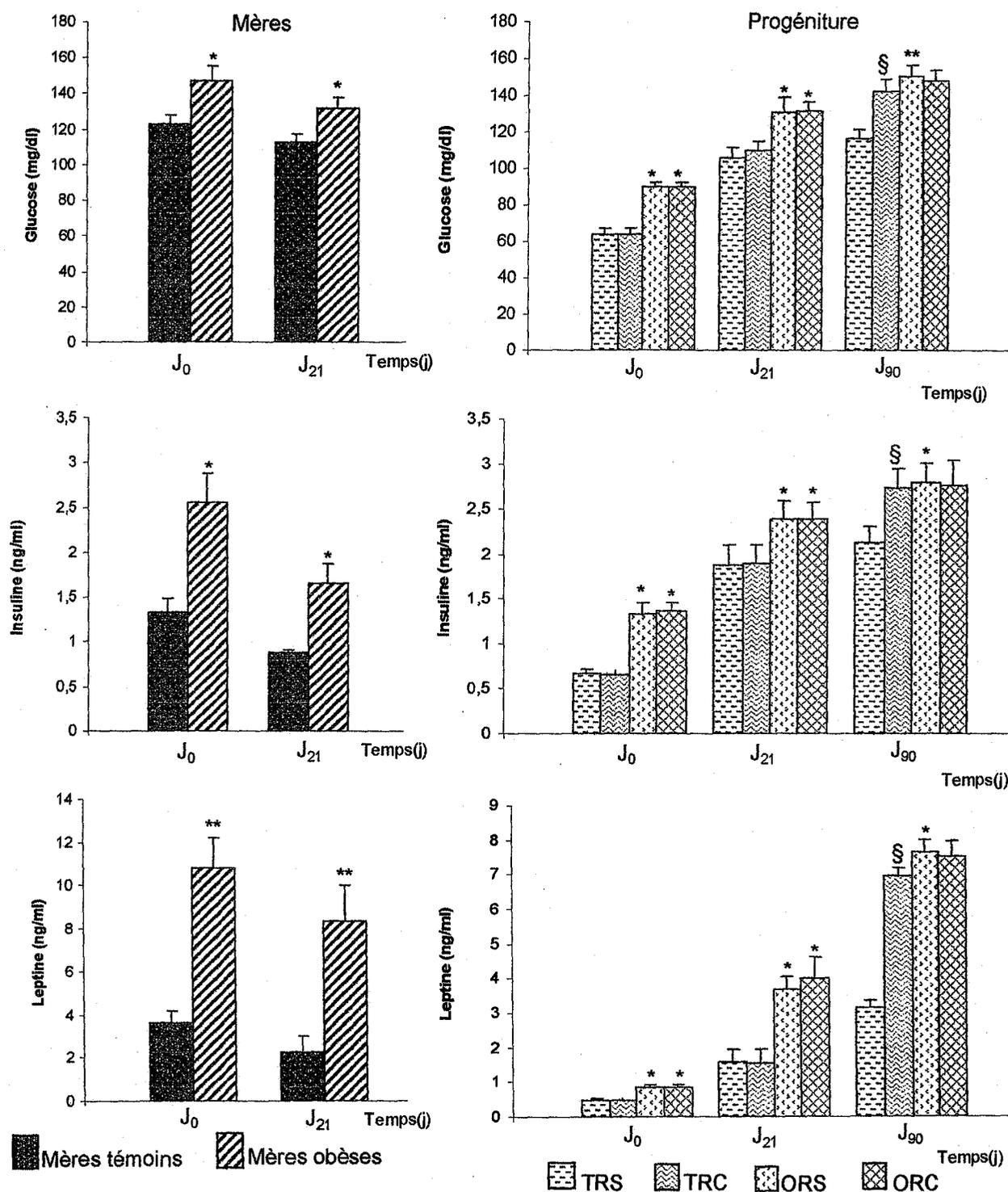


Fig 20: Teneurs sériques en glucose, insuline et leptine chez les mères témoins et obèses et chez leurs progénitures.

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES, n=6 Les rats témoins sont nourris au régime standard; les rats obèses sont nourris au régime cafeteria; TRS: rats témoins nourris au régime standard au sevrage; TRC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage; ORS: rats obèses nourris au régime standard au sevrage; ORC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage. J₀: jour de la mise bas; J₂₁: fin de la lactation qui correspond au sevrage; J₉₀: trois mois de la vie post-natale, qui correspond à l'âge adulte. La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance. Obèses comparés aux témoins au même âge: *p<0,05; **p<0,01 Régime cafeteria comparé au régime standard dans le même groupe (TRC versus TRS ou ORS versus ORC) : §p<0,05

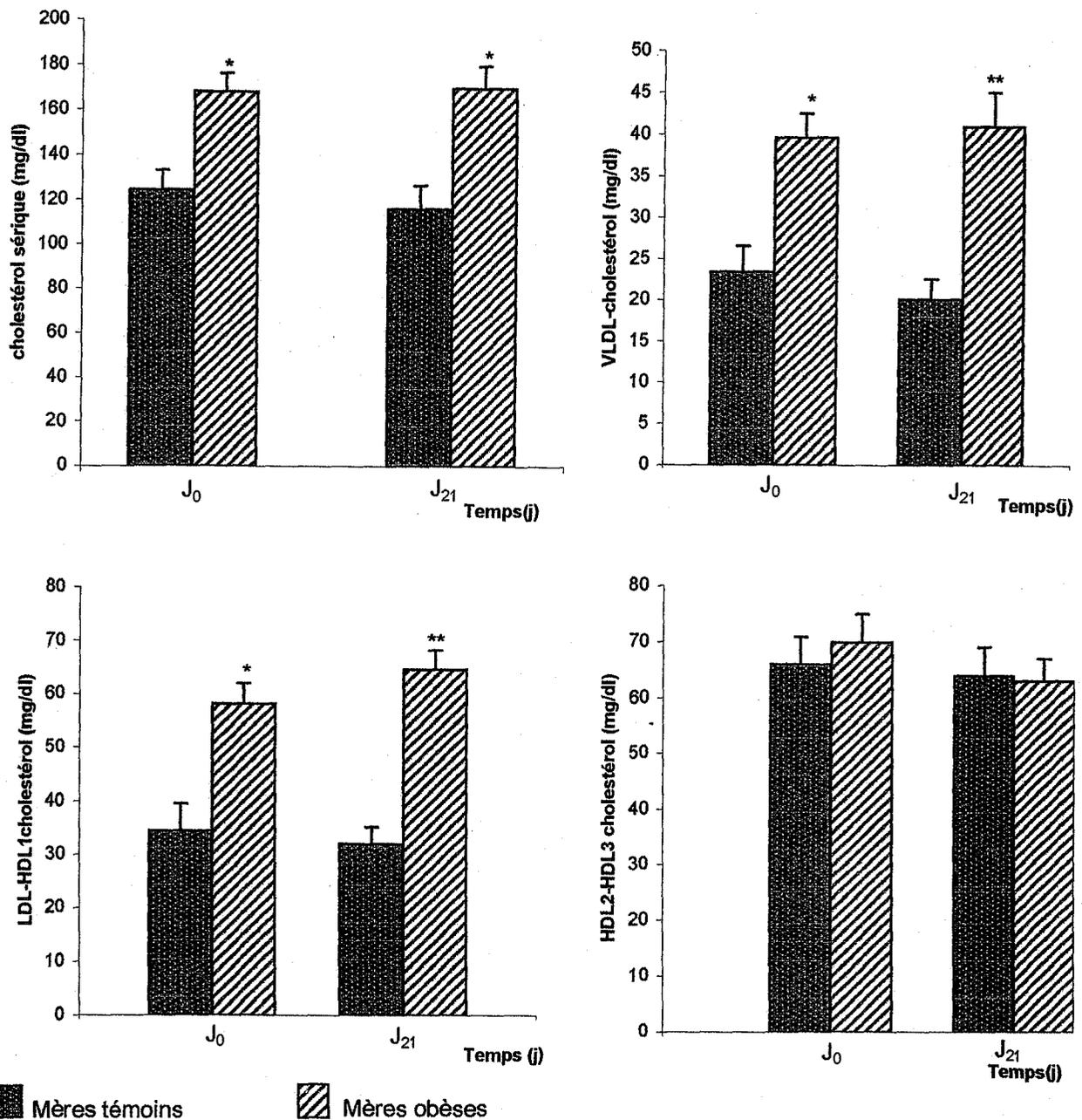


Fig 21: Teneurs en cholestérol du sérum et des lipoprotéines chez les rates mères témoins et obèses. Chaque valeur représente la moyenne \pm ES, n=6. Les rates témoins sont nourries au régime standard; les rates obèses sont nourries au régime cafeteria; J₀: jour de la mise bas; J₂₁: fin de la lactation. La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance. Obèses comparés aux témoins, au même âge: *p<0,05; **p<0,01

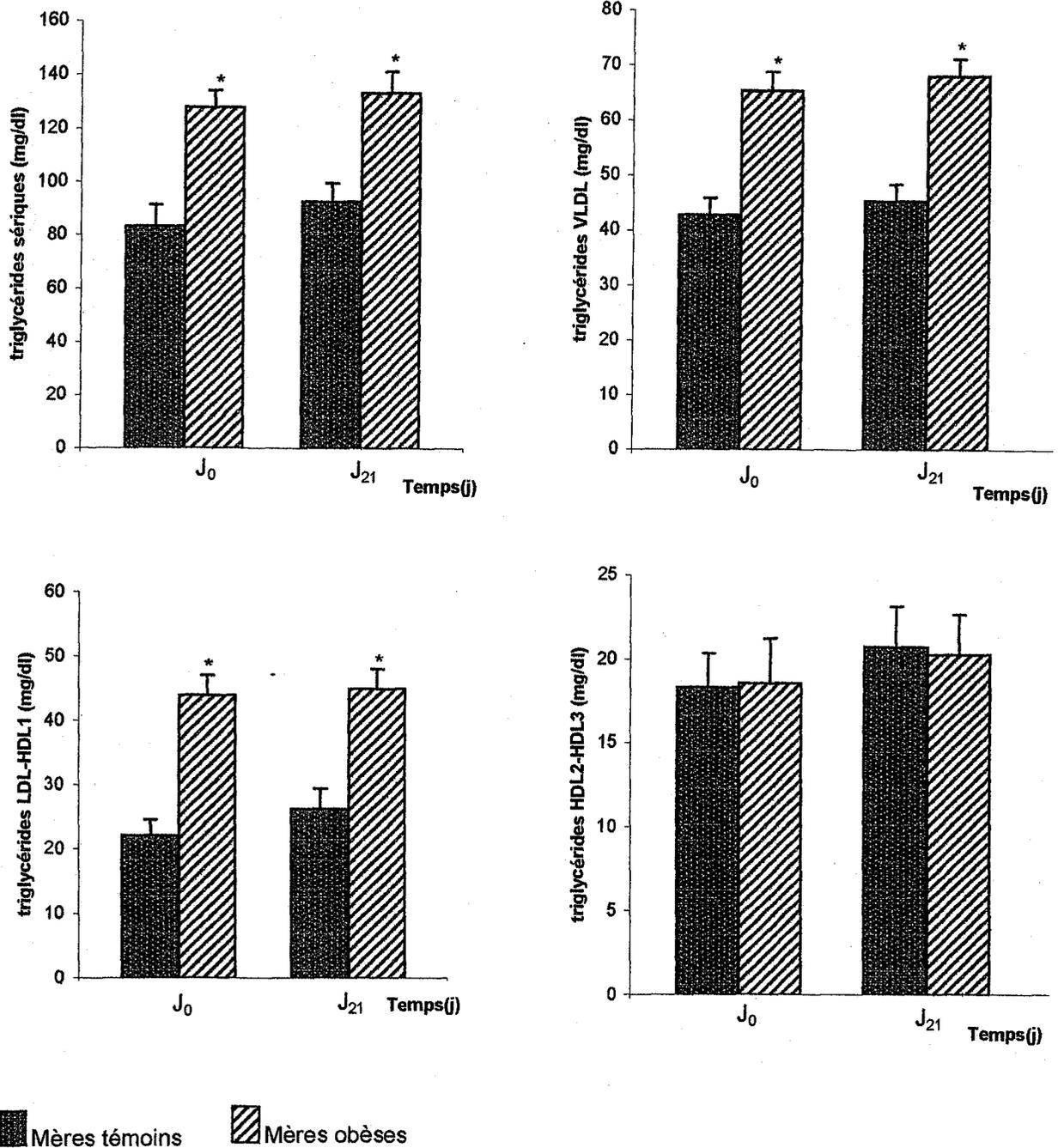


Fig 22: Teneurs en triglycérides du sérum et des lipoprotéines chez les rates mères témoins et obèses. Chaque valeur représente la moyenne \pm ES, n=6. Les rates témoins sont nourries au régime standard; les rates obèses sont nourries au régime cafeteria; J₀: jour de la mise bas; J₂₁: fin de la lactation. La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance.

Obèses comparés aux témoins, au même âge: *p<0,05; **p<0,01

II.2. Chez la progéniture (fig 23 et 24 ; Tableau A11 et A12 an annexe)

Les variations des teneurs en lipides sériques et lipoprotéiques sont similaires à celles de leurs mères. Une hypercholestérolémie est notée chez les rats obèses nourris au régime standard (ORS) aux temps J_0 , J_{21} et J_{90} , et chez les rats obèses nourris au régime cafeteria à J_0 et J_{21} comparés à leurs témoins respectifs ; de même une augmentation du CT est notée au niveau du sérum des rats témoins régime cafeteria par rapport aux témoins régime standard à J_{90} .

A J_0 , J_{21} et J_{90} , le C-VLDL augmente significativement chez les rats obèses nourris au régime standard et cafeteria comparés à leurs témoins respectifs.

Une élévation des teneurs en C-LDL-HDL₁ est notée chez les rats obèses nourris au régime standard (ORS) aux différents temps et chez les rats obèses nourris au régime cafeteria (ORC) à J_0 et J_{21} par rapport à leurs témoins respectifs. Le régime cafeteria donné aux rats témoins entraîne une augmentation des teneurs en C-VLDL et C-LDL-HDL₁ à J_{90} par rapport aux témoins nourris au régime standard.

Quand au C-HDL₂ -HDL₃, une augmentation significative est notée chez les rats obèses comparés aux rats témoins à la naissance (J_0). Cependant à J_{90} , une réduction significative du C-HDL₂ -HDL₃ est notée chez les rats obèses sous régime standard (ORS) comparés à leurs témoins (TRS) et aux rats obèses sous régime cafeteria (ORC).

Les teneurs en TG sériques et lipoprotéiques (TG-LDL-HDL₁, TG-HDL₂ -HDL₃) chez les rats obèses recevant le régime standard (ORS) montrent une augmentation significative aux différents temps comparés aux valeurs des rats témoins (TRS). Pour les rats obèses nourris au régime cafeteria (ORC), l'augmentation des teneurs en TG sériques et lipoprotéiques est notée à J_0 et J_{21} par rapport à leurs témoins (TRC). Le régime cafeteria provoque une élévation des taux de TG sériques et lipoprotéiques (VLDL, LDL-HDL₁ et HDL₂ -HDL₃) à J_{90} chez les rats témoins (TRC) comparé au régime standard (TRS). Les rats obèses adultes sous régime cafeteria présentent des teneurs en triglycérides semblables à celles des rats

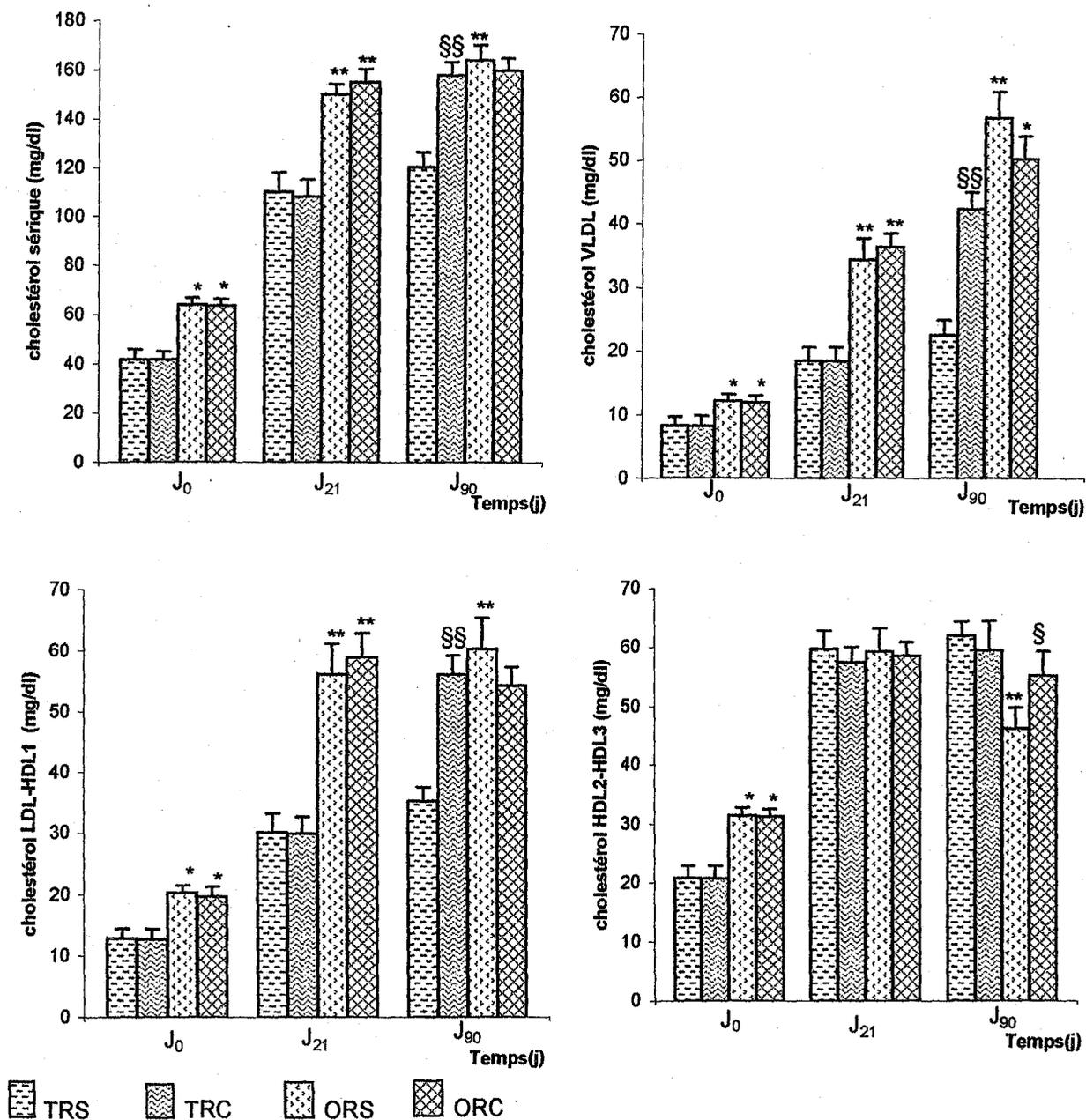


Fig 23: Teneurs en cholestérol total du sérum et des lipoprotéines chez les rats témoins et obèses (progéniture)

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES, n=6. TRS: rats témoins nourris au régime standard au sevrage; TRC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage; ORS: rats obèses nourris au régime standard au sevrage; ORC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage. J₀: naissance; J₂₁: vingt et un jours de vie post-natale, qui correspond au sevrage; J₉₀: trois mois de la vie post-natale, qui correspond à l'âge adulte. La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance.

Obèses comparés aux témoins, au même régime et au même régime (ORS versus TRS ou ORC versus TRC) : *p<0,05; **p<0,01

Régime cafeteria comparé au régime standard dans le même groupe (TRC versus TRS ou ORC versus ORS) : §p<0,05; §§p<0,01

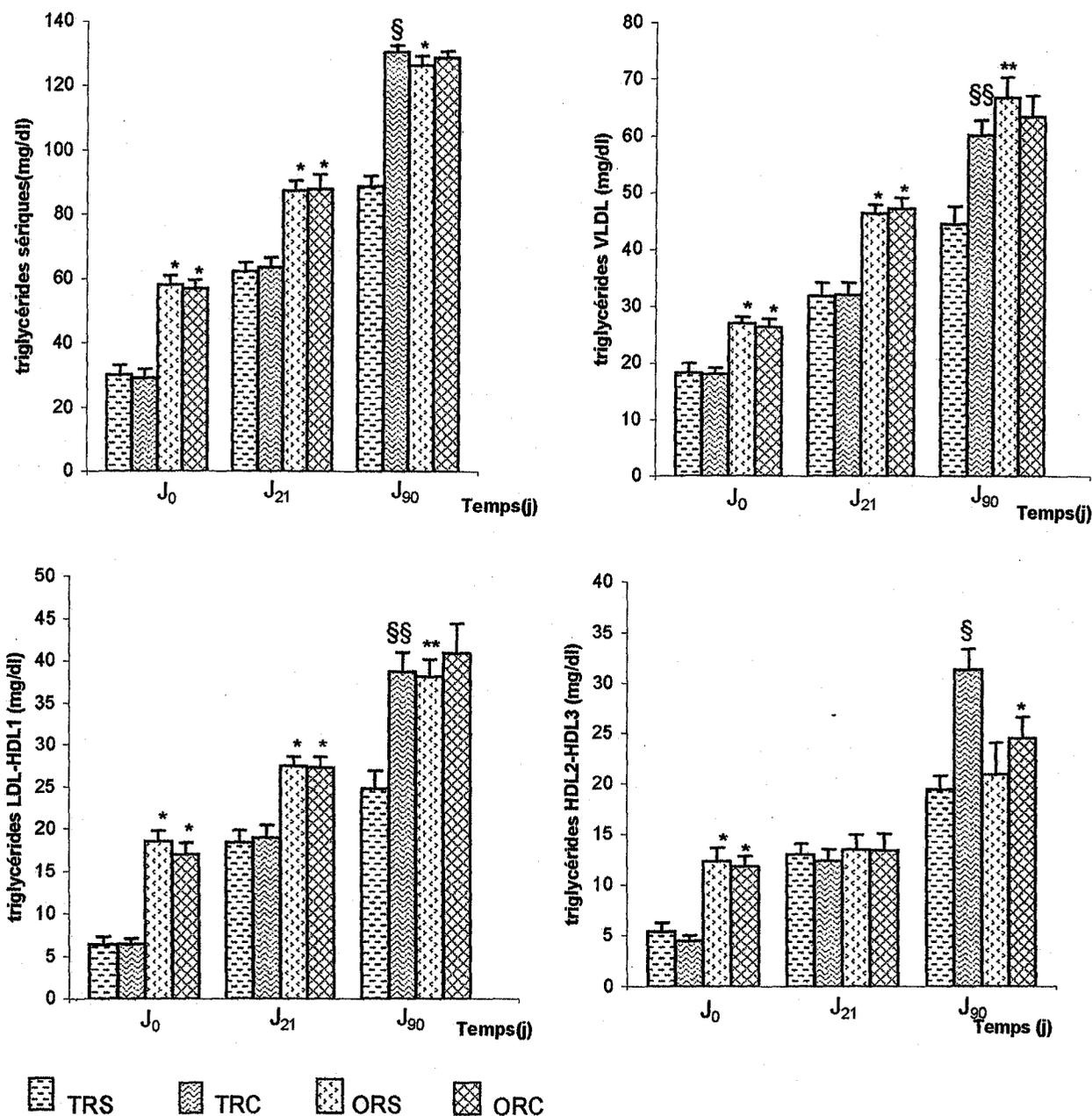


Fig 24: Teneurs en triglycérides du sérum et des lipoprotéines chez les rats témoins et obèses (progéniture)

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES, n=6. TRS: rats témoins nourris au régime standard au sevrage; TRC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage; ORS: rats obèses nourris au régime standard au sevrage; ORC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage. J₀: naissance; J₂₁: vingt et un jours de vie post-natale, qui correspond au sevrage; J₉₀: trois mois de la vie post-natale, qui correspond à l'âge adulte. La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance

Obèses comparés aux témoins, au même âge et au même régime (ORS versus TRS ou ORC versus TRC) : *p<0,05 ; **p<0,01

Régime cafeteria comparé au régime standard dans le même groupe (TRC versus TRS ou ORC versus ORS) : §p<0,05 ; §§p<0,01

témoins sous le même régime à l'exception des teneurs en TG-HDL₂₋₃ qui sont faibles chez les rats obèses.

III. Poids et composition des organes

III.1. Poids des organes

III.1.1. Chez les rates (mères) témoins et obèses (fig 25 et Tableau A13)

Le poids relatif des organes indique l'évolution pondérale de l'organe par rapport à l'organisme. Les poids relatifs du foie et du muscle chez les mères témoins et obèses restent stables au cours du temps, alors que celui du tissu adipeux augmente significativement chez les rates obèses nourries au régime cafeteria par rapport à leurs témoins à J₀ et J₂₁.

III.1.2. Chez la progéniture (fig 25 et Tableau A14 en annexe)

Le poids relatif du foie chez les rats de J₂₁ et J₉₀ ne présente aucune variation entre les obèses et les témoins quelque soit le régime consommé au sevrage. Celui du tissu adipeux augmente significativement chez les rats obèses à J₂₁ et J₉₀ pour les rats obèses nourries au régime standard ou au régime cafeteria par rapport aux témoins sous régime standard. Le régime cafeteria induit une augmentation du poids relatif du tissu adipeux chez les rats témoins ou obèses. Le poids relatif du muscle est significativement diminué à J₉₀ chez les rats obèses nourries au régime standard (ORS) comparés aux témoins recevant le régime standard (TRS), et augmente chez les obèses nourries au régime cafeteria (ORC) par rapport aux rats obèses nourries au régime standard (ORS).

III.2. Teneurs en lipides totaux des organes

III.2.1. Chez les rates (mères) (fig 26 et Tableau A15 en annexe)

Les teneurs en lipides totaux du foie augmentent significativement chez les mères obèses nourries au régime cafeteria comparées à leurs témoins nourries au régime standard, à la mise bas (J₀). Cependant, à J₂₁, les teneurs en lipides hépatiques chez les mères obèses sont similaires à celles des mères témoins.

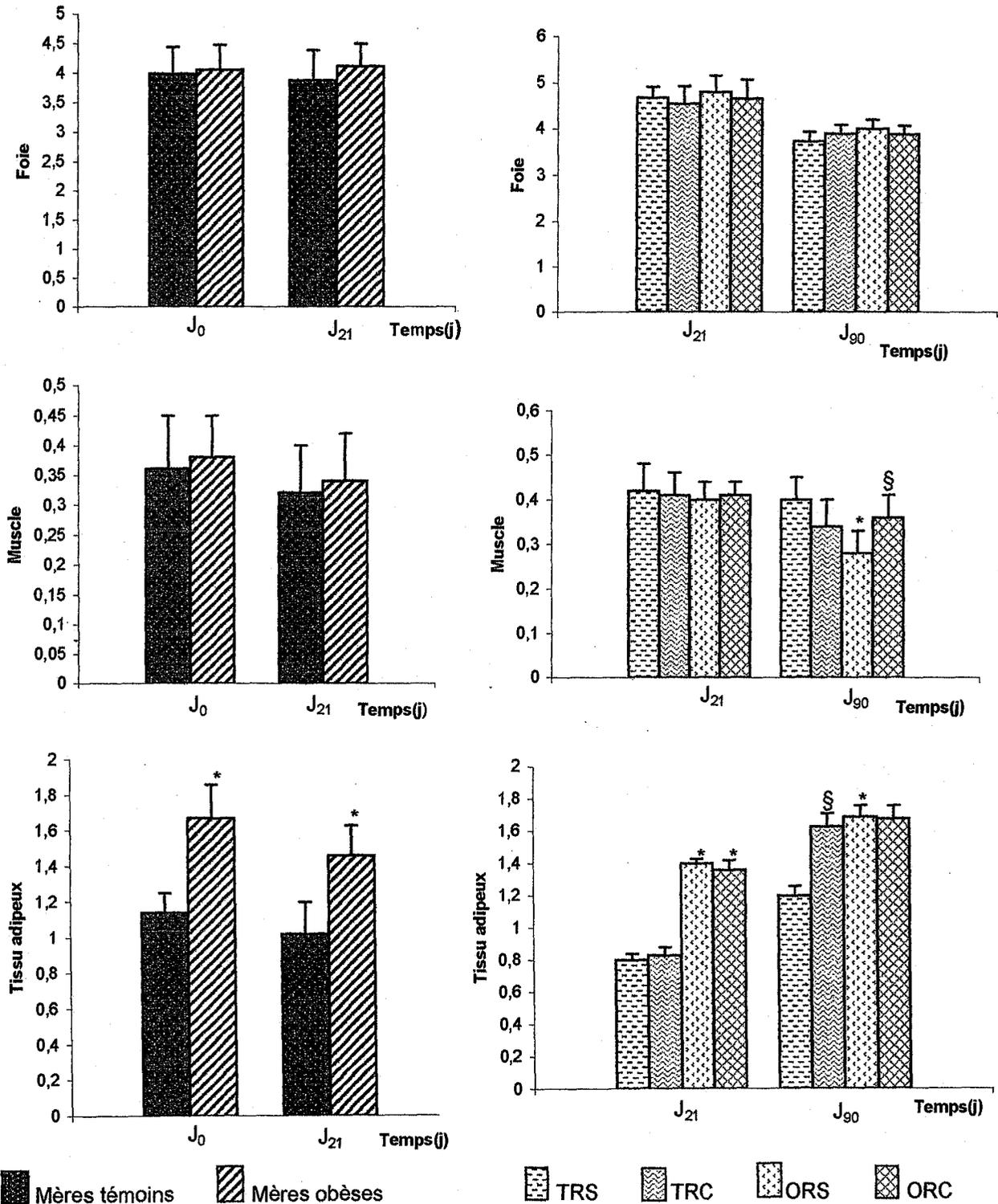


Fig 25: Poids relatif des organes chez les mères témoins et obèses et leurs progénitures.

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES, n=6. Les rates témoins sont nourries au régime standard; les rates obèses sont nourries au régime cafeteria; TRS: rats témoins nourris au régime standard au sevrage; TRC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage; ORS: rats obèses nourris au régime standard au sevrage; ORC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage. J₀: jour de la mise bas; J₂₁: fin de la lactation qui correspond au sevrage; J₉₀: trois mois de la vie post-natale, qui correspond à l'âge adulte. La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance.

Obèses comparés aux témoins au même âge: *p<0,05; **p<0,01

Régime cafeteria comparé au régime standard dans le même groupe (TRC versus TRS ou ORC versus ORS) : §p<0,05

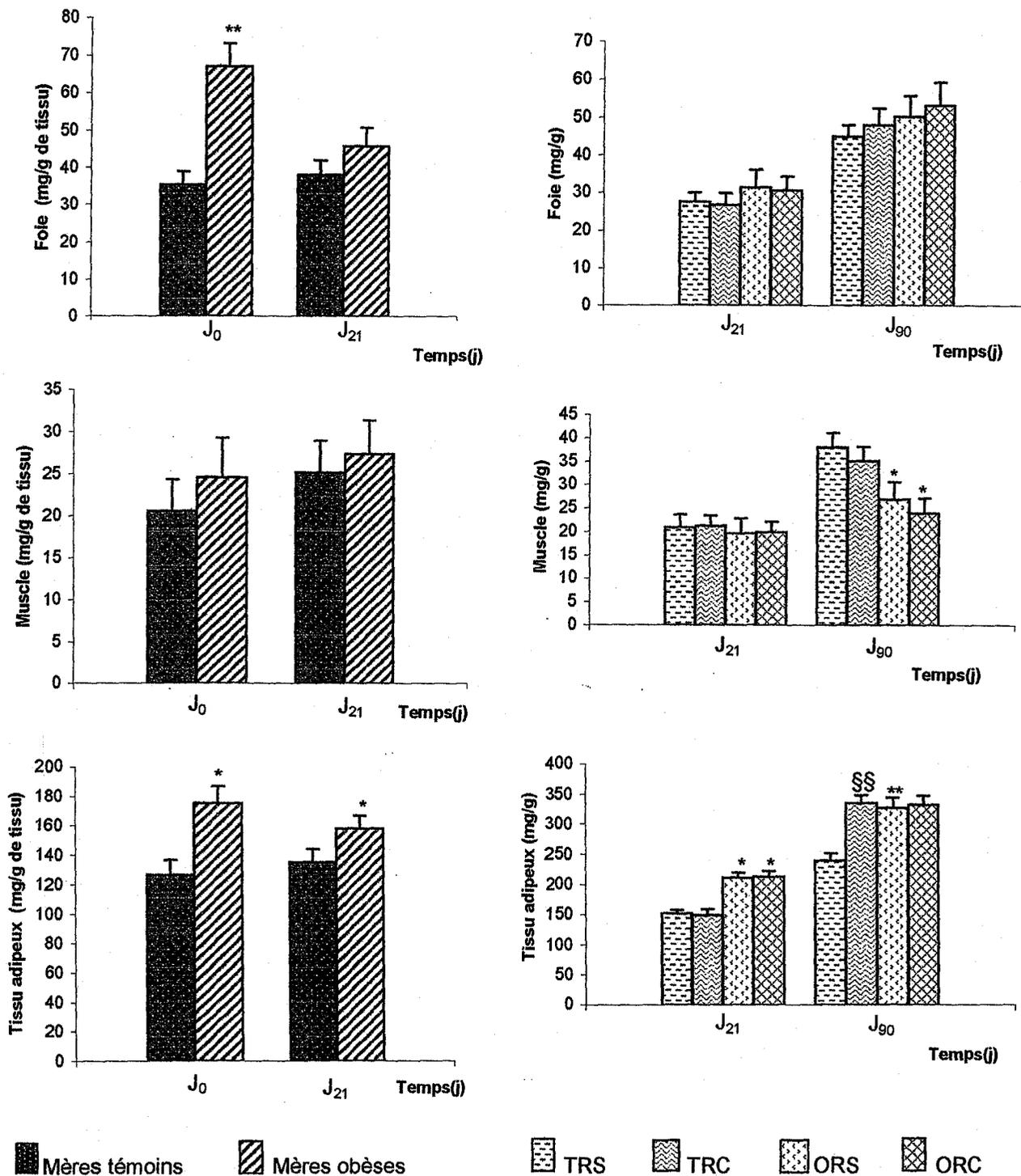


Fig 26: Teneurs en lipides totaux des organes chez les mères témoins et obèses et leurs progénitures. Chaque valeur représente la moyenne \pm ES, n=6. Les rates témoins sont nourries au régime standard; les rates obèses sont nourries au régime cafeteria; TRS: rats témoins nourris au régime standard au sevrage; TRC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage; ORS: rats obèses nourris au régime standard au sevrage; ORC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage. J₀: jour de la mise bas; J₂₁: fin de la lactation qui correspond au sevrage; J₉₀: trois mois de la vie post-natale, qui correspond à l'âge adulte. La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance. Obèses comparés aux témoins, au même âge: *p<0,05; **p<0,01. Régime cafeteria comparé au régime standard dans le même groupe (TRC versus TRS ou ORC versus ORS): §p<0,05; §§p<0,01.

Concernant les teneurs en lipides totaux du tissu adipeux des mères obèses comparées à leurs témoins, une augmentation significative est notée à J₀ et J₂₁.

Les teneurs en lipides totaux du muscle ne montrent aucune différence chez les deux groupes de rates.

III.2.2. Chez la progéniture (fig 26 et Tableau A16 en annexe)

A J₂₁ et J₉₀, les lipides totaux du foie chez les rats obèses sont similaires à ceux des rats témoins quelque soit le régime consommé.

Au niveau du tissu adipeux, les teneurs en lipides totaux sont élevés chez les rats obèses comparés aux témoins. Le régime cafeteria induit une augmentation significative des teneurs en lipides totaux du tissu adipeux chez les rats témoins à J₉₀. Les rats obèses consommant le régime cafeteria présentent des teneurs lipidiques adipeuses similaires à celles des témoins consommant le même régime à J₉₀.

Quand aux lipides totaux du muscle, une diminution significative est notée chez les obèses comparés à leurs témoins respectifs, à J₉₀, quelque soit le régime consommé.

III.3. Teneurs en protéines totales des organes

III.3.1. Chez les rates (mères) (fig 27 et Tableau A17 en annexe)

Les teneurs en protéines totales du foie et du muscle ne montrent aucune différence significative chez les deux groupes de rates étudiés et aux différents temps.

III.3.2. Chez la progéniture (fig 27 et Tableau A18 en annexe)

Les teneurs en protéines du foie ne varient pas chez les rats témoins et obèses quelque soit leur âge et leur régime ; alors que le taux en protéines du muscle diminue significativement chez les rats obèses nourris au régime standard comparés aux rats témoins du même régime à J₉₀.

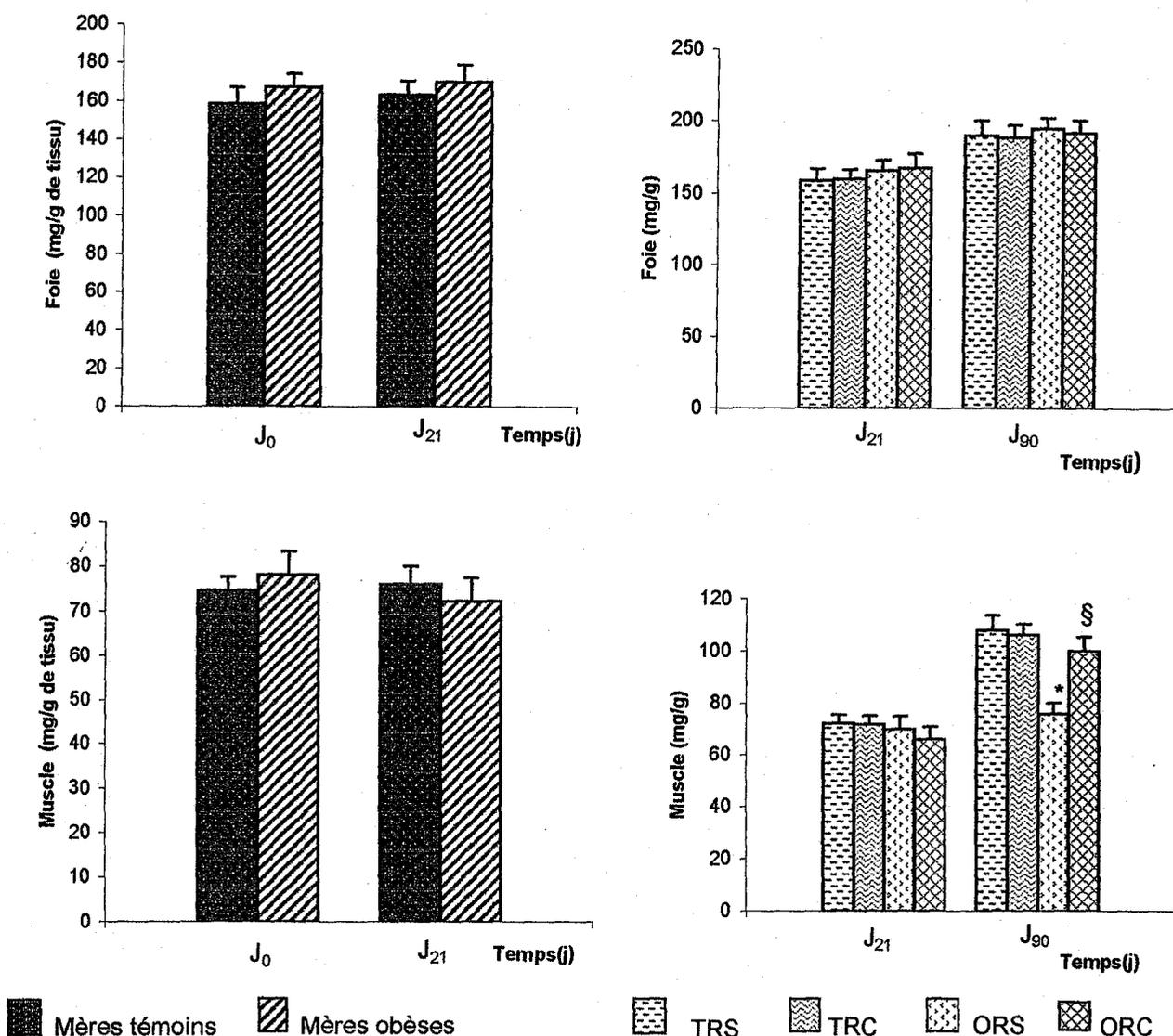


Fig 27: Teneurs en protéines totales des organes chez les rates témoins et obèses et leurs progénitures

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES, n=6. Les rates témoins sont nourries au régime standard; les rates obèses sont nourries au régime cafeteria; TRS: rats témoins nourris au régime standard au sevrage; TRC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage; ORS: rats obèses nourris au régime standard au sevrage; ORC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage. J₀: jour de la mise bas; J₂₁: fin de la lactation qui correspond au sevrage; J₉₀: trois mois de la vie post-natale, qui correspond à l'âge adulte. La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance

Obèses comparés aux témoins, au même âge: *p<0,05

Régime cafeteria comparé au régime standard dans le même groupe (TRC versus TRS ou ORC versus ORS)
 §: p<0,05

Le régime cafeteria au sevrage chez les rats obèses entraîne une augmentation significative en protéines du muscle par rapport aux obèses consommant le régime standard à l'âge adulte (J_{90}), alors qu'il ne modifie pas ces teneurs chez les rats témoins.

IV. Evolution de la composition en acides gras des lipides sériques

IV.1. Chez les mères (Tableau I)

Au niveau du sérum, le taux des acides gras saturés (AGS) augmente chez les rates obèses nourries au régime au régime cafeteria comparées à leurs témoins aux différents temps (J_0 et J_{21}). Cependant, le C18:1(n-9) reste stable chez les différents types de rates à la mise bas et la fin de la lactation. Le C18:2(n-6) augmente et le C20:4(n-6), le C20:5(n-3) et le C22:6(n-3) diminuent significativement chez les mères obèses par rapport à leurs témoins à J_0 .

A J_{21} , les mêmes variations sont notées à l'exception du C20:5(n-3) qui est similaire entre les deux groupes de mères.

IV.2. Chez la progéniture (Tableau II)

A l'âge adulte, les AGS et le C18:2(n-6) sont significativement élevés alors que les C20:4(n-6), le C20:5(n-3) et le C22:6(n-3) sont significativement diminués chez les rats obèses quelque soit leur régime, comparés aux nourris au régime standard. La consommation du régime cafeteria au sevrage chez les rats témoins entraîne les mêmes modifications à savoir une élévation des AGS et du C18:2(n-6) et une diminution des C20:4(n-6), C20:5(n-3) et C22:6(n-3) au régime standard.

V. Evolution de la composition en acides gras des lipides des organes

V.1. Chez les mères (Tableaux III, IV, V)

Au niveau hépatique (Tableau III), la variation de la composition en AG des lipides reste stable chez les deux groupes de rates mères à J_0 et J_{21} .

Tableau I: Composition en acides gras des lipides totaux sériques chez les rates mères témoins et obèses

Lot Acides gras %	Rates témoins		Rates obèses	
	J ₀	J ₂₁	J ₀	J ₂₁
Acides gras saturés				
	31.35±2.74	32.48±1.64	42.01±1.37*	40.55±1.50*
18:1(n-9)	15.04±1.68	15.64±1.33	14.37±1.76	15.13±1.44
18:2(n-6)	15.40±1.04	14.86±1.13	18.62±1.06*	18.49±1.15*
20:4(n-6)	25.18±1.11	24.33±1.22	16.26±1.25*	17.01±1.18*
20:5(n-3)	2.35±0.66	1.88±0.56	1.24±0.52*	1.75±0.43
22:6(n-3)	3.58±0.84	2.61±0.47	1.52±0.43*	1.13±0.32*

Chaque valeur représente la moyenne ± ES, n=6. Les rates témoins sont nourries au régime standard, alors que les rates obèses sont nourries au régime cafeteria. J₀: jour de la mise bas; J₂₁: fin de la lactation. La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance.

Obèses comparés aux témoins, au même âge: * p<0.05

Tableau II: Composition en acides gras des lipides totaux sériques chez les rats témoins et obèses (progéniture) à l'âge adulte (J₉₀)

Lot Acides gras %	Rats témoins (T)		Rats obèses (O)	
	TRS	TRC	ORS	ORC
Acides gras saturés	30.64±1.83	40.08±1.51 ^{§§}	41.35±1.14 ^{**}	40.66±1.08
18:1(n-9)	16.13±1.37	15.66±1.08	16.07±1.35	15.74±1.14
18:2(n-6)	17.34±1.11	21.18±1.14 [§]	20.58±1.01 [*]	21.04±1.23
20:4(n-6)	23.06±1.50	14.37±1.04 [§]	13.51±1.12 [*]	14.06±1.36
20:5(n-3)	2.84±0.37	1.13±0.22 [§]	1.36±0.23 [*]	1.53±0.34
22:6(n-3)	3.33±0.63	1.57±0.31 [§]	1.34±0.34 [*]	1.48±0.24

Chaque valeur représente la moyenne ± ES, n=6. TRS: rats témoins nourris au régime standard au sevrage; TRC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage; ORS: rats obèses nourris au régime standard au sevrage; ORC: rats obèses nourris au régime cafeteria au sevrage. J₉₀: trois mois de la vie post-natale, qui correspond à l'âge adulte.

La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance.

Obèses comparés aux témoins, au même âge et au même régime (ORS versus TRS ou ORC versus TRC): * p<0.05; ** p<0.01

Régime cafeteria comparé au régime standard dans le même groupe (TRC versus TRS ou ORC versus ORS): § p<0.05; §§ p<0.01

Tableau III: Composition en acides gras des lipides hépatiques chez les rates mères témoins et obèses

Lot	Rates témoins		Rates obèses	
	J ₀	J ₂₁	J ₀	J ₂₁
Acides gras%				
Acides gras saturés	40 ± 1.64	39.64 ± 1.37	38.64 ± 1.97	40.33 ± 1.55
18:1(n-9)	18.54 ± 1.36	20 ± 1.84	19.67 ± 1.24	20.43 ± 1.66
18:2(n-6)	16.65 ± 1.53	18.33 ± 1.14	17.66 ± 1.08	18.04 ± 1.23
20:4(n-6)	12.03 ± 1.01	13.15 ± 1.25	12.45 ± 1.11	12.95 ± 1.14
20:5(n-3)	2.74 ± 0.66	2.63 ± 0.55	2.53 ± 0.51	2.05 ± 0.64
22:6(n-3)	4.33 ± 0.54	3.64 ± 0.70	3.97 ± 0.48	3.51 ± 0.52

Chaque valeur représente la moyenne ± ES, n=6. Les rates témoins sont nourries au régime standard, alors que les rates obèses sont nourries au régime cafeteria. J₀: jour de la mise bas; J₂₁: fin de la lactation. La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance.

Obèses comparés aux témoins, au même âge: * p<0.05

Tableau IV: Composition en acides gras des lipides hépatiques chez les rats témoins et obèses (progéniture) à l'âge adulte (J₉₀)

Lot Acides gras%	Rats témoins (T)		Rats obèses (O)	
	TRS	TRC	ORS	ORC
Acides gras saturés	38.74 ± 1.26	42.04 ± 1.50 [§]	43.01 ± 1.11*	42.53 ± 1.62
18:1(n-9)	21.06 ± 1.14	20 ± 1.64	20.04 ± 1.04	20.08 ± 1.14
18:2(n-6)	18.10 ± 1.03	21.84 ± 1.12 [§]	21.55 ± 1.10*	21.44 ± 1.02
20:4(n-6)	10.48 ± 1.02	5.16 ± 0.88 [§]	4.24 ± 0.54*	4.36 ± 0.60
20:5(n-3)	2.23 ± 0.54	2.15 ± 0.44	2.04 ± 0.31	2.07 ± 0.33
22:6(n-3)	3.48 ± 0.39	1.06 ± 0.28 [§]	1.24 ± 0.21*	1.18 ± 0.20

Chaque valeur représente la moyenne ± ES, n=6. TRS: rats témoins nourris au régime standard au sevrage; TRC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage; ORS: rats obèses nourris au régime standard au sevrage; ORC: rats obèses nourris au régime cafeteria au sevrage. J₉₀: trois mois de la vie post-natale, qui correspond à l'âge adulte.

La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance.

Obèses comparés aux témoins, au même âge et au même régime (ORS versus TRS ou ORC versus TRC): * p<0.05

Régime cafeteria comparé au régime standard dans le même groupe (TRC versus TRS ou ORC versus ORS): § p<0.05

Certaines variations des taux d'AG sont notées au niveau musculaire (Tableau IV) : une augmentation significative du C18:2(n-6) et une diminution du C20:4(n-6) chez les rates obèses par rapport aux rates témoins sont observées à J₀ et à J₂₁.

A J₀ et J₂₁, les pourcentages en AGS, en C20:4(n-6), en C20:5(n-3) et en C22:6(n-3) des lipides du tissu adipeux (Tableau V), sont significativement diminués alors que ceux en C18:1(n-9) sont élevés chez les rates obèses comparées aux rates témoins.

V.2. Chez la progéniture (Tableaux VI, VII, VIII)

A J₉₀, les pourcentages en AGS et en C18:2(n-6) des lipides hépatiques (Tableau VI) sont significativement augmentés, par contre ceux en C20:4(n-6) et en C22:6(n-3) sont significativement diminués chez les rats obèses nourris au régime standard par rapport aux rats témoins du même âge et au même régime. Les mêmes variations sont notées chez les rats témoins nourris au régime cafeteria comparés aux rats témoins nourris au régime standard.

Au niveau du muscle (Tableau VII), une augmentation du C18:2(n-6) et une diminution des C20:4(n-6) et C22:6(n-3) sont notées chez les rats obèses par rapport aux rats témoins nourris au régime standard (TRS). Des variations similaires sont observées chez les rats témoins nourris au régime cafeteria comparés aux rats témoins sous régime standard.

Au niveau du tissu adipeux (Tableau VIII), les AGS, les C20:4(n-6), C20:5(n-3) et C22:6(n-3) sont significativement diminués, alors que le C18:1(n-9) est significativement élevé chez les rats obèses par rapport aux rats témoins nourris au régime standard. Les mêmes variations sont notées chez les rats témoins nourris au régime cafeteria comparés aux rats témoins sous régime standard.

Tableau V: Composition en acides gras des lipides du muscle chez les rates mères témoins et obèses

Lot	Rates témoins		Rates obèses	
	J ₀	J ₂₁	J ₀	J ₂₁
Acides gras%				
Acides gras saturés	54.73 ± 2.48	55.04 ± 2.53	52.04 ± 2.17	53.88 ± 2.45
18:1(n-9)	17.65 ± 1.08	17.38 ± 1.27	17.21 ± 2.34	16.48 ± 1.33
18:2(n-6)	12.45 ± 1.11	13.48 ± 1.34	20.99 ± 1.18**	21.27 ± 1.07**
20:4(n-6)	8.03 ± 0.79	7.35 ± 0.88	2.58 ± 0.12*	2.34 ± 0.44*
20:5(n-3)	2.14 ± 0.64	1.98 ± 0.55	2.10 ± 0.61	1.89 ± 0.37
22:6(n-3)	2.34 ± 0.32	2.03 ± 0.40	2.18 ± 0.81	2.01 ± 0.39

Chaque valeur représente la moyenne ± ES, n=6. Les rates témoins sont nourries au régime standard, alors que les rates obèses sont nourries au régime cafeteria. J₀: jour de la mise bas; J₂₁: fin de la lactation. La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance.

Obèses comparés aux témoins, au même âge: * p<0.05; ** p<0.01

Tableau VI: Composition en acides gras des lipides du muscle chez les rats témoins et obèses (progéniture) à l'âge adulte (J₉₀)

Lot Acides gras%	Rats témoins (T)		Rats obèses (O)	
	TRS	TRC	ORS	ORC
Acides gras saturés	53.27 ± 2.33	50.67±2.68	50.33±2.47	50.09±2.50
18:1(n-9)	19.40±1.20	20.41±1.14	20.33±0.22	20.67±0.98
18:2(n-6)	16.07±1.62	23.62±1.25 ^{§§}	22.87±1.02**	23.16±0.67
20:4(n-6)	4.36±0.85	2.17±0.66 [§]	2.39±0.60*	1.94±0.86
20:5(n-3)	1.29±0.12	1.24±0.13	1.44±0.11	1.32±0.18
22:6(n-3)	2.37±0.18	1.55±0.38 [§]	1.92 ±0.43*	1.42±0.21

Chaque valeur représente la moyenne ± ES, n=6. TRS: rats témoins nourris au régime standard au sevrage; TRC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage; ORS: rats obèses nourris au régime standard au sevrage; ORC: rats obèses nourris au régime cafeteria au sevrage. J₉₀: trois mois de la vie post-natale, qui correspond à l'âge adulte.

La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance.

Obèses comparés aux témoins, au même âge et au même régime (ORS versus TRS ou ORC versus TRC): * p<0.05; ** p<0.01

Régime cafeteria comparé au régime standard dans le même groupe (TRC versus TRS ou ORC versus ORS): § p<0.05; §§ p<0.01

Tableau VII: Composition en acides gras des lipides du tissu adipeux chez les rates mères témoins et obèses

Lot	Rates témoins		Rates obèses	
	J ₀	J ₂₁	J ₀	J ₂₁
Acides gras%				
Acides gras saturés	39.65±1.73	38.77±1.35	30.10± 1.84**	28.84±1.77**
18:1(n-9)	24.53±1.08	23.11±1.42	44.37±1.04**	40.74±1.33**
18:2(n-6)	25.42±1.44	27.93±1.86	23.84±1.22	26.05±1.57
20:4(n-6)	4.54±0.38	5.18±0.63	1.34±0.12*	1.87±0.23*
20:5(n-3)	1.75±0.06	1.83±0.32	0.53±0.02*	0.64±0.03*
22:6(n-3)	2.64±0.43	2.03±0.52	0.51±0.01*	0.81±0.02*

Chaque valeur représente la moyenne ± ES, n=6. Les rates témoins sont nourries au régime standard, alors que les rates obèses sont nourries au régime cafeteria. J₀: jour de la mise bas; J₂₁: fin de la lactation. La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance.

Obèses comparés aux témoins, au même âge: * p<0.05; ** p<0.01

Tableau VIII: Composition en acides gras des lipides du tissu adipeux chez les rats témoins et obèses (progéniture) à l'âge adulte (J₉₀)

Lot Acides gras%	Rats témoins (T)		Rats obèses (O)	
	TRS	TRC	ORS	ORC
Acides gras saturés				
	30.07 ± 1.66	26.38 ± 1.04 [§]	25.92 ± 1.63*	26.78 ± 1.39
18:1(n-9)	29.12 ± 1.84	40.10 ± 1.52 ^{§§}	42.92 ± 2.04**	39.52 ± 2.88
18:2(n-6)	30.12 ± 1.37	28.31 ± 1.92	27.23 ± 2.14	26.68 ± 2.07
20:4(n-6)	5.55 ± 0.48	1.30 ± 0.20 [§]	1.36 ± 0.02*	1.39 ± 0.11
20:5(n-3)	1.43 ± 0.27	0.64 ± 0.04 [§]	0.67 ± 0.05*	0.68 ± 0.03
22:6(n-3)	2.44 ± 0.28	0.67 ± 0.05 [§]	0.68 ± 0.04*	0.68 ± 0.03

Chaque valeur représente la moyenne ± ES, n=6. TRS: rats témoins nourris au régime standard au sevrage; TRC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage; ORS: rats obèses nourris au régime standard au sevrage; ORC: rats obèses nourris au régime cafeteria au sevrage. J₉₀: trois mois de la vie post-natale, qui correspond à l'âge adulte.

La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance.

Obèses comparés aux témoins, au même âge et au même régime (ORS versus TRS ou ORC versus TRC): * p<0.05; ** p<0.01

Régime cafeteria comparé au régime standard dans le même groupe (TRC versus TRS ou ORC versus ORS): § p<0.05; §§ p<0.01

Statut Oxydant/Antioxydant

I. Pouvoir antioxydant total (ORAC) (fig 28 ; Tableaux A19-A20 en annexe)

I.1. Chez les mères

La capacité du plasma à absorber les radicaux libres qui représente le pouvoir antioxydant total (ORAC) est significativement diminuée chez les rates obèses comparées à leurs témoins, à J₀ et à J₂₁.

I.2. Chez la progéniture

A J₀, à J₂₁ et à J₉₀, une diminution significative du pouvoir antioxydant total (ORAC) est notée chez les rats obèses soumis aux 2 régimes (cafeteria et standard) comparés à leurs témoins respectifs. A l'âge adulte, l'ORAC des rats témoins sous régime cafeteria est significativement diminué comparé aux rats témoins nourris au régime standard.

I. Teneurs plasmatiques en vitamines A, C et E (fig 29 et Tableaux A21-A22 en annexe)

I.1. Chez les mères

Les teneurs plasmatiques en vitamines A, C et E ne montrent aucune variation significative chez les deux lots de rates mères quelque soit le temps étudié.

I.2. Chez la progéniture

Les rats obèses présentent des teneurs plasmatiques en vitamines A, C et E similaires à celles des témoins quelque soit l'âge des rats et le régime consommé.

III. Marqueurs du statut oxydant (fig 30 ; Tableau A19-A20 en annexe)

III.1. Chez les mères

A J₀ et J₂₁, les teneurs plasmatiques en MDA, en hydroperoxydes et en protéines carbonylées sont augmentées chez les mères obèses comparées à leurs témoins.

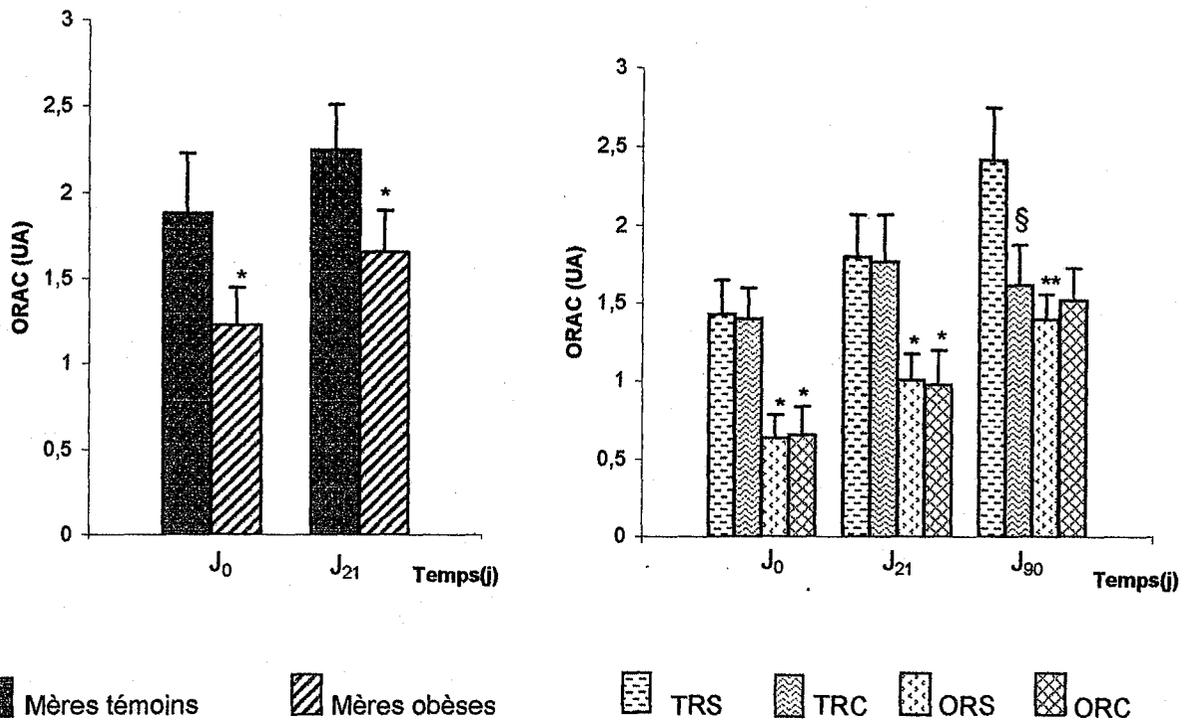


Fig 28: Pouvoir antioxydant total (ORAC) chez les rates mères témoins et obèses et leurs progénitures.

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES, n=6. Les rates témoins sont nourries au régime standard; les rates obèses sont nourries au régime cafeteria; TRS: rats témoins nourris au régime standard au sevrage; TRC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage; ORS: rats obèses nourris au régime standard au sevrage; ORC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage. J₀: jour de la mise bas; J₂₁: fin de la lactation qui correspond au sevrage; J₉₀: trois mois de la vie post-natale, qui correspond à l'âge adulte. La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance

Obèses comparés aux témoins, au même âge : *p<0,05 ; **p<0,01

Régime cafeteria comparé au régime standard dans le même groupe (TRC versus TRS ou ORC versus ORS) : §p<0,05; §§p<0,01

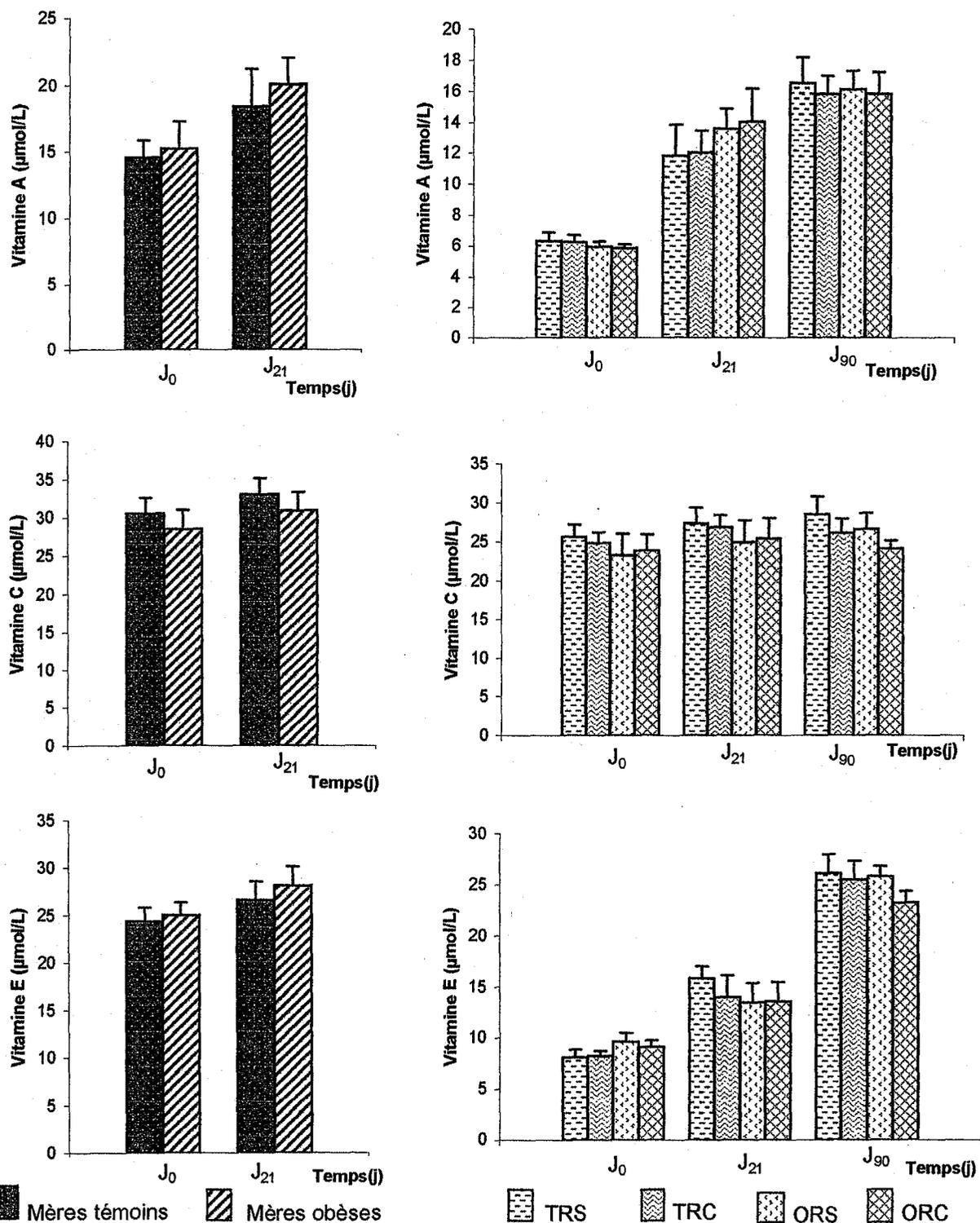
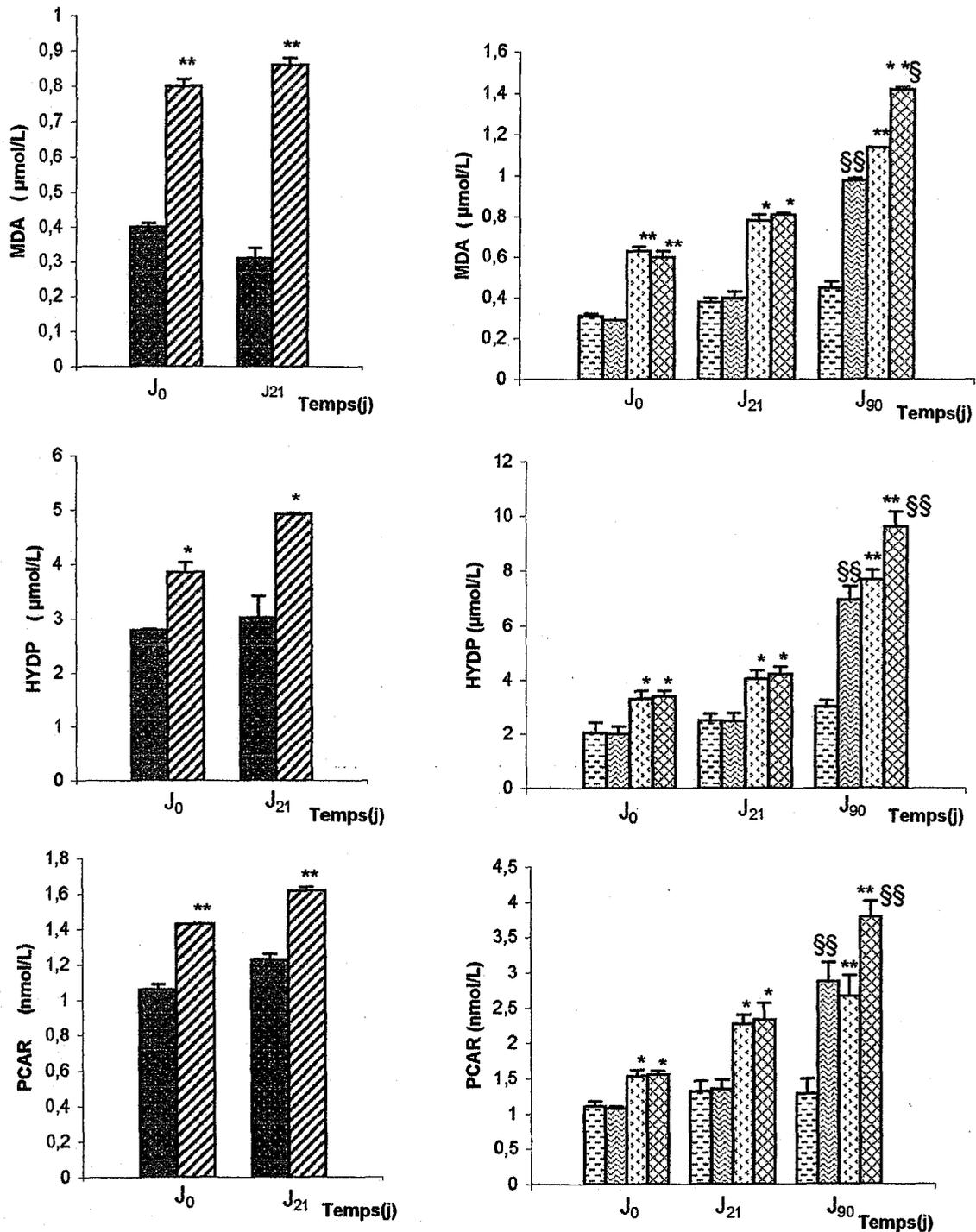


Fig 29: Teneurs plasmatiques en vitamines antioxydantes (A,C,E) chez les rates mères témoins et obèses et leurs progénitures

Chaque représente la moyenne \pm ES, n=6. Les rates témoins sont nourries au régime standard; les rates obèses sont nourries au régime cafeteria; TRS: rats témoins nourris au régime standard au sevrage; TRC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage; ORS: rats obèses nourris au régime standard au sevrage; ORC: rats obèses nourris au régime cafeteria au sevrage. J₀: jour de la mise bas; J₂₁: fin de la lactation qui correspond au sevrage; J₉₀: trois mois de la vie post-natale, qui correspond à l'âge adulte. La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance

Obèses comparés aux témoins, au même âge) : *p<0,05

Régime cafeteria comparé au régime standard dans le même groupe (TRC versus TRS ou ORC versus ORS) : \$p<0,05



■ Mères témoins ▨ Mères obèses ▤ TRS ▥ TRC ▦ ORS ▧ ORC

Fig 30: Marqueurs du stress oxydant chez les rates mères témoins et obèses et leurs progénitures

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES, n=6. Les rates témoins sont nourries au régime standard; les rates obèses sont nourries au régime cafeteria; TRS: rats témoins nourris au régime standard au sevrage; TRC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage; ORS: rats obèses nourris au régime standard au sevrage; ORC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage. J₀: jour de la mise bas; J₂₁: fin de la lactation qui correspond au sevrage; J₉₀: trois mois de la vie post-natale, qui correspond à l'âge adulte. MDA: malondialdéhyde plasmatique; HYDP: hydroperoxydes plasmatiques; PCAR: protéines carbonylées plasmatiques. La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance. Obèses comparés aux témoins, au même âge : *p<0,05 ; **p<0,01. Régime cafeteria comparé au régime standard dans le même groupe (TRC versus TRS ou ORC versus ORS) : §p<0,05; §§p<0,01

III.2. Chez la progéniture

A J₀, J₂₁ et J₉₀, les teneurs plasmatiques en MDA, hydroperoxydes et protéines carbonylées sont élevées chez les rats obèses comparés aux rats témoins quelque soit le régime consommé.

Le régime cafeteria induit une augmentation des teneurs en MDA, hydroperoxydes et en protéines carbonylées chez les rats témoins et obèses à l'âge adulte, comparées aux valeurs des obtenues chez les rats nourris au régime standard.

IV. Marqueurs de l'oxydation in vitro des lipoprotéines plasmatiques

IV.1. Chez les mères (fig 31 et Tableau A23 en annexe)

Les marqueurs de l'oxydation in vitro des lipoprotéines montrent des modifications à savoir une augmentation du taux initial et du taux maximal des diènes conjugués et une diminution du Tlag et du Tmax chez les mères obèses comparées à leurs témoins à J₀ et à J₂₁.

IV.2. Chez la progéniture (fig 32 et Tableau A24 en annexe)

Chez les rats obèses, les variations des marqueurs de l'oxydation in vitro des lipoprotéines plasmatiques sont similaires à celles observées chez leurs mères. En effet, à J₂₁ et J₉₀ le taux initial et le taux maximal des diènes conjugués sont significativement augmentés alors que le Tlag et Tmax sont significativement diminués chez les rats obèses comparés aux rats témoins du même régime. Le régime cafeteria induit les mêmes variations chez les rats qu'ils soient témoins ou obèses.

V. Activités des enzymes érythrocytaires antioxydantes

V.1. Chez les mères (fig 33 et Tableau A25 en annexe))

Les enzymes antioxydantes, la catalase et la superoxyde dismutase (SOD) sont significativement diminuées chez les mères obèses à J₀ et J₂₁ comparées à leurs témoins.

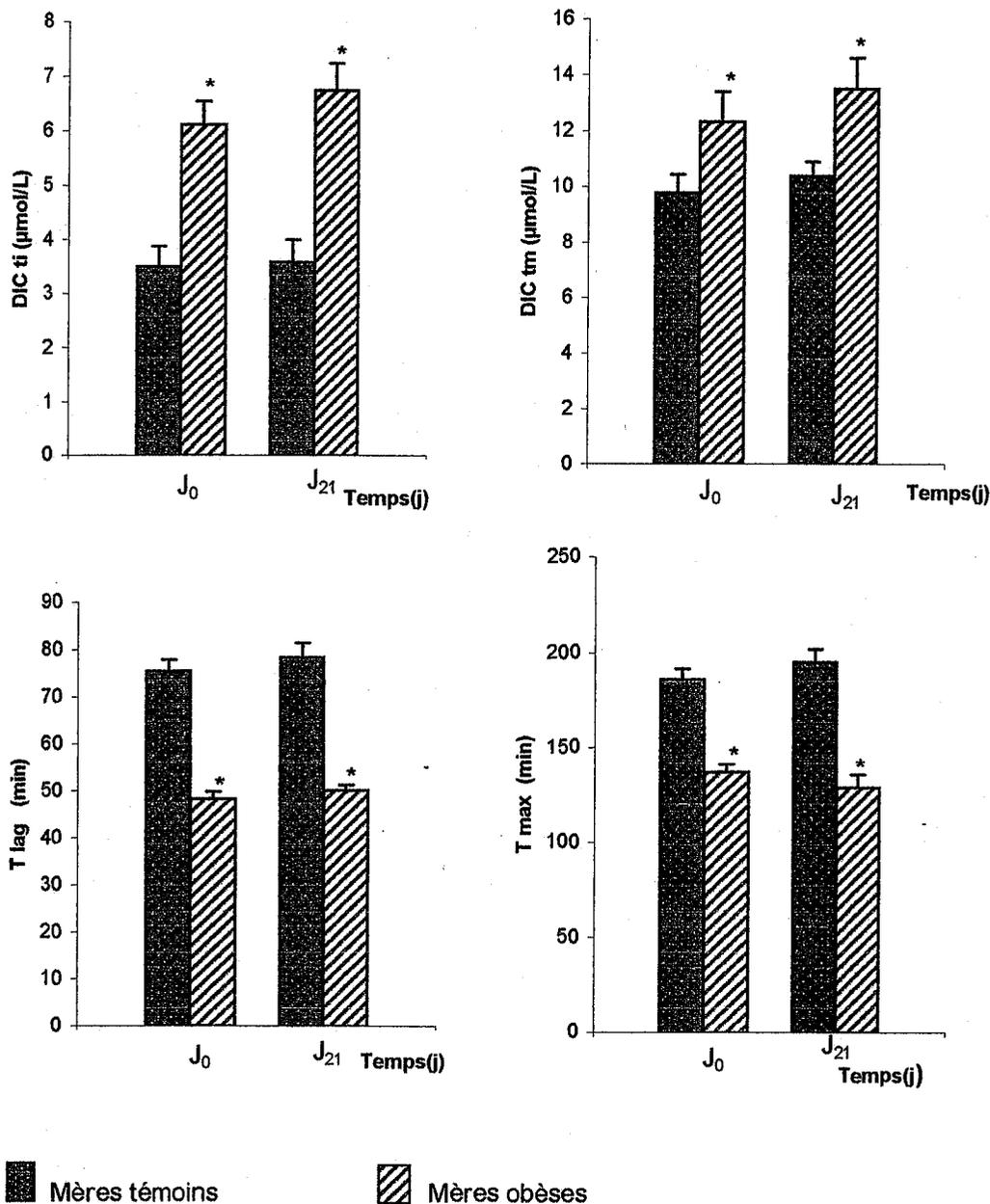


Fig 31: Marqueurs de l'oxydation in vitro des lipoprotéines plasmatiques chez les rates mères témoins et obèses.

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES, n=6. Les rates témoins sont nourries au régime standard ; les rates obèses sont nourries au régime cafeteria; J₀: jour de la mise bas; J₂₁: fin de la lactation. DIC ti: diènes conjugués au taux initial; DIC tm: diènes conjugués au temps maximal; Tlag: temps correspondant à la durée de la phase de latence; Tmax: temps nécessaire pour obtenir l'oxydation maximale. La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance.

Obèses comparés aux témoins, au même âge : *p<0,05

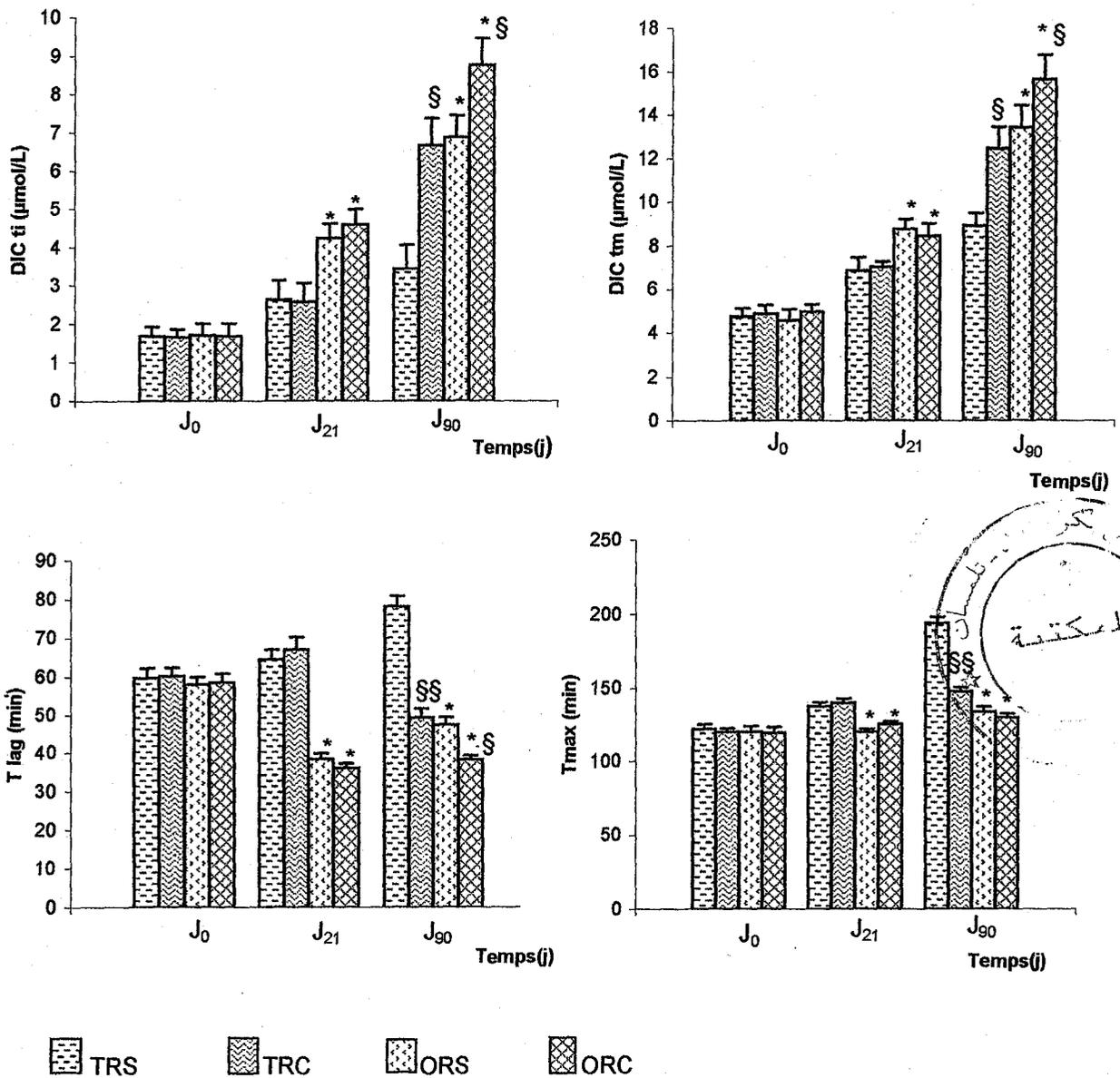


Fig32: Marqueurs de l'oxydation des lipoprotéines plasmatiques chez les rats témoins et obèses (progéniture)

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES, n=6. TRS: rats témoins nourris au régime standard au sevrage; TRC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage; ORS: rats obèses nourris au régime standard au sevrage; ORC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage. J₀: naissance; J₂₁: vingt et un jours de vie post-natale, qui correspond au sevrage; J₉₀: trois mois de la vie post-natale, qui correspond à l'âge adulte. DIC_{ti}: diènes conjugués au taux initial; DIC_{tm}: diènes conjugués au temps maximal; T_{lag}: temps correspondant à la durée de la phase de latence; T_{max}: temps nécessaire pour obtenir l'oxydation maximale. La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance.

Obèses comparés aux témoins, au même âge et au même régime (ORS versus TRS ou ORC versus TRC) : *p<0,05; **p<0,01

Régime cafeteria comparé au régime standard dans le même groupe (TRC versus TRS ou ORC versus ORS) : §p<0,05; §§p<0,01

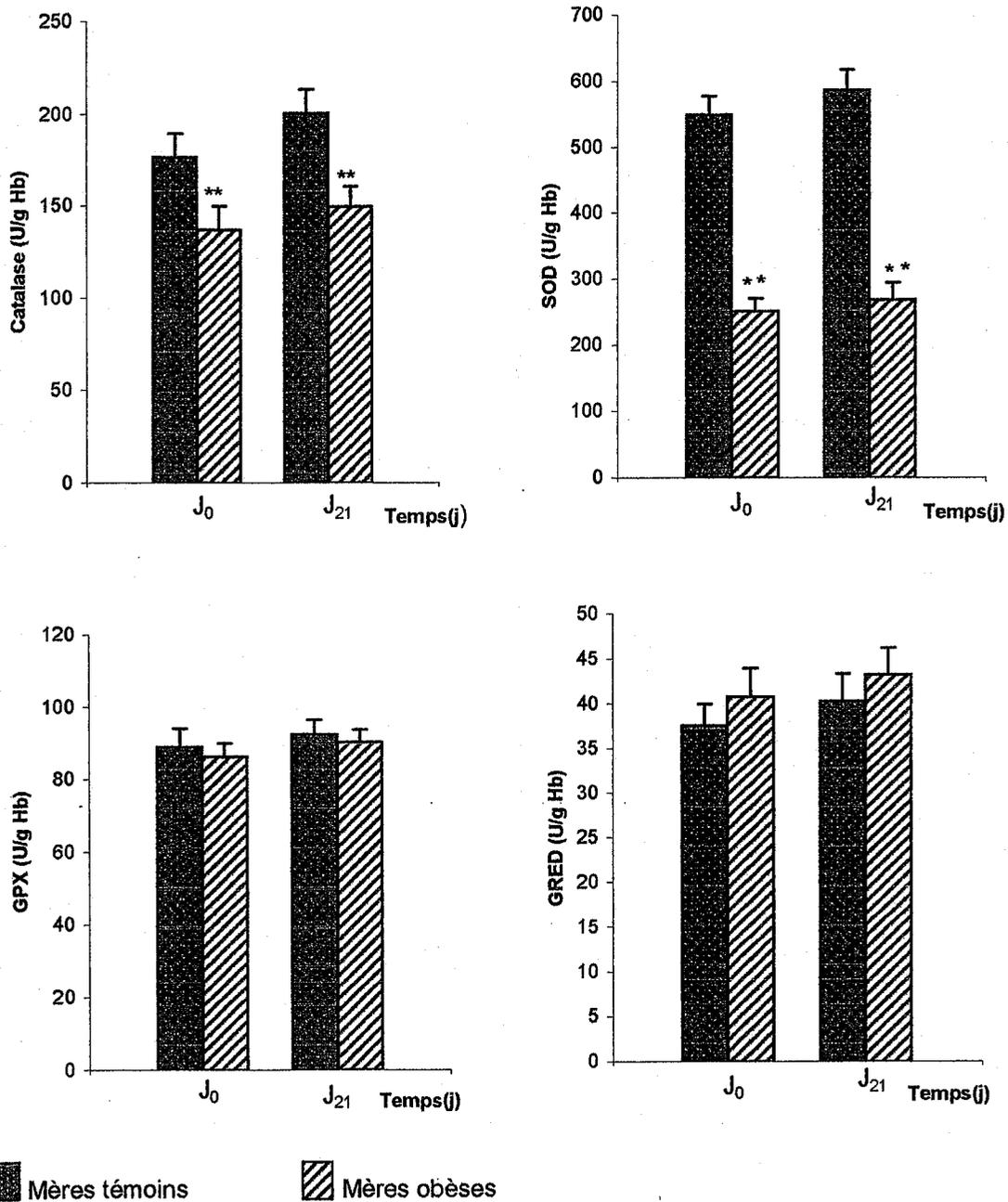


Fig 33: Activités des enzymes erythrocytaires antioxydantes chez les rates mères témoins et obèses. Chaque valeur représente la moyenne \pm ES, n=6. Les rates témoins sont nourries au régime standard ; les rates obèses sont nourries au régime cafeteria; J₀: jour de la mise bas; J₂₁: fin de la lactation. SOD: superoxyde dismutase; GPX: glutathion peroxydase; GRED: glutathion réductase. La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance. Obèses comparés aux témoins, au même âge : *p < 0,05

Par contre, pour la glutathion peroxydase (GPX) et la glutathion réductase (GRED), aucune différence n'est notée entre les deux groupes de rates.

V.2. Chez la progéniture (fig 34 et Tableau A26 en annexe)

Chez les rats obèses, l'activité enzymatique érythrocytaire de la catalase est diminuée à J_0 , J_{21} et J_{90} par rapport aux rats témoins du même âge et du même régime. A J_{90} , l'activité de la catalase est significativement diminuée chez les rats recevant le régime cafeteria comparés au régime standard dans le même groupe (TRC versus TRS et ORC versus ORS).

A J_0 et J_{21} , l'activité de la GPX chez les rats obèses est similaire à celle des témoins quelque soit le régime.

A J_{90} , l'activité de la GPX est diminuée chez les rats obèses comparés aux rats témoins du même âge et au même régime. Le régime cafeteria induit une réduction de l'activité de la GPX comparés au régime standard chez les rats témoins et obèses adultes.

A J_0 , l'activité de la SOD chez les rats obèses est identique à celle des témoins. Une augmentation de l'activité de la SOD est notée à J_{21} chez les rats obèses comparés aux témoins. A J_{90} , elle reste augmentée chez les rats obèses sous régime standard. Cependant, le régime cafeteria provoque une diminution significative de l'activité SOD chez les rats témoins et obèses adultes par rapport au régime standard.

L'activité de la GRED ne varie pas significativement entre les différents lots de rats quelque soit l'âge et le régime consommé.

VI. Marqueurs du statut oxydant /antioxydant du foie

VI.1. Chez les mères (fig 35 et 37 ; Tableau A27 en annexe)

Aux différents temps (J_0 et J_{21}), les marqueurs du statut oxydant au niveau du foie (MDA, hydroperoxydes et protéines carbonylées) sont significativement augmentés chez les rates obèses comparées à leurs témoins (fig 38). Les activités enzymatiques antioxydantes de la

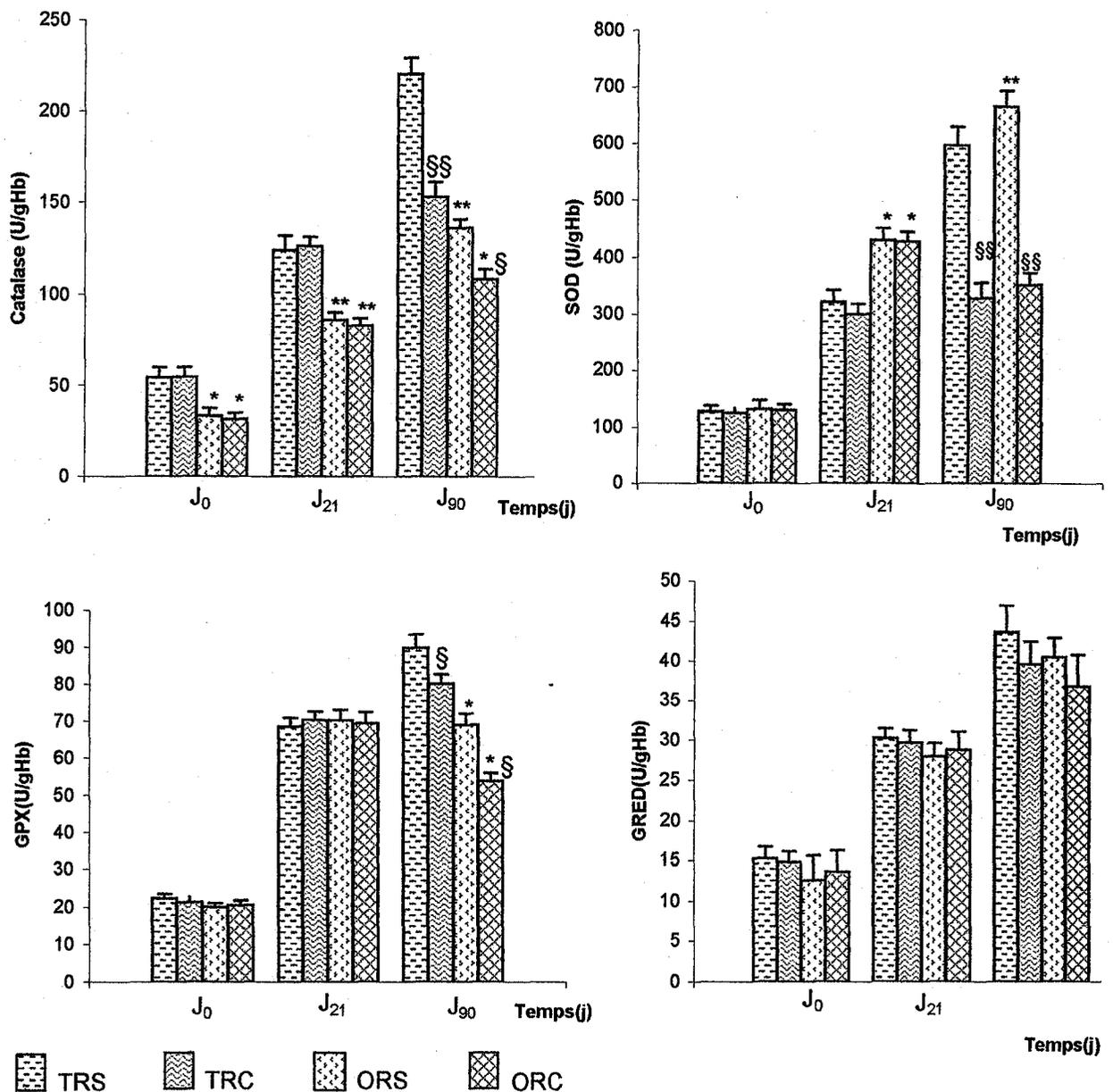


Fig 34 : Activités des enzymes erythrocytaires antioxydantes chez les rats témoins et obèses (progéniture)

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES, n=6. TRS: rats témoins nourris au régime standard au sevrage; TRC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage; ORS: rats obèses nourris au régime standard au sevrage; ORC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage. J₀: naissance; J₂₁: vingt et un jours de vie post-natale, qui correspond au sevrage; J₉₀: trois mois de la vie post-natale, qui correspond à l'âge adulte. SOD: superoxyde dismutase; GPX: glutathion peroxydase; GRED: glutathion réductase. La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance

Obèses comparés aux témoins, au même âge et au même régime (ORS versus TRS ou ORC versus TRC)
: *p<0,05; **p<0,01

Régime cafeteria comparé au régime standard dans le même groupe (TRC versus TRS ou ORC versus ORS) : §p<0,05; §§p<0,01

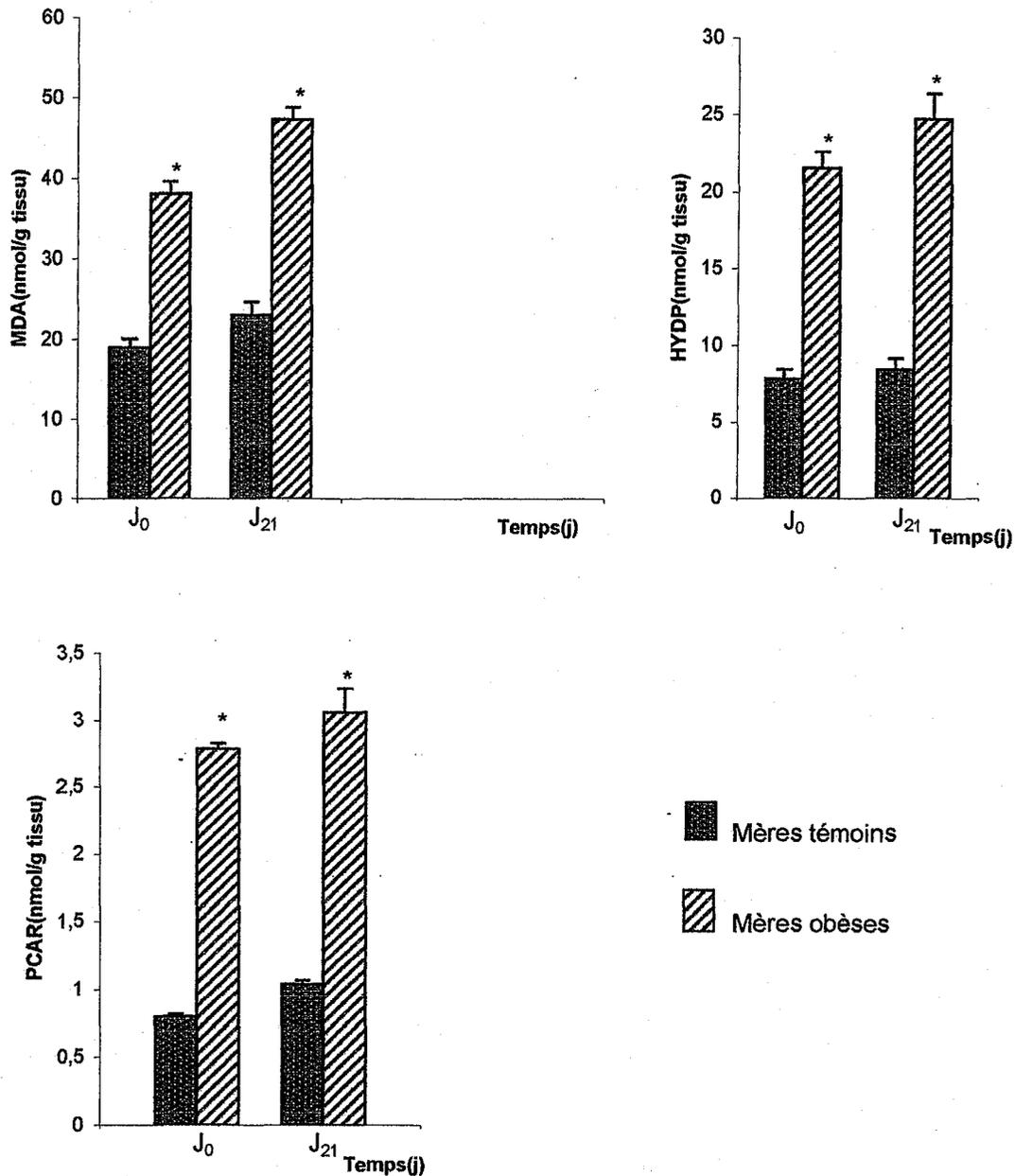


Fig 35: Marqueurs du statut oxydant du foie chez les rates mères témoins et obèses
 Chaque valeur représente la moyenne \pm ES, n=6. Les rates témoins sont nourries au régime standard ; les rates obèses sont nourries au régime cafeteria; J₀: jour de la mise bas; J₂₁: fin de la lactation. MDA: malondialdéhyde ; HYDP: hydroperoxydes ; PCAR: protéines carbonylées .La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance Obèses comparés aux témoins ,au même âge : *p<0,05

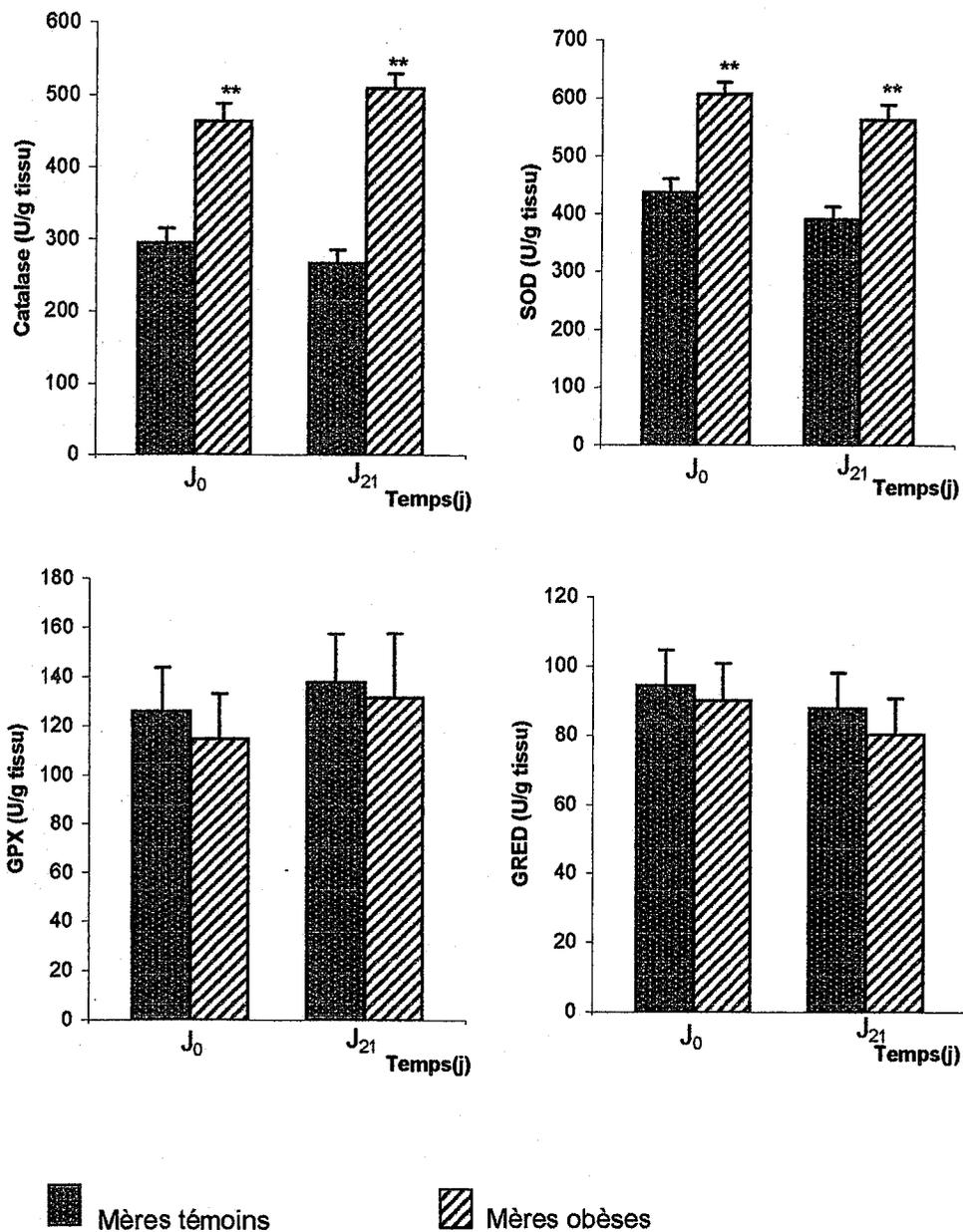


Fig 36: Activités des enzymes antioxydantes hépatiques chez les rates mères témoins et obèses

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES, n=6. Les rates témoins sont nourries au régime standard ; les rates obèses sont nourries au régime cafeteria; J₀: jour de la mise bas; J₂₁: fin de la lactation. SOD: superoxyde dismutase; GPX: glutathion peroxydase; GRED: glutathion réductase. La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance Obèses comparés aux témoins ,au même âge : **p<0,01

catalase et SOD sont également élevées à J₀ et J₂₁ chez les mères obèses par rapport aux témoins (fig 39). Aucune variation n'est observée pour les activités de la GPX et GRED.

VI.2. Chez la progéniture (fig 36 et 38 ; Tableau A28 en annexe)

Les teneurs hépatiques en MDA, hydroperoxydes et protéines carbonylées sont significativement élevées chez les rats obèses comparés aux rats témoins au même régime et au même âge (fig 40).

A l'âge adulte, les marqueurs du statut oxydant hépatique sont également augmentés chez les rats obèses nourris au régime cafeteria et les rats témoins sous régime cafeteria comparés au régime standard dans le même groupe (ORC versus ORS et TRC versus TRS).

Les activités des enzymes antioxydantes hépatiques, la catalase et la SOD sont augmentées chez les rats obèses comparés aux rats témoins au même régime et au même âge (fig 41).

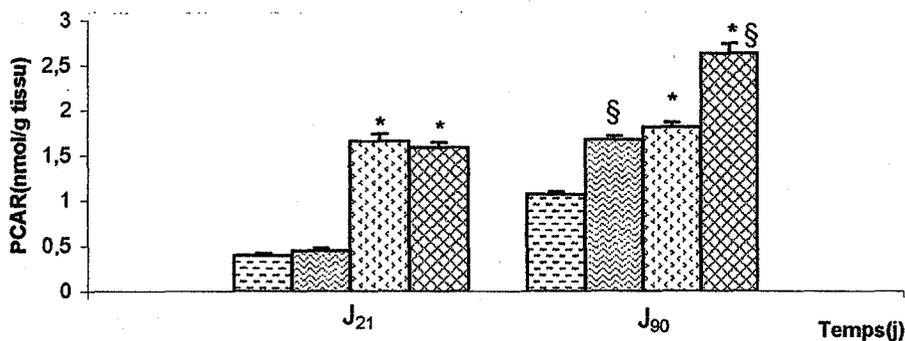
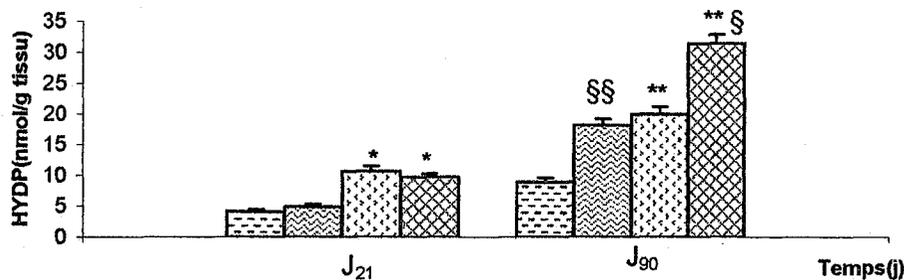
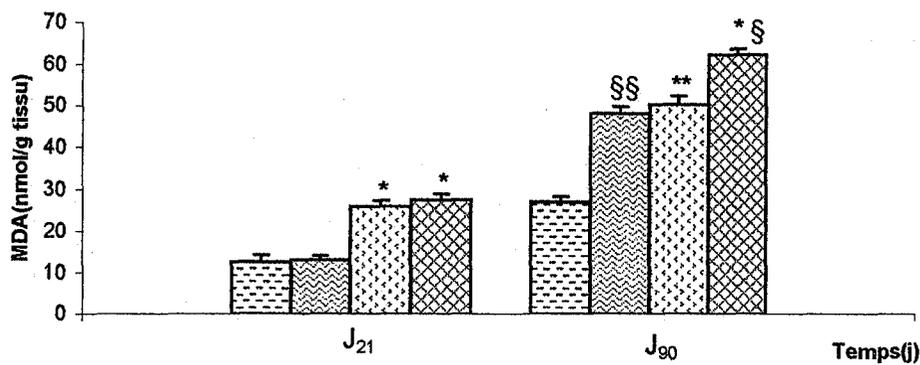
A J₉₀, la catalase et la SOD sont significativement augmentées chez les rats obèses et les rats témoins nourris au régime cafeteria par rapport à ceux nourris au régime standard. Aucune différence n'est notée pour les enzymes antioxydantes GPX et GRED chez les différents lots de rats, quelque soit l'âge et le régime consommé.

VII. Marqueurs du statut oxydant/antioxydant du muscle

VII.1. Chez les mères (fig 39 et 41 ; Tableau A29 en annexe)

Les marqueurs de l'oxydation du muscle (MDA, hydroperoxydes et protéines carbonylées) sont significativement élevés chez les rates obèses comparées aux rates témoins à J₀ et J₂₁ (fig 42).

Les activités enzymatiques de la catalase et la SOD sont également augmentées chez les rates obèses par rapport à leurs témoins aux différents temps (fig 43).



 TRS
  TRC
  ORS
  ORC

Fig 37: Marqueurs du statut oxydant du foie chez les rats témoins et obèses (progéniture)
 Chaque valeur représente la moyenne \pm ES, n=6. TRS: rats témoins nourris au régime standard au sevrage; TRC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage; ORS: rats obèses nourris au régime standard au sevrage; ORC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage. J₀: naissance; J₂₁: vingt et un jours vie post-natale, qui correspond au sevrage; J₉₀: trois mois de la vie post-natale, qui correspond à l'âge adulte. MDA: malondialdéhyde plasmatique; HYDP: hydroperoxydes plasmatiques; PCAR: protéines carbonylées plasmatiques. La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance

Obèses comparés aux témoins, au même âge et au même régime (ORS versus TRS ou ORC versus TRC) : *p<0,05; **p<0,01

Régime cafeteria comparé au régime standard dans le même groupe (TRC versus TRS ou ORC versus ORS) : §p<0,05; §§p<0,01

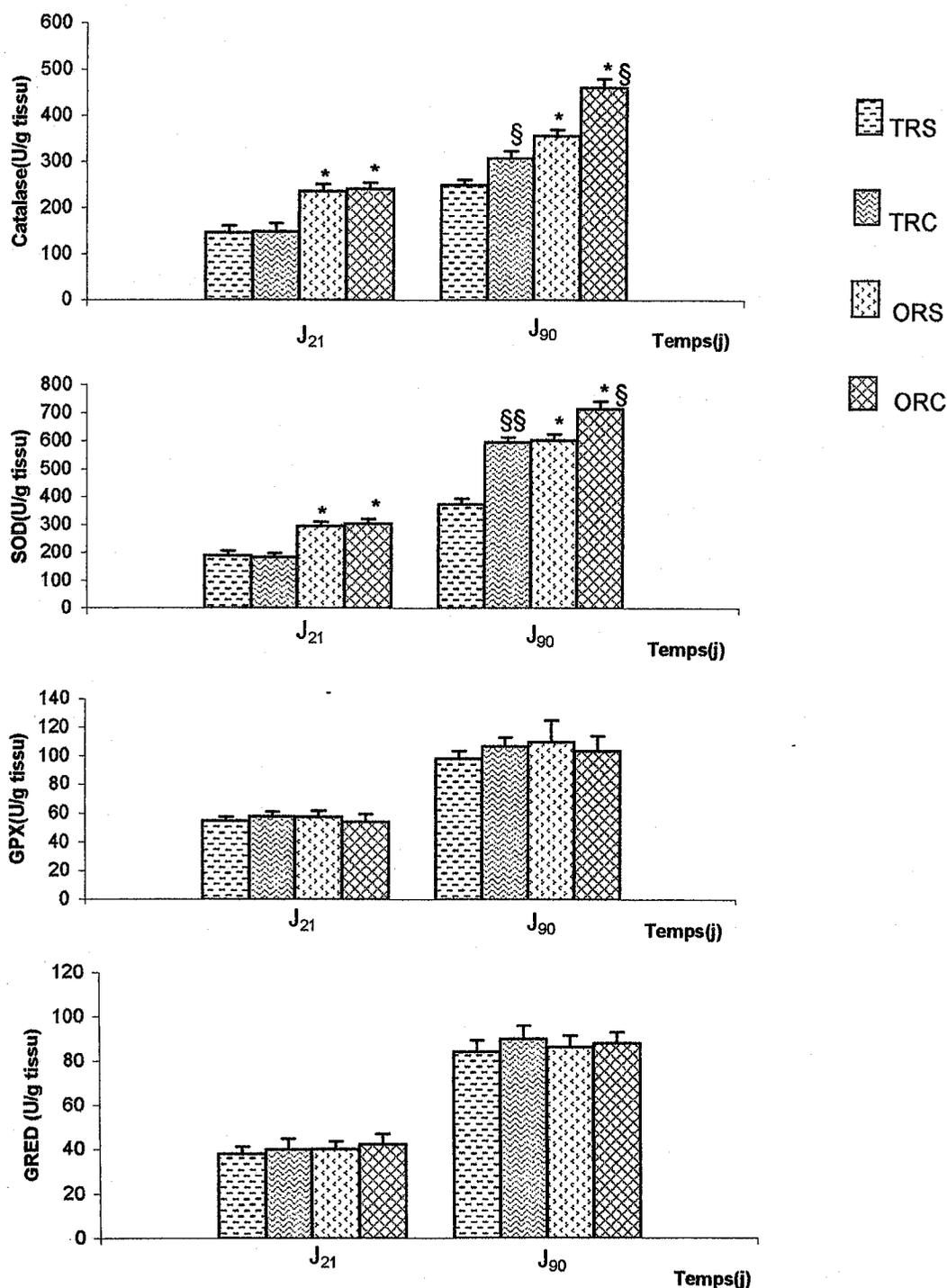


Fig 38 : Activités des enzymes antioxydantes hépatiques chez les rats témoins et obèses (progéniture)

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES, n=6. TRS: rats témoins nourris au régime standard au sevrage; TRC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage; ORS: rats obèses nourris au régime standard au sevrage; ORC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage. J₀: naissance; J₂₁: vingt et un jours de vie post-natale, qui correspond au sevrage; J₉₀: trois mois de la vie post-natale, qui correspond à l'âge adulte. SOD: superoxyde dismutase; GPX: glutathion peroxydase; GRED: glutathion réductase. La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance Obèses comparés aux témoins, au même âge et au même régime (ORS versus TRS ou ORC versus TRC) : *p<0,05; **p<0,01 Régime cafeteria comparé au régime témoin dans le même groupe (TRC versus TRS ou ORC versus ORS) : §p<0,05; §§p<0,01

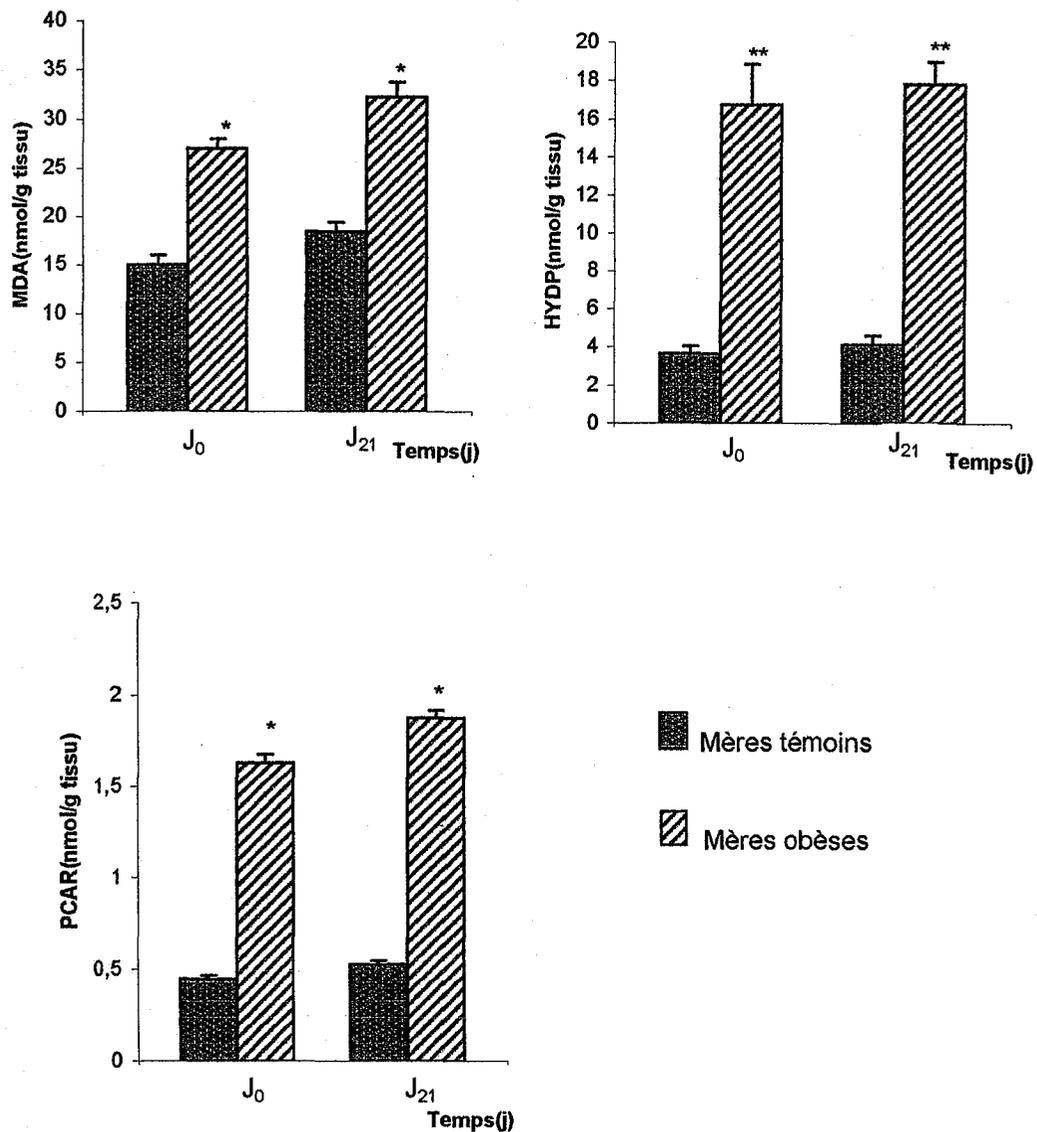


Fig 39: Marqueurs du statut oxydant du muscle chez les rates mères témoins et obèses
 Chaque valeur représente la moyenne \pm ES, n=6. Les rates témoins sont nourries au régime standard ; les rates obèses sont nourries au régime cafeteria; J₀: jour de la mise bas; J₂₁: fin de la lactation. MDA: malondialdéhyde ; HYDP: hydroperoxydes ; PCAR: protéines carbonylées . La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance Obèses comparés aux témoins ,au même âge : *p<0,05; **p<0,01

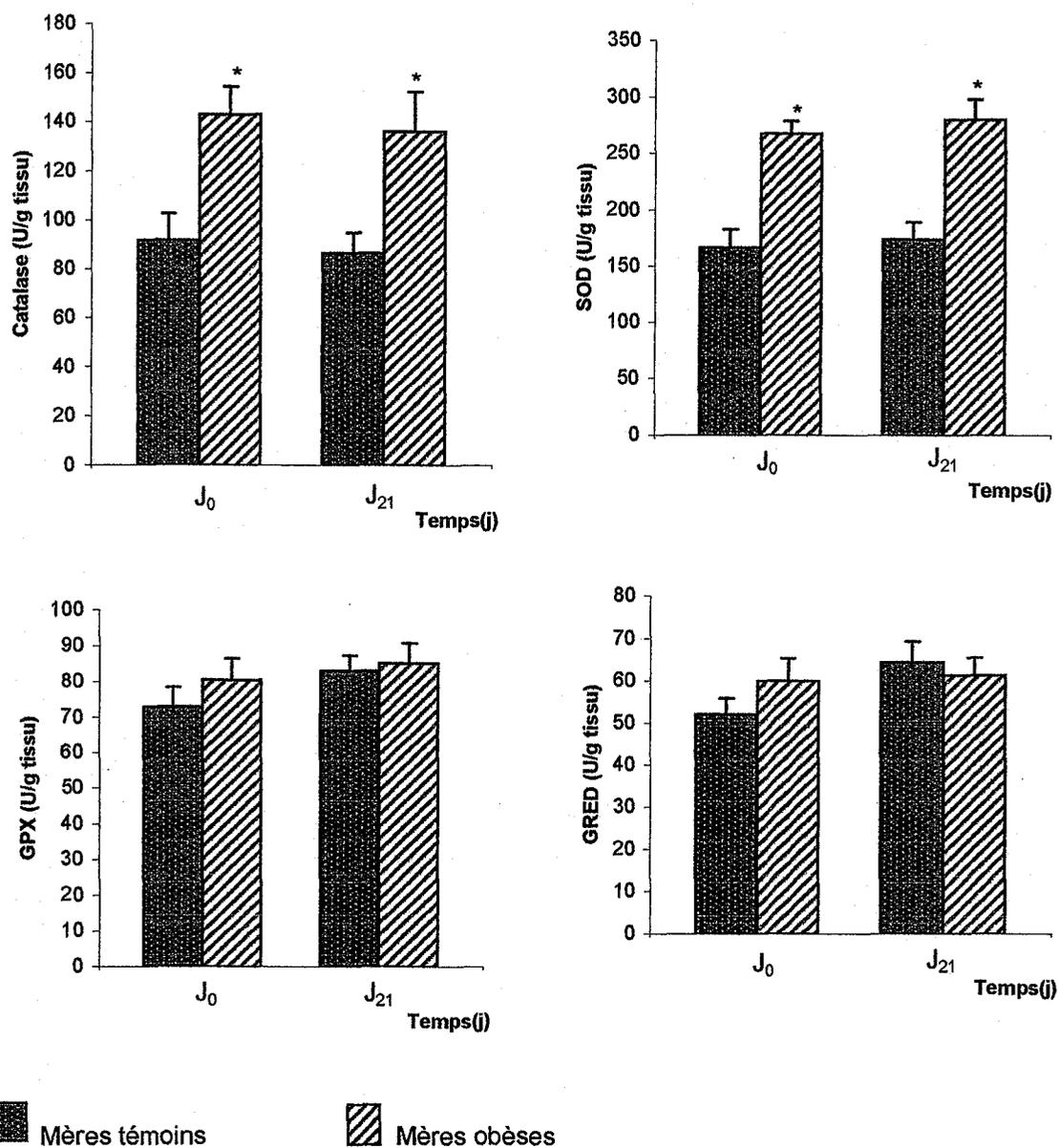


Fig 40: Activités des enzymes antioxydantes du muscle chez les rates mères témoins et obèses. Chaque valeur représente la moyenne \pm ES, n=6. Les rates témoins sont nourries au régime standard ; les rates obèses sont nourries au régime cafeteria; J₀: jour de la mise bas; J₂₁: fin de la lactation. SOD: superoxyde dismutase; GPX: glutathion peroxydase; GRED: glutathion réductase. La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance. Obèses comparés aux témoins, au même âge: *p<0,05; **p<0,01

VII.2. Chez la progéniture (fig 40 et 42 ; Tableau A30 en annexe)

Les teneurs musculaires en MDA, hydroperoxydes et protéines carbonylées sont significativement élevées chez les rats obèses comparés aux rats témoins respectifs au même âge et au même régime (fig 44).

Les mêmes variations sont notées chez les rats obèses et chez les rats témoins nourris au régime cafeteria comparés à ceux consommant le régime standard.

A J₂₁, les activités des enzymes antioxydantes musculaires (catalase, SOD, GPX, GRED) chez les rats obèses sont similaires à celles des rats témoins (fig 45).

Les activités enzymatiques de la catalase et la SOD sont significativement diminuées chez les rats obèses sous régime standard comparés aux rats témoins sous régime standard à J₉₀.

Les activités de ces mêmes enzymes sont significativement augmentées chez les rats obèses nourris au régime cafeteria par rapport aux rats obèses sous régime standard, à l'âge adulte.

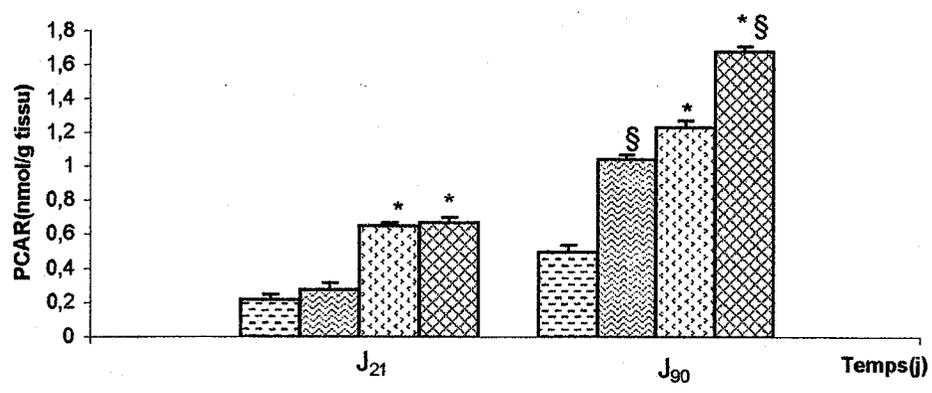
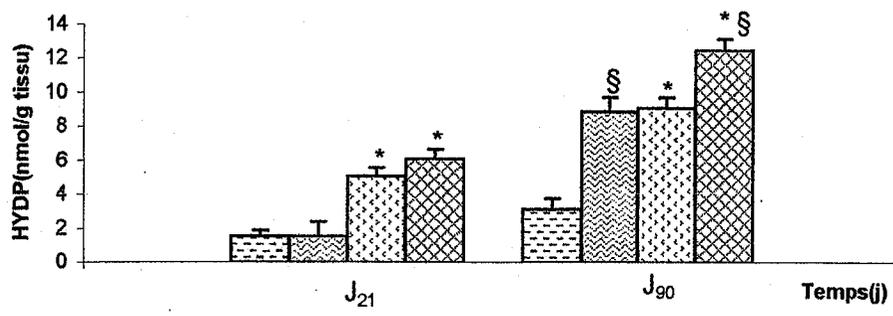
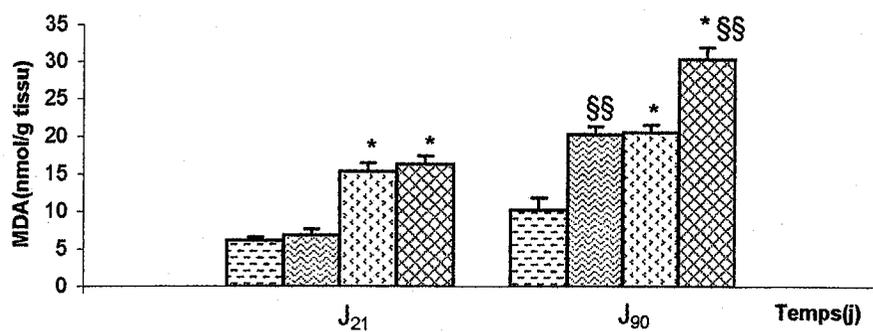
VIII. Marqueurs du statut oxydant/antioxydant du tissu adipeux

VIII.1. Chez les mères (fig 43 et 45 ; Tableau A31 en annexe)

Au niveau du tissu adipeux, une augmentation significative des teneurs en MDA et hydroperoxydes est notée chez les rates obèses comparées aux rates témoins aux différents temps (J₀ et J₂₁) ; les teneurs en protéines carbonylées restent similaires entre les deux groupes (fig 46).

A la mise bas et à la fin de la lactation, les activités enzymatiques de la catalase et la SOD sont également augmentées chez les mères obèses par rapport aux mères témoins (fig 47).

Aucune variation n'est observée pour les enzymes GPX et GRED entre les deux groupes de mères.



 TRS
  TRC
  ORS
  ORC

Fig 41: Marqueurs du statut oxydant du muscle chez les rats témoins et obèses (progéniture)
 Chaque valeur représente la moyenne ± ES, n=6. TRS: rats témoins nourris au régime standard au sevrage; TRC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage; ORS: rats obèses nourris au régime standard au sevrage; ORC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage. J₀: naissance ; J₂₁: vingt et un jours de vie post-natale, qui correspond au sevrage; J₉₀: trois mois de la vie post-natale, qui correspond à l'âge adulte. MDA: malondialdéhyde ; HYDP: hydroperoxydes ; PCAR: protéines carbonylées. La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance
 Obèses comparés aux témoins, au même âge et au même régime (ORS versus TRS ou ORC versus TRC) : *p<0,05; **p<0,01
 Régime cafeteria comparé au régime standard dans le même groupe (TRC versus TRS ou ORC versus ORS) : §p<0,05; §§p<0,01

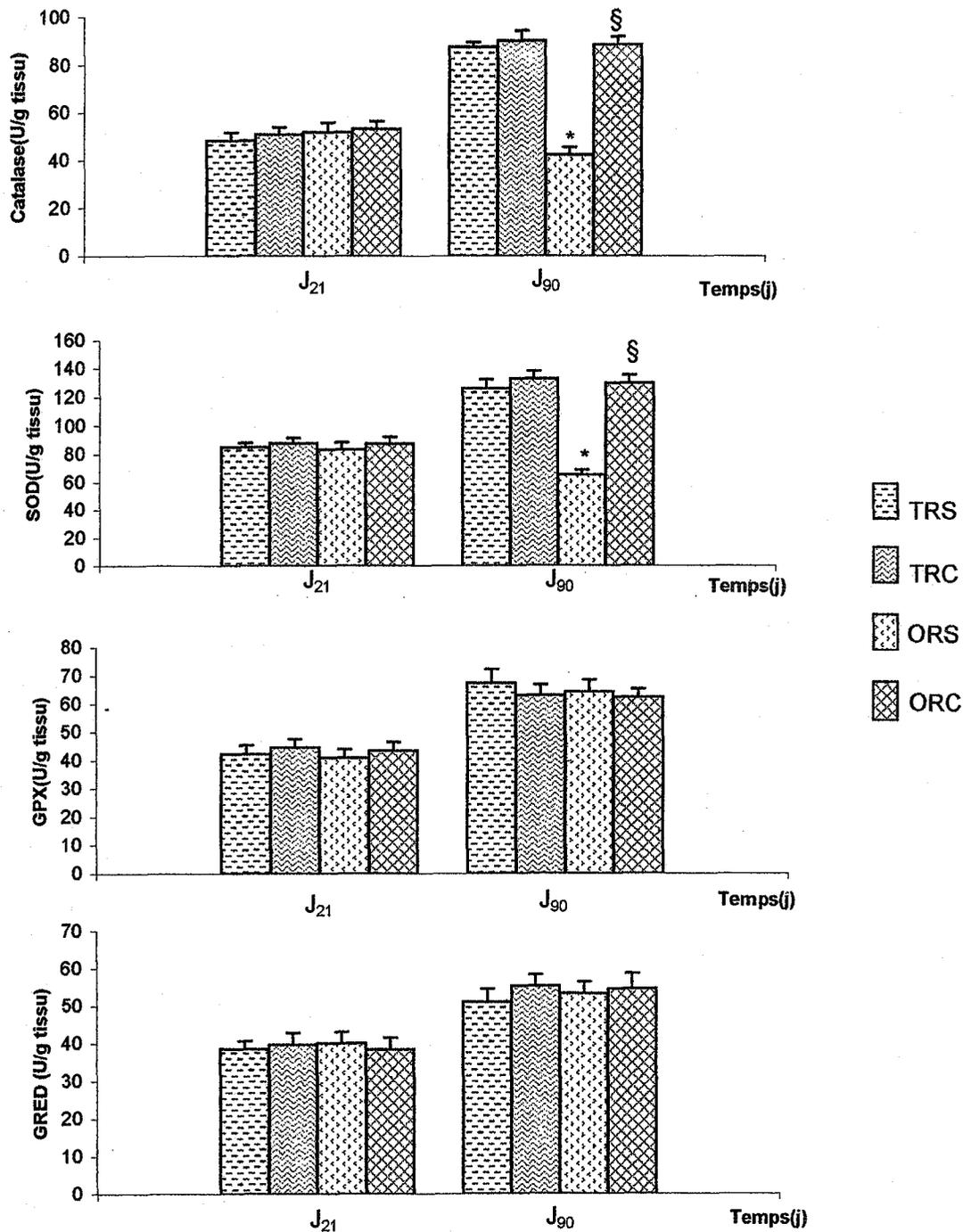


Fig 42: Activités des enzymes antioxydantes du muscle chez les rats témoins et obèses (progéniture)
 Chaque valeur représente la moyenne \pm ES, n=6. TRS: rats témoins nourris au régime standard au sevrage; TRC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage; ORS: rats obèses nourris au régime standard au sevrage; ORC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage. J₀: naissance; J₂₁: vingt et un jours de vie post-natale, qui correspond au sevrage; J₉₀: trois mois de la vie post-natale, qui correspond à l'âge adulte. SOD: superoxyde dismutase; GPX: glutathion peroxydase; GRED: glutathion réductase. La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance Obèses comparés aux témoins, au même âge et au même régime (ORS versus TRS ou ORC versus TRC) : *p<0,05; **p<0,01 Régime cafeteria comparé au régime témoin dans le même groupe (TRC versus TRS ou ORC versus ORS) : §p<0,05; §§p<0,01

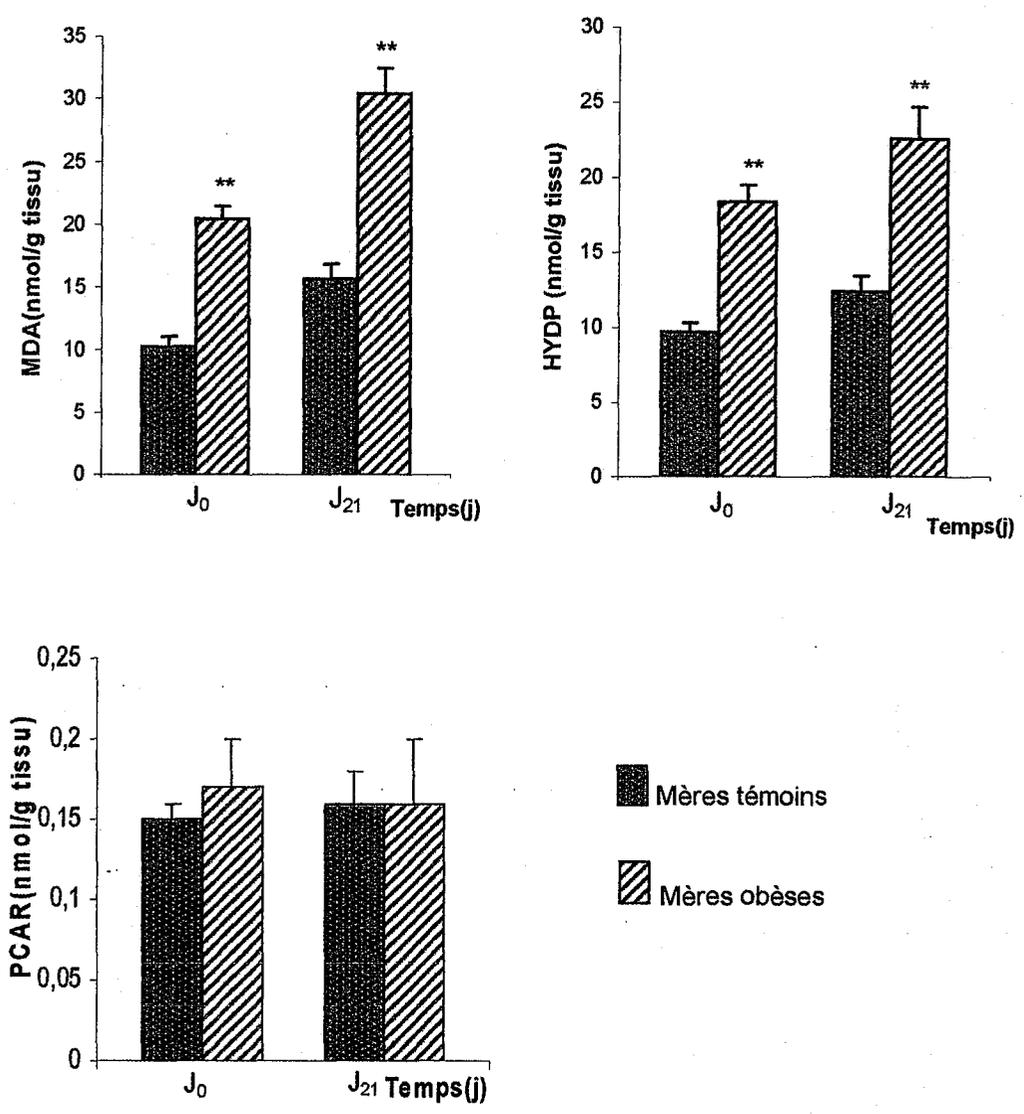


Fig 43: Marqueurs du statut oxydant du tissu adipeux chez les rates mères témoins et obèses. Chaque valeur représente la moyenne \pm ES, n=6. Les rates témoins sont nourries au régime standard; les rates obèses sont nourries au régime cafeteria. J₀: jour de la mise bas; J₂₁: fin de la lactation. MDA: malondialdéhyde; HYDP: hydroperoxydes; PCAR: protéines carbonylées. La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance. Obèses comparés aux témoins, au même âge: *p<0,05; **p<0,01

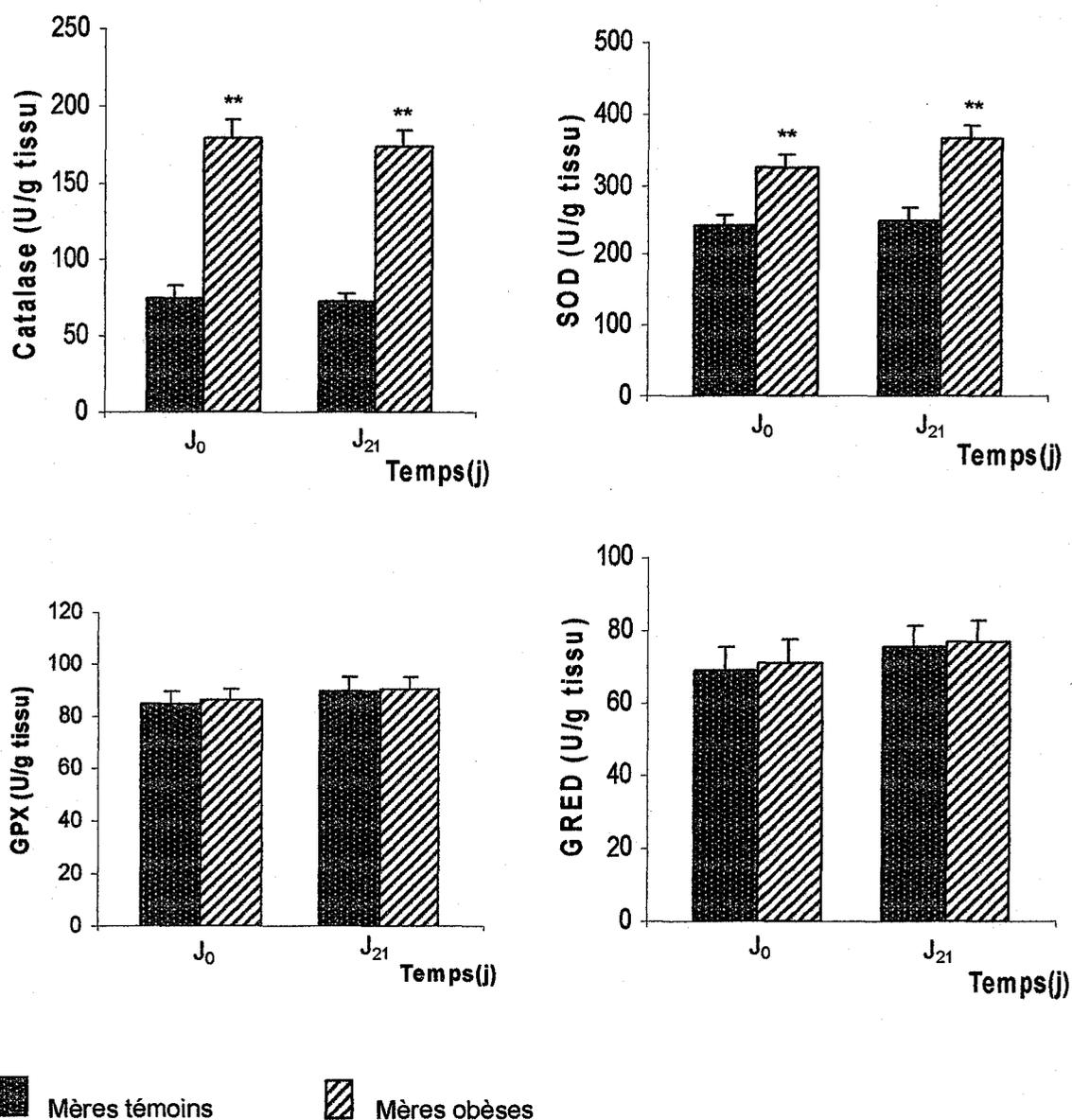


Fig 44 : Activités des enzymes antioxydantes du tissu adipeux chez les rates mères témoins et obèses

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES, n=6. Les rates témoins sont nourries au régime standard; les rates obèses sont nourries au régime cafeteria. J₀: jour de la mise bas; J₂₁: fin de la lactation.

SOD: superoxyde dismutase; GPX: glutathion peroxydase; GRED: glutathion réductase. La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance

Obèses comparés aux témoins, au même âge: *p<0,05; **p<0,01

VIII.2. Chez la progéniture (fig 44 et 46 ; Tableau A32 en annexe)

Les teneurs adipocytaires en MDA et en hydroperoxydes sont significativement augmentées chez les rats obèses comparés aux rats témoins au même âge et au même régime (fig 48).

A J₉₀, ces mêmes marqueurs sont significativement augmentés chez les rats obèses nourris au régime cafeteria (ORC) comparés aux rats obèses sous régime standard (ORS) et chez les rats témoins consommant le régime cafeteria (TRC) par rapport aux rats témoins sous régime standard (TRS).

Concernant les enzymes antioxydantes adipocytaires, la catalase et la SOD sont significativement augmentées chez les rats obèses comparés aux rats témoins du même régime et au même âge (fig 49). Le régime cafeteria induit une augmentation de ces activités enzymatiques aussi bien chez les rats témoins que chez les rats obèses adultes. Aucune variation n'est notée pour les activités enzymatiques adipocytaires de GPX et GRED chez les différents groupes de rats, quelque soit l'âge et le régime.

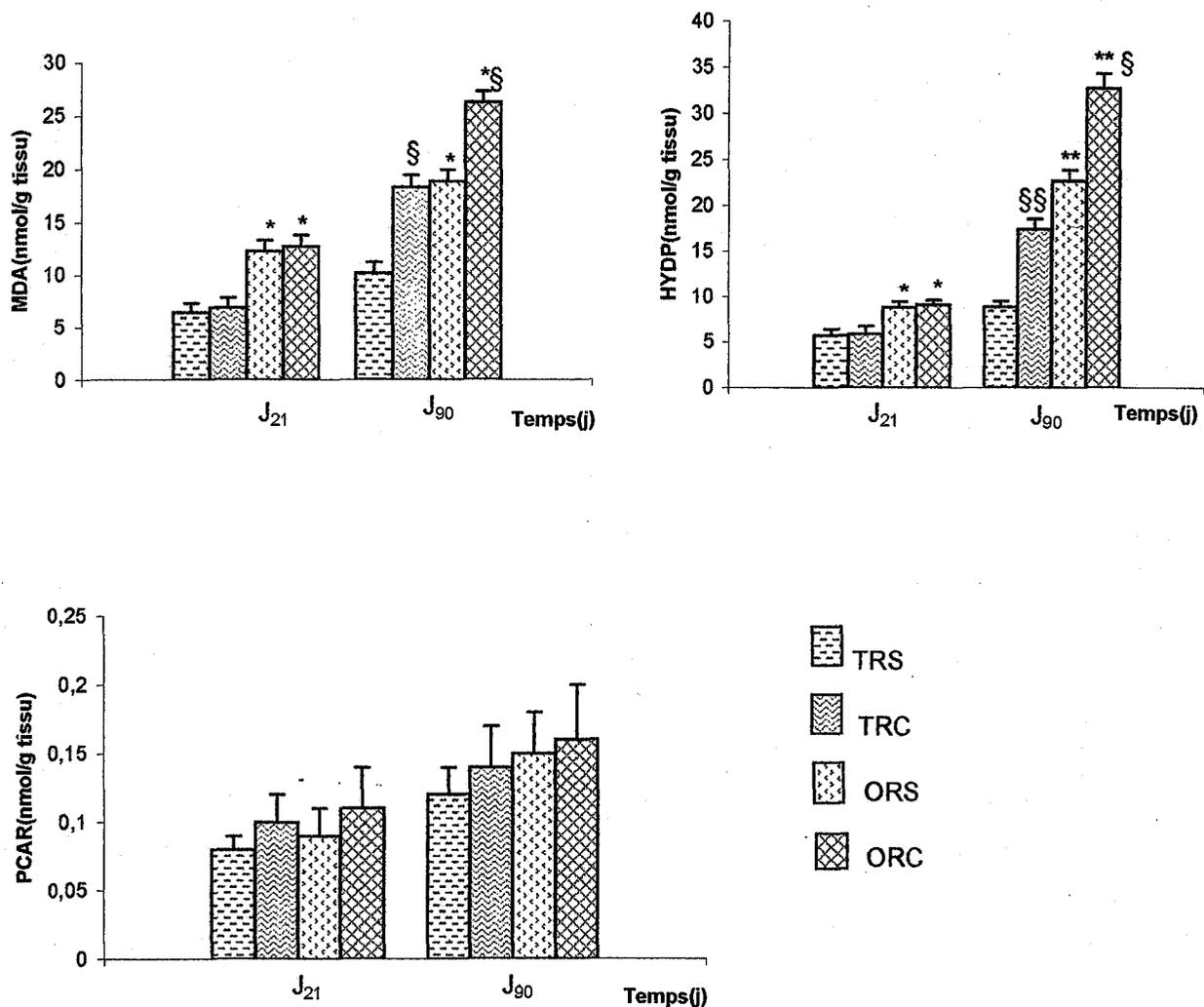


Fig 45: Marqueurs du statut oxydant du tissu adipeux chez les rats témoins et obèses (progéniture). Chaque valeur représente la moyenne \pm ES, n=6. TRS: rats témoins nourris au régime standard au sevrage; TRC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage; ORS: rats obèses nourris au régime standard au sevrage; ORC: rats obèses nourris au régime cafeteria au sevrage. J₀: naissance; J₂₁: vingt et un jours de vie post-natale, qui correspond au sevrage; J₉₀: trois mois de la vie post-natale, qui correspond à l'âge adulte. MDA: malondialdéhyde; HYDP: hydroperoxydes; PCAR: protéines carbonylées. La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance. Obèses comparés aux témoins, au même âge et au même régime (ORS versus TRS ou ORC versus TRC) : *p<0,05; **p<0,01. Régime cafeteria comparé au régime standard dans le même groupe (TRC versus TRS ou ORC versus ORS) : §p<0,05; §§p<0,01.

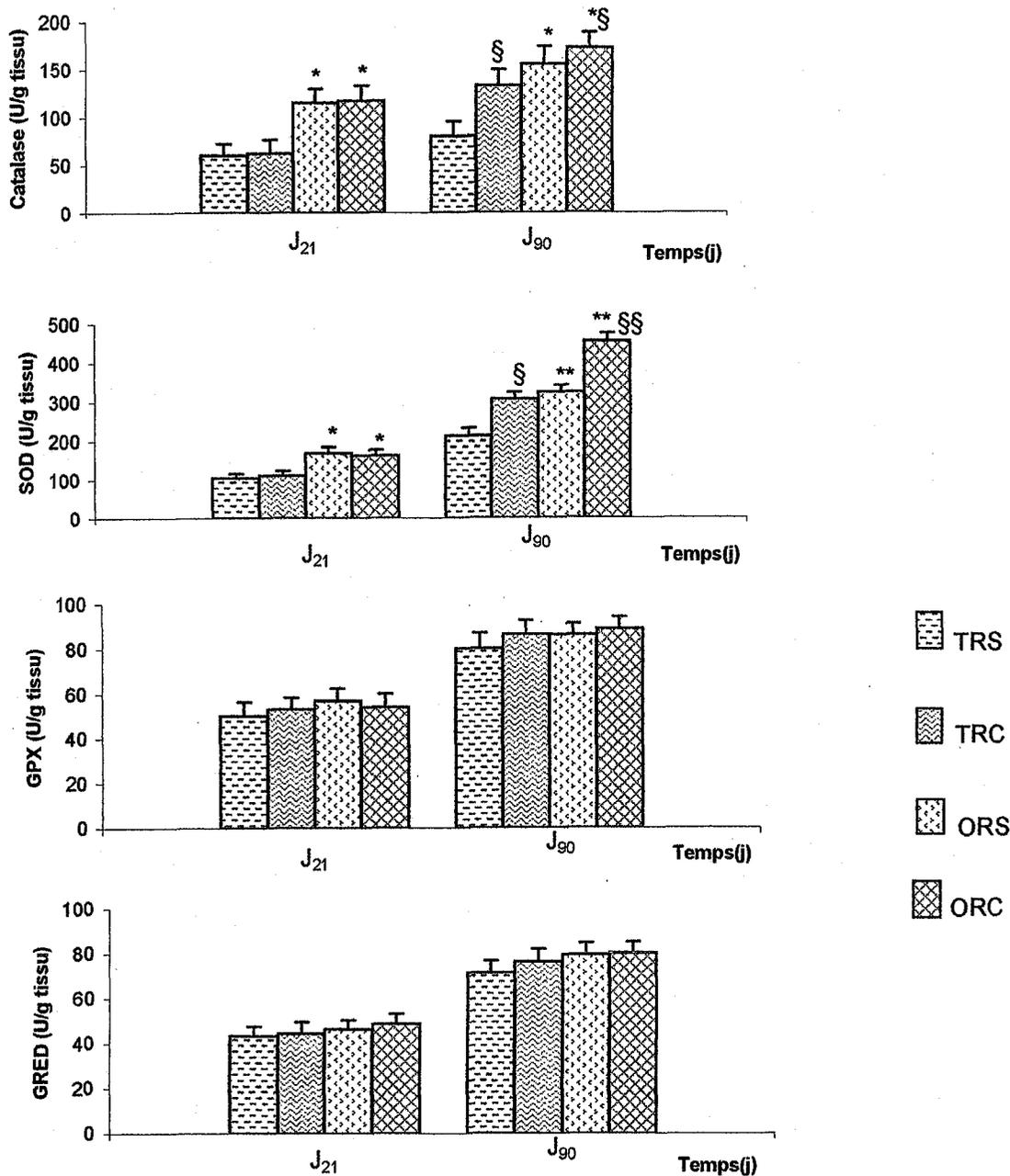


Fig 46 : Activités des enzymes antioxydantes du tissu adipeux chez les rats témoins et obèses (progéniture)

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES, n=6. TRS: rats témoins nourris au régime standard au sevrage; TRC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage; ORS: rats obèses nourris au régime standard au sevrage; ORC: rats obèses nourris au régime cafeteria au sevrage. J₀: naissance; J₂₁: vingt et un jours de vie post-natale, qui correspond au sevrage; J₉₀: trois mois de la vie post-natale, qui correspond à l'âge adulte. SOD: superoxyde dismutase; GPX: glutathion peroxydase; GRED: glutathion réductase. La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance.

Obèses comparés aux témoins, au même âge et au même régime (ORS versus TRS ou ORC versus TRC) : *p<0,05; **p<0,01

Régime cafeteria comparé au régime standard dans le même groupe (TRC versus TRS ou ORC versus ORS) : §p<0,05; §§p<0,01

DISCUSSION

L'augmentation de la prévalence de l'obésité, qui conduit à parler de véritable épidémie mondiale, et son association à un risque plus élevé de morbi-mortalité, font de cette affection une véritable priorité de santé publique. De plus, l'augmentation de la prévalence de l'obésité affecte autant les enfants que les adultes (WHO, 2000 ; LECLERF, 2005). L'obésité est associée à de nombreuses maladies dont le diabète de type II, l'hypertension artérielle, la coronaropathie, les dyslipidémies et les cancers (MOULIN et al., 1996 ; VERGES, 2001 ; WHO, 2002 ; VINER et al., 2005). Aussi, il a été constaté que ces maladies métaboliques induisent des troubles du système antioxydant (BONNEFONT-ROUSSELOT et al., 2000 ; MERZOUK et al., 2003 ; HIGDON et FREI, 2003 ; MERZOUK et al., 2004). Il est évident que les études épidémiologiques et les modèles animaux indiquent maintenant que les origines de l'obésité et des désordres métaboliques se situent non seulement dans l'interaction entre les gènes et les facteurs de risque adultes traditionnels, tels que le régime non équilibré et l'inactivité physique, mais également dans l'effet entre les gènes embryonnaire, foetal et postnatal (MAGAREY et al., 2003 ; DANIELZIK et al., 2004 ; SALSERRY et REAGAN, 2005). En effet, la croissance foetale normale est le résultat d'un effet équilibré entre la nutrition maternelle, le transport placentaire, et les facteurs de croissance foetaux (HOLEMANS et al., 2003). N'importe quel déséquilibre dans la prise nutritive maternelle a le potentiel de causer les changements profonds du métabolisme maternel et foetal (ASHWORTH, 2001). Pendant le développement, ce déséquilibre peut non seulement affecter la croissance foetale de survie et d'organe, mais touche également aux mécanismes homéostatiques nécessaires pour la croissance et le métabolisme foetaux appropriés (HOET et HANSON, 1999 ; VICKERS et al., 2001).

La compréhension des mécanismes à la base des anomalies associées au développement de l'obésité peut constituer des pistes de prévention d'ordre nutritionnelle, dans le but de ralentir la progression de cette maladie. Cependant le suivi des modifications métaboliques est

difficile chez l'homme en raison de la durée des différentes étapes de la vie ; pour cela, nous avons utilisé un modèle animal d'obésité nutritionnelle gestationnelle et post-natale.

Notre étude a abordé trois principales parties :

- La première partie est la détermination des effets d'un régime hyperlipidique et hypercalorique : régime cafeteria, sur le métabolisme et le statut oxydant/antioxydant chez la rate pendant la gestation et la lactation et chez la progéniture sevrée et nourrie avec ce type de régime jusqu'à l'âge adulte.
- Ensuite la mise en évidence des troubles métaboliques chez le nouveau-né de la rate nourrie au régime cafeteria et voir l'impact de l'alimentation maternelle sur le métabolisme fœtal.
- Un suivi chronologique chez le rat de l'apparition des modifications métaboliques chez la progéniture, d'une part dans le cas où les ratons obèses sont nourris au régime standard au sevrage, et d'autre part dans le cas où les ratons obèses sont nourris au régime cafeteria au sevrage. Ces modifications métaboliques peuvent être reliées à une programmation métabolique induite par la suralimentation maternelle associée à une suralimentation postnatale.

Parmi les différentes méthodes actuellement disponibles pour favoriser l'obésité chez le rat, le modèle régime cafeteria a l'avantage d'être semblable à la majorité des cas humains chez lesquels l'obésité est induite par une hyperphagie volontaire des aliments riches en énergie. 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.

Le régime cafeteria induit une hyperphagie provoquée par des facteurs nutritionnels mais aussi par des stimulations sensorielles qui pourraient influencer directement le contrôle central du comportement (LOUIS-SYLVESTRE, 1984). Un régime hyperlipidique et hypercalorique

est associé à une accumulation de tissu adipeux et à une prise de poids aussi bien chez l'homme que chez le rat (GOLAY, 1998).

Dans notre travail, le régime cafeteria induit une obésité consécutive à une hyperphagie observée chez la rate au cours de la gestation et chez les rats en période postnatale, en accord avec les études précédentes (PELLIZZON et al., 2002). L'élévation de l'apport énergétique peut expliquer l'augmentation du poids corporel chez les rats consommant le régime cafeteria, ce qui confirme les résultats des études précédentes (ARMITAGE et al., 2005). 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 la sensation de faim et augmente le poids corporel.

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).

Nos résultats montrent qu'au cours de la gestation, le régime cafeteria provoque une obésité associée à une hyperglycémie, un hyperinsulinisme, une hyperleptinémie et une hyperlipidémie chez la rate. Les nouveau-nés de ces rates sont aussi obèses et présentent les mêmes altérations que leurs mères à savoir une hyperglycémie, un hyperinsulinisme, une hyperleptinémie et une hyperlipidémie. Ces altérations persistent jusqu'à l'âge adulte et ceci quelque soit le régime alimentaire postnatal. Plusieurs auteurs utilisant le modèle cafeteria

indiquent que la suralimentation maternelle conduit à des modifications métaboliques fœtales qui peuvent avoir des conséquences à long terme incluant une augmentation de la lipogenèse dans le tissu adipeux et une intolérance au glucose (BAYLOR et al., 2005; BUCKLEY et al., 2005; CALUWAERTS et al., 2007; MUHLHAUSLER et al., 2007; TAYLOR et al., 2005; TAYLOR et POSTON, 2007).

Le régime maternel est l'un des principaux facteurs environnementaux influençant le développement de la progéniture (HALES et BARKER, 1992). La nutrition maternelle peut induire des modifications épigénétiques du génome fœtal et les réponses fœtales à l'environnement intra-utérin peuvent être à la base de la prédominance de beaucoup de maladies métaboliques chroniques à l'âge adulte (diabète de type II). En effet, une sous nutrition maternelle mène aux adaptations fœtales entraînant des changements du métabolisme d'insuline et de glucose, augmentant le risque du syndrome métabolique à l'âge adulte ; la suralimentation a aussi des effets néfastes et durables sur la santé de la progéniture (FREINKEL, 1980 ; CURHAN et al., 1996 ; HALES et BARKER, 2001 ; OZANNE et HALES, 2004).

La gestation est caractérisée par d'importants ajustements physiologiques liés au développement du fœtus et à l'apparition d'un nouveau secteur circulatoire avec un état de vasodilatation majeur, afin d'améliorer la perfusion du territoire foeto-placentaire. Pour assurer un apport nutritif plus important au fœtus, la sensibilité à l'insuline change pendant le développement de la grossesse avec installation d'une insulino-résistance progressive qui conduit à la fin de la gestation à une élévation de la glycémie et des lipides plasmatiques. L'insulino-résistance résulte de l'action des hormones placentaires (RYAN, 2003). Elle est majorée par une obésité, ou une inactivité maternelle. Elle entraîne une augmentation progressive des besoins en insuline. Le pancréas augmente donc sa production d'insuline pour maintenir une glycémie normale. Cet hyperinsulinisme est en fait initié très tôt durant la

grossesse, sous l'effet de l'augmentation brutale des oestrogènes maternels dont l'effet stimulant de l'insulinosécrétion est bien connu. Dans notre étude, le régime cafeteria induit une exagération de l'insulinorésistance chez les rates gestantes obèses montrant un hyperinsulinisme et une hyperglycémie comparées aux rates gestantes témoins nourries au régime standard. L'hyperleptinémie est secondaire à l'accumulation du tissu adipeux, puisque la leptine est sécrétée par les cellules adipeuses de façon proportionnelle à la masse grasse (BRAVO et al., 2006). Pendant longtemps, le tissu adipeux a été considéré comme organe relativement inerte stockant de l'énergie sous forme de triglycérides. Les travaux ces dernières années montrent que le tissu adipeux sécrète une vaste gamme de peptides d'actions variées et multiples (AILHAUD, 1998 ; HELLSTROM et al., 2002). En effet certains de ces peptides peuvent jouer un rôle dans l'état inflammatoire chronique qui caractérise l'obésité telles que la leptine et l'adiponectine (VIDAL et al., 1996 ; AHIMA et FLIER, 2000 ; BJORNTORP et al., 2000 ; OUCHI et al., 2000 ; YOKOTA et al., 2000).

Dans notre étude, l'hyperglycémie maternelle est responsable de l'hyperglycémie foetale qui stimule le pancréas foetal et entraîne l'hyperinsulinisme foetal. Au cours du développement foetal, l'insuline, hormone à large spectre d'action, induit un phénomène anabolique puisqu'elle stimule la production de glycogène, la synthèse des protéines et de triglycérides (HILL, 1978 ; SUZA et SCHWARTZ, 1985). En augmentant le transport des acides aminés et la fonction ribosomale, l'insuline stimule la synthèse protéique du muscle et augmente la formation de triglycérides dans l'adipocyte par l'intermédiaire de l'activation de la lipoprotéine lipase (WAKIL et al., 1983). L'hyperglycémie et l'hyperinsulinisme foetaux, combinés à un excès de transfert des nutriments de la mère au foetus via le placenta peuvent expliquer l'apparition précoce de l'obésité chez les nouveau-nés de rates nourries au régime cafeteria pendant la gestation.

D'après certains auteurs, les rats obèses sont caractérisés par une insulino-résistance de l'organisme entier avec dysfonctionnement des cellules bêta à l'âge adulte (LEAHY et al., 1992 ; MERZOUK et al., 2001). Ainsi donc, l'obésité est constamment associée à une insulino-résistance dont les mécanismes sont complexes (GALASSI et al., 2006) ; reste encore à préciser si l'hyperinsulinisme est le phénomène primaire responsable de l'obésité ou seulement sa conséquence. Le niveau d'insulinémie reflète fidèlement l'importance des réserves adipeuses, il est corrélé à l'indice de masse corporelle chez un individu donné (VERGES, 2001). L'hypersecretion d'insuline et l'hyperplasie des cellules bêta peuvent être secondaires à une adaptation physiologique, à un état d'insulino-résistance primaire ou à des conditions nutritionnelles telles que la suralimentation (AZAIS-BRAESCO et al., 2006).

L'hyperglycémie, l'hyperinsulinémie et l'hyperleptinémie observées chez les rats obèses à la naissance et au sevrage, sont maintenues jusqu'à l'âge adulte aussi bien chez les rats obèses nourris au régime cafeteria qu'au régime standard . Ces résultats sont en accord avec ceux de OH et al. (1988) ; GELARDI et al. (1990) ; MERZOUK et al. (2001 et 2003). L'adiposité et l'hyperinsulinisme accrus contribuent à l'élévation de la concentration de la leptine plasmatique (KIEFFER et HABENER, 2000 ; GRASSI, 2004). La persistance de l'obésité et des troubles métaboliques chez les rats obèses quelque soit leur régime postnatal suggère une malprogrammation épigénétique suite à un milieu intra-utérin défavorable (MARTIN-GRONERT et al., 2006). Dans notre étude, la malprogrammation épigénétique provient de la présence d'un excès de transfert des nutriments de la mère nourrie au régime cafeteria au fœtus. La résistance à l'insuline et à la leptine peut être initiée in utero chez les rats obèses nés de mères nourries au régime cafeteria. Ces deux hormones jouent un rôle important dans la régulation de la prise alimentaire. Elles ont des effets anorexigènes sur l'hypothalamus et permettent d'inhiber l'appétit et réduire la prise alimentaire (SCHWARTZ et al., 2000). Une résistance à l'effet régulateur de ces deux hormones se traduit par une augmentation de la

Afin de comprendre l'utilisation métabolique du régime cafeteria et ses interrelations avec l'installation de l'obésité, des bilans nutritionnels ont été établis chez la progéniture après le sevrage. La constitution de l'obésité dépend normalement de l'apport nutritionnel et du bilan énergétique, et elle nécessite un excès d'apport d'énergie par rapport aux besoins. Après le sevrage, les rats témoins nourris au régime cafeteria présentent une augmentation du poids corporel comparés aux rats témoins nourris au régime standard. L'excès pondéral est dû à une augmentation de la masse grasse, ce qui est en faveur de l'effet obésogène du régime cafeteria. Aux différents bilans (BI – BIV), ces rats montrent une augmentation des ingestas et une diminution des excréta. En effet, la prise alimentaire, l'apport énergétique et l'azote ingéré sont significativement élevés alors que l'azote excrété particulièrement l'azote urinaire est réduit chez les rats témoins sous régime cafeteria comparés aux témoins sous régime standard. Nos résultats montrent que dans ce cas, la diminution de l'excrétion de l'azote urinaire est due à une diminution de l'excrétion urinaire d'urée. La diminution de l'azote uréique chez les rats nourris au régime cafeteria résulte probablement de la réduction de la quantité de substrat NH_3 issu de la désamination oxydative des acides aminés, ce qui est le signe de leur meilleure utilisation pour les synthèses protéiques. Plusieurs auteurs rapportent une diminution de la synthèse d'urée par les hépatocytes avec réduction de l'activité des enzymes du cycle d'urée comme la carbamoyl phosphate synthétase et de l'argino-succinate synthétase, et un flux faible des acides aminés vers le foie qui sont plutôt captés par les autres organes des rats nourris au régime cafeteria (MUNRO, 1978 ; MEIJER et HENSGENS, 1982 ; BARBER et al., 1985). Par ailleurs, les valeurs de l'azote fécal, qui correspond à l'azote alimentaire non absorbé et à l'azote endogène, sont similaires chez les rats des deux régimes, signe d'une bonne assimilation protéique. Ces résultats sont différents de ceux obtenus chez d'autres modèles d'obésité expérimentale chez le rat (modèles génétiques) chez lesquels l'excrétion de l'azote urinaire ou fécale augmente par rapport aux valeurs témoins (DUNN et HARTSOOK, 1980 ;

KARAKASCH et al., 1980). Quelque soit le bilan nutritionnel, le coefficient d'utilisation digestive apparente de l'azote (CUD_N) et les bilans azotés (BA) sont significativement élevés chez les rats témoins sous régime cafeteria comparés aux rats témoins sous régime standard. Ceci confirme leur meilleure utilisation métabolique de l'azote et leur meilleure capacité de rétention azotée. Les valeurs similaires de créatinine urinaire chez tous les deux groupes de rats affirment que l'azote excrété est bien d'origine exogène (alimentaire). La créatinine est le meilleur marqueur de la fonction rénale. Elle est formée dans l'organisme par déshydratation non enzymatique de la créatine synthétisée par le foie et stockée dans le muscle (LACOUR, 1992).

Nos résultats montrent aussi que les lipides ingérés sont significativement élevés chez les rats témoins recevant le régime cafeteria par rapport aux témoins sous régime standard, quelque soit le bilan. Ceci est lié à la composition du régime cafeteria, riche en lipides. De plus, chez ces rats, l'excrétion fécale des lipides est aussi élevée.⁸ Cependant, malgré l'élimination digestive importante des lipides, les CUD_L chez les rats sous régime cafeteria restent plus élevés que ceux des rats sous régime standard. L'absorption intestinale des lipides est donc majorée chez les rats sous régime cafeteria. Il apparaît clairement que le régime cafeteria induit chez les rats témoins une hyperphagie et une meilleure capacité de rétention des protéines et des lipides, favorisant une croissance pondérale importante.

Dans notre étude, le comportement alimentaire ainsi que les bilans nutritionnels chez les rats obèses sont différents de ceux des rats témoins. Tout d'abord, les rats obèses nourris au régime standard au sevrage présentent une augmentation de la prise alimentaire, de l'apport énergétique et de l'azote ingéré comparés aux rats témoins sous le même régime standard, alors que les taux d'azote excrété, urinaire et fécal restent similaire entre les deux groupes, ce qui explique les valeurs élevés des BA et des CUD_N chez les obèses. De plus, les lipides ingérés mais aussi les lipides excrétés sont plus forts chez les obèses comparés aux témoins

sous le même régime standard. Ceci entraîne des CUD_L similaires entre les deux groupes de rats. Ainsi, les rats obèses sous régime standard mangent plus que les rats témoins, ce qui peut aggraver leur obésité initiée in utero. Une modification de l'appétit suite à une programmation foetale peut expliquer ces faits, comme il a été suggéré par d'autres études (CRIPPS et al., 2005).

D'un autre côté, la quantité de nourriture consommée par les rats obèses soumis au régime cafeteria au sevrage ne diffère pas de celle des rats obèses nourris au régime standard. Ainsi l'hyperphagie induite normalement par le régime cafeteria n'est pas observée chez les obèses. Malgré une prise alimentaire identique, les rats obèses sous régime cafeteria ont un apport énergétique plus élevé que les obèses sous régime standard. Ceci est lié à la composition du régime cafeteria hypercalorique. Cependant, malgré les variations de l'azote ingéré et celles de l'azote excrété particulièrement l'azote urinaire, les BA et les CUD_N chez les obèses sous régime cafeteria restent similaires à celles des obèses nourris au régime standard. De plus, les taux de lipides ingérés par ces rats sont aussi élevés, vu la composition hyperlipidique du régime cafeteria. Une augmentation concomitante des lipides fécaux et des CUD_L est alors observée chez ces rats. Ces observations sont bien connues lorsque le régime est riche en lipides, aussi bien chez l'homme que chez le rats (KERFELEC et al., 2004 ; BADMAN et FLIER, 2005).

Il est à noter que le régime cafeteria n'induit pas chez les rats obèses une augmentation de poids supplémentaire, puisque les rats obèses sous ce régime cafeteria présentent un poids corporel similaire à celui des obèses sous régime standard. De plus, le poids relatif du tissu adipeux ainsi que sa teneur en lipides ne diffèrent pas entre ces deux groupes de rats obèses. La réponse nutritionnelle de ces rats obèses au régime cafeteria est différente de celle des rats témoins. Ainsi, la persistance de l'obésité chez les rats obèses ne semble pas être liée à la

nature et à la composition du régime. Ces faits peuvent être reliés à une programmation métabolique pendant la vie foetale.

Dans notre étude, l'obésité, aussi bien chez la mère que chez la progéniture, programmée ou nutritionnelle, est associée à de nombreuses modifications métaboliques qui varient selon l'âge des rats.

Au cours de l'obésité, l'hyperinsulinisme s'accompagne d'anomalies du métabolisme des lipides et des lipoprotéines (GELARDI et al., 1990 ; MOULIN et al., 1996 ; MOULIN et al., 2001 ; MERZOUK et al., 2003). Nous avons constaté que l'obésité maternelle due au régime cafeteria a pour conséquence des altérations lipidiques chez les rates et leurs progénitures.

En effet, à la mise bas et à la fin de lactation, les mères obèses présentent une augmentation des teneurs sériques en triglycérides (TG) et en cholestérol total (CT). L'hypertriglycémie correspond à une surproduction hépatique des TG-VLDL suite à une augmentation du flux de glucose et d'acides gras libres au foie, ainsi qu'à une résistance hépatique à l'effet inhibiteur de l'insuline sur la sécrétion des VLDL (MALMSTROM et al., 1997 ; STEINER et al., 1984 ; VERGES, 1999). L'augmentation des taux sériques en TG et CT est liée à un taux élevé des lipoprotéines LDL-HDL₁. Enfin, les taux de HDL_{2,3} ne présente aucune variation entre les groupes de rates. Ces résultats concordent avec ceux obtenus chez les femmes enceintes obèses qui ont montré des niveaux sériques en triglycérides et cholestérol nettement plus élevés que chez les femmes non obèses (MERZOUK et al., 2000). L'augmentation du taux des œstrogènes et celle de l'insulinorésistance durant la gestation sont considérées comme responsables de cette hyperlipidémie, majorée en cas d'obésité humaine ou expérimentale (KING, 2006). 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 (PORTE et al., 1998). En effet, l'activité de la lipoprotéine lipase (LPL),

enzyme responsable du catabolisme des VLDL, est réduite en cas d'obésité (ECKEL, 1995). De plus, il a été démontré que l'activité de la LPL est réduite au cours de la grossesse suite à l'insulinorésistance (HERRERA, 2000).

Dans notre étude, les anomalies du métabolisme des lipides et des lipoprotéines observées chez les rats obèses à la naissance (J_0) sont comparable à celles observées chez leurs mères obèses, ce qui indique la transmission des altérations du métabolisme lipidique des mères à la progéniture en faveur d'une programmation foetale. L'hypertriglycémie et l'hypercholestérolémie sont probablement dues à une augmentation de synthèse et sécrétion des lipoprotéines, conséquence de l'hyperinsulinisme foetal et de l'hyperlipogénèse hépatique (BOULANGE et al., 1981 ; SUCKLING et JAKSON, 1993). Ces désordres sont bien connus chez les nouveau-nés de rates obèses (HENG et al., 1990). Une élévation en glucose et en acides gras en provenance de la circulation maternelle peut expliquer la production accrue par le foie foetal de TG, de VLDL et par la suite celle des LDL, après action de la lipoprotéine lipase sur les VLDL sériques. Chez les nouveau-nés, les récepteurs hépatiques des LDL sont fonctionnels et ont un rôle primordial dans la régulation de la concentration sérique en cholestérol (DURER et al., 1987). De plus, les nouveau-nés obèses présentent une augmentation des teneurs sériques en CT-HDL₂₋₃. Ceci est en accord avec les travaux de MERZOUK et al. (2000 ; 2001) qui ont trouvé des teneurs élevées en VLDL, LDL et HDL chez des nouveau-nés obèses chez l'homme et chez le rat. L'augmentation de toutes les lipoprotéines chez le foetus obèse reflète certainement des besoins majorés en lipides pour assurer la croissance des différents tissus.

Au sevrage (J_{21}), les modifications lipidiques observées chez la progéniture obèse sont encore similaires à celles de leurs mères obèses. Le régime cafeteria chez les rates au cours de la lactation induit des modifications de la composition du lait avec enrichissement en lipides

(ROLLS et al., 1986), ce qui explique l'hyperlipidémie des rats allaités (SALVADO et al., 1986).

A l'âge adulte (J_{90}), les rats obèses présentent une augmentation des VLDL et LDL-HDL₁ et une diminution des HDL₂₋₃, qu'ils soient nourris au régime standard ou au régime cafeteria. D'après WOLF et GRUNDY (1983), les teneurs diminuées du CT-HDL sont probablement dues à l'augmentation de synthèse des TG-VLDL qui drainent les esters de cholestérol et les apo A1 des HDL. Par ailleurs, les rats obèses ont des teneurs sériques élevées en TG, ce qui est lié aux teneurs élevées en TG-VLDL, TG-LDL-HDL₁ et TG-HDL₂₋₃. Ces modifications peuvent être le résultat de l'insulinorésistance associée à l'obésité. En effet, de nombreux travaux rapportent que l'obésité définie par un excès de tissu adipeux s'accompagne d'une insulinorésistance responsable des anomalies lipidiques (VERGES, 2001).

Les modifications lipidiques notées chez les rats témoins nourris au régime cafeteria sont comparables à celles observés chez les rats obèses. En effet, nos résultats montrent que le régime cafeteria induit une obésité associée à un hyperinsulinisme et une hyperlipidémie chez les rats témoins. Cependant, chez les rats obèses, le régime cafeteria ne provoque pas des altérations plus importantes que celles observées avec le régime standard chez ces rats obèses. A côté de ces altérations lipidiques, les poids relatifs des organes et leurs compositions sont aussi modifiés chez les mères et leur progéniture.

Chez les mères à la mise bas et à la fin de la lactation, les poids relatifs du foie et du muscle ne présentent pas de variations. Cependant, le poids relatif du tissu adipeux et son contenu en lipides sont significativement élevés chez les mères obèses. Rappelons que ces mères sont nourries au régime cafeteria qui est non seulement hypercalorique mais aussi hyperlipidique. L'accumulation du tissu adipeux et son enrichissement en lipides est une caractéristique de l'obésité induite par le régime cafeteria (GROUBET et al., 2003; CALUWAERTS et al.,

2007; RIBOT et al., 2008). L'augmentation des lipides hépatiques chez les rates obèses à la mise bas est aussi liée à l'élévation des apports nutritionnels lipidiques.

Chez la progéniture, le poids relatif du foie et son contenu en lipides et en protéines ne présentent pas de variations entre les obèses et les témoins, quelque soit le régime consommé au sevrage. A J₉₀, le poids relatif du muscle ainsi que son contenu en lipides et en protéines diminuent, d'une part, chez les rats obèses nourris au régime standard par rapport aux rats témoins du même régime; d'autre part, augmentent chez les obèses sous régime cafeteria par rapport aux obèses sous régime standard. BAYLOR et al. (2005) ont prouvé que les rats, nés de mères nourries au régime cafeteria pendant la gestation et la lactation, ont une atrophie du muscle avec hypoplasie des fibres accompagnées d'une hypertrophie du tissu adipeux. Cette hypotrophie musculaire est associée à des niveaux élevés des ARNm des IGF-1, IGF-1R et PPAR γ , impliqués dans la croissance et le métabolisme du muscle. Les PPAR γ sont impliqués dans la lipogenèse musculaire. Les IGF-1, facteurs de croissance analogues à l'insuline, et leurs récepteurs (IGF-1R) jouent un rôle dans la synthèse des protéines et la captation du glucose par les cellules musculaires, et dans la croissance et la différenciation musculaire. Ainsi, l'augmentation des ARNm des IGF-1, IGF-1R et PPAR γ est normalement accompagnée d'une croissance musculaire importante et de taux élevés lipidiques et protéiques au niveau du muscle. Cependant, malgré des taux élevés, les rats obèses nés de mères soumises au régime cafeteria présentent une atrophie musculaire. Selon BAYLOR et al. (2005), ces caractéristiques reflètent un mécanisme compensatoire afin de pallier l'insulinorésistance musculaire présente chez ces rats obèses. Dans notre travail, l'atrophie des muscles chez les rats obèses peut contribuer à la diminution de l'activité et des dépenses énergétiques, ce qui peut majorer l'installation de l'obésité chez ces rats. Le poids du tissu adipeux et son contenu en lipides sont significativement augmentés aux différents temps aussi bien chez les rats obèses nourris au régime cafeteria que ceux du régime standard. L'excès

pondéral chez les rats est dû en particulier à l'augmentation de la masse grasse. Ceci est en accord avec les résultats de SOULIMANE-MOKHTARI et al. (2005), qui ont noté le caractère précoce de l'installation de l'obésité chez les rats, et concorde aussi avec les résultats de COMMERFORD et al. (2001) qui ont observé une augmentation de 49% du poids du tissu adipeux chez les rats obèses par rapport aux rats non obèses. Ces auteurs rapportent que l'activité de la lipoprotéine lipase (LPL) adipocytaire est élevée alors que celle du muscle est normale, ce qui facilite la mise en réserve de graisse dans le tissu adipeux des rats obèses, pendant la vie intra-utérine et post-natale. Les travaux de MUHLHAUSER et al. (2007) suggèrent que l'exposition maternelle à une nutrition accrue, et par conséquent l'exposition fœtale, entraîne une augmentation précoce d'adipogenèse, de lipogenèse et de l'expression des gènes de régulation dans le tissu adipeux, et que ces changements peuvent être importants dans le développement de l'obésité à l'âge adulte.

Le développement de l'obésité fœtale est associée à la sensibilité à l'insuline favorisant le surpoids, or l'obésité à l'âge adulte est accompagnée de l'insulinorésistance (GELARDI et al., 1990 ; FRAYN et COPPACK, 1992 ; BERRY, 1997 ; GALASSI et al., 2006). Le syndrome d'insulinorésistance met bien en évidence les liens existants entre les métabolismes des lipides et celui du glucose, où l'insuline semble être un agent clé ces voies métaboliques (BODEN, 2002). Il paraît donc important de ne pas restreindre l'analyse du syndrome de l'obésité au tissu adipeux, se développant in utero et après la naissance, mais plutôt de l'élargir à celle d'une plate-forme physiologique, dans laquelle le foie réagit comme régulateur de la production de substrats énergétiques, le tissu adipeux comme lieu de réserves des graisses, le muscle et le cerveau étant des sites majeurs d'utilisation de ces sources d'énergie, et toutes les interactions entre ces tissus sont en partie contrôlées par l'insuline. L'insulinorésistance et ses complications métaboliques, chez les rats obèses sevrés au régime

standard, sont donc liées à une programmation in utero suite à une nutrition excessive maternelle (ARMITAGE et al., 2005).

Le régime cafeteria induit une accumulation du tissu adipeux chez les rats témoins. Cependant, chez les rats obèses, le régime cafeteria ne provoque pas de surcharge adipeuse plus importante que celle avec le régime standard. De plus, ce régime a tendance à restaurer la masse musculaire des rats obèses. Ceci est, d'une façon surprenante, en faveur d'un effet bénéfique du régime cafeteria chez les rats obèses.

Par ailleurs, la composition en acides gras des lipides sériques et des organes est modifiée aussi bien chez les mères que chez leurs progénitures. Le métabolisme des acides gras est localisé au niveau des tissus adipeux, hépatique et musculaire. La synthèse d'acides gras, qui intervient principalement au niveau hépatique et dans le tissu adipeux, se fait à partir de l'acétyl-CoA par le système multi-enzymatique acide gras synthétase (FAS ; Fatty acid synthase) assurant la synthèse des acides gras jusqu'à C16. Des activités élongases permettent en outre le passage à des chaînes supérieures à C16 et des désaturases conduisent, par introduction de doubles liaisons cis, aux acides gras insaturés. Les acides gras proviennent aussi des lipides alimentaires (PORSGAARD et HOY, 2000). Dès l'ingestion des aliments, l'activité métabolique s'oriente progressivement, sous l'action dominante de l'insuline, vers l'utilisation des substrats alimentaires absorbés qui sont soit directement utilisés comme substrats énergétiques, soit mis en réserve par voie de synthèse des protéines, du glycogène et des triglycérides. Les acides gras issus de l'alimentation proviennent majoritairement des triglycérides. La digestion de ces triglycérides est sous la dépendance des enzymes pancréatiques et des sels biliaires. Cette réaction entraîne la libération de molécules d'acides gras et des monoglycérides qui sous l'action des sels biliaires sont regroupées sous forme de micelles qui sont absorbées. Les acides gras à courte chaîne quant à eux parviennent à entrer directement dans les capillaires sanguins. Une fois dans les cellules intestinales, les acides

gras issus des micelles sont activés et réutilisés pour la synthèse des triglycérides qui rejoignent la circulation sanguine sous forme de chylomicrons. Ces acides gras sont alors captés par le foie, le tissu adipeux et le muscle. Le type d'utilisation des acides gras dépend de leur structure (RAMIREZ et al., 2001). Les acides gras à chaîne courte et moyenne sont utilisés dans le métabolisme énergétique et ceux à chaîne longue préférentiellement stockés sous forme de triglycérides. Les acides gras présentent de nombreuses et très importantes propriétés biologiques qui expliquent leur importance nutritionnelle. Certains servent non seulement à l'élaboration des phospholipides des membranes cellulaires contribuant à la fluidité membranaire et régulant l'activité des protéines membranaires mais aussi constituent des substrats pour la synthèse des eicosanoïdes (prostaglandines, thromboxanes, prostacyclines.....) qui jouent de nombreux rôles physiologiques (O'DONNELL et al., 2009). Ainsi toute perturbation de la composition en acides gras des lipides sériques entraîne celle des lipides au niveau des organes avec modifications métaboliques affectant le fonctionnement de la cellule (LAFONTAN, 2008; WAKIL et ABU-ELHEIGA, 2009).

Chez les mères obèses nourries au régime cafeteria pendant la gestation et la lactation, la composition du sérum en acides gras est altérée avec élévation des pourcentages pondéraux en AGS et en C18 :2(n-6), et diminution de ceux en C20 :4(n-6), C20 :5(n-3) et C22 :6(n-3). Au niveau hépatique, aucune variation n'est notée dans la composition en AG chez les rates obèses par rapport à leurs témoins. A l'inverse, à la mise bas et à la fin de la lactation, les AG des lipides musculaires présentent certaines variations, notamment une élévation du C18 :2(n-6) et une diminution du C20 :4(n-6). De plus, le tissu adipeux des mères obèses présentent une diminution des AGS, du C20 :4(n-6), du C20 :5(n-3) et du C22 :6(n-3) et une augmentation du C18 :1(n-9). L'augmentation des AGS au niveau du sérum peut être due à un excès d'apport par le régime cafeteria ou à l'élévation de leur synthèse. Un régime riche en lipides augmente l'activité de l'enzyme FAS (WAKIL, 1989 ; AILHAUD, 2008). Les taux élevés en C18 :1(n-

6) dans le tissu adipeux peuvent être liés à la stimulation de l'activité de l'enzyme Stearoyl-CoA desaturase, enzyme clé dans la synthèse des AGMI. Dans le tissu adipeux, l'acide stéarique (C18:0), connu pour être le substrat préférentiel de la delta 9 désaturase, subit la delta 9 désaturation pour donner l'acide oléique (18:1n-9). Dans le tissu adipeux des rates obèses, l'acide stéarique est beaucoup plus converti en acide oléique que chez les rates témoins. Il apparaît de façon surprenante que le 18:0 ne joue pas ce rôle dans le foie et le muscle, puisque les pourcentages en C18:1(n-9) demeurent normaux. Cette différence peut être la conséquence d'une activité plus importante de la delta 9 désaturase dans le tissu adipeux mais peut aussi s'expliquer par un besoin différent de ces tissus en qualité d'AG puisque que le tissu adipeux a plutôt un rôle de stockage des AG pour l'ensemble de l'organisme alors que le muscle stocke de préférence les AG essentiels au bon fonctionnement du métabolisme musculaire, et que le foie utilise les AG pour la synthèse des lipoprotéines ou les oxyde à des fins énergétiques. Il a été démontré que l'activité de l'enzyme Stearoyl-CoA désaturase adipocytaire est élevée chez le rat obèse Zucker (JONES et al., 1996). Plusieurs auteurs notent, chez le rat obèse Zucker, une diminution du C20:4(n-6) par rapport au C18:2(n-6) aussi bien dans les tissus que dans les lipides circulants, ceci est expliqué par une altération du métabolisme des AGPI (WAHLE et al., 1991). Certains auteurs notent une altération du métabolisme des AGPI avec augmentation du C18:1(n-9) et diminution des acides gras polyinsaturés à longue chaîne chez les rats nourris au régime cafeteria (LLADO et al., 1996). L'obésité est associée à une augmentation de la delta 9 désaturase et à une réduction de la delta 5 désaturase et la delta 6 désaturase suite à l'insulinorésistance (PAN et al., 1994 ; WAKIL et ABU-ELHEIGA, 2009). Ces observations sont en faveur de nos résultats. L'augmentation du C18:2(n-6) chez les rates obèses peut être due à l'inhibition de la conversion du C18:2(n-6) en C20:4(n-6), et la réduction des AGPI à longue chaîne (C20:4n-

6; C20 :5n-3 et C22 :6n3) suite à leur synthèse moindre, conséquence évidente de la diminution de l'activité des delta 5 et delta 6 désaturases.

Les modifications de la composition en AG observées chez la progéniture sont comparables à celles de leurs mères. En général, chez les rats obèses nourris au régime standard (à J₉₀), les AGS et le C18 :2(n-6) des lipides sériques sont significativement élevés alors que les C20 :4(n-6), C20 :5(n-3) et C22 :6(n-3) sont significativement diminués. Les mêmes observations sont notées chez les rats témoins du régime cafeteria par rapport aux témoins du régime standard. Au niveau hépatique et musculaire, une élévation des pourcentages d'AGS et de C18 :2(n-6), et une diminution du C20 :4(n-6) et du C22 :6(n-3) sont notées chez les rats obèses du régime standard et les rats témoins du régime cafeteria comparés aux rats témoins du régime standard. Concernant le tissu adipeux, les AGS, le C20 :4(n-6), le C20 :5(n-3) et le C22 :6(n-3) sont significativement diminués alors que les C18 :1(n-9) sont significativement augmentés. Ces altérations peuvent donc être liées au effet du régime cafeteria maternel ou post-natal, à la modification des activités désaturases et à l'insulinorésistance. Il est intéressant de noter que chez les rats obèses, le régime cafeteria n'induit pas des altérations de la composition en AG plus importantes que celles observées avec le régime standard. Ces faits reliés aux teneurs sériques en glucose, insuline, leptine, lipides et lipoprotéines montrent que le régime cafeteria est mieux supporté par les rats obèses que les rats témoins.

La deuxième partie de notre travail porte sur un concept important, le stress oxydatif, reconnu aujourd'hui comme la base moléculaire de toutes les pathologies. Le stress oxydatif s'installe quand la production des radicaux libres dépasse la capacité de la défense antioxydante. Les radicaux libres font partie intégrante du fonctionnement de l'organisme et jouent un rôle important, notamment pour la reproduction, la nidation de l'œuf fécondé et le développement de l'embryon (AUROUSSEAU et al., 2004). En effet, les phénomènes radicalaires sont impliqués dans la multiplication la différenciation, la croissance et le

fonctionnement des différents types de cellules ; ils jouent un rôle important pendant la gestation. Mais un déséquilibre entre la production, intense pendant la gestation, et leur élimination peut engendrer un stress oxydant. Ce dernier peut conduire à l'altération de l'organisme de la mère et de son fœtus (MYATT et al., 2004). Il est donc important de connaître le statut oxydant / antioxydant. C'est dans cette optique que nous contribuons à déterminer les marqueurs de statut oxydant (malondialdéhyde, hydroperoxydes, protéines carbonylées et l'oxydation in vitro des lipoprotéines totales) et antioxydant (catalase, SOD, GPX et GRED, vitamines A, C et E, et pouvoir antioxydant total) au niveau du plasma, des érythrocytes et des organes chez les rates obèses et témoins et leurs progénitures. Ainsi, plusieurs techniques ont été développées pour l'évaluer. Le problème de disposer de marqueurs spécifiques, sensibles, fiables et d'exécution analytique aisée, ainsi que le manque de standardisation et d'optimisation des méthodes, complique l'interprétation des résultats.

Dans notre travail, les résultats obtenus sont en faveur de l'existence d'un stress oxydatif chez la rate obèse et chez sa progéniture dès la naissance (BOUANANE et al., 2009). A la mise bas et à la fin de la lactation, les rates obèses nourries au régime cafeteria présentent une réduction du pouvoir antioxydant total (ORAC) et une augmentation des teneurs plasmatiques et tissulaires en malondialdéhyde (MDA), hydroperoxydes (HYDP), protéines carbonylées (PCAR) et des marqueurs de l'oxydation des lipoprotéines en faveur d'un stress oxydatif évident. Il a été démontré qu'un régime hypercalorique et hyperlipidique augmente la production de radicaux libres et diminue les capacités de défense antioxydante (MILAGRO et al., 2006; SREEKUMAR et al., 2002). De plus, lors de l'obésité, le stress oxydatif peut être généré à la suite de l'oxydation des nutriments absorbés en excès (UNGER, 2003). Rappelons que ces rates obèses présentent une augmentation de la prise alimentaire et un excès de tissu adipeux.

La peroxydation lipidique a été estimée par la mesure des HYDP; produits essentiels de la peroxydation des lipides, d'acides gras polyinsaturés (AGPI) ou de leurs esters (exemples : phospholipides et triglycérides) (MICHEL et al., 2008). La peroxydation lipidique entraîne la libération d'autres produits d'oxydation comme des diènes conjugués et des aldéhydes qui, à fortes concentrations, s'avèrent toxiques pour les cellules. La plupart de ces aldéhydes sont très réactifs et peuvent être considérés comme des seconds messagers toxiques qui augmentent les dommages initiaux dus aux radicaux libres. L'aldéhyde le mieux étudié est le MDA, aldéhyde formé lors de la coupure des acides gras polyinsaturés possédant au moins trois doubles liaisons (ESTERBAUER et al., 1989). L'augmentation des HYDP et MDA au niveau du plasma, du foie, du muscle et du tissu adipeux chez les rates obèses nourries au régime cafeteria est en faveur de l'augmentation de l'oxydation des lipides. L'oxydation in vitro des lipoprotéines plasmatiques, induite par les métaux (cuivre), est déterminée par le suivi au cours du temps de la formation de ces diènes conjugués. La formation de ces derniers, résulte du réarrangement des doubles liaisons éthyléniques des acides gras polyinsaturés (AGPI) suite à l'abstraction radicalaire d'un hydrogène malonique (ESTERBAUER et al., 1989). L'oxydation in vitro des lipoprotéines est aussi considérée comme un marqueur du statut oxydant /antioxydant. Les taux initial et maximal des diènes conjugués sont plus élevés chez les rates obèses comparées aux témoins, en faveur d'une formation accrue des produits de la peroxydation des lipides. Le temps maximal d'oxydation in vitro (T max) est significativement diminué chez les rates obèses par rapport à leurs témoins. Ce résultat peut être interprété par une oxydation très rapide dans le temps des lipoprotéines. Certains auteurs notent une oxydation rapide des lipides qui se produit au niveau des LDL des personnes obèses suite à la réduction des antioxydants (CRUJEIRAS et al., 2006 ; SUTHERLAND et al., 2007). En effet, la concentration de la vitamine E qui inhibe la propagation des réactions en chaîne réagissant avec les radicaux libres, et celle de la

vitamine C qui empêche l'oxydation des LDL et régénère la vitamine E oxydée sont diminuées chez les obèses (CRUJEIRAS et al., 2006 ; SUTHERLAND et al., 2007).

Nos résultats montrent que le temps de latence (T Lag), qui correspond à l'initiation de l'oxydation des lipoprotéines, est plus court chez les rates obèses par rapport aux témoins. Sachant que les lipoprotéines sont sensibles aux phénomènes d'oxydation, on peut supposer que les lipoprotéines des rates obèses sont moins résistantes à l'oxydation in vitro comparés à celles des témoins. Plus le T Lag est long et plus les lipoprotéines sont résistantes à l'oxydation (ESTERBAUER et al., 1989). Nos résultats sont en accord avec ceux de KELISHADI et al. (2007), VINCENT et al. (2007), et ceux de UZUN et al. (2007) qui montrent que l'obésité élève le stress oxydant par augmentation de l'oxydation des lipoprotéines.

Les protéines carbonylées sont considérées comme des marqueurs de l'oxydation des protéines. Une augmentation significative des teneurs en protéines carbonylées plasmatiques et tissulaires est observée chez les rates obèses comparées aux témoins. 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 augmentent chez les obèses. En effet, l'oxydation des protéines est un signe de l'endommagement tissulaire, causé par le stress oxydatif, l'augmentation du taux des glucides, ou les deux (MAYNE, 2003). Rappelons que les rates obèses présentent une hyperglycémie à la mise bas et à la fin de la lactation, qui peut induire la glycation et l'oxydation des protéines.

Plusieurs auteurs rapportent que le régime cafeteria induit une augmentation de la formation des radicaux libres suite à une altération des mécanismes oxydatifs mitochondriaux, associée à une élévation de la peroxydation des lipides, l'oxydation des lipoprotéines et celle des protéines (SREEKUMAR et al., 2002 ; LOPEZ et al., 2003 ; MILAGRO et al., 2006 ; GARCIA-DIAZ et al., 2007). Une supplémentation en antioxydants (vitamine C) réduit les

effets du régime cafeteria chez le rat d'où diminution du poids, du tissu adipeux et des taux plasmatiques de la leptine associée à une réduction des marqueurs stress oxydatif (CAMPION et al., 2006).

Dans notre travail, le régime cafeteria provoque non seulement la production excessive de radicaux libres, mais aussi la diminution des capacités de défenses antioxydantes par la baisse de certaines activités des enzymes antioxydantes chez la rate obèse.

Dans l'organisme, il existe un système antioxydant complexe incluant des composants enzymatiques ou non, qui protège les biomolécules (protéines, lipides, ...) contre les effets néfastes des radicaux libres. En effet, l'hyperproduction de radicaux libres, et donc les dommages tissulaires qu'ils engendrent, sont limités par la présence naturelle endogène de substances antioxydantes. D'autres systèmes de destruction des radicaux libres ne sont pas enzymatiques mais stœchiométriques, les molécules réagissant une à une; lorsqu'elles ont réagi avec un radical libre, elles sont détruites. Le principal destructeur stœchiométrique des radicaux libres est l' α -tocophérol (vitamine E) qui inhibe la propagation de la chaîne oxydative en réagissant avec les radicaux libres. En plus de son rôle antioxydant, l'acide ascorbique (vitamine C) régénère la vitamine E. La vitamine A inhibe la peroxydation lipidique, mais peut également inhiber directement les radicaux hydroxyles (JAESCHKE, 1995 ; WILSON, 2008). Concernant les marqueurs de la défense antioxydante, nous avons donc dosé, dans cette étude, les taux plasmatiques des vitamines A, C et E. Nous avons aussi mesuré l'activité antioxydante de la catalase qui catalyse la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène moléculaire; la superoxyde dismutase (SOD) qui catalyse la dismutation de l'anion superoxyde en oxygène et en peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , empêchant ainsi la coexistence de ces deux espèces radicalaires et par conséquent la génération du radical hydroxyle; la glutathion peroxydase (GPX) qui peut réduire le peroxyde d'hydrogène en eau en utilisant les capacités réductrices

du couple glutathion / glutathion disulfide (GSH / GSSG) et permettre également de limiter la propagation des réactions radicalaires en chaîne en réduisant les peroxydes instables en acides gras hydroxylés ; et la glutathion réductase (GRED) qui permet la régénération du glutathion réduit à partir du glutathion oxydé en présence de NADPH. Nos résultats montrent que les teneurs plasmatiques en vitamine A, C et E chez les rates obèses sont similaires à celles des rates témoins. Ces résultats sont différents de ceux obtenus chez l'homme par SINGH et al. (1994; 1998) qui montrent une association positive significative entre l'obésité et la diminution des taux sériques en bêta carotène et en vitamines antioxydantes C et E. De plus, PERTICONE et al. (2001) indiquent une diminution des taux sériques en vitamine C au cours de l'obésité humaine. Par contre, les activités des enzymes antioxydantes sont modifiées chez les rates obèses. Les activités de la catalase et la SOD sont réduites au niveau du plasma, mais augmentées au niveau du foie, du muscle et du tissu adipeux chez les rates obèses à la mise bas et à la fin de la lactation. Les activités de la GPX et GRED ne diffèrent pas entre les deux groupes de rates. Plusieurs rapportent des activités des enzymes antioxydantes différentes au cours de l'obésité, indiquant soit une élévation soit une diminution (MAYNE, 2003; KHAN et al. 2006; VINCENT et TAYLOR, 2006). En effet, face au stress oxydatif, les enzymes antioxydantes sont consommés et inactivés, ce qui peut expliquer la réduction des activités plasmatiques de la catalase et la SOD chez les rates obèses. De plus, la formation des radicaux libres stimule et active la défense antioxydante, ce qui peut expliquer l'augmentation des activités de la catalase et la SOD au niveau du foie, tissu adipeux et muscle chez les rates obèses. Il est bien connu que face au stress oxydant, la défense antioxydante se comportera de deux façons différentes. Dans un premier temps, l'organisme réagira lors d'un stress oxydant modéré en surexprimant les enzymes antioxydantes. Si le stress perdure et produit de façon massive des radicaux libres et espèces oxygénées toxiques, les enzymes antioxydantes seront détruites et leurs concentrations chuteront (DELATTRE et al., 2005).

Dans notre étude, les modifications de la balance oxydante / antioxydante observées chez les rates obèses sont aussi notées chez leur progéniture obèse, à la naissance (J_0), au sevrage (J_{21}) et à l'âge adulte (J_{90}), quelque soit le régime consommé par les petits au sevrage. Ceci est en faveur d'une programmation épigénique des altérations du statut oxydant / antioxydant. A la naissance, l'élévation des marqueurs de l'oxydation des molécules biologiques (MDA, HYDP, PCAR, Lipoprotéines) chez les rats obèses peut refléter les taux maternels élevés, ou être la conséquence d'un transfert excessif de nutriments provenant de la mère d'où exagération des processus de l'oxydation des nutriments. Les modifications des enzymes antioxydantes à la naissance reflètent l'état de stress oxydatif que le fœtus obèse a subi pendant sa vie intra-utérine. Une mal programmation de la fonction mitochondriale a été proposée comme facteur de prédisposition de la progéniture des rates nourries au régime cafeteria au stress oxydatif et à ses effets à long terme (TAYLOR et al., 2005; TAYLOR et POSTON, 2007). A J_{21} , les rats obèses allaités présentent des altérations du statut oxydant / antioxydant reflétant une suralimentation avec augmentation de la production de lait par la rate obèse sous régime cafeteria, ou alors une différence dans la composition du lait d'où enrichissement en nutriments. Effectivement, il a été démontré que le régime cafeteria provoque une augmentation de la production du lait par la rate allaitante, ce lait étant plus riche en lipides (DEL PRADO et al., 1997). A J_{90} , les modifications de la balance oxydante / antioxydante observées chez les rats obèses sont comparables à celles de leur mère, marquant la persistance du stress oxydatif à l'âge adulte, quelque soit le régime post-natal. Cependant, lorsque ces rats obèses consomment le régime cafeteria au sevrage, les altérations du statut oxydant / antioxydant sont plus accentuées. En effet, nos résultats montrent qu'à J_{90} , les rats obèses nourris au régime standard montrent une élévation des prooxydants (MDA, HYDP, PCAR, Diènes conjugués, lipoprotéines oxydées) et une réduction des antioxydants (catalase, SOD,

GPX) reflétant une programmation métabolique précoce. Les rats témoins nourris au régime cafeteria présentent à l'âge adulte des modifications des différents marqueurs du stress oxydatif au niveau du plasma et des organes (foie, muscle, tissu adipeux) similaires à celles des rates nourries au régime cafeteria pendant la gestation et lactation, et reflètent donc les effets du régime cafeteria post-natal. Chez les rats obèses, les altérations de ce statut sont majorées par le régime cafeteria. En effet, à J₉₀, les rats obèses nourris au régime cafeteria au sevrage montrent des taux plasmatiques et tissulaires en prooxydants (MDA, HYDP, PCAR, Diènes conjugués, lipoprotéines oxydées) significativement plus forts et des activités antioxydantes (catalase, SOD, GPX) plus faibles que les valeurs obtenues chez les rats obèses nourris au régime standard. Alors que les altérations glucidiques et lipidiques ne sont pas modifiées par le régime cafeteria chez les rats obèses, le stress oxydatif est accentué par ce régime.

Il apparaît clairement que non seulement les conditions de vie intra-utérine, mais aussi le régime alimentaire post-natal conditionnent les modifications du métabolisme et du statut oxydant / antioxydant à l'âge adulte.

CONCLUSION

Plusieurs conditions maternelles sont liées à l'obésité à la fois chez l'homme et chez les rongeurs et affectent le développement foetal et prédisposent à l'obésité pendant la période post-natale. Une explication de ces données pourrait être liée au fait que ces différents types de perturbations ont un impact sur les processus de programmation à des moments différents au cours du temps. En effet, ces déséquilibres entraînent, au cours du développement du foetus, des anomalies de programmation (théorie du "fetal programming") probablement au niveau des circuits neuronaux impliqués dans l'homéostasie énergétique, aboutissant à un phénotype d'obésité. De plus, l'exposition à une augmentation de transfert des nutriments avant la naissance, aboutit à la programmation du réseau de régulation de l'appétit et / ou de l'adipocyte qui par la suite augmente le risque de développer l'obésité postnatale.

L'ensemble des résultats présentés dans ma thèse a mis en relief cette "programmation métabolique précoce de la santé à l'âge adulte". La programmation des troubles métaboliques associés à l'obésité est basée sur l'hypothèse que la nutrition de la mère au cours de la grossesse conditionne le milieu intra-utérin et modifie le métabolisme de sa progéniture pendant la vie foetale, post-natale et jusqu'à l'âge adulte. De plus, la nutrition postnatale influence aussi l'apparition des maladies métaboliques de l'âge adulte.

L'utilisation du modèle expérimental, le rat nourri au régime cafeteria, a permis une meilleure compréhension, non seulement des conséquences pour le foetus de la suralimentation maternelle et de ses effets à long terme, mais aussi le rôle d'un régime hypercalorique et hyperlipidique dans l'installation de l'obésité et ses complications.

Le premier résultat significatif de notre travail est que le régime cafeteria induit une obésité consécutive à une hyperphagie chez la rate au cours de la gestation et de la lactation. L'augmentation du poids est associée à une élévation du tissu adipeux et son enrichissement en lipides, à une hyperglycémie, un hyperinsulinisme, une hyperleptinémie et une hyperlipidémie avec altération de la composition en acides gras des lipides du sérum et des

organes. De plus, une modification du statut oxydant / antioxydant est notée chez ces rates qui montrent une réduction du pouvoir antioxydant total (ORAC) et une augmentation des teneurs plasmatiques et tissulaires en malondialdéhyde (MDA), hydroperoxydes (HYDP), protéines carbonylées (PCAR) et des marqueurs de l'oxydation des lipoprotéines en faveur d'un stress oxydatif évident. Les activités de la catalase et la SOD sont réduites au niveau du plasma, mais augmentées au niveau du foie, du muscle et du tissu adipeux chez les rates obèses à la mise bas et à la fin de la lactation ce qui aggrave l'état de stress oxydatif.

Les nouveau-nés de ces rates sont aussi obèses et présentent les mêmes altérations métaboliques que leurs mères. Ces altérations persistent jusqu'à l'âge adulte et ceci quelque soit le régime alimentaire postnatal. La prise alimentaire chez ces rats obèses est importante que le régime soit standard ou cafeteria. La persistance de l'obésité et des troubles métaboliques chez les rats obèses quelque soit leur régime postnatal suggère une mal programmation épigénétique suite à un milieu intra-utérin pléthorique. Cette programmation épigénétique provient de la présence d'un excès de transfert au fœtus des nutriments de la mère nourrie au régime cafeteria, de l'initiation in utero de la résistance à l'insuline et à la leptine induisant des modifications permanentes du métabolisme.

Ces observations mettent en évidence un rôle essentiel de la période périnatale et de la programmation métabolique dans le développement de l'obésité suggérant que l'obésité crée un cercle vicieux qui engendre l'obésité.

Le second apport de nos travaux réside dans la démonstration des effets délétères du régime cafeteria chez les jeunes rats nés de rates témoins depuis le sevrage jusqu'à l'âge adulte. En effet, nos résultats montrent que le régime cafeteria entraîne chez les rats témoins une élévation de la prise alimentaire, du poids et une accumulation du tissu adipeux comparé au régime standard. Ces rats montrent une augmentation des ingestas et une diminution des excréta qui témoignent d'une meilleure capacité de rétention des protéines et des lipides,

favorisant une croissance pondérale importante. L'obésité induite pendant la période post-natale par le régime cafeteria est aussi associée à une hyperglycémie, un hyperinsulinisme, une hyperleptinémie et une hyperlipidémie. De plus, le régime cafeteria provoque non seulement la production excessive de radicaux libres, mais aussi la diminution des capacités de défenses antioxydantes par la baisse de certaines activités des enzymes antioxydantes chez les rats témoins. L'augmentation de la masse grasse accompagnée de modifications notables de la balance oxydante / antioxydante place le stress oxydatif dans les acteurs majeurs des complications métaboliques associées à l'obésité dès le jeune âge.

Le troisième point intéressant de nos travaux concerne la réponse métabolique au régime cafeteria des rats obèses nés de mères nourries au même régime pendant la gestation et la lactation. Ce régime semble être mieux supporté par les rats obèses que les rats témoins. En effet, les rats obèses nourris au régime cafeteria ne présentent aucune variation de la prise alimentaire, du poids corporel et du tissu adipeux comparés aux rats obèses nourris au régime standard. Ainsi l'hyperphagie induite normalement par le régime cafeteria n'est pas observée chez les rats obèses ; ces rats étant déjà hyperphagiques avec le régime standard. De plus, le régime cafeteria ne provoque pas des altérations plus importantes des teneurs sériques en glucose, insuline, leptine, lipides, lipoprotéines et du profil en acides gras que celles observées avec le régime standard chez ces rats obèses. Ce régime a même tendance à restaurer la masse musculaire des rats obèses. Néanmoins, les altérations du statut oxydant / antioxydant sont majorées par le régime cafeteria. En effet, les rats obèses nourris au régime cafeteria au sevrage montrent des taux plasmatiques et tissulaires en prooxydants (MDA, HYDP, PCAR, Diènes conjugués, lipoprotéines oxydées) significativement plus forts et des activités antioxydantes (catalase, SOD, GPX) plus faibles que les valeurs obtenues chez les rats obèses nourris au régime standard.

Le développement de l'obésité résulte donc de l'interaction de facteurs environnementaux (alimentation post-natale) et biologiques parmi lesquels l'épigénétique (influence du milieu intra-utérin) tient une part importante.

Les systèmes de régulation du bilan énergétique, du métabolisme et de la balance oxydante / antioxydante décrits dans ce modèle animal se révèlent également importants chez l'homme. Ceci justifie que les résultats issus de la recherche expérimentale soient pertinents pour la pratique clinique et soient en fait importants pour une meilleure compréhension de la physiopathologie, mais aussi et surtout pour le développement de nouvelles stratégies de lutte et de prévention de l'obésité.

Selon la théorie du fetal programming, l'identification le plus tôt possible des mères prédisposées à l'obésité, des nourrissons et des adultes, et leur traitement précoce, pourrait être le seul moyen de prévenir la formation de connections neuronales permanentes capables de promouvoir et de perpétuer l'obésité chez les sujets génétiquement prédisposés. Il est donc nécessaire de prendre en charge les anomalies métaboliques associées à l'obésité dès la naissance et d'organiser une prévention précoce d'ordre nutritionnel en particulier.

Perspectives

Dans le prolongement des travaux réalisés dans cette thèse, nous souhaitons utiliser ce modèle animal pour l'identification de nouvelles hormones et de nouveaux récepteurs contrôlant la prise alimentaire et le poids corporel comme la ghréline, l'adiponectine, la mélanocortine et les PPARs. Il serait aussi possible de déterminer la fonction immunitaire et la sécrétion de certaines cytokines, et les compositions et les fonctions d'autres organes notamment l'intestin. Dans l'étude du contrôle du métabolisme et de ses dérèglements, un organe a été longtemps négligé, l'intestin. L'étude des relations entre métabolisme et différenciation intestinale

permet de développer une approche intégrée de la fonction intestinale d'assimilation des nutriments et la forte interconnexion des voies métaboliques.

Ainsi, pour mieux comprendre les effets de la suralimentation maternelle et/ou post-natale, 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.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. AEBI, H. (1974) Catalase. In *Methods of enzymatic analysis*. 2nded. H.U Bergmeyer. Verlag Chemie GmbH, Weinheim. **2**: 673-684.
2. AGGOUN, Y., TOUNIAN, P., DABBAS-TYAN, M., MASSIH, T.A., GIRARDET, J.P., RICOUR, C., SIDI, D., BONNET, D. (2002) Arterial rigidity and endothelial dysfunction in obese children. *Arch. Mal. Coeur Vaiss.* **95**: 631-635.
3. AGUILERA, C.M., GIL-CAMPOS, M., CAFFETE, R., GIL, A.(2008) Alterations in plasma and tissue lipids associated with obesity and metabolic syndrome. *Clin. Sci. (Lond)*. **114**: 183-193.
4. AHIMA, R.S., FLIER, J-S. (2000) Leptin. *Annu. Rev. Physiol.* **62**: 413-437.
5. AILHAUD, G. (2008) Apports lipidiques et prise de poids : aspects qualitatifs. *OCL*. **15**: 37-40.
6. AILHAUD, G. (1998) L'adipocyte cellule sécrétrice et endocrine. *Médecine Sciences*. **14**: 858-864.
7. ARMITAGE, J.A., TAYLOR, P.D., POSTON, L. (2005) Experimental models of developmental programming: consequences of exposure to an energy rich diet during development. *J. Physiol.* **565**: 3-8.
8. ARMITAGE, J.A., KHAN, I.Y., TAYLOR, P.D., NATHANIELSZ, P.W., POSTON, L. (2004) Developmental programming of the metabolic syndrome by maternal nutritional imbalance: how strong is the evidence from experimental models in mammals? *J. Physiol.* **561**: 355-377.
9. ASHWORTH, C.J., ANTIPATIS, C. (2001) Micronutrient programming of development, throughout gestation. *Reproduction*. 527-535.
10. AUROUSSEAU, B., DURAND, D., GRUFFAT, D. (2004) Contrôle des phénomènes oxydatifs pendant la gestation chez les monogastriques et les ruminants. *Prod. Anim.* **17**: 339-354.
11. AZAIS-BRAESCO, V., GOFFI, C., LABOUZE, E. (2006) Nutrient profiling: comparison and critical analysis of existing systems. *Public Health Nutr.* **9**: 613-622.
12. BADMAN, M. K., FLIER, J.S. (2005) The gut and energy balance: visceral allies in the obesity wars. *Science*. **307**: 1909-1914.
13. BARBER, T., VINA, J.R., JT VINA, J.T., CABO, J. (1985) Decreased urea synthesis in cafeteria-diet-induced obesity in the rat. *Biochem. J.* **230**: 675-681.
14. BARKER, D.J.P. (1998) Mothers, babies and health in later life. *Churchill Livingstone edition*. 179p.

15. BARKER, D.J., GLUCKMAN, P.D., GODFREY, K.M., HARDING, J.E., OWENS, J.A., ROBINSON, J.S. (1993) Fetal nutrition and cardiovascular disease in adult life. *Lancet*. **341**: 938-941.
16. BAYLOR, SA, SIMBI, B.H., STICKLAND, N.C.(2005) A maternal cafeteria diet during gestation and lactation promotes adiposity and impairs skeletal muscle development and metabolism in rat offspring at weaning. *J. Physiol*. **567**: 951-561.
17. BEAUDEUX, J.L., VASSON, M.P. (2005) Sources cellulaires des espèces réactives de l'oxygène. In DELATTRE, J., BEAUDEUX, J.L., BONNEFONT-ROUSSELOT, D. Radicaux libres et stress oxydant : aspects biologiques et pathologiques. *Lavoisier édition TEC & DOC éditions médicales internationales Paris*. 45-86.
18. BENNANI-KABCHI, N., FDHIL, H., CHERRAH, Y., EL BOUAYADI, F., KEHEL, L., MARQUIE, G. (2000) Effet thérapeutique des feuilles d'Olea europea var. oleaster sur le métabolisme glucido-lipidique chez le rat des sables (*Psammomys obesus*) obèse prédiabétique. *Annales pharmaceutiques françaises*. **58**: 271-277.
19. BERRY, E.M. (1997) Dietary fatty acids in the management of diabetes mellitus. *Am. J. Clin. Nutr.* **66**: 991-997.
20. BJORNTORP, P., ROSMOND, R. (2000) The metabolic syndrome: a neuroendocrine disorder. *Br. J. Nutr.* **83**: 49-57.
21. BLACHE, D., PROST, M. (1992) Détermination du Pouvoir antioxydant total du plasma: ORAC. Free radical attack: Biological test for human resistance capability. In proceedings of the college Park on chemical evolution. Chemical Analysis Laboratory. NASA, WASHINGTON. 82-83.
22. BLIGH, E.G., DYER, W.J. (1959) A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J.Physiol. Pharmacol.***37**: 911-917.
23. BODEN, G. (2002) Interaction between free fatty acids and glucose metabolism. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*. **5**: 545-549.
24. BONNEFONT-ROUSSELOT, D., THEROND, P., DELATTRE, J. (2003) Radicaux libres et anti-oxydants. In DELATTRE, J., DURAND, G., JARDILLIER, J.C. Biochimie pathologique: aspects moléculaires et cellulaires. *Médecine-sciences Flammarion Paris*. 59-81.
25. BORYS, J.M. (2005) Un enfant obèse à 6 ans a 50% de risque de le rester à l'âge adulte. *Quotidien BISMA*. **56**: 6-11.

26. BOUANANE, S., BENKALFAT, N.B., BABA AHMED, F.Z., MERZOUK, H., SOULIMANE MOKHTARI, N., MERZOUK, S., GREY, J., TESSIER, CH., NARCE, M. (2009) Time course of changes in serum oxidant/antioxidant status in cafeteria fed obese rats and their offspring. *Clin Sci.* **116**: 669 – 680.
27. BOULANGE, A., PLANCHE, E., GASQUET, P. (1981) Onset and development of hypertriglycémie in the Zucker rat (fa/fa). *Metab. Clin. Exp.* **30**:1045-1052.
28. BRAVO, P.E., MORSE, S., BORNE, D.M., AGUILAR, E.A., REISIN, E. (2006) Leptin and hypertension in obesity. *Vascular Health and Risk Management.* **2**:163–169.
29. BUCKLEY, A.J., KESERU, B., BRIODY, J., THOMPSON, M., OZANNE, S.E., THOMPSON, C.H. (2005) Altered body composition and metabolism in the male offspring of high fat-fed rats. *Metabolism.* **54**: 500-507.
30. BUONOCORE, G., PERRONE, S. (2006) Biomarkers of oxidative stress in the fetus and newborn. *Hematology.* **10**: 103-107.
31. BURSTEIN, M., FINE, A., ATGER, V. (1989) Rapid method for the isolation of two purified subfractions of high density lipoproteins by differential dextran sulfate magnesium chloride precipitation. *Biochem.* **71**: 741:746.
32. CALUWAERTS, S., LAMBIN, S., VAN BREE, R., PEETERS, H., VERGOTE, I., VERHAEGHE, J. (2007) Diet-induced obesity in gravid rats engenders early hyperadiposity in the offspring. *Metabolism.* **56**: 1431-1438.
33. CAMPION, J., MILAGRO, F.I., FERNANDEZ, D., MARTINEZ, J.A. (2006) Differential gene expression and adiposity reduction induced by ascorbic acid supplementation in a cafeteria model of obesity. *J Physiol Biochem.* **62**: 71-80.
34. CATALANO, P.M. (2003) Obesity and pregnancy-the propagation of a vicious cycle? *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **88**: 3505-3516.
35. CATALANO, P.M., THOMAS, A., HUSTON-PRESLEY, L., AMINI, S.B. (2003) Increased fetal adiposity: a very sensitive marker of abnormal in utero development. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **189**: 1698-1704.
36. CHA, C.H.J., GELARDI, N.L., OH, W. (1987) Accelerated growth and abnormal glucose tolerance in young female rats exposed to fetal hyperinsulinemia. *Pediatr. Res.* **21**: 83-87.
37. CHAMBON, P. (1996) A decade of molecular biology of retinoic acid receptors. *FASEB. J.* **10**: 940-944.

38. CHAVES, V.E., FRASSON, D., MARTINS-SANTOS, M.E., BOSCHINI, R.P., GAROFALO, M.A., FESTUCCIA, W.T., KETTELHUT, I.C., MIGLIORINI, R.H.(2006) Glyceroneogenesis is reduced and glucose uptake is increased in adipose tissue from cafeteria diet-fed rats independently of tissue sympathetic innervation. *J. Nutr.* **136**: 2475-2480.
39. COMMERFORD, S.R., PAGLIASSOTTI, M.J., MELBY, C.L., WEI, Y., HILL, J.O. (2001) Inherent capacity for lipogenesis or dietary fat retention is not increased in obesity-prone rats. *Am. J. Physiol.* **280**: 1680-1687.
40. CRIPPS, R.L., MARTIN-GRONERT, M.S., OZANNE, E. (2005) Fetal and perinatal programming of appetite. *Clin. Sci.* **109**: 1-11.
41. CRUJEIRAS, A.B., PARRA, M.D., RODRIGUEZ, M.C., MARTINEZ de MORENTIN, B.E., MARTINEZ, J.A. (2006) A role for fruit content in energy-restricted diets in improving antioxidant status in obese women during weight loss. *Nutrition.* **22**: 593 - 599.
42. CURHAN, G.C., WILLETT, W.C., RIMM, E.B., SPIEGELMAN, D., ASCHERIO, A.L., STAMPFER, M.J. (1996) Birth weight and adult hypertension , diabetes mellitus, and obesity in US men. *Circulation.* **94**: 3246-3250.
43. DANIELZIK, S., CZERWINSKI-MAST, M., LANGNASE, K., DILBA, B., MULLER, M.J. (2004) Parental overweight, socioeconomic status and high birth are the major determinants of overweight and obesity in 5-7y-old children: baseline data of Kiel Obesity Prevention Study (KOPS). *Int. J. Relat. Metab. Disord.* **28**: 1494-1502.
44. DARIMONT, C., YURINI, M., EPITAUX, M., ZBINDEN, I., RICHELLE, M., MONTELL, E., MARTINEZ, A.F., 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.
45. DAVIDOWA, H., Li, Y., PLAGEMANN, A. (2003) Altered responses to orexigenic (AGRP, MCH) and anorexigenic (MSH, CART) neuropeptides of aventricular hypothalamic neurons in early postnatally overfed rats. *European Journal of Neuroscience.* **18**: 613-621.
46. DAVIDOWA, H., PLAGEMANN, A. (2000) Decreased inhibition by leptin of hypothalamic arcuate neurons in neonatally overfed young rats. *Neur. Oreport.* **11**: 2795-2798.
47. DELATTRE, J., BEAUDEUX, J.L., BONNEFONT-ROUSSELOT, D. (2005) Radicaux libres et stress oxydant : aspects biologiques et pathologiques. *Lavoisier édition TEC & DOC éditions médicales internationales Paris.* 45-86.

48. DEL PRADO, M., DELGADO, G., VILLALPANDO, S. (1997) Maternal lipid intake during pregnancy and lactation alters milk composition and production and litter growth in rats. *J. Nutr.* **127**: 458-462.
49. DESHAIES, Y., ARNOLD, J., LALONDE, J., RICHARD, D. (1988) Lipoprotein lipase in white and brown adipose tissues of exercised rats fed a high-fat diet. *Am. J. Physiol.* **255**: 226-231.
50. DESHAIES, Y., LE BLANC, J., RICHARD, D. (1983). Influence of a palatable, high-fat diet, and exercise training on the high-density lipoprotein to total cholesterol ratio in the rat. *Metabolism.* **32**: 62-65.
51. DUBERN, B., CLEMENT, K., PELLOUX, V., FROGUEL, P., GIRARDET, J.P., GUY-GRAND, B., TOUNIAN, P. (2001) Mutational analysis of melanocortin-4 receptor, agouti-related protein, and alpha-melanocyte-stimulating hormone genes in severely obese children. *J. Pediatr.* **139**: 204-209.
52. DUNN, M.A., HARTSOOK, E.W. (1980) Comparative aminoacid and protein metabolism in obese and non obese Zucker rats. *J. Nutr.* **110**: 1865-1879.
53. DURER, U., FRANKE, H., SOMMER, M., SCHLAG, B., DARGEL, R. (1987) Binding and internalization of low density lipoproteins in fetal rat liver at term under in vivo and in vitro conditions. *Biomed. Biochem. Acta.* **46**: 695-703.
54. ECKEL, R.H., YOST, T.J., JENSEN, D.R. (1995) Alterations in lipoprotein lipase in insulin resistance. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* **19**:16-21.
55. EHRENBERG, H.M., MERCER, B.M., CATALANO, P.M. (2004) The influence of obesity and diabetes on the prevalence of macrosomia. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **191**: 964-968.
56. ELSTNER, E.F., YOUNGMAN, R.J., OBWALD, W. (1983) Superoxide dismutase. In methods of enzymatic analysis. 3rd ed. *H. B Bergmeyer.* **3**: 293-302.
57. ESTADELLA, D., OYAMA, L.M., DAMASO, A.R., RIBEIRO, E.B., OLLER, D.O., NASCIMENTO, C.M. (2004) Effect of palatable hyperlipidic diet on lipid metabolism of sedentary and exercised rats. *Nutrition.* **20**: 218-224.
58. ESTERBAUER, H., STREGL, G., PUHL, H., ROTHENEDER, M. (1989) Continuous monitoring of in vitro oxidation of human low density lipoprotein. *Free Radic. Biology Medical.* **6**: 67 - 75.
59. FAGGIONI, R., FEINGOLD, K.R., GRUNFELD, C. (2001) Leptin in regulation of the immune response and the immuno deficiency of mal nutrition. *FASEBJ.* **15**: 2565-2571.
60. FAINTRENIE, G., GELOEN, A. (1996) Lactate production by white adipocytes in relation to insulin sensitivity. *Am. J. Physiol.* **270**: 1061-1066.

61. FAN, W., BOSTON, B., KESTERSON, R. (1997) Role of melanocortinerbic neurons in feeding and the agouti obesity syndrome. *Nature*. **385**: 165-168.
62. FLEGAL, K.M., OGDEN, C.L., WEI, R., KUCZMARSKI, R.L., JOHNSON, and C.L. (2001) Prevalence of overweight in US children: Comparison of US growth charts from the Centers for Disease Control and Prevention with other reference values for body mass index. *Am. J. Clin. Nutr.* **73**: 1086-1093.
63. FOLCH, J., LEES, M., SLOANE-STANLEY, G.H. (1957) A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* **226**: 1861-1869.
64. FRAYN, K.N., COPPACK, S.W. (1992) Insulin resistance, adipose tissue and coronary heart disease. *Clin. Sci.* **82**:1-8.
65. FREEDMAN, D.S., KHAN, L.K., DIETZ, W.H., SRINIVASAN, S.R., BERENSON, G.S. (2001) Relationship of childhood obesity to coronary heart disease risk factors in adulthood: the Bogalusa Heart Study. *Pediatrics*. **108**: 712-718.
66. FREINKEL, N. (1980) Pregnancy and progeny. *Diabetes*. **29**: 1023-1035.
67. FRUHBECK, G., GOMEZ-AMBROSI, J., MURUZABAL, F.J., BURELL, M.A. (2001) The adipocyte: a model of integration of endocrine and metabolic signalling in energy metabolism regulation. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **280**: 827-847.
68. FURUKAWA, S., FUJITA, T., SHIMABUKURO, M., IWAKI, M., YAMADA, Y., NAKAJIMA, Y., NAKAYAMA, O., MAKISHIMA, M., MATSUDA, M., SHIMOMURA, I. (2004) Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J. Clin. Invest* **114**: 1752-1761.
69. GALASSI, A., REYNOLDS, K., HE, J. (2006) Metabolic syndrome and risk of cardiovascular disease: a meta-analysis. *Am. J. Med.* **119**: 812-819.
70. GALTIER, F., BRINGER, J. (2003) Poids et grossesse : avant, pendant, après. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*. **38**: 287-290.
71. GARCIA-DIAZ, D., CAMPION, J., MILAGRO, F.I., MARTINEZ, J.A. (2007) Adiposity dependent apelin gene expression: relationships with oxidative and inflammation markers. *Mol. Cell. Biochem.* **27**: 432-444.
72. GARCIA-MOLINA, V., AGUILERA, J.A., GIL, A., SANCHEZ-POZO, A. (1996) Changes in plasma lipoproteins and liver lipids in neonatal rats. *Comp. Biochem. Physiol.* **113**: 789-793.
73. GELARDI, N.L., CHA, C.J., OH, W. (1990) Glucose metabolism in adipocytes of obese offspring of mild hyperglycaemic rats. *Pediatr. Res.* **28**: 641-645.

74. GIL-CAMPOS, M., CAFFETE, R., GIL, A. (2004) Hormones regulating lipid metabolism and plasma lipids in childhood obesity. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* **28**: 75-80.
75. GOLAY, A. (1998) Rôle des graisses alimentaires dans le développement de l'obésité : Obésité et lipides. *Oléagineux, corps gras, lipides.* **5**: 205-207.
76. GOLDBERG, D.M., SPOONER, R.J. (1992) Glutathione reductase. In methods of enzymatic analysis. *H.B. Bergmeyer.* **3**: 673-684.
77. GRASSI, G. (2004) Leptin, sympathetic nervous system, and baroreflex function. *Curr. Hypertens. Rep.* **6**: 236-240.
78. GROUBET, R., PALLET, V., DELAGE, B., REDONNET, A., HIGUERET, P., CASSAND, P. (2003) Hyperlipidic diets induce early alterations of the vitamin A signalling pathway in rat colonic mucosa. *Endocr. Regul.* **37**:137-144.
79. GROVE, K.L., SMITH, M.S. (2003) Ontogeny of the hypothalamic neuropeptide Y system. *Physiology & Behavior.* **79**: 47-63.
80. GUERRE-MILLO, M. (2008) Contrôle central du comportement alimentaire et de la régulation de la masse grasse : apport des modèles animaux d'obésité génétique. *Elsevier.* **3**: 54-62.
81. GUERRE-MILLO, M. (2007) L'adiponectine, une hormone adipocytaire impliquée dans l'homéostasie glucidique et les fonctions cardiovasculaires. *Sang Thrombose Vaisseaux.* **19**: 255-260.
82. GUERRE-MILLO, M., HAUGUEL DE MOUZON, S. (2005) Placenta et obésité. *Médecine de la reproduction.* **7**: 287-291.
83. GUERRE-MILLO, M., SALADIN, R., STAELS, B., AUWERX, J. (1996) Les facteurs régulateurs du gène ob. *Médecine/sciences.* **12**: 383-385.
84. HALES, C.N., BARKER, D.J. (2001) The thrifty phenotype hypothesis. *British Medical Bulletin.* **60**: 5-20.
85. HALES, C.N., BARKER, D.J. (1992) Type 2 non-insulin-dependent diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. *Diabetologia.* **35**: 595-601.
86. HALLIWELL, B., GUTTERIDGE, J.M.C. (1999) Free radicals in biology and medicine, 3rd ed *Oxford University Press*: 396p.
87. HAUGUEL-DE MOUZON, S., LEPERCQ, J. (2001) Placental leptin and pregnancy pathologies. *Gynecol. Obstet. Fertil.* **29**: 534-537.
88. HELLSTROM, A., REYNISDOTTIR, S. (2002) Influence of heredity for obesity on adipocyte lipolysis in lean and obese subjects. *Int. J. of Obesity.* **24**: 340-344.

89. HENG, J., KLIEGMAN, R.M. (1990) Effects of maternal obesity on fasting metabolism in newborn rats. *Int. J. Obes.* **14**: 505-513.
90. HERRERA, E. (2000) Metabolic adaptations in pregnancy and their implications for the availability of substrates to the fetus. *Eur. J. Clin. Nutr.* **54**: 47-51.
91. HIGDON, J.V., FREI, B. (2003) Obesity and oxidative stress: a direct link to CVD. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **23**: 365-367.
92. HILL, J., LIN, D., YAKUBU, F., PETERS, J. (1992) Development of dietary obesity in rats: influence of amount and composition of dietary fat. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* **16**: 321-333.
93. HILL, D.E. (1978) Effect of insulin on fetal growth. *Semin. Perinatol.* **2**: 319-328.
94. HOET, J.J., HANSON, M.A. (1999) Intrauterine nutrition : its importance during critical periods for cardiovascular and endocrine development. *J. Physiol.* **10**: 617-627.
95. HOLEMANS, K., AERTS, L. and VAN ASSHE, F.A. (2003) Fetal growth restriction and consequences for the offspring in animal models. *J. Soc. Gynecol. Investig.* **10**: 392-398.
96. HOTAMISLIGIL, G.S., SPIEGELMAN, B.M. (1994) Tumor necrosis factor alpha. A key component of the obesity-diabetes link. *Diabetes.* **43**: 1271-1278.
97. IMPERATORE, G. (2006) Childhood obesity: Is it time for action? *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases.* **16**: 235-238.
98. JAESCHKE, H. (1995) Mechanism of oxidant stress-induced acute tissue injury. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **209**: 104-111.
99. JEN, K.L., ALEXANDER, M., ZHONG, S., ROSE, K., LIN, P.K.H., KASIM, S. (1989) Lipid lowering effect of omega-3 fatty acids in genetically obese Zucker rats. *Nutr. Res.* **9**: 1217-1228.
100. JONES, A.P., OLSTER, D.H. and STATES, B. (1996) Maternal insulin manipulations in rats organize body weight and noradrenergic innervation of the hypothalamus in gonadally intact male offspring. *Dev. Br. Res.* **97**: 16-21.
101. JUNIEN, C., GALLOU-KABANI, C., VIGE, A., GROSS, M.S. (2005) Nutritional epigenomics of metabolic syndrome. *Med. Sci. (Paris).* **21**: 396-404.
102. KADOWAKI, T., YAMAUCHI, T., KUBOTA, N. (2006) Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome. *J. Clin. Invest.* **116**: 1784-1792.
103. KANNEL, W.B. (1984) Paediatric aspects of lipid-induced atherogenesis. *J. Am. Coll. Nutr.* **3**: 139-146.

104. KARAKASH, C., ROHNER-JEANRENAUD, F., HUSTVEDT, B.E., JEANRENAUD, B. (1980) Nitrogen handling in adult hypothalamic obese rats. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **238**: 32-37.
105. KELISHADI, R., SHARIFI, M., KHOSRAVI, A., ADELI, K. (2007) Relationship between C-reactive protein and atherosclerotic risk factors and oxidative stress markers. *Clin Chem.* **53**: 456 - 464.
106. KEMALI, Z (2003) L'obésité au Maghreb. *Santé Maghreb. Décembre*: P1.
107. KERFELEC, B. (2004) La digestion des graisses : des aspects moléculaires à la pathologie. *Nutrition Clinique et Métabolisme.* **18**: 11-14.
108. KHAN, N.I., NAZ, L., YASMEEN, G. (2006) Obesity: an independent risk factor for systemic oxidative stress. *Pak. J. Pharm. Sci.* **19**: 62-65.
109. KHAN, I.Y., DEKOU, V., DOUGLAS, G., JENSEN, R., HANSON, M.A. (2005) A high-fat diet during rat pregnancy or suckling induces cardiovascular dysfunction in adult offspring. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* **288**: 127-133.
110. KIEFFER, T.J. and HABENER, J.F. (2000) The adipoinular axis: effects of leptin on pancreatic β -cells. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **278**: 1-14.
111. KING, J.C. (2006) Maternal obesity, metabolism, and pregnancy outcomes. *Annual review of nutrition.* **26**: 271-291.
112. KJELDHAL, L. (1883) Neue methode zur bestimmung des sticktoffs in organischem korpen. *Z. Anal. Chem.* **22**: 366-382.
113. KNERR, I., TOPF, H.G., HABLAWETZ, B., STOHR, W., DOTSCHE, J., RASCHER, W., LEDERER, P. (2005) Early factors influencing body weight and prevalence of overweight in 4610 children prior to school entry in the Erlangen District (Northern Bavaria) *Gesundheitswesen.* **67**: 183-188.
114. KOPELMAN, P.G. (2000) Obesity as a medical problem. *Nature.* **404**: 635-643.
115. KRIPPEIT-DREWS, P., LANG, F., HAUSSINGER, D., GREWS, G. (1994) H₂O₂ induced hyperpolarization of pancreatic B-cells. *Pflugers Arch.* **426**: 552-554.
116. LACOUR, B. (1992) Creatinine and renal function. *Nephrologie.* **13**: 73-78.
117. LAFONTAN, M. (2008) Advances in adipose tissue metabolism. *Int. J. Obes.* **32**: 39-51.
118. LAWRENCE, R.A., BURK, R.F. (1976) Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **71**: 952-958.
119. LEAHY, J.L., BONNER-WEIR, S., WEIR, G.C. (1992) β cell dysfunction induced by chronic hyperglycemia-current ideas on mechanism of impaired glucose-induced insulin secretion. *Diabetes Care.* **15**: 442-445.

- 120.** LEAN, M.E.J. (2000) Pathophysiology of obesity. *Proceedings of the Nutrition Society*. **59**: 331-336.
- 121.** LECLERF, J.M. (2005) L'obésité de l'enfant : de la prévention à la prise en charge. *Nutrition*. **3**: 159-161.
- 122.** LE LAY, S., KRIEF, S., FARNIER, C., LEFRERE, I., LE LIEPVRE, X., BAZIN, R., FERRE, P., DUGAIL, I. (2001) Cholesterol, a cell size-dependent signal that regulates glucose metabolism and gene expression in adipocytes. *J. Biol. Chem.* **276**: 16904-16910.
- 123.** LEVINE, R.L., GARLAND, D., OLIVER, C.N., AMICI, A., CLIMENT, I., LENZ, A.G., AHN, B.W., SHANTIEL, S., STADTMAN, E.R. (1990) Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol.* **186**: 464-478.
- 124.** LLADO, I., PONS, A., PALOU, A. (1996) Changes in fatty acid composition in rat adipose tissue induced by dietary obesity. *Biochem. Mol. Biol. Int.* **40**: 295-303.
- 125.** LLADO, I., PICO, C., PALOU, A., PONS, A. (1995) Protein and amino acid intake in cafeteria fed obese rats. *Physiol. Behav.* **58**: 513-519.
- 126.** LOBSTEIN, T., FRELUT, M.L. (2003) Prevalence of overweight among children in Europe. *Obes. Rev.* **4**: 195-200.
- 127.** LOPEZ, I.P., MARTI, A., MILAGRO, F.I. (2003) DNA Micro array analysis of genes differentially expressed in diet-induced (Cafeteria) obese rats. *Obesity Research*. **11**: 188-194.
- 128.** LOUIS-SYLVESTRE, J. (1984). Mécanismes de l'induction de l'hyperphagie et de l'obésité par le régime cafétéria. *Cahiers de nutrition et de diététique*. **4**: 197-204.
- 129.** LOWRY, O.H., ROSENBROUGH, N.J., FARR, A.L., RANDALL, R.I. (1951) Protein measurement with folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**: 265-275.
- 130.** MA, S.W., FOSTER, D.O. (1989) Brown adipose tissue, liver, and diet-induced thermogenesis in cafeteria diet-fed rats. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* **67**: 376-381.
- 131.** MACDOUGALD, O.A., LANE, M.D. (1995) Transcriptional regulation of gene expression during adipocyte differentiation. *Ann. Rev. Biochem.* **64**: 345-373.
- 132.** MAECHLER, P., JORNOT, L., WOLLHEIM, C.B. (1999) Hydrogen peroxide alters mitochondrial activation and insulin secretion in pancreatic beta cells. *J. Biol. Chem.* **274**: 27905-27913.
- 133.** MAFFEI, M., FEI, H., LEE, G.H., DANI, C., LEROY, P., ZHANG, Y., PROENCA, R., NEGREL, R., AILHAUD, G., FRIEDMAN, J.M. (1995) Increased expression in adipocytes of ob mRNA in mice with lesions of the hypothalamus and with mutations at the db locus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **92**: 6957-6960.

134. MAGAREY, A.M., DANIELS, L.A., BOULTON, T.J. and COCKINGTON, R.A. (2003) Predicting obesity in early adulthood from childhood and parental obesity. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* **27**: 505-513.
135. MAKISHIMA, M., MATSUDA, M., SHIMOMURA, I. (2004) Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J. Clin. Invest.* **114**: 1752-1761.
136. MALMSTROM, R., PACKARD, C.J., CASLAKE, M., BEDFORD, D., STEWART, P., YKI-JARVINEN, H., SHEPHERD, J., TASKINEN, M.R. (1997) Defective regulation of triglyceride metabolism by insulin in the liver in NIDDM. *Diabetologia.* **40**: 454-462.
137. MARTIN-GRONERT, M.S., OZANNE, S.E. (2006) Maternal nutrition during pregnancy and health of the offspring. *Biochemical Society Transactions.* **34**: 779 – 782.
138. MARTINEZ, J.A. (2000) Body-weight regulation: causes of obesity. *Proceedings of the Nutrition Society.* **59**: 337-345.
139. MAYNE, S.T. (2003) Antioxidant nutrients and chronic disease: Use of biomarkers of exposure and oxidative stress status in epidemiologic research. *J. Nutr.* **133**: 933 - 940.
140. MEIER, C.A. (2001) Résistine – médiateur de la résistance à l'insuline? *Nature.* **409**: 307-312.
141. MEIJER, A., HENSGENS, H.H.S.J. (1982) Control of ureogenesis. *Metabolic compartmentation Academic Press.* 259-286.
142. MERZOUK, S., HICHAMI, A., SARI, S., MADANI, S., MERZOUK, H., YAHIA BERROUIGUET, A.,LENOIR-ROUSSEAU, J., CHABANE SARI, N., KHAN, N.A. (2004) Impaired oxidant/Antioxidant status and LDL-Fatty Acid Composition are associated with increased susceptibility to peroxydation of LDL in diabetic patients. *Gen. Physiol. Biophys.* **23**: 387-399.
143. MERZOUK, S., HICHAMI, A., MADANI, S., MERZOUK, H., YAHIA BERROUIGUET, A., PROST, J., MONTAIRO, K., CHABANE SARI, N., KHAN, N.A.(2003) Antioxidant status levels of different vitamins determined by high performance liquid chromatography in diabetic subjects with complications.*Gen. Physiol. Biophys.* **22**: 15-27.
144. MERZOUK, H., MADANI, S., BOUALGA, A., PROST, J., BOUCHENAK, M., BELEVILLE, J. (2001) Age-related changes in cholesterol metabolism in macrosomic offspring of rats with streptozotocin-induced diabetes.*J. Lipid.Res.* **42**: 1152-1159.
145. MERZOUK, H., MEGHELLI-BOUCHENAK, M., LOUKIDI, B., PROST, J., BELLEVILLE, J. (2000). Impaired serum lipids and lipoproteins in fetal macrosomia related to maternal obesity. *Biology Neonate.* **77**: 17-24.

146. MICHALIK, L., DESVERGNE, B., WAHLI, W. (2000) Les bases moléculaires de l'obésité : vers de nouvelles cibles thérapeutiques ? *médecine/sciences*. **16**: 1030-1039.
147. MICHEL, F., BONNEFONT-ROUSSELOT, D., MAS, E., DRAI, J., THEROND, P. (2008) Biomarkers of lipid peroxidation : analytical aspects. *Annales Biologie clinique*. **66**: 605-620.
148. MILAGRO, F.I., CAMPION, J., MARTINEZ, J.A. (2006) Weight gain induced by high fat feeding involves increased liver oxidative stress. *Obesity*. **14**: 1118-1123.
149. MOHN, A., CATINO, M., CAPANNA, R., GIANNINI, C., MARCOVECCHIO, M., CHIARELLI, F. (2005) Increased oxidative stress in prepubertal severely obese children: effect of a dietary restriction-weight loss program. *J.Clin. Endocrinol. Metab.* **90**: 2653-2658.
150. MOREL, Y., BAROUKI, R. (1999) Repression of gene expression by oxidative stress. *Biochem. J.* **34**: 481-496.
151. MORROW, J.D. (2003) Is oxidant stress a connection between obesity and atherosclerosis? *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **23**: 368-370.
152. MOULIN, P. (2001) hyperlipoprotéïnémies. *Endoc. Metab. Nutrit.* **51**: 1379-1387.
153. MOULIN, P., BERTHEZENE, F. (1996) Dyslipoprotéïnémie et insulino-résistance lors de l'obésité. Médecine et Nutrition. *Cah. Nutr. Diét.* **31**: 109-118.
154. MUHLHAUSELER, B.S., DUFFIELD, J.A., McMILLEN, I.C. (2007) Increased maternal nutrition stimulates peroxisome proliferator activated receptor-gamma, adiponectin, and leptin messenger ribonucleic acid expression in adipose tissue before birth. *Endocrinology*. **148**: 878-885.
155. MUNRO, H.N. (1978) Energy and protein intakes as determinants of nitrogen balance. *Kidney Int.* **14**: 313-316.
156. MYATT, L., XIADLAN, C.U.I. (2004) Oxidative stress in the placenta. *Histochem. Cell. Biol.* **122**: 369-382.
157. NOUROOZ-ZADEH, J., TAJADDINI-SARMADI, J., MC CARTHY, S. (1995) Elevated levels of authentic plasma hydroperoxides in NIDDM. *Diabetes*. **44**: 1768-1774.
158. NOVELLI, E.L., DINIZ, Y.S., GALHARDI, C.M., EBAID, G.M., RODRIGUES, H.G., MANI, F., FERNANDES, A.A., CICOGNA, A.C., NOVELLI FILHO, J.L. (2007) Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. *Lab. Anim.* **41**: 111-119.
159. O'DONNELL, V.B., MASKREY, B., TAYLOR, G.W. (2009) Eicosanoids: generation and detection in mammalian cells. *Methods Mol Biol.* **462**: 5-23.

160. OGAWA, Y., MASUZAKI, H., ISSE, N., OKAZAKI, T., MORI, K., SHIGEMOTO, M., SATOH, N., TAMURA, N., HOSODA, K., YOSHIMASA, Y., JINGAMI, H., KAWADA, T., NAKAO, K. (1995) Molecular cloning of rat obese cDNA and augmented gene expression in genetically obese Zucker fatty (fa/fa) rats. *J. Clin. Invest.* **96**: 1647-1652.
161. OH, W., GELARDI, N.L., CHA, C.J. (1988) Maternal hyperglycaemia in pregnant rats: its effects on growth and carbohydrates metabolism in the offspring. *Metab.Clin. Exp.* **37**:1146-1151.
162. OSCAI, L., BROWN, M., MILLER, W. (1984) Effect of dietary fat on food intake, growth and body composition in rats. *Growth.* **48**: 415-424.
163. OUCHI, N., KIHARA, S., ARITA, Y. et al. (2000) Adiponectin, an adipocyte-derived plasma protein, inhibits endothelial NF-KappaB signalling through a camp-dependent pathway. *Circulation.* **102**: 1296-301.
164. OZANE, S.E., HALES, C.N. (2004) Lifespan: catchup growth and obesity in male mice. *Nature.* **427**: 411-412.
165. PAGLIA, D.E., VALENTINE, W.N. (1967) Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J. Lab. Clin. Med.* **70**: 158-169.
166. PALOMO, I., ALARCON, M., MOORE-CARRASCO, R., ARGILES, J.M. (2006) Hemostasis alterations in metabolic syndrome (review). *Int. J. Mol. Med.* **18**: 969-74.
167. PAN, D.A., HULBERT, A.J., STORLIEN, L.H. (1994) Dietary fats, membrane phospholipids and obesity. *J.Nutr.* **124**: 1555-1565.
168. PELLIZZON, M., BUISON, A., ORDIZ, F., LARDO SANTA, A.N., JEN, C. (2002) Effects of dietary fatty acids and exercise on body-weight regulation and metabolism in rats. *Obes. Res.* **10**:947-955.
169. PERTICONE, F., CERAVOLO, R., CANDIGLIOTA, M., VENTURA, G., IACOPINO, S., SINOPOLI, F., MATTIOLI, P.L. (2001) Obesity and body fat distribution induce endothelial dysfunction by oxidative stress: protective effect of vitamin C. *Diabetes.* **50**: 159 - 165.
170. PINCEMAIL, J., LECOMTE, J., COLLART, E., CASTIAUX, J.P., DEFRAIGNE, J. (2001) Stress oxydant, antioxydants et exercice physique. *Vaisseaux, Coeur, Poumons.* **6**: 1-3.
171. PLAGEMANN, A., HARDER, T., RAKE, A., VOITS, M., FINK, H., ROHD, W., DORNER, G. (1999) Perinatal elevation of hypothalamic insulin, acquired malformation of hypothalamic galaninergic neurons, and syndrome X-like alterations in adulthood of neonatally overfed rats. *Brain Research.* **836**: 146-155.

172. PORSGAARD, T., HOY, C.E. (2000) Lymphatic transport in rats of several dietary fats differing in fatty acid profile and triacylglycerol structure. *J. Nutr.* **130**: 1619-1624.
173. PORTE, D., SEELEY, R.J., WOODS, S.C., BASKIN, D.G., SCHWARTZ, M.W. (1998) Obesity, diabetes and the central nervous system. *Diabetologia.* **4**: 863-881.
174. POUTEAU, E., TURNER, S., APRIKIAN, O., HELLERSTEIN, M., MOSER, M., DARIMONT, C., LB FAY, L.B., MACE, K. (2008) Time course and dynamics of adipose tissue development in obese and lean Zucker rat pups. *International Journal of Obesity.* **32**: 648-657.
175. RAMIREZ, M., AMATE, L., GIL, A. (2001) Absorption and distribution of dietary fatty acids from different sources. *Early Hum. Dev.* **65**: 95-101.
176. RAUSCH, M.E., WEISBERG, S., VARDHANA, P., TORTORIELLO, D.V. (2008) Obesity in C57BL/6J mice is characterized by adipose tissue hypoxia and cytotoxic T-cell infiltration. *International Journal of Obesity.* **32**: 451-463.
177. REAVEN, G.M. (2005) Insulin resistance, the insulin resistance syndrome, and cardiovascular disease. *Panminerva Med.* **47**: 201-10.
178. REILLY, J.J., ARMSTRONG, J., DOROSTY, A.R., EMMETT, P.M., NESS, A., ROGERS, I., STEER, C., SHERRIFF, A. (2005) Avon Longitudinal Study of Parents and Children Study Team. Early life risk factors for obesity in childhood: cohort study. *BMJ.* **330**: 1357-1364.
179. REMACLE, C., DUMORTIER, O., BOL, V., GOOSE, K., ROMANUS, P., THEYS, N., BOUCKENOOGHE, T., REUSENS, B. (2007) Intrauterine programming of the endocrine pancreas. *Diabetes Obes. Metab.* **9**: 196-209.
180. RIBOT, J., RODRIGUEZ, A.M., RODRIGUEZ, E., PALOU, A. (2008) Adiponectin and Resistin Response in the Onset of Obesity in Male and Female Rats. *Obesity (Silver Spring).* **24**: 214-225.
181. ROE, J.H., KUETHER, C.A. (1943) The determination of ascorbic acid in whole blood urine through the 2,4-dinitrophenylhydrazine derivatives of dehydroascorbic acid. *J.Biol. Chem.* **147**: 399-407.
182. ROLLS, B.A., GURR, M.I., VAN DUJVENVOORDE, P.M., ROLLS, B.J., ROWE, E.A. (1986) Lactation in lean and obese rats: effect of cafeteria feeding and of dietary obesity on milk composition. *Physiol Behav.* **38**:185-190.
183. ROTHWELL, N.J., STOCK, M.J. (1986) Body weight and brown fat activity in hyperphagic cafeteria-fed female rats and their offspring. *Biol. Neonate.* **49**:284-291.

184. RYAN, E.A. (2003) Hormones and insulin resistance during pregnancy. *Lancet*. **362**: 1777-1778.
185. SALVADO, J., SEGUES, T., ALEMANY, M., AROLA, L.(1986) effects of lactation on circulating plasma metabolites in 'cafeteria-fed' rats. *Br. J. Nutr.* **55**: 139-147.
186. SCHWARTZ, M.W., WOODS, S.C., PORTE, D.J., SEELEY, R.J., BASKIN, D.E. (2000) Central nervous system control of food intake. *Nature*. **404**: 661-671.
187. SEELEY, R.J., SCHWARTZ, M.W.(1999) Neuroendocrine regulation of food intake. *Acta Paediatr.* **428**: 58-61.
188. SEMENKOVICH, C.F., COLEMAN, T., GOFORTH, R. (1993) Physiologic concentrations of glucose regulate fatty acid synthase activity in Hep G2 cells by mediating fatty acid synthase mRNA stability. *J. Biol. Chem.* **268**: 6961-6970.
189. SHANKAR, K., HARELL, A., LIU, X., GILCHRIST, J.M., RONIS, M.J., BADGER, T.M.(2008) Maternal obesity at conception programs obesity in the offspring. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* **294**:528-538.
190. SHERER, P.E. (2006) Adipose tissue: from lipid storage compartment to endocrine organ. *Diabetes*. **55**: 1537-1545.
191. SHIMABUKURO, M., OHNEDA, M., LEE, Y., UNGER, R.H. (1999) Role of nitric oxide in obesity-induced β cell disease. *J. Clin. Invest.* **100**: 290-295.
192. SHULDINER, A.R., YANG, R., GONG, D.W. (2001) Resistin, obesity and insulin resistance – the emerging role of the adipocyte as an endocrine organ. *N. Engl. J. Med.* **345**: 1345-1346.
193. SIERRA-HONIGMANN, M.R., NATH, A.K., MURAKAMI, C. (1998) Biological action of leptin as an angiogenic factor. *Science*. **281**: 1683-1686.
194. SINGH, R.B., BEEGOM, R., RASTOGI, S.S., GAOLI, Z., SHOUMIN, Z. (1998) Association of low plasma concentrations of antioxidant vitamins, magnesium and zinc with high body fat per cent measured by bioelectrical impedance analysis in Indian men. *Magnes Res.* **11**: 3 - 10.
195. SINGH, R.B., NIAZ, M.A., BISHNOI, I., SHARMA, J.P., GUPTA, S., RASTOGI, S.S., SINGH, R., BEEGOM, R., CHIBO, H., SHOUMIN, Z. (1994) Diet, antioxidant vitamins, oxidative stress and risk of coronary artery disease: the Peerzada Prospective Study. *Acta Cardiol.* **49**: 453 - 467.
196. SLOVER, H.T., LANZA, E. (1979) Quantitative analysis of food fatty acids by capillary gas chromatography. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* **56**: 933-943.

197. SOMOVA, L., MOODLEY, K., CHANNA, M., NADAR, A. (1999) Dose-dependent effect of dietary fish-oil (n-3) polyunsaturated fatty acids on in vivo insulin sensitivity in rat. *Methods Exp. Clin. Pharmacol.* **21**: 275-278.
198. SOULIMANE-MOKHTARI, N., GUERMOUCHE, B., YESSOUFOU, A., SAKER, M., MOUTAIROU, K., HICHAMI, A., MERZOUK, H. AND KHAN, N.A. (2005) Modulation of lipid metabolism by (N-3) PUFA in gestational diabetic rats and their macrosomic offspring. *Clin. Sci.* **109**: 287-295.
199. SPAHN, U., PLENERT, W., HESSE, V., KNOLL, G., PETRICH, E., KAUF, E. (1982) Over nutrition and obesity in childhood as a potential risk for chronic degenerative diseases in later life. *Bibl. Nutr. Dieta.* **31**: 61-74.
200. SREEKUMAR, R., UNNIKRISHNAN, J., FU, A., NYGREN, J., SHORT, K.R., SCHIMKE, J. (2002) Impact of high-fat diet and antioxidant supplement on mitochondrial functions and gene transcripts in rat muscle. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **282**: 1055-1061.
201. STEINER, G., HAYNES, F.J., YOSHINO, G., VRANIC, M. (1984) Hyperinsulinemia and in vivo very low density lipoprotein triglyceride kinetics. *J. Am. Phys. Soc.* **18**: 187-192.
202. STOCKER, C.J., ARCH, J.R., CAWTHORNE, M.A. (2005) Fetal origins of insulin resistance and obesity. *Proc. Nutr. Soc.* **64**: 143-151.
203. SUCKLING, K.E., JAKSON, B. (1993) Animals models of human lipid metabolism. *Prog. Lipid. Res.* **32**: 1-24.
204. SUSA, J.B., SCHWARTZ, R. (1985) Effects of hyperinsulinemia in the primate fetus. *Diabetes.* **34**: 36-41.
205. SUTHERLAND, W.H., MANNING, P.J., WALKER, R.J., DE JONG, S.A., RYALLS, A.R., BERRY, E.A. (2007) Vitamin E supplementation and plasma 8-isoprostane and adiponectin in overweight subjects. *Obesity.* **15**: 386-391.
206. TAYLOR, P.D., POSTON, L. (2007) Developmental programming of obesity in mammals. *Exp. Physiol.* **92**: 287-298.
207. TAYLOR, P.D., MC CONNELL, J., KHAN, I.Y., HOLEMANS, K., LAWRENCE, K.M., ASARE-ANANE, H. (2005) Impaired glucose homeostasis and mitochondrial abnormalities in offspring of rats fed a fat-rich diet in pregnancy. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* **288**: 134-139.
208. TOUNIAN, P. (2004) Body-weight regulation in children: a key to obesity physiopathology understanding. *Arch. Pediatr.* **11**: 240-244.

209. TOUNIAN, P. (2002) Infantile obesity and cardiovascular future. *Arch. Pediatr.* **9**: 129-130.
210. TOUNIAN, P., FAUROUX, B., VIOLA, S., BOULE, M., CLEMENT, A., GIRARDET, J.P. (2001) Nutrition and severe chronic respiratory diseases: the pediatric experience. *Pediatr. Pulmonol.* **23**: 25-26.
211. TOUNIAN, P., GIRARDET, J.P. (2001) Obesity in children: a disease that risks the vital prognosis. *Arch. Pediatr.* **8**: 7-10.
212. UNGER, R.H. (2003) The physiology of cellular liporegulation. *Annu. Rev. Physiol.* **65**: 333-347.
213. UZUN, H., KONUKOGLU, D., GELISGGEN, R., ZENGİN, 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.
214. VALLE, M., GASCON, F., MARTOS, R., RUZ, F.J., BERMUDO, F., RIOS, R., CANETE, R. (2000) Infantile obesity: a situation of atherothrombotic risk? *Metabolism.* **49**: 672-675.
215. VERGES, B. (2001) Insulinosensibilité et lipides. *Diabetes Metab.* **27**: 223-227.
216. VERGES, B. (1999) Dyslipidemia in diabetes mellitus. Review of the main lipoprotein abnormalities and their consequences on the development of atherogenesis. *Diabetes Metab.* **25**: 32-40.
217. VIDAL-PUIG, A., LINAN, J.M., LOWELL, B.B. (1996) Regulation of PPAR gamma gene expression by nutrition and obesity in rodents. *J. Clin. Invest.* **97**: 2553-2561.
218. VINCENT, H.K., INNES, K.E., VINCENT, K.R. (2007) Oxidative stress and potential interventions to reduce oxidative stress in overweight and obesity. *Diabetes Obes. Metab.* **9**: 813-839.
219. VINCENT, H.K., TAYLOR, A.G. (2006) Biomarkers and potential mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans. *Int. J. Obes.* **30**: 400-418.
220. VINER, R.M., SEGAL, T.Y., LICHTAROWICZ, K.E., HINDMARSH, P. (2005) Prevalence of the insulin resistance syndrome in obesity. *Arch. Dis. Child.* **90**: 10-14.
221. WADDEN, T.A., STUNKARD, A.J. (1985) Social and psychological consequences of obesity. *Annals of internal Medicine.* **103**:1062-1067.
222. WAHLE, K.W.J., MILNE, L., MCINTOSH, G. (1991) Regulation of polyunsaturated fatty acid metabolism in tissue phospholipids of obese (fa/fa) and lean Zucker rats. Effects of dietary lipids on cardiac tissue. *Lipids.* **26**:16-22.

- 223.** WAKIL, S.J., ABU-ELHEIGA, L.A. (2009) Fatty acid metabolism: target for metabolic syndrome. *J. lipid. Res.* **1194**: 200-215.
- 224.** WAKIL, S. J. (1989) The fatty acid synthase: A proficient multifunctional enzyme. *Biochemistry.* **28**: 4523-4530.
- 225.** WAKIL, S.J., STOOPS, J.K., JOSHI, V.C. (1983) Fatty acid synthesis and its regulation. *Annu. Rev. Biochem.* **52**: 537-579.
- 226.** WEST, D., BOOZER, C., MOODY, D., ATKINSON, R. (1992) Obesity induced by a high-fat diet in nine strains of inbred mice. *Am .J. Physiol.* **262**: 1025-1032.
- 227.** WHO (2006) The world health report 2006: working together for health. Geneva: World Health Organization.
- 228.** World Health Organisation (2000) obesity: preventing and managing the global epidemic. WHO technical report series 894, Geneva.
- 229.** WOLF, R., GRUNDY, S.M. (1983) Influence of weight reduction on plasma lipoproteins in obese patients. *Arteriosclerosis.* **3**: 160-169.
- 230.** WILSON, J.X. (2008) Mechanism of action of vitamin C in sepsis: Ascorbate modulates redox signaling in endothelium. *BioFactors.* **35**: 5-13.
- 231.** YAMAUCHI, T., KAMON, J., WAKI, H. (2003) Globular adiponectin protected ob/ob mice from diabetes and ApoE-deficient mice from atherosclerosis. *J. Biol. Chem.* **278**: 2461-2468.
- 232.** YANG, S., ZHU, H., LI, Y., LIN, H., GABRIELSON, K., TRUSH, M.A., DIEHL, A.M. (2000) Mitochondrial adaptations to obesity-related oxidant stress. *Arch. Biochem. Biophys.* **378**: 259-268.
- 233.** YOCOTA, T., ORITANI, K., TAKAHASHI, I. et al. (2000) Adiponectin a new member of the family of soluble defense collagens, negatively regulates the growth of myelomonocytic progenitors and the function of macrophages. *Blood.* **99**: 1723-1732.
- 234.** YOON, J.C., CHICKERING, T.W., ROSEN, E.D. (2000) Peroxisome proliferators activated receptor gamma target gene encoding a novel angiopoietin related protein associated with adipose differentiation. *Mol. Cell. Biol.* **20**: 5343-5349.
- 235.** ZAMAN, Z., FIELDEN, P., FROST, P.G. (1993) Simultaneous determination of vitamin A and E and carotenoids in plasma by reverse phase HPLC in elderly and younger subjects. *Clin. Chem.* **39**: 2229-2234.
- 236.** ZHANG, Y., PROENCA, R., MAFFEI, M., BARONE, M., LEOPOLD, L., FRIEDMAN, J.M. (1995) Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature.* **372**: 425-432.

ANNEXES

Tableau A1 : Poids corporel et consommation alimentaire chez les mères témoins et obèses

Paramètres	Rates témoins		Rates obèses	
	J ₀	J ₂₁	J ₀	J ₂₁
Poids corporel (g)	257 ± 11.52	230 ± 10.97	327 ± 10.98 *	334 ± 8.32*
Nourriture ingérée (g/j/rat)	24.30 ± 1.08	38.04 ± 2.37	29.11 ± 1.14 *	38.14 ± 2.22
Apport énergétique (Kcal/j/rat)	80 ± 1.76	125 ± 3.65	123 ± 4.02 **	157 ± 6.18 **

Chaque valeur représente la moyenne ± ES, n=6. Les rates témoins sont nourries au régime standard, alors que les rates obèses sont nourries au régime cafeteria. J₀: jour de la mise bas; J₂₁: fin de la lactation. La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance.

Obèses comparés aux témoins, au même âge: * p<0.05; ** p<0.01

Tableau A2: Poids corporel et consommation alimentaire chez les rats témoins et obèses (progéniture)

Paramètres	Rats témoins (T)		Rats obèses (O)	
	TRS	TRC	ORS	ORC
Poids corporel (g)				
J ₀	4.89 ± 0.23	4.32 ± 0.28	6.97 ± 0.31 *	6.88 ± 0.24*
J ₂₁	52.47 ± 2.38	53.34 ± 3.04	96.83 ± 4.42 **	95.66 ± 3.63 **
J ₉₀	325 ± 12.87	464 ± 18.35 ^{§§}	449 ± 20.11 **	460 ± 16.86
Nourriture ingérée (g/j/rat)				
J ₉₀	19.48 ± 3.06	26.77 ± 2.38 [§]	30.75 ± 4.28 *	28.04 ± 3.06
Apport énergétique (Kcal/j/rat)				
J ₉₀	64.10 ± 4.39	118.35 ± 3.05 ^{§§}	101.50 ± 7.14 **	120.28 ± 4.17 [§]

Chaque valeur représente la moyenne ± ES, n=6. TRS: rats témoins nourris au régime standard au sevrage; TRC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage; ORS: rats obèses nourris au régime standard au sevrage; ORC: rats obèses nourris au régime cafeteria au sevrage. J₀: Naissance; J₂₁: vingt et un jours de vie post-natale, qui correspond au sevrage; J₉₀: trois mois de la vie post-natale, qui correspond à l'âge adulte.

La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance.

Obèses comparés aux témoins, au même âge et au même régime (ORS versus TRS ou ORC versus TRC): * p<0.05; ** p<0.01

Régime cafeteria comparé au régime standard dans le même groupe (TRC versus TRS ou ORC versus ORS): § p<0.05; §§ p<0.01

Tableau A8: Teneurs sériques en glucose, insuline et leptine chez les rates mères témoins et obèses

Paramètres	Rates témoins		Rates obèses	
	J ₀	J ₂₁	J ₀	J ₂₁
Glucose (mg/dl)	123 ± 5.34	113 ± 4.42	147 ± 8.44 *	132 ± 6.05 *
Insuline (ng/ml)	1.33 ± 0.15	0.88 ± 0.04	2.56 ± 0.32 *	1.66 ± 0.21 *
Leptine (ng/ml)	3.65 ± 0.55	2.27 ± 0.74	10.78 ± 1.46 **	8.33 ± 1.67 **

Chaque valeur représente la moyenne ± ES, n=6. Les rates témoins sont nourries au régime standard, alors que les rates obèses sont nourries au régime cafeteria. J₀: jour de la mise bas; J₂₁: fin de la lactation. La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance.

Obèses comparés aux témoins, au même âge: * p<0.05; ** p<0.01

Tableau A10: Teneurs en lipides du sérum et des lipoprotéines chez les rates mères témoins et obèses

Paramètres	Rates témoins		Rates obèses	
	J ₀	J ₂₁	J ₀	J ₂₁
Cholesterol total (mg/dl)				
Sérum	124.32 ± 8.76	116.08 ± 10.44	167.98 ± 8.11 *	169.67 ± 9.75 *
VLDL	23.45 ± 3.18	20.16 ± 2.93	39.67 ± 2.47*	40.98 ± 4.15**
LDL-HDL ₁	34.46 ± 5.06	32.06 ± 3.18	58.34 ± 3.78*	64.72 ± 3.66**
HDL ₂ -HDL ₃	66.03 ± 4.88	64.03 ± 5.12	69.97 ± 5.11	63.07 ± 4.08
Triglycerides (mg/dl)				
Sérum	83.28 ± 8.04	92.43 ± 7.17	127.71 ± 6.33*	133.05 ± 8.14*
VLDL	42.75 ± 3.11	45.37 ± 3.12	65.38 ± 3.42*	68.07 ± 3.22*
LDL- HDL ₁	22.08 ± 2.46	26.29 ± 3.18	43.96 ± 3.18*	45.01 ± 3.15*
HDL ₂ - HDL ₃	18.33 ± 2.05	20.77 ± 2.67	18.59 ± 2.44	20.32 ± 2.39

Chaque valeur représente la moyenne ± ES, n=6. Les rates témoins sont nourries au régime standard, alors que les rates obèses sont nourries au régime cafeteria. J₀: jour de la mise bas; J₂₁: fin de la lactation. La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance.

Obèses comparés aux témoins, au même âge: * p<0.05; ** p<0.01

Tableau A11: Teneurs en cholestérol total du sérum et des lipoprotéines chez les rats témoins et obèses (progéniture)

Paramètres (mg/dl)	Rats témoins (T)		Rats obèses (O)	
	TRS	TRC	ORS	ORC
Sérum				
J ₀	42.06 ± 3.88	42.04 ± 3.15	64.03 ± 2.89 *	63.77 ± 2.68*
J ₂₁	110 ± 8.04	108 ± 7.11	150.16 ± 4.18 **	155.26 ± 5.27**
J ₉₀	120.23 ± 6.34	158.12 ± 5.33 ^{§§}	164.31 ± 6.02 **	160.07 ± 4.86
VLDL				
J ₀	8.33 ± 1.38	8.24 ± 1.64	12.18 ± 1.06 *	11.98 ± 1.07 *
J ₂₁	18.54 ± 2.14	18.47 ± 2.22	34.36 ± 3.33 **	36.37 ± 2.14 **
J ₉₀	22.63 ± 2.39	42.33 ± 2.64 ^{§§}	56.86 ± 4.11 **	50.28 ± 3.65*
LDL- HDL₁				
J ₀	12.89 ± 1.57	12.77 ± 1.66	20.33 ± 1.18 *	19.75 ± 1.55 *
J ₂₁	30.16 ± 3.14	30.04 ± 2.76	56.18 ± 5.03 **	58.99 ± 3.98 **
J ₉₀	35.34 ± 2.26	56.18 ± 3.11 ^{§§}	60.39 ± 5.12 **	54.38 ± 3.06
HDL₂ -HDL₃				
J ₀	20.84 ± 2.04	20.79 ± 2.14	31.44 ± 1.37 *	31.35 ± 1.22 *
J ₂₁	59.86 ± 3.15	57.58 ± 2.63	59.38 ± 4.04	58.73 ± 2.34
J ₉₀	62.16 ± 2.44	59.61 ± 5.08	46.32 ± 3.58 **	55.38 ± 4.13 [§]

Chaque valeur représente la moyenne ± ES, n=6. TRS: rats témoins nourris au régime standard au sevrage; TRC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage; ORS: rats obèses nourris au régime standard au sevrage; ORC: rats obèses nourris au régime cafeteria au sevrage. J₀: Naissance; J₂₁: vingt et un jours de vie post-natale, qui correspond au sevrage; J₉₀: trois mois de la vie post-natale, qui correspond à l'âge adulte.

La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance.

Obèses comparés aux témoins, au même âge et au même régime (ORS versus TRS ou ORC versus TRC): * p<0.05; ** p<0.01

Régime cafeteria comparé au régime standard dans le même groupe (TRC versus TRS ou ORC versus ORS): § p<0.05; §§ p<0.01

Tableau A12: Teneurs en triglycérides du sérum et des lipoprotéines chez les rats témoins et obèses (progéniture)

Paramètres (mg/dl)	Rats témoins (T)		Rats obèses (O)	
	TRS	TRC	ORS	ORC
Sérum				
J ₀	30.27 ± 3.06	29.15 ± 2.84	58.04 ± 2.93 *	56.93 ± 2.52*
J ₂₁	62.32 ± 2.78	63.42 ± 3.11	87.50 ± 3.17 *	88.03 ± 4.41*
J ₉₀	88.90 ± 3.22	130.44 ± 2.08 [§]	126.43 ± 2.92 *	128.64 ± 2.15
VLDL				
J ₀	18.39 ± 1.64	18.15 ± 1.04	27.11 ± 1.08 *	26.42 ± 1.39 *
J ₂₁	31.87 ± 2.37	32.06 ± 2.15	46.39 ± 1.57 *	47.15 ± 2.06 *
J ₉₀	44.56 ± 3.04	60.24 ± 2.63 ^{§§}	66.87 ± 3.61 **	63.45 ± 3.74
LDL- HDL₁				
J ₀	6.38 ± 0.95	6.44 ± 0.66	18.53 ± 1.26 *	17.01 ± 1.34 *
J ₂₁	18.44 ± 1.39	18.95 ± 1.50	27.48 ± 1.08 *	27.32 ± 1.26 *
J ₉₀	24.83 ± 2.11	38.74 ± 2.28 ^{§§}	38.17 ± 2.07 **	40.93 ± 3.50
HDL₂- HDL₃				
J ₀	5.43 ± 0.84	4.51 ± 0.54	12.36 ± 1.31 *	11.84 ± 1.03 *
J ₂₁	13.01 ± 1.06	12.40 ± 1.12	13.54 ± 1.44	13.43 ± 1.66
J ₉₀	19.45 ± 1.35	31.40 ± 2.06 [§]	20.97 ± 3.14	24.56 ± 2.07*

Chaque valeur représente la moyenne ± ES, n=6. TRS: rats témoins nourris au régime standard au sevrage; TRC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage; ORS: rats obèses nourris au régime standard au sevrage; ORC: rats obèses nourris au régime cafeteria au sevrage. J₀: Naissance; J₂₁: vingt et un jours de vie post-natale, qui correspond au sevrage; J₉₀: trois mois de la vie post-natale, qui correspond à l'âge adulte.

La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance.

Obèses comparés aux témoins, au même âge et au même régime (ORS versus TRS ou ORC versus TRC): * p<0.05; ** p<0.01

Régime cafeteria comparé au régime standard dans le même groupe (TRC versus TRS ou ORC versus ORS): § p<0.05; §§ p<0.01

Tableau I: Composition en acides gras des lipides totaux sériques chez les rates mères témoins et obèses

Lot	Rates témoins		Rates obèses	
	J ₀	J ₂₁	J ₀	J ₂₁
Acides gras %				
Acides gras saturés	31.35±2.74	32.48±1.64	42.01±1.37*	40.55±1.50*
18:1(n-9)	15.04±1.68	15.64±1.33	14.37±1.76	15.13±1.44
18:2(n-6)	15.40±1.04	14.86±1.13	18.62±1.06*	18.49±1.15*
20:4(n-6)	25.18±1.11	24.33±1.22	16.26±1.25*	17.01±1.18*
20:5(n-3)	2.35±0.66	1.88±0.56	1.24±0.52*	1.75±0.43
22:6(n-3)	3.58±0.84	2.61±0.47	1.52±0.43*	1.13±0.32*

Chaque valeur représente la moyenne ± ES, n=6. Les rates témoins sont nourries au régime standard, alors que les rates obèses sont nourries au régime cafeteria. J₀: jour de la mise bas; J₂₁: fin de la lactation. La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance.

Obèses comparés aux témoins, au même âge: * p<0.05

Tableau II: Composition en acides gras des lipides totaux sériques chez les rats témoins et obèses (progéniture) à l'âge adulte (J₉₀)

Lot Acides gras %	Rats témoins (T)		Rats obèses (O)	
	TRS	TRC	ORS	ORC
Acides gras saturés	30.64±1.83	40.08±1.51 ^{§§}	41.35±1.14 ^{**}	40.66±1.08
18:1(n-9)	16.13±1.37	15.66±1.08	16.07±1.35	15.74±1.14
18:2(n-6)	17.34±1.11	21.18±1.14 [§]	20.58±1.01 [*]	21.04±1.23
20:4(n-6)	23.06±1.50	14.37±1.04 [§]	13.51±1.12 [*]	14.06±1.36
20:5(n-3)	2.84±0.37	1.13±0.22 [§]	1.36±0.23 [*]	1.53±0.34
22:6(n-3)	3.33±0.63	1.57±0.31 [§]	1.34±0.34 [*]	1.48±0.24

Chaque valeur représente la moyenne ± ES, n=6. TRS: rats témoins nourris au régime standard au sevrage; TRC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage; ORS: rats obèses nourris au régime standard au sevrage; ORC: rats obèses nourris au régime cafeteria au sevrage. J₉₀: trois mois de la vie post-natale, qui correspond à l'âge adulte.

La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance.

Obèses comparés aux témoins, au même âge et au même régime (ORS versus TRS ou ORC versus TRC): * p<0.05; ** p<0.01

Régime cafeteria comparé au régime standard dans le même groupe (TRC versus TRS ou ORC versus ORS): § p<0.05; §§ p<0.01

Tableau A13: Poids relatif des organes chez les rates mères témoins et obèses

	Rates témoins		Rates obèses	
	J ₀	J ₂₁	J ₀	J ₂₁
Foie	3.98 ± 0.45	3.87 ± 0.51	4.05 ± 0.42	4.11 ± 0.38
Muscle	0.36 ± 0.09	0.32 ± 0.08	0.38 ± 0.07	0.34 ± 0.08
Tissu adipeux	1.14 ± 0.11	1.02 ± 0.18	1.67 ± 0.19 *	1.46 ± 0.17 *

Chaque valeur représente la moyenne ± ES, n=6. Les rates témoins sont nourries au régime standard, alors que les rates obèses sont nourries au régime cafeteria. J₀: jour de la mise bas; J₂₁: fin de la lactation. La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance.

Obèses comparés aux témoins, au même âge: * p<0.05

Tableau A14: Poids relatif des organes chez les rats témoins et obèses (progéniture)

	Rats témoins (T)		Rats obèses (O)	
	TRS	TRC	ORS	ORC
Foie				
J ₂₁	4.68 ± 0.23	4.55 ± 0.38	4.80 ± 0.36	4.66 ± 0.41
J ₉₀	3.74 ± 0.37	3.90 ± 0.32	4.01 ± 0.30	3.89 ± 0.26
Muscle				
J ₂₁	0.42 ± 0.06	0.41 ± 0.05	0.40 ± 0.04	0.41 ± 0.03
J ₉₀	0.40 ± 0.05	0.34 ± 0.06	0.28 ± 0.05 *	0.36 ± 0.05 [§]
Tissu adipeux				
J ₂₁	0.80 ± 0.04	0.83 ± 0.05	1.40 ± 0.03 *	1.36 ± 0.06 *
J ₉₀	1.20 ± 0.06	1.63 ± 0.08 [§]	1.69 ± 0.07 *	1.68 ± 0.05

Chaque valeur représente la moyenne ± ES, n=6. TRS: rats témoins nourris au régime standard au sevrage; TRC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage; ORS: rats obèses nourris au régime standard au sevrage; ORC: rats obèses nourris au régime cafeteria au sevrage. J₂₁: vingt et un jours de vie post-natale, qui correspond au sevrage; J₉₀: trois mois de la vie post-natale, qui correspond à l'âge adulte.

La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance.

Obèses comparés aux témoins, au même âge et au même régime (ORS versus TRS ou ORC versus TRC): * p<0.05

Régime cafeteria comparé au régime standard dans le même groupe (TRC versus TRS ou ORC versus ORS): § p<0.05

Tableau A15: Teneurs en lipides totaux des organes chez les mères témoins et obèses

	Rates témoins		Rates obèses	
	J ₀	J ₂₁	J ₀	J ₂₁
Foie (mg/g de tissu)	35.38 ± 3.55	38.12 ± 3.76	67.11 ± 6.08 **	45.78 ± 5.04
Muscle (mg/g de tissu)	20.56 ± 3.74	25.11 ± 3.86	24.55 ± 4.76	27.35 ± 4.05
Tissu adipeux (mg/g de tissu)	126.39 ± 10.05	135.07 ± 9.14	175.33 ± 11.49 *	158 ± 8.91 *

Chaque valeur représente la moyenne ± ES, n=6. Les rates témoins sont nourries au régime standard, alors que les rates obèses sont nourries au régime cafeteria. J₀: jour de la mise bas; J₂₁: fin de la lactation. La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance.

Obèses comparés aux témoins, au même âge: * p<0.05

Tableau A16: Teneurs en lipides totaux des organes chez les rats témoins et obèses (progéniture)

	Rats témoins (T)		Rats obèses (O)	
	TRS	TRC	ORS	ORC
Foie (mg/g)				
J ₂₁	27.62 ± 2.45	26.84 ± 3.14	31.47 ± 4.65	30.67 ± 3.64
J ₉₀	45.06 ± 3.10	48.17 ± 4.38	50.37 ± 5.44	53.29 ± 6.07
Muscle (mg/g)				
J ₂₁	20.89 ± 2.77	21.26 ± 2.18	19.75 ± 3.19	20.02 ± 2.14
J ₉₀	38.03 ± 3.14	35.16 ± 3.02	26.93 ± 3.77 *	24.02 ± 3.18 *
Tissu adipeux (mg/g)				
J ₂₁	152 ± 6.07	149.03 ± 10.34	211.85 ± 8.15 *	213.06 ± 10.27 *
J ₉₀	240.08 ± 12.05	335.87 ± 13.05 ^{§§}	328 ± 16.50 **	332.54 ± 15.63

Chaque valeur représente la moyenne ± ES, n=6. TRS: rats témoins nourris au régime standard au sevrage; TRC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage; ORS: rats obèses nourris au régime standard au sevrage; ORC: rats obèses nourris au régime cafeteria au sevrage. J₂₁: vingt et un jours de vie post-natale, qui correspond au sevrage; J₉₀: trois mois de la vie post-natale, qui correspond à l'âge adulte.

La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance.

Obèses comparés aux témoins, au même âge et au même régime (ORS versus TRS ou ORC versus TRC): * p<0.05; ** p<0.01

Régime cafeteria comparé au régime standard dans le même groupe (TRC versus TRS ou ORC versus ORS): § p<0.05; §§ p<0.01

Tableau A17: Teneurs en protéines totales des organes chez les rates témoins et obèses

	Rates témoins		Rates obèses	
	J ₀	J ₂₁	J ₀	J ₂₁
Foie (mg/g de tissu)	158.34 ± 8.60	163.14 ± 7.35	167.13 ± 6.88	170 ± 8.92
Muscle (mg/g de tissu)	74.62 ± 3.11	76.03 ± 4.12	78.07 ± 5.36	72.32 ± 5.22

Chaque valeur représente la moyenne ± ES, n=6. Les rates témoins sont nourries au régime standard, alors que les rates obèses sont nourries au régime cafeteria. J₀: jour de la mise bas; J₂₁: fin de la lactation. La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance.

Obèses comparés aux témoins, au même âge: * p<0.05

Tableau A18: Teneurs en protéines totales chez les rats témoins et obèses (progéniture)

	Rats témoins (T)		Rats obèses (O)	
	TRS	TRC	ORS	ORC
Foie (mg/g de tissu)				
J ₂₁	159.03 ± 8.14	160 ± 6.34	165.92 ± 7.08	167.34 ± 10.03
J ₉₀	190 ± 10.45	188.68 ± 8.84	194.87 ± 7.18	192.05 ± 8.46
Muscle (mg/g de tissu)				
J ₂₁	72.35 ± 3.29	71.85 ± 3.36	70.02 ± 5.07	66.11 ± 4.93
J ₉₀	108 ± 5.83	106.26 ± 4.18	76.03 ± 4.25 *	100.15 ± 5.37 [§]

Chaque valeur représente la moyenne ± ES, n=6. TRS: rats témoins nourris au régime standard au sevrage; TRC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage; ORS: rats obèses nourris au régime standard au sevrage; ORC: rats obèses nourris au régime cafeteria au sevrage. J₂₁: vingt et un jours de vie post-natale, qui correspond au sevrage; J₉₀: trois mois de la vie post-natale, qui correspond à l'âge adulte.

La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance.

Obèses comparés aux témoins, au même âge et au même régime (ORS versus TRS ou ORC versus TRC): * p<0.05

Régime cafeteria comparé au régime standard dans le même groupe (TRC versus TRS ou ORC versus ORS): § p<0.05

Tableau III: Composition en acides gras des lipides hépatiques chez les rates mères témoins et obèses

Lot	Rates témoins		Rates obèses	
	J ₀	J ₂₁	J ₀	J ₂₁
Acides gras%				
Acides gras saturés	40 ± 1.64	39.64 ± 1.37	38.64 ± 1.97	40.33 ± 1.55
18:1(n-9)	18.54 ± 1.36	20 ± 1.84	19.67 ± 1.24	20.43 ± 1.66
18:2(n-6)	16.65 ± 1.53	18.33 ± 1.14	17.66 ± 1.08	18.04 ± 1.23
20:4(n-6)	12.03 ± 1.01	13.15 ± 1.25	12.45 ± 1.11	12.95 ± 1.14
20:5(n-3)	2.74 ± 0.66	2.63 ± 0.55	2.53 ± 0.51	2.05 ± 0.64
22:6(n-3)	4.33 ± 0.54	3.64 ± 0.70	3.97 ± 0.48	3.51 ± 0.52

Chaque valeur représente la moyenne ± ES, n=6. Les rates témoins sont nourries au régime standard, alors que les rates obèses sont nourries au régime cafeteria. J₀: jour de la mise bas; J₂₁: fin de la lactation. La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance.

Obèses comparés aux témoins, au même âge: * p<0.05

Tableau IV: Composition en acides gras des lipides hépatiques chez les rats témoins et obèses (progéniture) à l'âge adulte (J₉₀)

Lot Acides gras%	Rats témoins (T)		Rats obèses (O)	
	TRS	TRC	ORS	ORC
Acides gras saturés	38.74 ± 1.26	42.04 ± 1.50 [§]	43.01 ± 1.11*	42.53 ± 1.62
18:1(n-9)	21.06 ± 1.14	20 ± 1.64	20.04 ± 1.04	20.08 ± 1.14
18:2(n-6)	18.10 ± 1.03	21.84 ± 1.12 [§]	21.55 ± 1.10*	21.44 ± 1.02
20:4(n-6)	10.48 ± 1.02	5.16 ± 0.88 [§]	4.24 ± 0.54*	4.36 ± 0.60
20:5(n-3)	2.23 ± 0.54	2.15 ± 0.44	2.04 ± 0.31	2.07 ± 0.33
22:6(n-3)	3.48 ± 0.39	1.06 ± 0.28 [§]	1.24 ± 0.21*	1.18 ± 0.20

Chaque valeur représente la moyenne ± ES, n=6. TRS: rats témoins nourris au régime standard au sevrage; TRC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage; ORS: rats obèses nourris au régime standard au sevrage; ORC: rats obèses nourris au régime cafeteria au sevrage. J₉₀: trois mois de la vie post-natale, qui correspond à l'âge adulte.

La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance.

Obèses comparés aux témoins, au même âge et au même régime (ORS versus TRS ou ORC versus TRC): * p<0.05

Régime cafeteria comparé au régime standard dans le même groupe (TRC versus TRS ou ORC versus ORS): § p<0.05

Tableau V: Composition en acides gras des lipides du muscle chez les rates mères témoins et obèses

Lot Acides gras%	Rates témoins		Rates obèses	
	J ₀	J ₂₁	J ₀	J ₂₁
Acides gras saturés				
	54.73 ± 2.48	55.04 ± 2.53	52.04 ± 2.17	53.88 ± 2.45
18:1(n-9)	17.65 ± 1.08	17.38 ± 1.27	17.21 ± 2.34	16.48 ± 1.33
18:2(n-6)	12.45 ± 1.11	13.48 ± 1.34	20.99 ± 1.18**	21.27 ± 1.07**
20:4(n-6)	8.03 ± 0.79	7.35 ± 0.88	2.58 ± 0.12*	2.34 ± 0.44*
20:5(n-3)	2.14 ± 0.64	1.98 ± 0.55	2.10 ± 0.61	1.89 ± 0.37
22:6(n-3)	2.34 ± 0.32	2.03 ± 0.40	2.18 ± 0.81	2.01 ± 0.39

Chaque valeur représente la moyenne ± ES, n=6. Les rates témoins sont nourries au régime standard, alors que les rates obèses sont nourries au régime cafeteria. J₀: jour de la mise bas; J₂₁: fin de la lactation. La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance.

Obèses comparés aux témoins, au même âge: * p<0.05; ** p<0.01

Tableau VI: Composition en acides gras des lipides du muscle chez les rats témoins et obèses (progéniture) à l'âge adulte (J₉₀)

Lot Acides gras%	Rats témoins (T)		Rats obèses (O)	
	TRS	TRC	ORS	ORC
Acides gras saturés	53.27 ± 2.33	50.67±2.68	50.33±2.47	50.09±2.50
18:1(n-9)	19.40±1.20	20.41±1.14	20.33±0.22	20.67±0.98
18:2(n-6)	16.07±1.62	23.62±1.25 ^{§§}	22.87±1.02 ^{**}	23.16±0.67
20:4(n-6)	4.36±0.85	2.17±0.66 [§]	2.39±0.60 [*]	1.94±0.86
20:5(n-3)	1.29±0.12	1.24±0.13	1.44±0.11	1.32±0.18
22:6(n-3)	2.37±0.18	1.55±0.38 [§]	1.92 ±0.43 [*]	1.42±0.21

Chaque valeur représente la moyenne ± ES, n=6. TRS: rats témoins nourris au régime standard au sevrage; TRC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage; ORS: rats obèses nourris au régime standard au sevrage; ORC: rats obèses nourris au régime cafeteria au sevrage. J₉₀: trois mois de la vie post-natale, qui correspond à l'âge adulte.

La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance.

Obèses comparés aux témoins, au même âge et au même régime (ORS versus TRS ou ORC versus TRC): * p<0.05; ** p<0.01

Régime cafeteria comparé au régime standard dans le même groupe (TRC versus TRS ou ORC versus ORS): § p<0.05; §§ p<0.01

Tableau VII: Composition en acides gras des lipides du tissu adipeux chez les rates mères témoins et obèses

Lot	Rates témoins		Rates obèses	
	J ₀	J ₂₁	J ₀	J ₂₁
Acides gras%				
Acides gras saturés	39.65±1.73	38.77±1.35	30.10± 1.84**	28.84±1.77**
18:1(n-9)	24.53±1.08	23.11±1.42	44.37±1.04**	40.74±1.33**
18:2(n-6)	25.42±1.44	27.93±1.86	23.84±1.22	26.05±1.57
20:4(n-6)	4.54±0.38	5.18±0.63	1.34±0.12*	1.87±0.23*
20:5(n-3)	1.75±0.06	1.83±0.32	0.53±0.02*	0.64±0.03*
22:6(n-3)	2.64±0.43	2.03±0.52	0.51±0.01*	0.81±0.02*

Chaque valeur représente la moyenne ± ES, n=6. Les rates témoins sont nourries au régime standard, alors que les rates obèses sont nourries au régime cafeteria. J₀: jour de la mise bas; J₂₁: fin de la lactation. La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance.

Obèses comparés aux témoins, au même âge: * p<0.05; ** p<0.01

Tableau VIII: Composition en acides gras des lipides du tissu adipeux chez les rats témoins et obèses (progéniture) à l'âge adulte (J₉₀)

Lot Acides gras%	Rats témoins (T)		Rats obèses (O)	
	TRS	TRC	ORS	ORC
Acides gras saturés	30.07 ±1.66	26.38±1.04 [§]	25.92±1.63*	26.78±1.39
18:1(n-9)	29.12±1.84	40.10±1.52 ^{§§}	42.92±2.04**	39.52±2.88
18:2(n-6)	30.12±1.37	28.31±1.92	27.23±2.14	26.68±2.07
20:4(n-6)	5.55±0.48	1.30±0.20 [§]	1.36±0.02*	1.39±0.11
20:5(n-3)	1.43±0.27	0.64±0.04 [§]	0.67±0.05*	0.68±0.03
22:6(n-3)	2.44±0.28	0.67±0.05 [§]	0.68±0.04*	0.68±0.03

Chaque valeur représente la moyenne ± ES, n=6. TRS: rats témoins nourris au régime standard au sevrage; TRC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage; ORS: rats obèses nourris au régime standard au sevrage; ORC: rats obèses nourris au régime cafeteria au sevrage. J₉₀: trois mois de la vie post-natale, qui correspond à l'âge adulte.

La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance.

Obèses comparés aux témoins, au même âge et au même régime (ORS versus TRS ou ORC versus TRC): * p<0.05; ** p<0.01

Régime cafeteria comparé au régime standard dans le même groupe (TRC versus TRS ou ORC versus ORS): § p<0.05; §§ p<0.01

Tableau A19: Pouvoir antioxydant total (ORAC) et marqueurs du statut oxydant chez les rates mères témoins et obèses

	Rates témoins		Rates obèses	
	J ₀	J ₂₁	J ₀	J ₂₁
ORAC (UA)	1.88 ± 0.35	2.25 ± 0.26	1.23 ± 0.22 *	1.66 ± 0.24 *
MDA (μmol/L)	0.40 ± 0.01	0.31 ± 0.03	0.80 ± 0.02**	0.86 ± 0.02 **
HYDP (μmol/L)	2.79 ± 0.02	3.02 ± 0.40	3.85 ± 0.19 *	4.93 ± 0.03 *
PCAR (nmol/L)	1.06 ± 0.03	1.23 ± 0.03	1.43 ± 0.01**	1.62 ± 0.02 **

Chaque valeur représente la moyenne ± ES, n=6. Les rates témoins sont nourries au régime standard, alors que les rates obèses sont nourries au régime cafeteria. J₀: jour de la mise bas; J₂₁: fin de la lactation. UA: unité arbitraire; ORAC: capacité d'absorber les radicaux oxygénés (oxygen radical absorbance capacity); MDA: malondialdéhyde plasmatique; HYDP: hydroperoxydes plasmatiques; PCAR: protéines carbonylées plasmatiques.

La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance.

Obèses comparés aux témoins, au même âge: * p<0.05; ** p<0.01

Tableau A20: Pouvoir antioxydant total (ORAC) et marqueurs du statut oxydant chez les rats témoins et obèses (progéniture)

Paramètres	Rats témoins (T)		Rats obèses (O)	
	TRS	TRC	ORS	ORC
ORAC (UA)				
J ₀	1.43 ± 0.22	1.40 ± 0.20	0.64 ± 0.15 *	0.66 ± 0.18 *
J ₂₁	1.80 ± 0.27	1.77 ± 0.30	1.01 ± 0.17 *	0.98 ± 0.22 *
J ₉₀	2.42 ± 0.33	1.62 ± 0.26 [§]	1.40 ± 0.16 **	1.52 ± 0.21
MDA (µmol/L)				
J ₀	0.31 ± 0.01	0.29 ± 0.01	0.63 ± 0.02**	0.60 ± 0.03**
J ₂₁	0.38 ± 0.02	0.40 ± 0.03	0.78 ± 0.03*	0.81 ± 0.01*
J ₉₀	0.45 ± 0.03	0.98 ± 0.01 [§]	1.14 ± 0.0**	1.42 ± 0.01* [§]
HYDP (µmol/L)				
J ₀	2.04 ± 0.38	2.01 ± 0.27	3.32 ± 0.29 *	3.41 ± 0.20*
J ₂₁	2.50 ± 0.25	2.48 ± 0.31	4.06 ± 0.30 *	4.22 ± 0.28 *
J ₉₀	3.03 ± 0.24	6.96 ± 0.49 ^{§§}	7.68 ± 0.34 **	9.62 ± 0.55** ^{§§}
PCAR (nmol/L)				
J ₀	1.11 ± 0.07	1.08 ± 0.03	1.54 ± 0.08 *	1.56 ± 0.05 *
J ₂₁	1.32 ± 0.15	1.35 ± 0.14 ^{§§}	2.27 ± 0.13 *	2.33 ± 0.24 *
J ₉₀	1.29 ± 0.21	2.88 ± 0.27 ^{§§}	2.67 ± 0.30 **	3.79 ± 0.23** ^{§§}

Chaque valeur représente la moyenne ± ES, n=6. TRS: rats témoins nourris au régime standard au sevrage; TRC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage; ORS: rats obèses nourris au régime standard au sevrage; ORC: rats obèses nourris au régime cafeteria au sevrage. J₀: Naissance; J₂₁: vingt et un jours de vie post-natale, qui correspond au sevrage; J₉₀: trois mois de la vie post-natale, qui correspond à l'âge adulte. UA: unité arbitraire; ORAC: capacité d'absorber les radicaux oxygénés (oxygen radical absorbance capacity); MDA: malondialdéhyde plasmatique; HYDP: hydroperoxydes plasmatiques; PCAR: protéines carbonylées plasmatiques.

La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance.

Obèses comparés aux témoins, au même âge et au même régime (ORS versus TRS ou ORC versus TRC): * p<0.05; ** p<0.01 Régime cafeteria comparé au régime standard dans le même groupe (TRC versus TRS ou ORC versus ORS): § p<0.05; §§ p<0.01

Tableau A23: Marqueurs de l'oxydation in vitro des lipoprotéines plasmatiques chez les rates mères témoins et obèses

	Rates témoins		Rates obèses	
	J ₀	J ₂₁	J ₀	J ₂₁
DIC ti (μmol/L)	3.50 ± 0.38	3.58 ± 0.42	6.11 ± 0.43*	6.74 ± 0.50*
DIC tm (μmol/L)	9.79 ± 0.66	10.39 ± 0.51	12.32 ± 1.07*	13.51 ± 1.11*
T lag (min)	75.48 ± 2.34	78.41 ± 3.14	48.26 ± 1.56 *	50.06 ± 1.27*
T max (min)	186 ± 5.67	195 ± 7.05	137.25 ± 4.37*	129 ± 6.89 *

Chaque valeur représente la moyenne ± ES, n=6. Les rates témoins sont nourries au régime standard, alors que les rates obèses sont nourries au régime cafeteria. J₀: jour de la mise bas; J₂₁: fin de la lactation. DIC ti: diènes conjugués taux initial; DIC tm: diènes conjugués taux maximal après induction de l'oxydation in vitro par le CuSO₄; Tlag: temps correspondant à la durée de la phase de Latence; Tmax: temps nécessaire pour obtenir l'oxydation maximale.

La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance.

Obèses comparés aux témoins, au même âge: * p<0.05

Tableau A24: Marqueurs de l'oxydation in vitro des lipoprotéines plasmatiques chez les rats témoins et obèses (progéniture)

	Rats témoins (T)		Rats obèses (O)	
	TRS	TRC	ORS	ORC
DIC ti ($\mu\text{mol/L}$)				
J ₀	1.68 \pm 0.24	1.65 \pm 0.20	1.70 \pm 0.31	1.68 \pm 0.33
J ₂₁	2.64 \pm 0.51	2.58 \pm 0.49	4.24 \pm 0.38 *	4.59 \pm 0.41*
J ₉₀	3.45 \pm 0.62	6.67 \pm 0.71 [§]	6.88 \pm 0.57 *	8.78 \pm 0.69* [§]
DIC tm ($\mu\text{mol/L}$)				
J ₀	4.76 \pm 0.36	4.88 \pm 0.41	4.58 \pm 0.51	4.97 \pm 0.33
J ₂₁	6.87 \pm 0.61	7.04 \pm 0.23	8.79 \pm 0.44*	8.45 \pm 0.58 *
J ₉₀	8.94 \pm 0.58	12.49 \pm 0.99 ^{§§}	13.44 \pm 1.02 *	15.67 \pm 1.14 * [§]
T lag (min)				
J ₀	59.74 \pm 2.47	60.22 \pm 2.11	57.94 \pm 2.08	58.47 \pm 2.35
J ₂₁	64.48 \pm 2.55	67 \pm 3.24	38.42 \pm 1.47*	36.16 \pm 1.16*
J ₉₀	78.14 \pm 2.68	49.22 \pm 2.35 ^{§§}	47.39 \pm 1.94*	38.32 \pm 1.04* [§]
Tmax (min)				
J ₀	122 \pm 3.46	120 \pm 2.55	120 \pm 4.07	119.48 \pm 3.75
J ₂₁	137.53 \pm 2.57	140 \pm 2.68	120 \pm 2.14*	125.33 \pm 1.88*
J ₉₀	194 \pm 4.37	147.50 \pm 3.14 ^{§§}	133.85 \pm 3.56*	130 \pm 2.49*

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES, n=6. TRS: rats témoins nourris au régime standard au sevrage; TRC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage; ORS: rats obèses nourris au régime standard au sevrage; ORC: rats obèses nourris au régime cafeteria au sevrage. J₀: Naissance; J₂₁: vingt et un jours de vie post-natale, qui correspond au sevrage; J₉₀: trois mois de la vie post-natale, qui correspond à l'âge adulte. DIC ti: diènes conjugués taux initial; DIC tm: diènes conjugués taux maximal après induction de l'oxydation in vitro par le CuSO₄; Tlag: temps correspondant à la durée de la phase de Latence; Tmax: temps nécessaire pour obtenir l'oxydation maximale.

La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance.

Obèses comparés aux témoins, au même âge et au même régime (ORS versus TRS ou ORC versus TRC): * p<0.05; ** p<0.01

Régime cafeteria comparé au régime standard dans le même groupe (TRC versus TRS ou ORC versus ORS): § p<0.05; §§ p<0.01

Tableau A21: Teneurs plasmatiques en vitamines antioxydantes (A, C, E) chez les rates mères témoins et obèses

	Rates témoins		Rates obèses	
	J ₀	J ₂₁	J ₀	J ₂₁
Vitamine A (µmol/L)	14.56 ± 1.32	18.42 ± 2.83	15.24 ± 2.06	20.07 ± 2.01
Vitamine C (µmol/L)	30.53 ± 2.07	33.05 ± 2.11	28.50 ± 2.54	30.95 ± 2.42
Vitamine E (µmol/L)	24.38 ± 1.45	26.59 ± 1.97	25 ± 1.33	28.11 ± 2.05

Chaque valeur représente la moyenne ± ES, n=6. Les rates témoins sont nourries au régime standard, alors que les rates obèses sont nourries au régime cafeteria. J₀: jour de la mise bas; J₂₁: fin de la lactation.

La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance.

Obèses comparés aux témoins, au même âge: * p<0.05

Tableau A22: Teneurs plasmatiques en vitamines antioxydantes (A, C, E) chez les rats témoins et obèses (progéniture)

	Rats témoins (T)		Rats obèses (O)	
	TRS	TRC	ORS	ORC
Vitamine A ($\mu\text{mol/L}$)				
J ₀	6.34 \pm 0.56	6.30 \pm 0.44	5.98 \pm 0.34	5.88 \pm 0.26
J ₂₁	11.85 \pm 2.02	12.07 \pm 1.44	13.62 \pm 1.30	14.08 \pm 2.11
J ₉₀	16.57 \pm 1.64	15.86 \pm 1.16	16.18 \pm 1.18	15.89 \pm 1.38
Vitamine C ($\mu\text{mol/L}$)				
J ₀	25.67 \pm 1.55	24.87 \pm 1.35	23.29 \pm 2.76	23.88 \pm 2.08
J ₂₁	27.37 \pm 2.07	26.88 \pm 1.56	25.03 \pm 2.73	25.45 \pm 2.62
J ₉₀	28.55 \pm 2.31	26.15 \pm 1.85	26.68 \pm 2.05	24.17 \pm 1.06
Vitamine E ($\mu\text{mol/L}$)				
J ₀	8.11 \pm 0.75	8.24 \pm 0.50	9.64 \pm 0.83	9.14 \pm 0.64
J ₂₁	15.84 \pm 1.14	13.96 \pm 2.17	13.48 \pm 1.86	13.56 \pm 1.89
J ₉₀	26.13 \pm 1.85	25.49 \pm 1.86	25.82 \pm 1.03	23.21 \pm 1.16

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES, n=6. TRS: rats témoins nourris au régime standard au sevrage; TRC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage; ORS: rats obèses nourris au régime standard au sevrage; ORC: rats obèses nourris au régime cafeteria au sevrage. J₀: Naissance; J₂₁: vingt et un jours de vie post-natale, qui correspond au sevrage; J₉₀: trois mois de la vie post-natale, qui correspond à l'âge adulte.

La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance.

Obèses comparés aux témoins, au même âge et au même régime (ORS versus TRS ou ORC versus TRC): * p<0.05

Régime cafeteria comparé au régime standard dans le même groupe (TRC versus TRS ou ORC versus ORS): § p<0.05

Tableau A25: Activités des enzymes érythrocytaires antioxydantes chez les rates mères témoins et obèses

	Rates témoins		Rates obèses	
	J ₀	J ₂₁	J ₀	J ₂₁
Catalase (U/g Hb)	176.5 ± 12.95	200.5 ± 12.9	136.72 ± 13.04**	149.50 ± 11.04 **
SOD (U/g Hb)	549.35 ± 28.93	587 ± 31.38	250.87 ± 20.07*	268.52 ± 26.35*
GPX (U/g Hb)	89.06 ± 5.06	92.53 ± 4.03	86.41 ± 3.66	90.37 ± 3.50
GREED (U/g Hb)	37.55 ± 2.38	40.25 ± 3.11	40.75 ± 3.22	43.26 ± 2.98

Chaque valeur représente la moyenne ± ES, n=6. Les rates témoins sont nourries au régime standard, alors que les rates obèses sont nourries au régime cafeteria. J₀: jour de la mise bas; J₂₁: fin de la lactation. SOD: superoxyde dismutase; GPX: glutathion peroxydase; GREED: glutathion réductase

La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance.

Obèses comparés aux témoins, au même âge: * p<0.05; ** p<0.01

Tableau A26: Activités des enzymes érythrocytaires antioxydantes chez les rats témoins et obèses (progéniture)

	Rats témoins (T)		Rats obèses (O)	
	TRS	TRC	ORS	ORC
Catalase(U/gHb)				
J ₀	54.50 ± 5.63	54.80 ± 5.18	33.67 ± 4.18 *	31.68 ± 3.38 *
J ₂₁	124.16 ± 7.89	126.18 ± 5.19	86.26 ± 4.05 **	83.05 ± 4.01 **
J ₉₀	220.54 ± 9.03	153.11 ± 8.04 ^{§§}	136.33 ± 4.55 **	108.53 ± 5.44 * [§]
SOD(U/g Hb)				
J ₀	127.34 ± 10.65	125.04 ± 8.66	132.08 ± 15.44	130.11 ± 10.40
J ₂₁	322.28 ± 20.45	300.15 ± 18.06	430.27 ± 21.09 *	428.18 ± 17.11 *
J ₉₀	597.53 ± 32.88	328.26 ± 27.16 ^{§§}	665.54 ± 28.37 **	352.39 ± 21.14 ^{§§}
GPX(U/g Hb)				
J ₀	22.34 ± 1.11	21.36 ± 1.32	20.04 ± 1.08	20.64 ± 1.16
J ₂₁	68.58 ± 2.34	70.32 ± 2.28	70.27 ± 2.78	69.44 ± 3.03
J ₉₀	90.07 ± 3.44	80.34 ± 2.50 [§]	69.04 ± 3.05*	53.94 ± 2.11 * [§]
GREED (U/g Hb)				
J ₀	15.32 ± 1.45	14.82 ± 1.38	12.56 ± 3.08	13.60 ± 2.68
J ₂₁	30.29 ± 1.26	29.74 ± 1.56	28.03 ± 1.66	28.85 ± 2.30
J ₉₀	43.62 ± 3.34	39.68 ± 2.87	40.55 ± 2.37	36.84 ± 3.99

Chaque valeur représente la moyenne ± ES, n=6. TRS: rats témoins nourris au régime standard au sevrage; TRC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage; ORS: rats obèses nourris au régime standard au sevrage; ORC: rats obèses nourris au régime cafeteria au sevrage. J₀: Naissance; J₂₁: vingt et un jours de vie post-natale, qui correspond au sevrage; J₉₀: trois mois de la vie post-natale, qui correspond à l'âge adulte. SOD: superoxyde dismutase; GPX: glutathion peroxydase; GREED: glutathion réductase

La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance.

Obèses comparés aux témoins, au même âge et au même régime (ORS versus TRS ou ORC versus TRC): * p<0.05; ** p<0.01

Régime cafeteria comparé au régime standard dans le même groupe (TRC versus TRS ou ORC versus ORS): § p<0.05; §§ p<0.01

Tableau A27: Marqueurs du statut oxydant/antioxydant du foie chez les rates mères témoins et obèses

Paramètres	Rates témoins		Rates obèses	
	J ₀	J ₂₁	J ₀	J ₂₁
MDA (nmol/g tissu)	18.96 ± 1.11	23 ±1.64	38.07 ± 1.55*	47.26 ±1.53*
HYDP (nmol/g tissu)	7.84 ± 0.63	8.45 ±0.73	21.56 ± 1.08*	24.74±1.66*
PCAR (nmol/g tissu)	0.80±0.02	1.04±0.03	2.79±0.04*	3.06±0.18*
Catalase (U/g tissu)	294.11± 20.12	267 ±18.33	463.25 ± 24.37**	509 ±20.58**
SOD (U/g tissu)	437.38 ±24.56	391±22.07	608.67±20.12**	563.54±26.04**
GPX (U/g tissu)	126±17.84	138±19.44	114.66±18.36	131.64±26.07
GREED (U/g tissu)	94.56±10.15	88.13±10.07	90.34±10.57	80.55±10.33

Chaque valeur représente la moyenne ± ES, n=6. Les rates témoins sont nourries au régime standard, alors que les rates obèses sont nourries au régime cafeteria. J₀: jour de la mise bas; J₂₁: fin de la lactation. MDA: malondialdéhyde hépatique; HYDP:hydroperoxydes hépatiques; PCAR: protéines carbonylées hépatiques. SOD: superoxyde dismutase hépatique; GPX: glutathion peroxydase hépatique; GREED: glutathion réductase hépatique

La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance.

Obèses comparés aux témoins, au même âge: * p<0.05; ** p<0.01

Tableau A28: Marqueurs du statut oxydant/antioxydant du foie chez les rats témoins et obèses (progéniture)

	Rats témoins (T)		Rats obèses (O)	
	TRT	TRC	CRC	CRT
MDA(nmol/g tissu)				
J ₂₁	12.64±1.07	13.07±1.14	26.03±1.38*	27.48±1.45*
J ₉₀	27.08 ± 1.22	48.15 ± 1.63 ^{§§}	50.26 ± 2.07**	62.33 ± 1.38* [§]
HYDP(nmol/g tissu)				
J ₂₁	4.13±0.37	4.86±0.45	10.74±0.88*	9.76±0.50*
J ₉₀	8.94 ± 0.66	18.15± 1.04 ^{§§}	20.03 ± 1.15**	31.45 ± 1.48** [§]
PCAR(nmol/g tissu)				
J ₂₁	0.40±0.02	0.45±0.03	1.66±0.08*	1.59±0.06*
J ₉₀	1.07±0.03	1.68±0.04 [§]	1.82±0.05*	2.64±0.11* [§]
Catalase(U/g tissu)				
J ₂₁	147±15	149±18.13	236.18±16*	241±13.66*
J ₉₀	250±10.93	308±16.25 [§]	357±13.84*	462.50±18.09* [§]
SOD(U/g tissu)				
J ₂₁	189±18.66	184±15	295±15.66*	304±18.14*
J ₉₀	374±20.40	596±18 ^{§§}	604±22.15*	715±26.23* [§]
GPX(U/g tissu)				
J ₂₁	55±2.48	58±3.23	57.63±4.11	54.39±5.15
J ₉₀	98.38±5.07	107±6.11	110±15.04	103.47±10.73
GRED (U/g tissu)				
J ₂₁	38.11±3.27	40±5.11	40.36±3.44	42.40±4.75
J ₉₀	84.32±5.08	90.07±6.08	86.44±5.22	88.07±4.99

Chaque valeur représente la moyenne ± ES, n=6. TRS: rats témoins nourris au régime standard au sevrage; TRC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage; ORS: rats obèses nourris au régime standard au sevrage; ORC: rats obèses nourris au régime cafeteria au sevrage. J₂₁: vingt et un jours de vie post-natale, qui correspond au sevrage; J₉₀: trois mois de la vie post-natale, qui correspond à l'âge adulte. MDA: malondialdéhyde hépatique; HYDP:hydroperoxydes hépatiques; PCAR : protéines carbonylées hépatiques. SOD: superoxyde dismutase hépatique; GPX:glutathion peroxydase hépatique; GRED:glutathion réductase hépatique

La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance.

Obèses comparés aux témoins, au même âge et au même régime (ORS versus TRS ou ORC versus TRC): * p<0.05; ** p<0.01

Régime cafeteria comparé au régime standard dans le même groupe (TRC versus TRS ou ORC versus ORS): § p<0.05; §§ p<0.01

Tableau A29: Marqueurs du statut oxydant/antioxydant du muscle chez les rates mères témoins et obèses

	Rates témoins		Rates obèses	
	J ₀	J ₂₁	J ₀	J ₂₁
MDA (nmol/g tissu)	15 ± 1.13	18.44±1.52	27 ± 1.04*	32.26±1.07*
HYDP (nmol/g tissu)	3.66 ± 0.37	4.15±0.48	16.74 ± 2.10**	17.83±1.15**
PCAR (nmol/g tissu)	0.45±0.02	0.53±0.02	1.63±0.05*	1.88±0.04*
Catalase (U/gtissu)	91.80 ± 10.83	86.74±8.33	143.30 ± 11.25*	136.11±16.38*
SOD (U/g tissu)	167±16.34	174±15.55	267.43±11.34*	280±18.04*
GPX (U/g tissu)	73±5.52	83.11±4.34	80.66±6.04	85.22±5.62
GREED (U/g tissu)	52.11±3.84	64.37±5.07	60.07±5.31	61.47±4.09

Chaque valeur représente la moyenne ± ES, n=6. Les rates témoins sont nourries au régime standard, alors que les rates obèses sont nourries au régime cafeteria. J₀: jour de la mise bas; J₂₁: fin de la lactation. MDA: malondialdéhyde musculaire; HYDP: hydroperoxydes musculaires; PCAR: protéines carbonylées musculaires. SOD: superoxyde dismutase musculaire; GPX: glutathion peroxydase musculaire; GREED: glutathion réductase musculaire. La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance.

Obèses comparés aux témoins, au même âge: * p<0.05; ** p<0.01

Tableau A30: Marqueurs du statut oxydant/antioxydant du muscle chez les rats témoins et obèses (progéniture)

	Rats témoins (T)		Rats obèses (O)	
	TRS	TRC	ORS	ORC
MDA(nmol/g tissu)				
J ₂₁	6.15±0.42	6.83±0.84	15.37±1.11*	16.34±1.08*
J ₉₀	10.20± 1.64	20.28 ± 1.06 ^{§§}	20.57 ± 1.02*	30.34 ± 1.67* ^{§§}
HYDP(nmol/g tissu)				
J ₂₁	1.57±0.33	1.55±0.84	5.063±0.51*	6.11±0.54*
J ₉₀	3.14 ± 0.61	8.87± 0.84 [§]	9.09 ± 0.62*	12.49 ± 0.64* [§]
PCAR(nmol/g tissu)				
J ₂₁	0.22±0.03	0.28±0.04	0.65±0.02*	0.67±0.03*
J ₉₀	0.50±0.04	1.04±0.03 [§]	1.23±0.04*	1.68±0.03* [§]
Catalase(U/g tissu)				
J ₂₁	48.37±3.44	51.07±3.04	52±4.11	53.37±3.28
J ₉₀	87.45±2.18	90.26±4.15	42.33±3.16*	88.52±3.40 [§]
SOD(U/g tissu)				
J ₂₁	85.26±3.11	88.07±3.64	83.44±5.08	87.48±4.69
J ₉₀	126.23±6.45	133±5.28	65.52±3.68*	130±5.73 [§]
GPX(U/g tissu)				
J ₂₁	42.18±3.18	44.53±3.04	40.94±2.96	43.36±3.12
J ₉₀	67.39±5.04	63.18±3.82	64.53±4.11	62.44±3.08
GRED (U/g tissu)				
J ₂₁	38.64±2.14	39.77±3.11	40.14±3.07	38.47±3.21
J ₉₀	51.14±3.55	55.38±2.99	53.35±3.18	54.66±4.18

Chaque valeur représente la moyenne ± ES, n=6. TRS: rats témoins nourris au régime standard au sevrage; TRC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage; ORS: rats obèses nourris au régime standard au sevrage; ORC: rats obèses nourris au régime cafeteria au sevrage. J₂₁: vingt et un jours de vie post-natale, qui correspond au sevrage; J₉₀: trois mois de la vie post-natale, qui correspond à l'âge adulte. MDA: malondialdéhyde musculaire; HYDP: hydroperoxydes musculaires; PCAR: protéines carbonylées musculaires. SOD: superoxyde dismutase musculaire; GPX: glutathion peroxydase musculaire; GRED: glutathion réductase musculaire.

La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance.

Obèses comparés aux témoins, au même âge et au même régime (ORS versus TRS ou ORC versus TRC): * p<0.05; ** p<0.01

Régime cafeteria comparé au régime standard dans le même groupe (TRC versus TRS ou ORC versus ORS): § p<0.05; §§ p<0.01

Tableau A31: Marqueurs du statut oxydant/antioxydant du tissu adipeux chez les rates mères témoins et obèses

	Rates témoins		Rates obèses	
	J ₀	J ₂₁	J ₀	J ₂₁
MDA (nmol/g tissu)	10.25 ±0.81	15.66±1.23	20.47 ± 1.03**	30.44±2.04**
HYDP (nmol/g tissu)	9.70 ± 0.61	12.42±1.04	18.40± 1.10**	22.58±2.11**
PCAR (nmol/g tissu)	0.15±0.01	0.16±0.02	0.17±0.03	0.16±0.04
Catalase (U/g tissu)	75± 7.30	73.16±5.04	180 ± 11.88*	174±10.06**
SOD (U/g tissu)	243.26±15.26	250±18.33	326±18.34**	366.26±16.33**
GPX (U/g tissu)	84.56±5.18	89.37±6.04	86.22±4.12	90.24±4.84
GRED (U/g tissu)	69.18±6.23	75.44±5.99	71.36±6.15	77.33±5.37

Chaque valeur représente la moyenne ± ES, n=6. Les rates témoins sont nourries au régime standard, alors que les rates obèses sont nourries au régime cafeteria. J₀: jour de la mise bas; J₂₁: fin de la lactation. MDA: malondialdéhyde adipeux; HYDP: hydroperoxydes adipeux; PCAR: protéines carbonylées adipeuses. SOD: superoxyde dismutase adipeuse; GPX: glutathion peroxydase adipeuse; GRED: glutathion réductase adipeuse.

La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance.

Obèses comparés aux témoins, au même âge: * p<0.05; ** p<0.01

Tableau A32: Marqueurs du statut oxydant/antioxydant du tissu adipeux chez les rats témoins et obèses (progéniture)

	Rats témoins (T)		Rats obèses (O)	
	TRS	TRC	ORS	ORC
MDA (nmol/g tissu)				
J ₂₁	6.43±0.83	6.87±0.93	12.26±1.04*	12.69±1.12*
J ₉₀	10.16 ± 1.07	18.32 ± 1.16 [§]	18.87± 1.11*	26.29 ± 1.04* [§]
HYDP(nmol/g tissu)				
J ₂₁	5.73±0.70	5.94±0.84	8.83±0.62*	9.11±0.52*
J ₉₀	8.89 ± 0.64	17.45 ± 1.12 ^{§§}	22.75 ± 1.18**	32.75 ± 1.63** ^{§§}
PCAR(nmol/g tissu)				
J ₂₁	0.08±0.01	0.10±0.02	0.09±0.02	0.11±0.03
J ₉₀	0.12±0.02	0.14±0.03	0.15±0.03	0.16±0.04
Catalase(U/g tissu)				
J ₂₁	60.33±12.06	62.15±14.36	115±14.58*	117±16.36*
J ₉₀	80.24±15.63	133.11±16.84 [§]	156±18.07*	173±15.54* [§]
SOD(U/g tissu)				
J ₂₁	105±11.34	110.43±12.86	168.37±16.14*	162.54±15.33*
J ₉₀	213±20.06	306.81±18.11 [§]	324.50±18.47**	456.11±20.01** ^{§§}
GPX(U/g tissu)				
J ₂₁	50.38±6.11	53.44±5.04	57±5.55	54.13±6.08
J ₉₀	80.11±7.06	86.35±6.33	86.14±5.07	88.90±5.37
GRED (U/g tissu)				
J ₂₁	43.33±4.31	44.51±5.02	46.42±4.06	48.64±4.53
J ₉₀	71.52±5.36	76.38±5.51	79.36±5.14	80.06±4.82

Chaque valeur représente la moyenne ± ES, n=6. TRS : rats témoins nourris au régime standard au sevrage; TRC : rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage ; ORS : rats obèses nourris au régime standard au sevrage ; ORC : rats obèses nourris au régime cafeteria au sevrage. J₂₁: vingt et un jours de vie post-natale, qui correspond au sevrage; J₉₀: trois mois de la vie post-natale, qui correspond à l'âge adulte. MDA: malondialdéhyde adipeux; HYDP: hydroperoxydes adipeux; PCAR: protéines carbonylées adipeuses. SOD: superoxyde dismutase adipeuse; GPX: glutathion peroxydase adipeuse; GRED: glutathion réductase adipeuse.

La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance.

Obèses comparés aux témoins, au même âge et au même régime (ORS versus TRS ou ORC versus TRC) : * p<0.05; ** p<0.01

Régime cafeteria comparé au régime standard dans le même groupe (TRC versus TRS ou ORC versus ORS): § p<0.05; §§ p<0.01

Tableau A3: Poids corporel, nourriture ingérée et apport énergétique au cours des bilans nutritionnels chez les rats mâles témoins et obèses

	Rats témoins (T)		Rats obèses (O)	
	TRS	TRC	ORS	ORC
Poids corporel (g)				
BI	58.11±5.64	61.23±6.08	110.34±7.25*	115.46±6.94*
BII	96.37 ± 6.33	156 ± 7.97 ^{§§}	162.52± 6.91**	167.24 ± 7.11
BIII	200.57±9.34	287.15±10.22 ^{§§}	291.36±10.05**	302.72±14.05
BIV	330±10.48	468.33±16.47 ^{§§}	452±12.37**	464±20.64
Nourriture ingérée (g/j/rat)				
BI	8.90±0.95	12.64±1.07 [§]	13.75±1.23*	14.32±1.75
BII	12±1.01	18.11±1.14 [§]	19.26±1.44*	20.14±2.03
BIII	18.64±1.14	23.34±1.05 [§]	24.73±1.15*	24.26±1.77
BIV	20.39±1.22	28.74±1.53 [§]	32.79±1.06*	30.75±2.14
Apport énergétique (Kcal/j/rat)				
BI	29.37±1.66	52.71±2.52 ^{§§}	45.38±2.32*	60.15±2.73 ^{§*}
BII	38.97±1.73	78.06±2.44 ^{§§}	63.56±1.11*	84.58±4.26 [§]
BIII	61.52±2.11	98.04±2.05 ^{§§}	81.61±2.14*	101.89±3.13 [§]
BIV	68.34±2.04	120.71±3.63 ^{§§}	108.22±2.55**	128.15±3.99 [§]

Chaque valeur représente la moyenne ± ES, n=6 rats. TRS: rats témoins nourris au régime standard au sevrage; TRC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage; ORS: rats obèses nourris au régime standard au sevrage; ORC: rats obèses nourris au régime cafeteria au sevrage; B_I: 30^{ème}-37^{ème} jour; B_{II}: 53^{ème}-60^{ème} jour; B_{III}: 60^{ème}-67^{ème} jour; B_{IV}: 83^{ème}-90^{ème} jour de l'expérimentation.

La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance.

Obèses comparés aux témoins, au même bilan et au même régime (ORS versus TRS ou ORC versus TRC): * p<0.05; ** p<0.01

Régime cafeteria comparé au régime standard dans le même groupe (TRC versus TRS ou ORC versus ORS): § p<0.05; §§ p<0.01

Tableau A4: Azote ingéré, urinaire, fécal et excrété au cours des bilans nutritionnels chez les rats mâles témoins et obèses

	Rats témoins (T)		Rats obèses (O)	
	TRS	TRC	ORS	ORC
Azote ingéré (mg/j/rat)				
BI	320.41±22.34	525.84±34.66 ^{§§}	528.34±30.10 ^{**}	587.12±38.65
BII	460.08 ± 30.14	768.03 ±36.50 ^{§§}	739.58±28.64 ^{**}	817.83 ± 40.04 ^{§§}
BIII	679.35±32.08	967±38.94 ^{§§}	948.53±26.50 ^{**}	1020.22±40.15 [§]
BIV	768.57±28.64	1198.34±30.15 ^{§§}	1254.91±33.07 ^{**}	1270.20±43.64
Azote urinaire (mg/j/rat)				
BI	59.09±5.64	55.48±4.98	54.48±6.11	55.66±5.83
BII	86.60±8.26	73.11±7.75	88.76±7.42	78.64±6.91
BIII	152.15±7.11	126.37±6.48 [§]	150.98±6.55	122.33±5.47 [§]
BIV	183.56±6.45	137.46±6.07 [§]	176.42±8.11	129.35±6.04 [§]
Azote fécal (mg/j/rat)				
BI	48.98±4.18	44.37±3.99	42.64±4.33	40.08±3.64
BII	55.22±4.06	51.32±4.11	53.87±4.27	52.64±3.18
BIII	57.58±5.11	52.11±3.74	54.22±4.66	50.17±3.62
BIV	68.87±5.82	60.14±6.22	65.33±4.06	58.06±5.99
Azote excrété (mg/j/rat)				
BI	108.07±17.26	99.88±20.15	97.22±16.35	95.75±15.74
BII	141.80±20.37	125.48±18.90	142.60±10.48	131.28±10.66
BIII	209.80±10.11	178.51±10.33 [§]	205.20±17.31	172.50±10.39 [§]
BIV	252.42±20	196.76±10.08 [§]	241.75±18.04	187.35±11.42 [§]

Chaque valeur représente la moyenne ± ES, n=6 rats. TRS: rats témoins nourris au régime standard au sevrage; TRC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage; ORS: rats obèses nourris au régime standard au sevrage; ORC: rats obèses nourris au régime cafeteria au sevrage; B_I: 30^{ème}-37^{ème} jour; B_{II}: 53^{ème}-60^{ème} jour; B_{III}: 60^{ème}-67^{ème} jour; B_{IV}: 83^{ème}-90^{ème} jour de l'expérimentation.

La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance.

Obèses comparés aux témoins, au même bilan et au même régime (ORS versus TRS ou ORC versus TRC):

** p<0.01

Régime cafeteria comparé au régime standard dans le même groupe (TRC versus TRS ou ORC versus ORS):

§ p<0.05; §§ p<0.01

Tableau A5: Coefficient d'utilisation digestive apparente de l'azote (CUD_N) et bilan azoté (BA) au cours des bilans nutritionnels chez les rats mâles témoins et obèses

	Rats témoins (T)		Rats obèses (O)	
	TRS	TRC	ORS	ORC
CUD_N (%)				
BI	84.70±2.11	91.56±2.04 [§]	91.92±2.22*	93.17±3.48
BII	87.93 ± 2.42	93.31 ± 1.86 [§]	92.71±1.05*	93.56 ± 2.24
BIII	90.15±1.03	94.61±1.15 [§]	94.28±1.23*	95.08±1.58
BIV	91.03±0.94	94.98±1.02 [§]	94.79±1.11*	95.42±1.67
BA (%)				
BI	66.27±1.79	81±2.38 ^{§§}	81.59±2.41**	83.70±2.56
BII	69.17±1.58	83.66±1.49 ^{§§}	80.71±1.24**	83.94±1.42
BIII	69.11±1.11	81.53±1.06 ^{§§}	78.36±2.55*	83.11±2.63
BIV	67.15±1.84	83.58±1.55 ^{§§}	80.73±1.63**	85.25±2.58

Chaque valeur représente la moyenne ± ES, n=6 rats. TRS: rats témoins nourris au régime standard au sevrage; TRC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage; ORS: rats obèses nourris au régime standard au sevrage; ORC: rats obèses nourris au régime cafeteria au sevrage; B_I: 30^{ème} -37^{ème} jour; B_{II}: 53^{ème} -60^{ème} jour; B_{III}: 60^{ème} -67^{ème} jour; B_{IV}: 83^{ème} -90^{ème} jour de l'expérimentation.

La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance.

Obèses comparés aux témoins, au même bilan et au même régime (ORS versus TRS ou ORC versus TRC): * p<0.05; ** p<0.01

Régime cafeteria comparé au régime standard dans le même groupe (TRC versus TRS ou ORC versus ORS): § p<0.05; §§ p<0.01

Tableau A6: Lipides ingérés et fécaux et coefficient d'utilisation digestive apparente des lipides (CUD_L) au cours des bilans nutritionnels chez les rats mâles témoins et obèses

	Rats témoins (T)		Rats obèses (O)	
	TRS	TRC	ORS	ORC
Lipides ingérés (mg/j/rat)				
BI	440±30.66	5940±210.34 ^{§§}	680.35±38.57*	6438±290.98 ^{§§*}
BII	600.37 ± 40	8611 ± 322.51 ^{§§}	968.67±50.11*	9405 ± 310.27 ^{§§*}
BIII	928±34.51	10962±235.64 ^{§§}	1232±40.26*	11402±387.37 ^{§§*}
BIV	1005±45.16	13484±398.30 ^{§§}	1651±48.53*	14054±415.08 ^{§§*}
Lipides fécaux (mg/j/rat)				
BI	191.38±26.94	1893.55±138 ^{§§}	325.14±22.35*	1877±206.50 ^{§§}
BII	198.47±27.50	2508±228.30 ^{§§}	370.38±30.44*	2624±255.07 ^{§§}
BIII	280.33±31.08	2669±259.33 ^{§§}	425.13±31.52*	2979±248.35 ^{§§}
BIV	326.48±30.07	3207±334 ^{§§}	506.47±36.73*	3611±300.28 ^{§§}
CUD_L (%)				
BI	56.50±4.18	68.13±2.05 [§]	54.02±2.50	70.84±2.35 [§]
BII	66.95±2.97	72.54±1.87 [§]	62.96±3.98	72.09±2.08 [§]
BIII	69.79±3.26	76.08±2.11 [§]	66.84±3.72	74.11±1.67 [§]
BIV	67.58±2.14	76.53±2.08 [§]	68.33±1.69	75.03±1.39 [§]

Chaque valeur représente la moyenne ± ES, n=6 rats. TRS: rats témoins nourris au régime standard au sevrage; TRC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage; ORS: rats obèses nourris au régime standard au sevrage; ORC: rats obèses nourris au régime cafeteria au sevrage; B_I: 30^{ème} -37^{ème} jour; B_{II}: 53^{ème} -60^{ème} jour; B_{III}: 60^{ème} -67^{ème} jour; B_{IV}: 83^{ème} -90^{ème} jour de l'expérimentation.

La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance.

Obèses comparés aux témoins, au même bilan et au même régime (ORS versus TRS ou ORC versus TRC): * p<0.05

Régime cafeteria comparé au régime standard dans le même groupe (TRC versus TRS ou ORC versus ORS): § p<0.05; §§ p<0.01

Tableau A7: Teneurs urinaires en urée et créatinine au cours des bilans nutritionnels chez les rats mâles témoins et obèses

	Rats témoins (T)		Rats obèses (O)	
	TRS	TRC	ORS	ORC
Urée (g/l)				
BI	0.32±0.03	0.18±0.03 [§]	0.29±0.02	0.17±0.02 [§]
BII	0.41 ± 0.04	0.22 ± 0.03 [§]	0.40±0.03	0.21 ± 0.02 [§]
BIII	0.63±0.02	0.31±0.02 ^{§§}	0.59±0.03	0.28±0.03 ^{§§}
BIV	0.65±0.03	0.40±0.02 ^{§§}	0.62±0.04	0.37±0.02 ^{§§}
Créatinine (mg/l)				
BI	4.50±0.33	4.67±0.44	4.15±0.40	4.76±0.37
BII	5.30±0.41	5.48±0.51	5.18±0.31	5.25±0.43
BIII	5.61±0.38	5.88±0.27	5.30±0.27	5.63±0.38
BIV	6.22±0.44	6.37±0.36	5.78±0.39	6.18±0.27

Chaque valeur représente la moyenne ± ES, n=6 rats. TRS: rats témoins nourris au régime standard au sevrage; TRC: rats témoins nourris au régime cafeteria au sevrage; ORS: rats obèses nourris au régime standard au sevrage; ORC: rats obèses nourris au régime cafeteria au sevrage; BI: 30^{ème} -37^{ème} jour; BII: 53^{ème} -60^{ème} jour; BIII: 60^{ème} -67^{ème} jour; BIV: 83^{ème} -90^{ème} jour de l'expérimentation.

La comparaison des moyennes est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance.

Obèses comparés aux témoins, au même bilan et au même régime (ORS versus TRS ou ORC versus TRC): * p<0.05

Régime cafeteria comparé au régime standard dans le même groupe (TRC versus TRS ou ORC versus ORS): § p<0.05

ARTICLES



ELSEVIER
MASSON

Disponible en ligne sur www.sciencedirect.com



ScienceDirect

Pathologie Biologie 56 (2008) 137–142

PATHOLOGIE
BIOLOGIE

<http://france.elsevier.com/direct/PATBIO/>

Article original

2-hydroxy-methyl-1(N-phtaloyltryptophyl) aziridine stimule la prolifération in vitro des lymphocytes humains et la sécrétion des interleukines

2-hydroxy-methyl-1(N-phtaloyltryptophyl) aziridine stimulates in vitro human lymphocyte proliferation and interleukin secretion

F.-Z. Baba Ahmed^a, S. Bouanane^a, S.-A. Merzouk^b, H. Merzouk^{a,*}, W. Medjahed^c,
J. Kajima Mulengi^c, J. Prost^d

^a Laboratoire de physiologie animale et biochimie, département de biologie, faculté des sciences, université Abou-Bekr-Belkaid, BP 119, Imama, 13000 Tlemcen, Algérie

^b Département de physique, faculté des sciences, université Abou-Bekr-Belkaid, BP 119, Imama, 13000 Tlemcen, Algérie

^c Laboratoire de chimie organique, substances naturelles et analyses (COSNA), département de chimie, faculté des sciences, université de Tlemcen, Algérie

^d UPRES 2422, lipides et nutrition, UFR sciences de la vie, 6, boulevard Gabriel, université de Bourgogne, 21000 Dijon France

Reçu le 23 février 2007 ; accepté le 9 mai 2007

Disponible sur Internet le 3 juillet 2007

Résumé

But de l'étude. – Il a été démontré que les aziridines possèdent une activité immunotropique marquée. Dans ce travail, les effets in vitro d'une aziridine nouvellement synthétisée (2-hydroxy-méthyl-1(N-phtaloyltryptophyl) aziridine) sont déterminés sur la prolifération des lymphocytes humains stimulés par les agents mitogènes, et sur la sécrétion des interleukines 2 et 6 (IL-2, IL-6).

Matériel et méthodes. – Les lymphocytes du sang périphérique sont isolés par centrifugation différentielle dans un gradient de Ficoll-Paque. Ils sont mis en culture en présence d'agents mitogènes (concanavoline A, lipopolysaccharide) et de différentes concentrations de l'aziridine testée. La détermination de la prolifération lymphocytaire se fait par le comptage des cellules et par la méthode du MTT [3-(4,5-Diméthyl thiazol-2-yl)-2,5-diphényl tétrazolium bromide]. Après les différentes incubations, le dosage des IL-2 et IL-6 se fait par méthode Elisa.

Résultats. – L'aziridine utilisée stimule considérablement la prolifération des lymphocytes T et B, en absence ou en présence des mitogènes, à des concentrations allant de 1 μ M à 1 mM, d'une manière dose-dépendante. De plus, l'aziridine induit une augmentation significative de la sécrétion des IL-2 et des IL-6.

Conclusion. – La 2-hydroxy-méthyl-1(N-phtaloyltryptophyl) aziridine est potentiellement immunostimulante et peut être utilisée en immunothérapie à médiation non spécifique, cellulaire ou humorale.

© 2007 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Abstract

Aim of this work. – Aziridines have been shown to possess marked immunotropic activity. In this study, the in vitro effects of a new aziridine, 2-hydroxy-methyl-1(N-phtaloyltryptophyl) aziridine, were determined on the proliferative responses of human lymphocytes stimulated by mitogens and on interleukin (IL-2, IL-6) secretion.

Material and methods. – Peripheral blood lymphocytes were isolated using differential centrifugation on a density gradient of Ficoll-Paque. They were cultured with or without mitogens (Concanavalin A and lipopolysaccharide), and with different concentrations of the aziridine. Proliferation was monitored by direct cell counts and confirmed by MTT [3-(4,5-dimethyl thiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide] assay. After different incubations, IL-2 and IL-6 were determined by using commercially available Elisa kits.

Results. – The aziridine tested significantly stimulated the resting and mitogen T and B lymphocyte proliferation at concentrations between 1 μ M and 1 mM, in a dose-dependent manner. It also increased IL-2 and IL-6 secretion.

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : hafidamerzouk_2@hotmail.com (H. Merzouk).

Conclusion. – 2-hydroxy-methyl-1-(N-phtaloyltryptophyl) aziridine displayed immunomodulatory properties and is potentially immunostimulant. It could be used to provide non-specific cell-mediated immune responses.

© 2007 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Mots clés : Aziridine ; Interleukine ; Lymphocyte prolifération ; Mitogènes

Keywords: Aziridines; Interleukins; Lymphocyte proliferation; Mitogens

1. Introduction

Les progrès et les découvertes réalisés ces derniers temps dans la compréhension de l'oncologie ont contribué à l'amélioration des stratégies thérapeutiques. Les aziridines représentent des agents chimiothérapeutiques d'un grand intérêt dont les activités anticancéreuses et antibiotiques sont largement démontrées [1–3]. Ces molécules sont des agents alkylants, se fixant par liaisons covalentes et entraînant des lésions de l'ADN [4,5]. Afin d'améliorer leur biodisponibilité et leur activité thérapeutique, un grand nombre d'aziridines ont été synthétisées et caractérisées pendant plus d'une décennie. L'importance de ces composés s'étend de leur utilité dans le développement de nouveaux médicaments potentiels à visée anticancéreuse ou antivirale à leurs fonctions biologiques. Il a été démontré que les aziridines possèdent une activité immunotrope marquée. Les aziridines modulent les deux systèmes immunitaires aussi bien humoraux que cellulaires [6–8]. Par conséquent, afin de mettre en valeur leurs propriétés biologiques, les nouvelles voies de synthèse, simples et efficaces sont recommandées. De plus, la modulation des cellules immunocompétentes, particulièrement celles impliquées dans l'activité des lymphocytes est d'un grand intérêt dans le traitement des maladies immunes. De plus, l'immunothérapie constitue une nouvelle voie d'approche pour la thérapie des cancers. Afin d'explorer de nouvelles aziridines à activité biologique, nous avons synthétisé une aziridine à partir d'aminoacyl azides protégés selon un mécanisme précédemment décrit [9]. Dans cette étude, nous avons examiné les effets *in vitro* de la 2-hydroxy-methyl-1-(N-phtaloyltryptophyl) aziridine sur la prolifération des lymphocytes humains stimulés par les mitogènes. Puisque les interleukines 2 (IL-2) et les interleukines 6 (IL-6) sont des cytokines jouant un rôle important dans la prolifération des lymphocytes [10,11], nous avons également déterminé la production des IL-2 et des IL-6 par les lymphocytes stimulés en l'absence ou en présence de cette aziridine.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel

Les échantillons de sang proviennent de sujets volontaires sains ($n = 10$). Les prélèvements sont réalisés le matin (8:00h–10:00h) à jeun, au niveau de la veine du pli du coude. Le sang est collecté dans des tubes avec un anticoagulant (héparine). Ces échantillons sont utilisés pour l'isolement immédiat des lymphocytes. Le but de l'étude est expliqué aux sujets volontaires et leur consentement écrit est préalablement obtenu. Le protocole est approuvé par le comité d'éthique du centre hospitalo-universitaire de Tlemcen (Algérie).

La 2-hydroxy-methyl-1-(N-phtaloyltryptophyl) aziridine est synthétisée pour la première fois au niveau du laboratoire COSNA (Chimie organique, substances naturelles et analyses) de l'université de Tlemcen. Les réactions chimiques utilisées pour la préparation de cette aziridine à partir du tryptophane ont été publiées et décrites précédemment [9]. La structure chimique de l'aziridine testée est donnée dans la Fig. 1.

2.2. Test de transformation lymphoblastique (TTL)

Les lymphocytes sont isolés du sang veineux hepariné, le jour même du prélèvement, par centrifugation différentielle (400 g pendant 40 minutes) dans un gradient de Ficoll-Paque (Pharmacia Biotech, Suisse). Les lymphocytes sont récupérés à l'interface entre le plasma et le Ficoll-Paque puis sont lavés deux fois avec un milieu de culture, RPMI 1640 (Gibco, États-Unis). Après lavage et comptage, une suspension cellulaire est ajustée à une concentration de 4×10^6 cellules/ml. Afin de déterminer la prolifération cellulaire, 4×10^5 cellules sont mises en culture dans 200 μ l de milieu RPMI 1640 auxquels sont ajoutés le tampon HEPES (25 mM), 10 % sérum du veau fœtal, L-Glutamine (2 mM), 2-mercaptoéthanol (5×10^{-5} M), pénicilline (100 UI/ml) et streptomycine (100 μ g/ml) en présence ou en absence des agents mitogènes. La concanavaline A (Con A Sigma, Saint-Louis, MO, États-Unis), mitogène spécifique des cellules T est utilisée à une concentration finale de 5 μ g/ml et la lipopolysaccharide (LPS, Sigma, Saint-Louis, MO, États-Unis) mitogène spécifique des cellules B à une concentration finale de 20 μ g/ml. Les cultures sont réalisées en triples, sur des plaques Elisa de 96 puits à fond plat (Nunc, Paris, France) et incubées 48 heures à 37 °C, 5 % de CO₂. Pour déterminer l'effet de l'aziridine, les lymphocytes sont mis en culture en présence de l'aziridine préalablement solubilisée dans l'éthanol, à différentes concentrations finales (0–1 μ M–10–50 μ M–500 μ M–1mM). À la fin de l'incubation, les

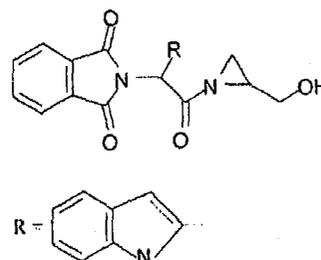


Fig. 1. Structure chimique de l'aziridine testée dans cette étude. Les voies de synthèse de la 2-hydroxy-methyl-1-(N-phtaloyltryptophyl) aziridine à partir d'acide aminé, tryptophane, sont détaillées dans l'article Medjahed et al. 2004 [9].

cellules sont prélevées dans des tubes secs. Les puits sont lavés avec le milieu RPMI 1640 afin de récupérer l'ensemble des cellules. La viabilité cellulaire est contrôlée en utilisant le bleu de trypan à 0,4 % (colorant permettant de distinguer les cellules vivantes). Elle est non affectée par les concentrations de l'aziridine utilisée dans nos expériences. La détermination de la prolifération lymphocytaire se fait par comptage des cellules (cellule de Malassez), confirmée par la méthode du MTT [3-(4,5-Dimethyl thiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tétrazolium bromide ; Sigma] décrite par Mosmann [12]. La méthode du MTT est basée sur la capacité des enzymes mitochondriales 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 lymphocytaire. L'indice de prolifération (IP) est ainsi calculé :

IP = densité optique des cellules stimulées/densité optique des cellules non stimulées.

Les teneurs en protéines cellulaires sont également déterminées après lyse cellulaire avec NaOH (0,1 mol/l). Les concentrations en protéines sont mesurées selon la méthode de Schacterle et de Pollack [13], en utilisant l'albumine bovine comme standard (Sigma chemical company, Saint-Louis, MO).

2.3. Quantifications des interleukines 2 (IL-2) et des interleukines 6 (IL-6)

Une partie aliquote du surnageant de la culture cellulaire est utilisée pour doser les IL-2 et les IL-6 selon le protocole

du kit Eliza (Genzyme, Cambridge, MA, États-Unis). Le principe est basé sur l'utilisation de deux anticorps : un anticorps monoclonal anti-IL et un polyclonal conjugué à la biotine. Une courbe-étalon est préparée à partir du standard IL fourni par le kit de dosage. Les résultats sont exprimés en pg/ml.

2.4. Analyse statistique

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM. L'analyse statistique est effectuée en utilisant le logiciel STATISTICA (version 4.1, Statsoft, Paris, France). Les multiples comparaisons sont réalisées par le test Anova. Les différences sont considérées significatives à $p < 0,05$.

3. Résultats

Le modèle de culture cellulaire *in vitro* utilisé dans cette étude permet d'examiner les effets de l'aziridine testée à différentes concentrations sur la prolifération des lymphocytes humains stimulés par des mitogènes. La prolifération des lymphocytes des sujets volontaires en bonne santé ($n = 10$), incubée avec ou sans l'aziridine, est représentée dans les Figs. 2 et 3.

3.1. Effets de l'aziridine sur la prolifération des lymphocytes T et des lymphocytes B

Dans un premier temps, nous avons évalué l'effet de l'aziridine à différentes concentrations sur la prolifération basale des lymphocytes en absence des mitogènes. Nous avons

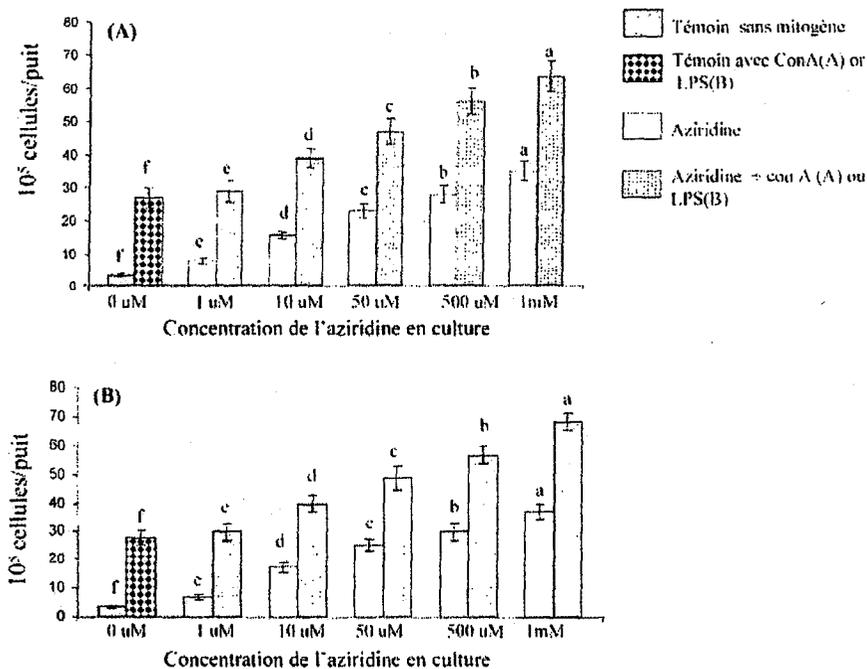


Fig. 2. Effets *in vitro* de différentes concentrations d'aziridine sur la prolifération des lymphocytes stimulés par les mitogènes Con A (A) ou LPS (B). Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes \pm SEM des incubations réalisées en triples chez dix sujets volontaires. Les multiples comparaisons sont réalisées par le test Anova. a, b, c, d, e, f indiquent les différences significatives obtenues entre les différentes incubations ($p < 0,05$).

observé que la 2-hydroxy-méthyl-1(N-phtaloyltryptophyl) aziridine stimule significativement la prolifération des lymphocytes d'une façon dose-dépendante, exprimée en nombre de cellules par puit d'incubation (Fig. 2) ou par l'indice de prolifération, IP (Fig. 3).

Deuxièmement, nous avons déterminé les effets de cette aziridine sur la prolifération des lymphocytes T et des lymphocytes B stimulés par leurs mitogènes respectifs (Con A et LPS). La présence du mitogène stimule considérablement la prolifération des lymphocytes T (pour la Con A) et des lymphocytes B (pour la LPS). Cela est indiqué par l'augmentation significative du nombre de cellules (Fig. 2) et de l'indice de prolifération en présence des agents mitogènes (Fig. 3). L'addition de l'aziridine potentialise l'effet de la Con A et de la LPS puisqu'une augmentation significative de la prolifération des lymphocytes est constatée (Figs. 2 et 3). En effet, l'aziridine à une concentration comprise entre 1 μ M et 1 mM augmente d'une manière significative la prolifération des lymphocytes T stimulés par la Con A et la prolifération des lymphocytes B stimulées par la LPS. Cet effet est dose-dépendant.

Par ailleurs, les teneurs en protéines cellulaires ont été également analysées avant et après chaque incubation. L'analyse des résultats montre que l'aziridine entraîne des variations des teneurs en protéines cellulaires (résultats non publiés) parallèles à celles observées concernant la prolifération lymphocytaire. En résumé, les teneurs en protéines des lymphocytes incubés sans les mitogènes et sans l'aziridine sont de $38 \pm 4,9 \mu\text{g/puit}$; et augmentent jusqu'à $320 \pm 38,5 \mu\text{g/puit}$ en présence des mitogènes. L'aziridine provoque une augmentation dose-dépendante des teneurs en protéines des lymphocytes.

Tableau 1

Production d'interleukines 2 et 6 (IL-2 ; IL-6) par les lymphocytes activés

	IL-2 (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)
Basal	848,98 \pm 66,18*****	165,30 \pm 44,89*****
Mitogène	5875,92 \pm 252,67****	7717,12 \pm 315,53****
Mitogène + 50 μ M aziridine	7286,32 \pm 354,83***	8346,31 \pm 308,45***
Mitogène + 500 μ M aziridine	8146,18 \pm 249,66**	11214,58 \pm 749,64**
Mitogène + 1 mM aziridine	9016,12 \pm 259,51*	12857,45 \pm 695,37*

Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes \pm SEM des incubations réalisées en triples chez dix sujets volontaires. *, **, ***, ****, ***** indiquent les différences significatives obtenues entre les différentes incubations ($p < 0,05$). Mitogène : Con A pour les lymphocytes T et le dosage des IL-2 ; LPS pour les lymphocytes B et le dosage des IL-6. Les multiples comparaisons sont réalisées par le test Anova.

3.2. Effets de l'aziridine sur la production d'interleukines 2 et 6 (IL-2, IL-6)

Les agents mitogènes (ConA et LPS) induisent une augmentation significative de la production des IL-2 par les lymphocytes T et des IL-6 par les lymphocytes B comparée à l'état basal. L'addition de l'aziridine provoque une forte stimulation de la production des IL-2 et des IL-6 ; l'effet est dose-dépendant (Tableau 1).

4. Discussion

Les aziridines sont des agents alkylants antitumoraux. En raison de la présence d'anneau hétérocycle, les aziridines ont montré une grande réactivité vis-à-vis des composés

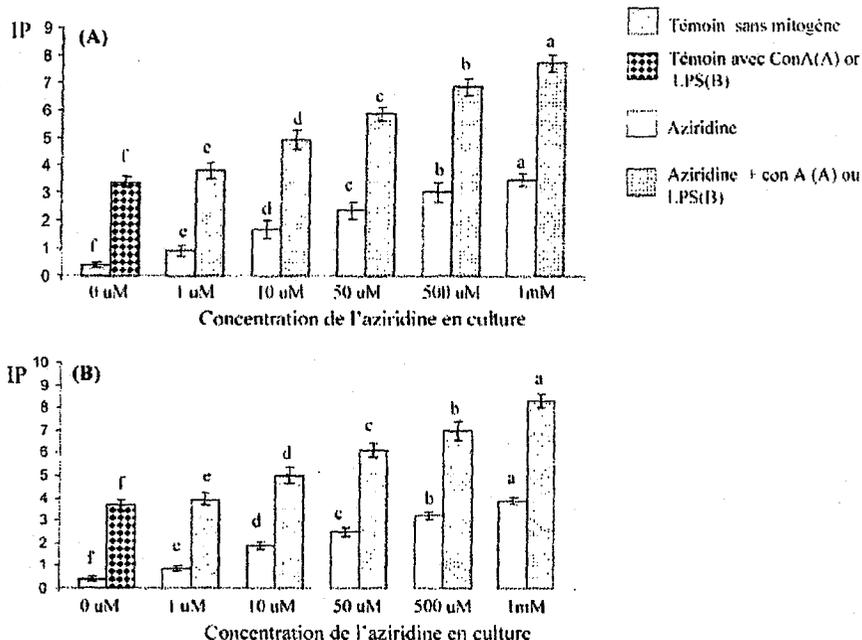


Fig. 3. Effets in vitro de différentes concentrations d'aziridine sur l'indice de prolifération des lymphocytes stimulés par les mitogènes Con A (A) ou LPS (B). Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes \pm SEM des incubations réalisées en triples chez dix sujets volontaires. Les multiples comparaisons sont réalisées par le test Anova. a, b, c, d, e, f indiquent les différences significatives obtenues entre les différentes incubations ($p < 0,05$).

nucléophiles et électrophiles. Une nouvelle aziridine est synthétisée dans notre laboratoire à partir d'acides aminés (tryptophane). Son caractère alkylant de l'ADN est détecté par une simple électrophorèse sur gel d'agarose en milieu alcalin et révélation de l'ADN par un marqueur spécifique, l'acridine orange, montrant une réduction marquée de la mobilité électrophorétique de l'ADN (données non publiées). Cet effet d'alkylation de l'ADN est en accord avec l'interaction ADN-drogue observée avec d'autres aziridines [14,15]. Nos résultats prouvent que la nouvelle aziridine, aux concentrations utilisées, possède *in vitro* un effet immunomodulateur important sur les cellules à médiation cellulaire et humorale. L'activité immunomodulatrice de la 2-hydroxy-méthyl-1-(N-phtaloyltryptophyl) aziridine n'a pas été documentée précédemment. Cependant, les propriétés immunologiques d'autres aziridines ont été décrites dans la littérature [6–8] et couvrent un vaste champ d'utilisation dans le traitement des maladies liées aux dysfonctionnements du système immunitaire. Nous avons aussi mis en évidence le caractère immunomodulateur de quelques aziridines dont certaines sont immunostimulantes et d'autres immunosuppressives [16]. Les maladies immunes sont diverses et peuvent impliquer la plupart des organes à divers degrés. Cependant, la nature des anomalies affectant les cellules B ou les cellules T est rarement connue. En outre, les tumeurs peuvent être identifiées et détruites par une immunoréaction spécifique, habituellement par les cellules-T cytotoxiques CD8+ et/ou par les cellules tueuses (*naturel killer*, NK) [17,18]. Les cellules tueuses NK, capables de supprimer les cellules tumorales, sont principalement activées par les IL-2 [19]. Cependant, un grand nombre de tumeurs n'induisent pas une immunoréaction adéquate, d'où l'intérêt des recherches actuelles basées sur la stimulation des réponses immunitaires à médiation cellulaire et humorale dans la thérapie du cancer. L'utilisation des substances immunomodulatrices, agissant à la fois sur les lymphocytes B et les lymphocytes T, possède donc des avantages dans les traitements des maladies immunes. Dans notre étude, la 2-hydroxy-méthyl-1-(N-phtaloyltryptophyl) aziridine provoque une augmentation de l'indice de prolifération des lymphocytes B et T, en absence et en présence des agents mitogènes, suggérant que cette aziridine est potentiellement immunostimulante. Les tests de lymphoprolifération sont généralement employés comme biomarqueurs des réponses immunes aux divers agents chimiques [20–23]. Dans notre étude, la prolifération des cellules est déterminée par le comptage des cellules, le dosage des protéines, et par la méthode du MTT. Il s'agit d'une méthode sensible et quantitative. Elle mesure la viabilité, la prolifération et l'activation des cellules, ce qui permet de calculer l'indice de prolifération. Les résultats sont conformes à ceux obtenus suite à l'utilisation de l'incorporation de la [³H] thymidine [12,24]. L'addition de l'aziridine au milieu de culture induit une stimulation dose-dépendante de la prolifération des lymphocytes T et des lymphocytes B. De plus, l'aziridine potentialise l'effet des mitogènes sur la prolifération, suggérant que leurs actions sur des lymphocytes sont médiées par des récepteurs différents. L'activation

des lymphocytes est un phénomène de base impliquée dans la plupart des événements immunologiques. Cette activation entraîne une cascade de signaux intracellulaires aboutissant à la prolifération. Le premier signal est déclenché par la liaison des antigènes ou des mitogènes aux récepteurs de surface cellulaire. Par la suite, un processus complexe implique un certain nombre d'événements biochimiques incluant l'activation de la phospholipase C, la génération des seconds messagers 1,4,5-inositol triphosphate et diacylglycérol, l'augmentation du taux Ca²⁺ intracellulaire, l'activation de protéine-kinase C et tyrosine-kinase, le transport des substrats et d'ions dans la cellule, et la sécrétion des cytokines [25–28]. IL-2 est un facteur important de maturation et de croissance des lymphocytes T [10]. IL-6, une autre cytokine, joue un rôle significatif dans la prolifération et la différenciation des cellules B [11]. La quantification des IL-2 et des IL-6 indique que la stimulation de la prolifération des lymphocytes T et des lymphocytes B, par leurs mitogènes respectifs, est associée à une production plus importante des IL-2 et des IL-6. Dans notre étude, l'aziridine augmente significativement la sécrétion des IL-2 et IL-6, l'effet étant dose-dépendant. Les mécanismes par lesquels la prolifération des lymphocytes est influencée par l'aziridine ne sont pas encore élucidés. Néanmoins, l'aziridine peut agir sur une étape clé de la cascade de signalisation qui mène à la prolifération et aux fonctions des lymphocytes, comme il a été observé pour d'autres agents immunostimulants [21–23,29–32]. Il a été démontré que les changements des taux d'IL-2 sont corrélés à ceux des IL-6, et aux activités CD8+ et NK chez les patients cancéreux pendant la thérapie antitumorale [33].

5. Conclusion

La 2-hydroxy-méthyl-1-(N-phtaloyltryptophyl) aziridine, utilisée dans cette étude, possède des propriétés immunostimulantes, agissant à la fois sur les lymphocytes B et T. L'emploi de cette aziridine ouvre ainsi une nouvelle voie d'approche pour l'immunothérapie à médiation non spécifique, cellulaire et/ou humorale, au cours du cancer, des infections ou des syndromes d'immunodéficiences.

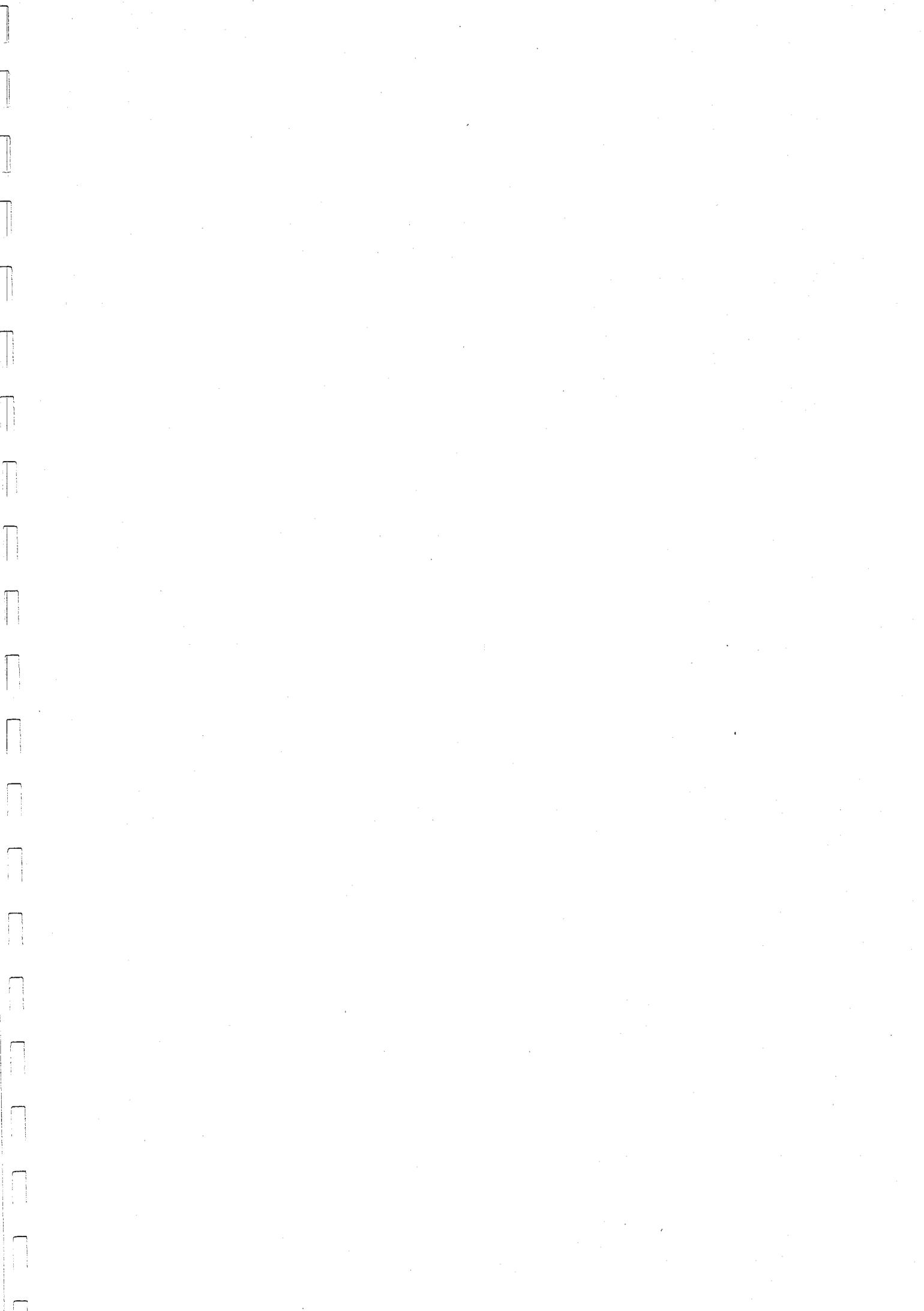
Remerciements

Ce travail a été réalisé grâce au soutien financier de l'Agence nationale pour le développement de la recherche en santé (ANDRS, 02/15/02/00/001 et 05/05/01/01/013). Nos remerciements sont présentés aux volontaires donateurs de sang.

Références

- [1] Reynolds RC. Aziridines. In: Foye WO, editor. *Cancer Chemotherapeutic Agents*. Washington DC: American Chemical Society; 1995. p. 186–97.
- [2] Marchini S, Damia G, Broggin M, Pennella G, Ripamonti M, Marsiglio A, et al. 4-demethoxy-3'-deamino-3'-aziridinyl-4'-methylsulphonyl-daunorubicin (PNU-159548), a novel anticancer agent active against tumor cell lines with different resistance mechanisms. *Cancer Res* 2001;61:1991–5.

- [3] Papaioannou N, Evans CA, Blank JT, Miller SJ. Enantioselective synthesis of a Mitosane Core Assisted by Diversity-Based Catalyst Discovery. *Org Lett* 2001;3:2879–82.
- [4] Remers WA, Iyengar BC. Antitumor antibiotics. In: Foye WO, editor. *Cancer Chemotherapeutic Agents*. Washington DC: American Chemical Society; 1995. p. 584–92.
- [5] Schirmeister TJ. New peptidic cysteine protease inhibitors derived from the electrophilic alpha-amine-acid aziridine-2,3-dicarboxylic acid. *J Med Chem* 1999;42:560–72.
- [6] Kowalczyk-Bronisz SH, Zabska R. Studies on the derivatives of aziridine. I. Synthesis and immunopharmacological analysis of amides of alpha-aziridinyl beta-/p- chlorobenzoyl/- propionic acid. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 1986;34:333–50.
- [7] Zabska R, Kowalczyk-Bronisz SH. Studies on the derivatives of aziridine. II. Synthesis and immunopharmacological analysis of substituted amides and amides of alpha- aziridinyl beta-/p- chlorobenzoyl/- propionic acid. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 1987;35:681–91.
- [8] Hanessian S, Cantin LD. The synthesis of enantiomerically pure disubstituted aziridines and N-alkoxy aziridines. *Tetrahedron Lett* 2000;41:787–90.
- [9] Medjahed W, Tabet Zalta A, Kajima Mulengi J, Baba Ahmed FZ, Merzouk H. The synthesis of n-acyl-2-hydroxymethyl aziridines of biological interest. *Tetrahedron Lett* 2004;45:1211–3.
- [10] Cantrell DA, Smith KA. The interleukin 2 T-cell system: a new cell growth model. *Science* 1984;224:1312–6.
- [11] Reickmann P, D'Allessandro F, Nordan RP, Fauci AS, Kehrl JH. IL-6 and tumor necrosis factor- α autocrine and paracrine cytokines involved in B cell function. *J Immunol* 1991;146:3462–70.
- [12] Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods* 1983;65:55–63.
- [13] Schacterle GR, Pollack RL. Simplified method for the quantitative assay of small amounts of proteins in biological materials. *Anal Biochem* 1973;51:654–60.
- [14] Di Francesco AM, Hargreaves RH, Wallace TW, Mayalarp SP, Hazrati A, Hartley JA, et al. The abnormal cytotoxicities of 2,5-diaziridinyl-1,4-benzoquinone-3-phenyl esters. *Anticancer Drug Des* 2000;15:347–59.
- [15] Vedejs E, Naidu BN, Klapars A, Warner DL, Li VS, Na Y, et al. Synthetic enantiopure aziridinomitosenes: preparation, reactivity, and DNA alkylation studies. *J Am Chem Soc* 2003;125:15796–806.
- [16] Baba Ahmed F, Medjahed W, Merzouk H, Kajima Mulengi J, Belleville J, Prost J. Effects of N-acyl-2-Hydroxymethyl Aziridines on Proliferative Responses of Human Lymphocytes Stimulated by Mitogens. *Gen Physiol Biophys* 2006;25:277–87.
- [17] Melief CJ. Tumor eradication by adoptive transfer of cytotoxic T lymphocytes. *Adv Cancer Res* 1992;58:143–75.
- [18] Brittenden J, Heys SD, Ross J, Eremin O. Natural Killer cells and cancer. *Cancer* 1996;77:1226–43.
- [19] Grimm EA, Mazumder A, Zhang HZ, Rosenberg SA. Lymphokine activated killer cell phenomenon: lysis of natural killer resistant fresh solid tumor cells by interleukine 2 activated autologous human peripheral blood lymphocytes. *J Exp Med* 1982;155:1823–41.
- [20] Purasiri P, Mckechnie A, Heys SD, Eremin O. Modulation in vitro of human natural cytotoxicity, lymphocyte proliferative response to mitogens and cytokine production by essential fatty acids. *Immunology* 1997;92:166–72.
- [21] Bishop GA, Hsing Y, Hostager BS, Jalukar SV, Ramirez LM, Tomai MA. Molecular mechanisms of B lymphocyte activation by the immune response modifier R-848. *J Immunol* 2000;165:5552–7.
- [22] Siwicki AK, Mizak B. In vitro influence of methisoprinol on lymphocyte proliferation in dogs. *Bull Vet Inst Pulawy* 2001;45:227–33.
- [23] Siwicki AK, Fuller JC, Nissen S, Morand M, Pozet F, Vincent F, et al. Effects of HMB (β -Hydroxy- β -Methylbutyrate) on in vitro proliferative responses of sheafish (*Silurus glanis*) and catfish (*Ictalurus melas*) lymphocytes stimulated by mitogens. *Acta Vet (Brno)* 2004;73:119–22.
- [24] Gerlier D, Thomasset N. Use of MTT colorimetric assay to measure cell activation. *J Immunol Methods* 1986;94:57–63.
- [25] Lewis RS, Cahalan MD. Mitogen- induced oscillations of cytosolic Ca^{2+} and transmembrane Ca^{2+} current in human leukemic T-cells. *Cell Regul* 1989;1:99–112.
- [26] Weiss A, Shields R, Newton M, Manger B, Imboden J. Ligand-receptor interactions required for commitment to the activation of the interleukin-2 gene. *J Immunol* 1987;137:445–7.
- [27] Cantrell DA. T-cell antigen receptor signal transduction pathways. *Annu Rev Immunol* 1996;14:259–74.
- [28] Altman A, Coggeshall KM, Mustelin T. Molecular events mediating T cell activation. *Adv Immunol* 1990;48:227–360.
- [29] Nonnecke BJ, Franklin ST, Nissen DJ. Leucine and its catabolites alter mitogen- stimulated DNA synthesis by bovine lymphocytes. *J Nutr* 1991;121:1665–72.
- [30] Testerman TL, Gester JF, Imbertson LM, Reiter RL, Gibson SJ, Wagner TL, et al. Cytokine induction by the immunomodulators imiquimod and S-27609. *J Leukoc Biol* 1995;58:365–70.
- [31] Van Kampen KR. Immunotherapy and cytokines. *Semin Vet Med Surg (Small Anim)* 1997;12:186–92.
- [32] Wagner TL, Ahonen CL, Couture AM, Gibson SJ, Miller RL, Smith RM, et al. Modulation of Th1 and Th2 cytokine production with the immune response modifiers R-848 and imiquimod. *Cell Immunol* 1999;191:10–8.
- [33] Gao Y, Tang W, Dai X, Gao H, Chen G, Ye J, et al. Effects of water soluble ganoderma lucidum polysaccharides on the immune functions of patients with advanced lung cancer. *Blood* 2005;106:4225–35.



Time course of changes in serum oxidant/antioxidant status in overfed obese rats and their offspring

Samira BOUANANE*, Nassira B. BENKALFAT*, Fatima-Zohra BABA AHMED*, Hafida MERZOUK*, Nassima S. MOKHTARI*, Sid-Ahmed MERZOUK†, Joseph GRESTI‡, Christian TESSIER‡ and Michel NARCE‡

*Laboratory of Physiology and Biochemistry of Nutrition, Department of Molecular and Cellular Biology, University Abou-Bekr Belkaïd, Tlemcen 13000, Algeria, †Department of Physics, Faculty of Sciences, University Abou-Bekr Belkaïd, Tlemcen 13000, Algeria, and ‡INSERM UMR 866, 'Lipids Nutrition Cancer', Université de Bourgogne, Faculté des Sciences, 6 Boulevard Gabriel, 21000 Dijon, France

A B S T R A C T

The aim of the present study was to determine the time course of changes in oxidant/antioxidant status, as well as serum glucose, insulin, leptin and lipid levels, liver adipose tissue and muscle lipid and protein contents, in cafeteria-diet-fed dams during gestation and lactation, and in their offspring throughout adulthood. Food intake was also evaluated. The cafeteria diet induced a significant increase in maternal body and relative adipose tissue weights, daily energy intake, and plasma glucose, insulin, leptin and lipid levels at parturition (day 0) and at the end of lactation (day 21). Plasma total antioxidant status [ORAC (oxygen radical absorbance capacity)], erythrocyte catalase and SOD activities were lower, whereas plasma hydroperoxide and carbonyl protein levels were higher in cafeteria-diet-fed mothers compared with control mothers at days 0 and 21. Pups from cafeteria-diet-fed dams, both males and females, also had consistently higher body and relative adipose tissue weights, and plasma glucose, insulin, leptin, triacylglycerol (triglyceride) and cholesterol levels at birth (day 0), weaning (day 21) and 3 months of age (day 90). These offspring had significantly lower ORAC and catalase activity, and higher plasma hydroperoxide and carbonyl protein levels and SOD activity at birth, at days 21 and 90 compared with control offspring. In conclusion, excessive maternal fat and energy intake can play an important role in the development of metabolic disorders in the offspring. Maternal oxidative stress may be among the responsible factors. Fetal oxidative stress may present an additional confounding influence and probably contributes to additional disorders, aggravating features of the metabolic syndrome. An improvement in maternal oxidant/antioxidant status during pregnancy and lactation, with adequate nutrition, could have beneficial effects on the progeny.

INTRODUCTION

Food supply and metabolism in women during pregnancy and lactation and in their children have marked implications on child development and long-term health

[1]. During pregnancy, the availability of nutrients to the fetus depends on placental supply and maternal nutrition. There is growing evidence that maternal overnutrition has long-lasting consequences for the health of the infant [1,2]. It is well-accepted that energy intake in excess of

Key words: insulin, leptin, lipid, maternal obesity, offspring, oxidant/antioxidant status.

Abbreviations: APC, allophycocyanin; CAT, catalase; GSH-PX, glutathione peroxidase; GSSG-Red, glutathione reductase; ORAC, oxygen radical absorbance capacity; ROS, reactive oxygen species; SOD, superoxide dismutase.

Correspondence: Professor Merzouk Hafida (email hafidamerzouk_2@hotmail.com).

energy expenditure may be a key factor in promoting body weight gain and obesity. Obesity is one of the most common health problems for pregnant women. Maternal obesity is associated to several complications, such as high BP (blood pressure), eclampsia, gestational diabetes and macrosomia [3–5]. Infants of obese mothers have been shown to be prone to the development of glucose intolerance, obesity and diabetes during childhood and adulthood [6,7]. Obesity is associated with glucose and lipid metabolism abnormalities, and increased cardiovascular risk and oxidative stress [8].

Oxidative stress, related to an imbalance between the production of oxygen free radicals and the antioxidant defence system, has been implicated in several diseases such as atherosclerosis, diabetes and obesity [9–11]. In obese patients, the increase in oxidative damage may be a consequence of hyperglycaemia, hyperlipidaemia, increased tissue lipid levels, inadequate antioxidant defences, increased rates of free radical formation and chronic inflammation [12]. Indeed, oxygen free radicals have been implicated in the aetiology of premature delivery, eclampsia and maternal infections [13–15].

Therefore studies on maternal and fetal oxidant/antioxidant status during pregnancies in obese women are very important and necessary to improve our knowledge on the effects of maternal obesity on their offspring. In addition, the implication of oxidative stress in adult diseases and the predisposition of the offspring of obese mothers to these diseases raise the question of the possible link between oxidant/antioxidant status and the development of long-term metabolic abnormalities. As the prevalence of obesity is reaching epidemic proportions, understanding the effect of maternal overnutrition on the development of the baby and its long-term consequences on health are of particular importance. The mechanisms by which maternal overfeeding influences fetal development are extremely complex and animal models are needed due to ethical and methodological limitations. Experimental obesity can be produced by dietary manipulations. Offering rats a variety of snack-type foods, normally consumed by humans, in a multi-choice 'cafeteria' arrangement has been shown to produce hyperphagia and obesity [16,17]. This cafeteria feeding is believed to be a reliable model of dietary obesity in humans, as humans also tend to overeat when offered a variety of palatable foods [18]. Several authors have used animal models of cafeteria-diet-induced obesity and indicate that maternal overnutrition has long-term metabolic consequences in the offspring, including an increase in lipogenic capacity in adipose tissue, impaired glucose homeostasis, and altered body composition and metabolism [19–24].

Although different studies have shown that obesity is associated with increased oxidative stress and lipid peroxidation [11,12] and that maternal obesity is associated with metabolic alterations in offspring, to the best of our knowledge there are no reports in the literature

of the effect of maternal obesity on oxidant/antioxidant status on their offspring. The aim of the present study was to test the hypothesis that obesity increases oxidative stress in mothers and also in their offspring throughout adulthood. Therefore several markers of oxidative stress were assessed by measuring the overall capacity of plasma samples to scavenge oxygen radicals [ORAC (oxygen radical absorbance capacity)], the concentrations of plasma vitamins (A, C and E), hydroperoxides, carbonyl proteins, and the activities of erythrocyte SOD (superoxide dismutase), GSH-PX (glutathione peroxidase), GSSG-Red (glutathione reductase) and CAT (catalase) in cafeteria-diet-fed obese rats and their offspring through to adulthood. The time course of changes in serum glucose, insulin, leptin and lipid levels were also determined. Our present study aimed to understand how maternal dietary obesity affects oxidant/antioxidant status and influences the development of metabolic diseases in the offspring.

MATERIAL AND METHODS

Animals and experimental protocol

Adult Wistar rats were obtained from Iffa-Credo. After mating, the first day of gestation was estimated by the presence of spermatozooids in vaginal smears. Pregnant rats weighing 180–200 g were housed individually in wood-chip-bedded plastic cages at a constant temperature (25 °C) and humidity (60 ± 5 %) with a 12 h light/dark cycle. The rats had free access to water and were assigned to two dietary groups, with one group (control, $n = 20$) fed a control commercial diet (UAR), whereas the second group (cafeteria group, $n = 20$) was fed a fat-rich hypercaloric diet throughout gestation and lactation. The control diet (330 kJ/100 g; where 1 kcal ≈ 4.184 J) was composed of 25 % of energy as protein, 10 % of energy as lipids and 65 % of energy as carbohydrate by dry weight. The components of the cafeteria diet were pâté, cheese, bacon, chips, cookies and chocolate (in a proportion of 2:2:2:1:1:1, by weight) and control diet (mix/control diet), was given to each rat daily as published previously [20,25,26]. The composition of the cafeteria diet (420 kJ/100 g) was 23 % of energy as protein, 35 % of energy as carbohydrates and 42 % of energy as lipids by dry weight.

The dams were fed the same diet continuously for the entire gestation and lactation periods. The day of parturition was set as day 0. A total of 120 pups from the 20 cafeteria-fed dams and 165 pups from the 20 control dams were delivered spontaneously and weighed within 12 h. The postnatal litter size was adjusted at eight pups/dam, with four male and four female pups, to maintain a similar postnatal nutritional intake during the suckling period. Weaning occurred on day 21 of lactation. All offspring were weaned on to the control commercial diet (UAR). Male and female rats were housed separately,

two to three rats per cage, and allowed food and water *ad libitum*. They were followed into adulthood. Food intake and body weights of mothers and pups were recorded daily.

The study was conducted in accordance with the national guidelines for the care and use of laboratory animals. All the experimental protocols were approved by the Regional Ethical Committee.

Experimental procedures

At birth, 20 newborn rats in each group (control and experimental) were killed by decapitation, and blood was collected and pooled from four animals to obtain sufficient serum samples for chemical determinations.

At days 0 and 21 for dams and days 21 and 90 for pups, eight rats from each group were anaesthetized with intraperitoneal injection of sodium pentobarbital (60 mg/kg of body weight). The abdominal cavity was opened and blood was drawn from the abdominal aorta into heparinized tubes. Blood samples were centrifuged to obtain the plasma for determinations of insulin, glucose, lipids and oxidant/antioxidant status parameters. After removal of plasma, erythrocytes were washed three times with 2 vol. of isotonic saline. Erythrocytes were lysed with ice-cold distilled water (1/4), stored at 4°C for 15 min and the cell debris was removed by centrifugation (2000 g for 15 min). Erythrocyte lysates were assayed for antioxidant enzyme activities.

Liver, gastrocnemius muscle and fat tissue surrounding the kidney and epididymal areas (male rats) or ovary and fallopian tubes (female rats) were removed, washed with ice-cold saline, and quickly blotted and weighed. An aliquot of each tissue was homogenized in an Ultraturrax homogenizer (Bioblock Scientific) for lipid extraction. Samples of approx. 100 mg of liver and muscle were diluted with ice-cold water (1 ml), homogenized at 4°C in a Potter-Elvehjem homogenizer and used for protein determination.

Chemical analyses

Plasma insulin and leptin were analysed using RIA kits with antibodies to authentic rat insulin and leptin respectively (Linco Research). Plasma glucose, triacylglycerols (triglycerides) and total cholesterol were determined using colorimetric enzymatic assays (Sigma). Liver, muscle and fat tissue lipid levels were measured using the method of Folch et al. [27]. Protein contents of tissue homogenates were determined by the method of Lowry et al. [28], with BSA as the standard.

Scavenging capacity of plasma

Plasma ORAC employs the oxidative loss of the intrinsic fluorescence of APC (allophycocyanin) as we have described previously [10]. APC fluorescence decay shows a lag or retardation in the presence of antioxidants, related to the antioxidant capacity of the sample. Trolox

was used as a reference antioxidant for calculating ORAC values, with 1 ORAC unit defined as the net protection area provided by 1 $\mu\text{mol/l}$ final concentration of trolox. As a major contributor to plasma ORAC is protein, the results are presented after adjustment for plasma protein levels.

Determination of plasma levels of vitamins A, C and E

Plasma α -tocopherol (vitamin E) and retinol (vitamin A) were determined by reversed-phase HPLC and detected using an UV detector at 292 nm for vitamin E and 325 nm for vitamin A (zaman). Vitamin C levels were determined in plasma using dinitrophenylhydrazine, thiourea and copper sulfate according to the method of Roe and Kuether [29].

Determinations of erythrocyte antioxidant enzyme activities

CAT (EC 1.11.1.6) activity was measured by spectrophotometric analysis of the rate of H_2O_2 decomposition at 240 nm [30]. Enzyme activity was expressed as units/g of haemoglobin. GSH-Px (EC 1.11.1.9) was assessed by the method of Paglia and Valentine [31] using cumene hydroperoxide as a substrate, with 1 unit of enzyme activity being defined as the amount of enzyme that gives a 90% decrease in glutathione concentration/min at a 1 mmol/l starting glutathione concentration. GSSG-Red (EC 1.6.4.2) activity was determined by measuring the rate of NADPH oxidation in the presence of oxidized glutathione [32], with 1 unit of enzyme activity defined as the amount of enzyme which oxidized 1 mmol of NADPH/min. SOD (EC 1.15.1.1) activity was measured by the NADPH oxidation procedure [33] and is expressed as units of SOD/g of Hb.

Determination of plasma hydroperoxides

Hydroperoxides (markers of lipid peroxidation) were measured by the ferrous ion oxidation/xylene orange assay (Fox2) in conjunction with a specific hydroperoxide reductant, TPP (triphenylphosphine), using a PeroxiDetect kit (Sigma).

Determination of plasma carbonyl proteins

Plasma carbonyl proteins (markers of protein oxidation) were assayed by 2,4-dinitrophenylhydrazine reaction as described previously [34].

Statistical analysis

Results are expressed as means \pm S.E.M. Significant differences among the groups were analysed by ANOVA. Significant differences between obese and control rats and between males and females, at each age, were assessed using a Student's *t* test. These calculations were performed using STATISTICA version 4.1 (STATSOFT). Differences were considered statistically significant at $P < 0.05$.

Table 1 Physiological parameters in chow-fed (control) and cafeteria-fed (obese) rats at parturition (day 0) and at the end of lactation (day 21)Values are means \pm S.E.M. * $P < 0.05$ and ** $P < 0.01$ compared with control rats at each age. †Body weight after delivery.

Parameter	Control rats		Obese rats	
	Day 0	Day 21	Day 0	Day 21
Body weight† (g)	257 \pm 11.56	230 \pm 10.97	327 \pm 10.98*	334 \pm 8.32*
Energy intake (kcal/day)	80 \pm 1.76	125 \pm 3.65	113 \pm 4.02**	157 \pm 6.18**
Liver				
Relative weight	3.98 \pm 0.45	3.87 \pm 0.51	4.05 \pm 0.42	4.11 \pm 0.38
Total lipids (mg/g of tissue)	35.38 \pm 3.55	38.12 \pm 3.76	67.11 \pm 6.08**	45.78 \pm 5.04
Total proteins (mg/g of tissue)	158.34 \pm 8.60	163.14 \pm 7.35	167.13 \pm 6.88	170 \pm 8.92
Muscle				
Relative weight	0.36 \pm 0.09	0.32 \pm 0.08	0.38 \pm 0.07	0.34 \pm 0.08
Total lipids (mg/g of tissue)	20.56 \pm 3.74	25.11 \pm 3.86	24.55 \pm 4.76	27.35 \pm 4.05
Total proteins (mg/g of tissue)	74.62 \pm 3.11	76.83 \pm 4.12	78.07 \pm 5.36	72.32 \pm 5.22
Adipose tissue				
Relative weight	1.14 \pm 0.11	1.02 \pm 0.18	1.67 \pm 0.19*	1.46 \pm 0.17*
Total lipids (mg/g of tissue)	126.39 \pm 10.05	135.07 \pm 9.14	175.33 \pm 11.49*	158 \pm 8.91*

RESULTS

Body weight, energy intake, relative weight, and protein and lipid contents of organs

Mothers

The cafeteria diet was associated with increased maternal body weight at parturition (day 0) and at the end of lactation (day 21) (Table 1). The original body weight (prior to pregnancy) of the dams was similar among the two groups (196 \pm 10.60 g for controls and 200 \pm 11.08 g for cafeteria-fed dams); however, weight gain during pregnancy was higher in cafeteria-fed dams than in controls (100 \pm 8 g in controls compared with 180 \pm 10 g in cafeteria-fed dams). Body weight was slightly decreased from parturition to the end of lactation in control dams, whereas the mean weight of cafeteria-fed dams remained essentially stable.

The daily energy intake was increased in mothers fed the cafeteria diet compared with mothers fed the control diet (Table 1). After parturition, energy intake increased significantly in both groups.

Relative liver and muscle weights did not differ between mothers fed the cafeteria diet and control diet at any age (Table 1); however, obese (cafeteria-diet-fed) dams had a higher relative adipose tissue weight compared with control dams at parturition (day 0) and also at day 21.

The cafeteria diet significantly increased maternal adipose tissue lipid contents at days 0 and 21 (Table 1). Liver lipid contents were significantly higher in cafeteria-fed dams than in controls only at day 0, and muscle lipid contents did not vary between the two groups of mothers across pregnancy and lactation. The cafeteria diet did

not affect maternal liver and muscle protein amounts at days 0 and 21.

Offspring

Pups from cafeteria-fed dams had consistently higher weight at birth (day 0), at weaning (day 21) and at 3 months of age (day 90) (Table 2). Female rats were significantly smaller than males in the control and obese groups.

The daily energy intake was significantly greater in both male and female offspring of cafeteria-fed dams than in their respective controls at day 90 (Table 2). It was significantly less in females compared with males in either control or obese rats.

Pups from cafeteria-fed dams did not have different liver weights from those of control pups at any age (Table 2). At day 21, no difference in relative muscle weight was observed between pups; however, at day 90, muscle weight was significantly decreased in both male and female obese offspring compared with controls. Indeed, obese pups had significantly more adipose tissue than that of the control rats at day 21 and day 90. Females had significantly greater adipose tissue than did males in the obese group; however, in control group, relative adipose tissue weight did not differ between males and females.

Liver lipid and protein content in offspring was not altered by maternal diet throughout the study period (Table 3). In contrast, significant effects of maternal diet were observed on adipose tissue lipid contents, which were higher in offspring of the cafeteria-fed dams than in their control counterparts. At day 21, both male and female pups from cafeteria-fed dams had similar

Table 2 Post-natal changes in body weight, energy intake and organ relative weights in control and obese offspring according to gender

Values are means \pm S.E.M. * $P < 0.05$ and ** $P < 0.01$ compared with control rats of the same gender at each age; + $P < 0.05$ and ++ $P < 0.01$ compared with males in the same group at each age. RW, relative weight. Day 0, parturition; day 21, weaning; day 90, 3 months of age.

Parameter	Control offspring		Obese offspring	
	Male	Female	Male	Female
Body weight (g)				
Day 0	4.89 \pm 0.23	4.89 \pm 0.23	6.97 \pm 0.31*	6.97 \pm 0.31*
Day 21	55.68 \pm 2.04	49.37 \pm 3.74 +	99.76 \pm 4.01**	88.24 \pm 5.02**+
Day 90	343 \pm 15.97	285 \pm 20.21++	454 \pm 23.05**	336 \pm 15.26**++
Energy intake (kcal/day)				
Day 90	70.13 \pm 5.89	58.08 \pm 7.45 +	115.34 \pm 7.98*	87.11 \pm 5.99* +
Liver (RW)				
Day 21	4.68 \pm 0.23	4.45 \pm 0.36	4.87 \pm 0.35	4.54 \pm 0.47
Day 90	3.74 \pm 0.37	3.70 \pm 0.52	4.05 \pm 0.40	3.83 \pm 0.22
Muscle (RW)				
Day 21	0.43 \pm 0.05	0.40 \pm 0.07	0.40 \pm 0.05	0.38 \pm 0.06
Day 90	0.40 \pm 0.08	0.38 \pm 0.06	0.29 \pm 0.06*	0.26 \pm 0.05*
Adipose tissue (RW)				
Day 21	0.80 \pm 0.04	0.73 \pm 0.05	1.39 \pm 0.03*	1.56 \pm 0.10* +
Day 90	1.20 \pm 0.11	1.33 \pm 0.13	1.67 \pm 0.08*	1.78 \pm 0.07* +

Table 3 Post-natal changes in liver, muscle and adipose tissue compositions in control and obese offspring according to gender

Values are means \pm S.E.M. * $P < 0.05$ and ** $P < 0.01$ compared with control rats of the same gender at each age; + $P < 0.05$ compared with males in the same group at each age. Day 21, end of lactation (weaning); day 90, 3 months of age.

Parameter	Control offspring		Obese offspring	
	Male	Female	Male	Female
Liver total lipids (mg/g)				
Day 21	28.12 \pm 2.45	26.24 \pm 3.11	33.17 \pm 4.05	30.27 \pm 3.94
Day 90	45.06 \pm 3.10	48.17 \pm 4.38	50.37 \pm 5.44	53.29 \pm 6.07
Liver total proteins (mg/g)				
Day 21	158.93 \pm 8.04	160 \pm 9.34	163.92 \pm 7.88	167.34 \pm 10.03
Day 90	190 \pm 11.45	186.38 \pm 8.34	198.37 \pm 7.08	192.05 \pm 8.46
Muscle total lipids (mg/g)				
Day 21	20.79 \pm 2.67	22.26 \pm 3.18	18.75 \pm 4.19	20.62 \pm 3.44
Day 90	38.03 \pm 3.14	35.16 \pm 3.02	26.93 \pm 3.77*	24.02 \pm 3.18*
Muscle total proteins (mg/g)				
Day 21	74.35 \pm 4.29	70.85 \pm 3.76	70.09 \pm 5.17	66.11 \pm 4.93
Day 90	118 \pm 5.33	105.26 \pm 4.08	80.03 \pm 4.15*	76.15 \pm 3.37*
Adipose tissue lipids (mg/g)				
Day 21	154 \pm 6.57	149.93 \pm 10.34	201.35 \pm 8.95*	223.06 \pm 14.27* +
Day 90	240.98 \pm 12.55	235.87 \pm 13.05	322 \pm 14.50**	342.54 \pm 15.03** +

amounts of muscle lipids and proteins as control pups; however, at adulthood (day 90), these obese pups had significant decreases in muscle lipid and protein contents compared with controls. There were no significant differences with gender in the control group; however, amounts of adipose tissue lipids were significantly greater in females than males in the obese group.

Plasma glucose, insulin, leptin and lipid concentrations

Mothers

The cafeteria diet induced a significant increase in maternal plasma glucose, insulin, leptin and lipid levels at parturition and at the end of lactation (Figures 1 and 2).

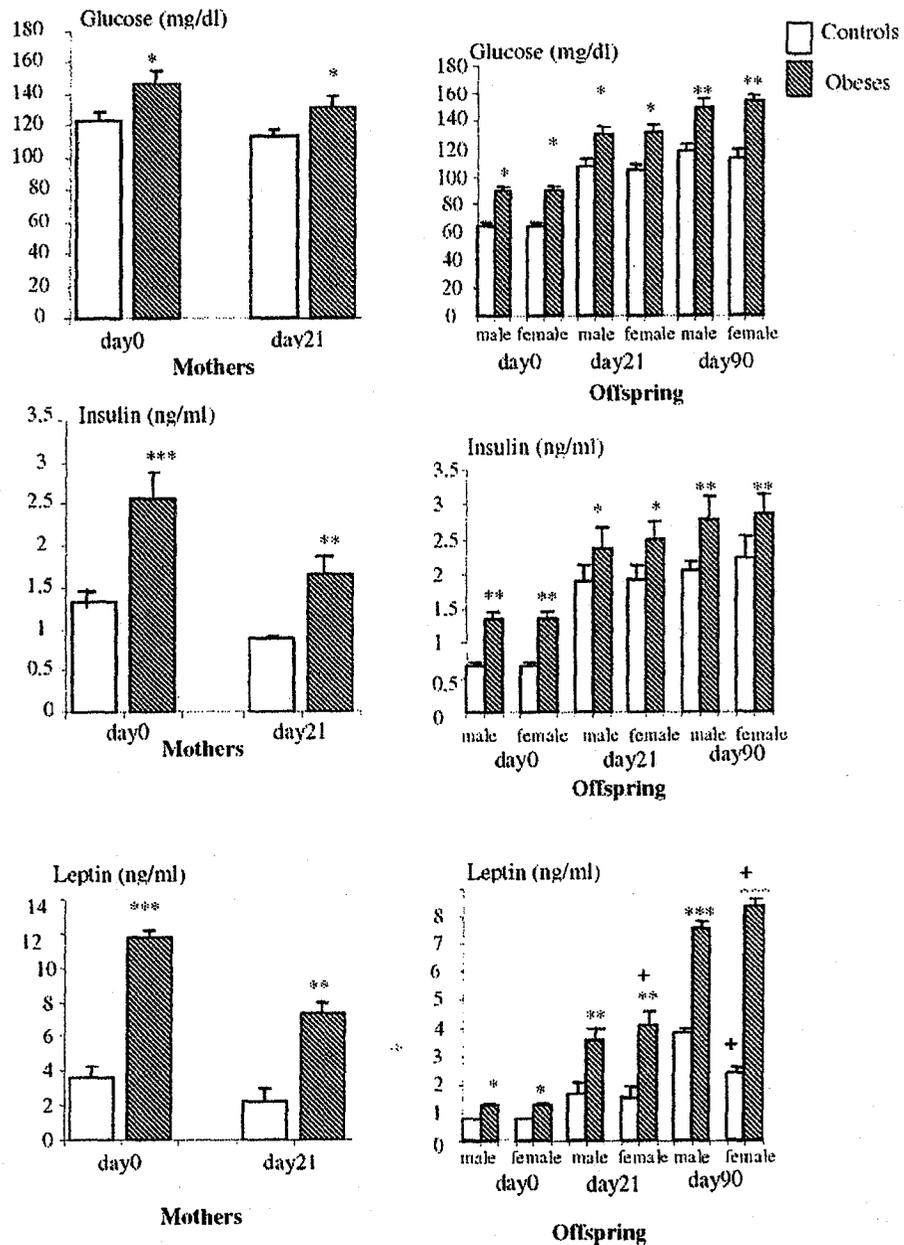


Figure 1 Serum glucose, insulin and leptin concentrations in chow-fed (control) and cafeteria-diet-fed (obese) dams and their offspring

Values are means \pm S.E.M. Male and female offspring constitute separate groups. Significant differences between obese and control rats, at each age, are indicated by * $P < 0.05$ and ** $P < 0.01$. Significant differences between males and females in the same group, at each age, are indicated by + $P < 0.05$.

Offspring

Plasma glucose, insulin, leptin, triacylglycerol and cholesterol levels were significantly enhanced in both male and female pups from cafeteria-fed mothers compared with control pups at birth and throughout adulthood (Figures 1 and 2). In the control group, there were no significant differences between males and females, except for low leptin and triacylglycerol levels in females at day 90. In the obese group, leptin, cholesterol and

triacylglycerol concentrations were higher in females than in males.

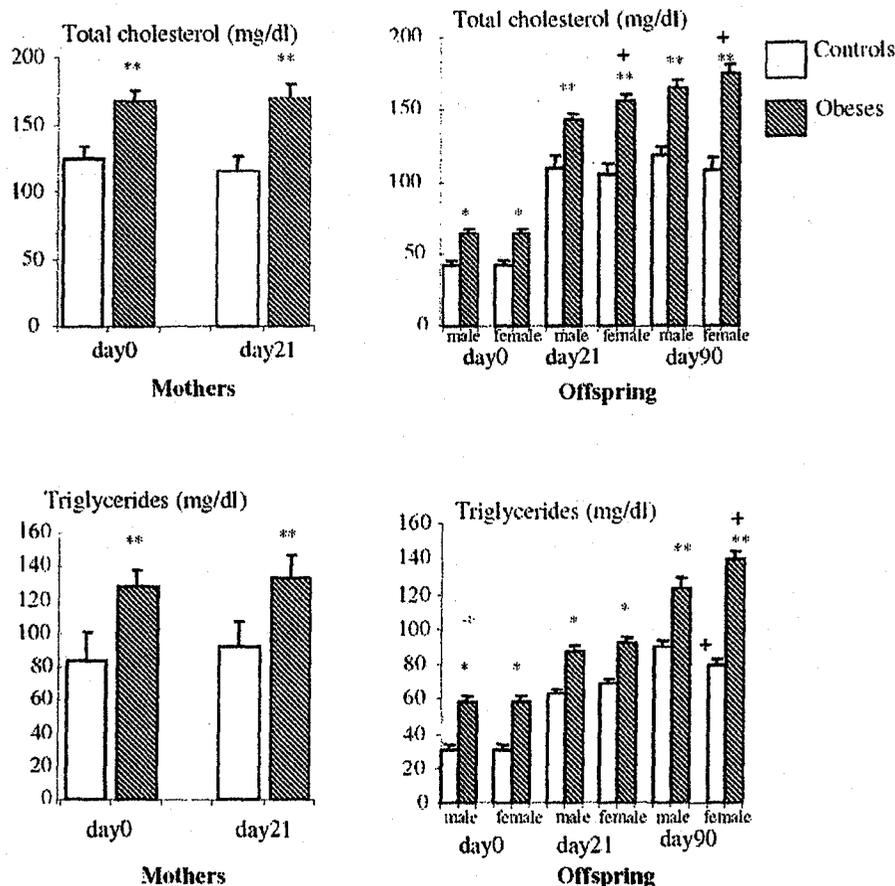
Oxidative stress parameters

Mothers

Plasma total antioxidant status (ORAC) was lower, whereas plasma hydroperoxide and carbonyl protein levels were higher, in cafeteria-fed mothers compared

Table 4 Oxidant/antioxidant status in chow-fed (control) and cafeteria-fed (obese) rats at parturition (day 0) and at the end of lactation (day 21)Values are means \pm S.E.M. * $P < 0.05$ and ** $P < 0.01$ compared with control rats at each age.

Parameter	Control rats		Obese rats	
	Day 0	Day 21	Day 0	Day 21
ORAC (AU)	1.88 \pm 0.35	2.25 \pm 0.26	1.23 \pm 0.22*	1.66 \pm 0.24*
Vitamin A (μ mol/l)	14.56 \pm 1.32	18.42 \pm 1.83	15.24 \pm 2.06	20.07 \pm 2.01
Vitamin C (μ mol/l)	30.53 \pm 2.07	33.05 \pm 2.11	28.50 \pm 2.54	30.95 \pm 2.42
Vitamin E (μ mol/l)	24.38 \pm 1.45	26.59 \pm 1.97	25 \pm 1.33	28.11 \pm 2.05
Hydroperoxides (μ mol/l)	2.79 \pm 0.02	3.02 \pm 0.40	3.85 \pm 0.19*	4.93 \pm 0.03*
Carbonyl proteins (nmol/l)	1.06 \pm 0.03	1.23 \pm 0.03	1.43 \pm 0.01**	1.62 \pm 0.02**

**Figure 2** Serum lipid concentrations in chow-fed (control) and cafeteria-fed (obese) dams and their offspringValues are means \pm S.E.M. Male and female offspring constitute separate groups. Significant differences between obese and control rats, at each age, are indicated by * $P < 0.05$ and ** $P < 0.01$. Significant differences between males and females in the same group, at each age, are indicated by + $P < 0.05$.

with control mothers at days 0 and 21 (Table 4). The cafeteria diet did not affect maternal plasma vitamin A, C and E levels (Table 4).

Erythrocyte CAT and SOD activities were lower, whereas erythrocyte GSH-PX and GSSG-Red activities were unchanged, in cafeteria-diet-fed mothers compared with control mothers throughout the experiment (Figure 3).

Offspring

Pups from cafeteria-fed mothers had significantly lower ORAC values at birth, at day 21 and day 90 compared with control offspring (Table 5). With regard to vitamin levels, both male and female obese pups had similar amounts as their respective controls.

Higher plasma hydroperoxide and carbonyl protein levels were observed in obese offspring compared

Table 6 Post-natal changes in oxidant status in control and obese offspring according to gender

Values are means \pm S.E.M. * $P < 0.05$ compared with control rats at each age; + $P < 0.05$ compared with males in the same group at each age. Day 0, parturition; day 21, weaning; day 90, 3 months of age.

Parameter	Control offspring		Obese offspring	
	Male	Female	Male	Female
Hydroperoxides ($\mu\text{mol/l}$)				
Day 0	2.04 \pm 0.38	2.04 \pm 0.38	3.32 \pm 0.29*	3.32 \pm 0.29*
Day 21	2.62 \pm 0.27	2.46 \pm 0.22	4.16 \pm 0.37*	3.85 \pm 0.19*
Day 90	3.05 \pm 0.30	2.94 \pm 0.17	7.48 \pm 0.45*	8.80 \pm 0.24* +
Carbonyl proteins (nmol/l)				
Day 0	1.11 \pm 0.07	1.11 \pm 0.22	1.54 \pm 0.08*	1.54 \pm 0.08*
Day 21	1.36 \pm 0.15	1.27 \pm 0.10	2.32 \pm 0.23*	2.18 \pm 0.12*
Day 90	1.28 \pm 0.24	1.30 \pm 0.13	2.75 \pm 0.21*	2.63 \pm 0.30*

with controls (Table 6). There was a gender difference in hydroperoxide levels, with females having greater amounts compared with males at day 90 only in the obese group.

Erythrocyte CAT activity was decreased in obese pups throughout adulthood (Figure 4). In the control group, females had higher CAT activity at day 90 than males, whereas there was no significant difference with gender in obese group.

At birth, SOD activity was similar in offspring of cafeteria-diet-fed mothers and controls. At days 21 and 90, however, obese rats, both male and female, had significantly higher SOD activities compared with their respective controls (Figure 4). Erythrocyte GSH-PX and GSSG-Red activities in offspring were unaffected by maternal diet throughout the study period; however, at day 90, GSH-PX activity was significantly lower in female obese offspring than in control females (Figure 4).

DISCUSSION

The present study has evaluated the role of a cafeteria diet during pregnancy and lactation in the induction of metabolic abnormalities, especially an oxidant/antioxidant imbalance, in the offspring.

The dams that received the cafeteria diet had an increase in total food intake, as described previously in the literature with animals fed cafeteria diets [35]. This increase in energy intake may explain the higher body weight in the cafeteria group, in agreement with previous studies [36]. The enhancement of body weight in cafeteria-diet-fed rats was strongly associated with the increase in weight of adipose depots, confirming the obesogenic properties of the cafeteria diet.

The present study revealed an increase in serum glucose, insulin, leptin, triacylglycerol and cholesterol levels in cafeteria-diet-fed pregnant rats. These results

are in agreement with previous studies reporting that, in dams fed a high-fat or a high-energy diet during gestation, there were significant increases in food intake, body weight gain, serum insulin and leptin levels at the end of gestation [37]. After parturition, energy intake increased significantly in both groups. The cafeteria diet resulted in increased body fat and prevented body weight loss in lactating dams. In our present study, at the end of lactation, overfed rats were still heavier, hyperglycaemic, hyperinsulinaemic and hyperleptinaemic with high serum lipid levels compared with control rats.

On the other hand, our present results demonstrated that consumption of the cafeteria diet by female rats during gestation and lactation resulted in an adverse maternal intrauterine environment, predisposing the fetuses to metabolic malprogramming. These early fetal maladaptations predispose them to the metabolic syndrome (increased body adiposity, chronic hyperinsulinaemia, glucose intolerance and hyperlipidaemia) [38] in their adult life. In our present study, maternal cafeteria diet feeding resulted in obese, hyperglycaemic, hyperinsulinaemic, hyperleptinaemic and hyperlipidaemic offspring. These abnormalities remained throughout adulthood. Similar observations have been made in previous studies [19,24,39].

In the present study, the increased weight gain of adult offspring of cafeteria-diet-fed dams, both males and females, was associated with the development of obesity, hyperleptinaemia, insulin resistance and hyperlipidaemia. These offspring also had an increase in oxidative stress with alterations in oxidant/antioxidant status similar to that found in their cafeteria-diet-fed mothers. This is a novel observation that provides support for the hypothesis that *in utero* events related to maternal overnutrition may adversely affect the oxidant/antioxidant balance and may predispose the offspring to oxidative stress *in utero* and in later life.

Our present findings revealed that total antioxidant capacity (ORAC) was decreased in dams fed the cafeteria

Despite normal levels of vitamins A, C and E, the decrease in ORAC was associated with increased oxidative stress markers, such as hydroperoxide and protein carbonyl levels, in cafeteria-diet-fed dams and their progeny. An association between adiposity and insulin resistance [45], as well as an emerging evidence of a link between insulin resistance and oxidative stress, has been reported in adults [46]. Protein carbonyl groups are introduced via oxidation of proteins and can be used as markers for oxidatively modified proteins, and have been suggested to be a sign of tissue damage caused by oxidative stress, carbohydrate overload or both [47]. Protein carbonyl contents reflect the amount of oxidative stress that the animal has been exposed to during a long time period. In offspring of cafeteria-diet-fed dams, increased protein carbonyl levels indicated that free-radical-mediated oxidative damage occurred at an early stage of development.

Our present findings show that, in our animal model, antioxidant defence mechanisms are altered in response to the generation of free radicals. Dams fed a cafeteria diet had lower CAT and SOD activities than control dams, whereas GSH-PX and GSSG-Red were at normal levels. In offspring of both genders from cafeteria-diet-fed dams, CAT activity was also decreased, whereas SOD activity was normal at birth and increased at days 21 and 90 compared with controls. GSH-PX and GSSG-Red activities were at normal levels, except for GSH-PX activity, which was low in females at adulthood. Several investigators have reported contradictory findings regarding antioxidant status in obesity [11,12,45,47]. Antioxidant enzymes may be consumed or inactivated in high oxidative conditions; however, ROS (reactive oxygen species) are sometimes produced in higher amounts than the antioxidant systems can scavenge. Furthermore, ROS often stimulate the production of antioxidant molecules. The production and activity of antioxidant enzymes also increase in relation to high oxidative stress.

In the present study, we observed that several of the parameters measured had significant gender differences. Compared with male control offspring, oxidative stress was decreased in females, and this may be attributed to a decrease in body weight and food intake, a decrease in plasma leptin and lipid levels, and an increase in CAT activity and oestrogen protection [48,49]. However, in obese offspring, oxidative stress was enhanced in females, which had high hydroperoxide and low GSH-PX activity compared with males. It is possible that increased oxidative stress in obese females may be due to the lack of gender protection.

Taken together, our results suggest that oxidative stress occurred during intra-uterine life, persisted through adulthood in offspring of cafeteria-diet-fed rats, and might be related to maternal oxidative stress, overfeeding, hyperglycaemia, hyperlipidaemia and fat accumulation.

In conclusion, the results in the present study strongly suggest that excessive maternal fat and energy intake

can play an important role in the development of metabolic disorders observed in their offspring, and that maternal oxidative stress can be singled out as the factor involved. Fetal oxidative stress may represent an additional confounding influence and probably contributes to further disorders, aggravating features of the metabolic syndrome. Therefore an improvement in maternal oxidant/antioxidant status during pregnancy and lactation, in addition to an adequate nutrition, could have beneficial effects on the progeny.

FUNDING

This work was supported by the French Foreign Office [International Research Extension Grant TASSILI 08MDU 723]; and by the Algerian Research Investigation Office (CNEPRU) [grant number I02020070010].

REFERENCES

- Martin-Gronert, M. S. and Ozanne, S. E. (2006) Maternal nutrition during pregnancy and health of the offspring. *Biochem. Soc. Trans.* **34**, 779–782
- Langley-Evans, S. C., Bellinger, L. and McMullen, S. (2005) Animal models of programming: early life influences on appetite and feeding behaviour. *Matern. Child. Nutr.* **1**, 142–148
- Galtier-Dereure, F., Boegner, C. and Bringer, J. (2000) Obesity and pregnancy: complications and cost. *Am. J. Clin. Nutr.* **71**, 1242–1248
- Ehrenberg, H. M., Mercer, B. M. and Catalano, P. M. (2004) The influence of obesity and diabetes on the prevalence of macrosomia. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **191**, 964–968
- Walsh, S. W. (2007) Obesity: a risk factor for preeclampsia. *Trends Endocrinol. Metab.* **18**, 365–370
- Boney, C. M., Verma, A., Tucker, R. and Vohr, B. R. (2005) Metabolic syndrome in childhood: association with birth weight, maternal obesity, and gestational diabetes mellitus. *Pediatrics* **115**, 290–296
- Whitaker, R. C. (2004) Predicting preschooler obesity at birth: the role of maternal obesity in early pregnancy. *Pediatrics* **114**, 29–36
- Van Gaal, L. F., Zhang, A., Steijaert, M. M. and Deleeeuw, I. H. (1995) Human obesity: From lipid abnormalities to lipid oxidation. *Int. J. Obes.* **9**, 21–26
- Higdon, J. V. and Frei, B. (2003) Obesity and oxidative stress: a direct link to CVD? *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **23**, 365–367
- Merzouk, S., Hichami, A., Sari, A., Madani, S., Merzouk, H., Yahia Berrouiguet, A., Lenoir-Rousseaux, J. J., Chabane-Sari, N. and Khan, N. A. (2004) Impaired oxidant/antioxidant status and LDL fatty acid composition are associated with increased susceptibility to peroxidation of LDL in diabetic patients. *Gen. Physiol. Biophys.* **23**, 387–399
- Khan, N. I., Naz, L. and Yasmeen, G. (2006) Obesity: an independent risk factor for systemic oxidative stress. *Pak. J. Pharm. Sci.* **19**, 62–65
- Vincent, H. K. and Taylor, A. G. (2006) Biomarkers and potential mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans. *Int. J. Obes.* **30**, 400–418
- Baydas, G., Karatas, F., Gursu, A., Bozkurt, H. A., Ilhan, N., Yasar, A. and Canatan, H. (2002) Antioxidant vitamin levels in term and preterm infants and their relation to maternal vitamin status. *Arch. Med. Res.* **33**, 276–280
- Wijnberger, L. D. E., Krediet, T. G., Visser, G. H., Bel, F. V. and Egberts, J. (2003) Early neonatal antioxidant capacity after preexisting impaired placental function. *Early Hum. Dev.* **71**, 111–116

- 15 Adiga, U., D'Souza, V., Kamath, A. and Mangalore, N. (2007) Antioxidant activity and lipid peroxidation in preeclampsia. *J. Chin. Med. Assoc.* **70**, 435-438
- 16 Rolls, B. J., Van Duijvenvoorde, P. M. and Rowe, E. A. (1983) Variety in the diet enhances intake in a meal and contributes to the development of obesity in the rat. *Physiol. Behav.* **31**, 2-9
- 17 Lopez, I. P., Marti, A., Milagro, F. I., Zulet Md Mde, L., Moreno-Aliaga, M. J., Martinez, J. A. and De Miguel, C. (2003) DNA microarray analysis of genes differentially expressed in diet-induced (Cafeteria) obese rats. *Obes. Res.* **11**, 188-194
- 18 Tschop, M. and Heiman, M. L. (2001) Rodent obesity models: an overview. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes* **109**, 307-319
- 19 Baylor, S. A., Simbi, B. H. and Stickland, N. C. (2005) A maternal cafeteria diet during gestation and lactation promotes adiposity and impairs skeletal muscle development and metabolism in rat offspring at weaning. *J. Physiol.* **567**, 951-961
- 20 Buckley, A. J., Keserü, B., Briody, J., Thompson, M., Ozanne, S. E. and Thompson, C. H. (2005) Altered body composition and metabolism in the male offspring of high fat-fed rats. *Metab. Clin. Exp.* **54**, 500-507
- 21 Taylor, P. D., McConnell, J., Khan, I. Y., Holemans, K., Lawrence, K. M., Asare-Anane, H., Persaud, S. J., Jones, P. M., Petrie, L., Hanson, M. A. and Poston, L. (2005) Impaired glucose homeostasis and mitochondrial abnormalities in offspring of rats fed a fat-rich diet in pregnancy. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* **288**, R134-R139
- 22 Caluwaerts, S., Lambin, S., Van Bree, R., Peeters, H., Vergote, I. and Verhaeghe, J. (2007) Diet-induced obesity in gravid rats engenders early hyperadiposity in the offspring. *Metab. Clin. Exp.* **56**, 1431-1438
- 23 Muhlhauser, B. S., Duffield, J. A. and McMillen, I. C. (2007) Increased maternal nutrition stimulates peroxisome proliferator activated receptor- γ , adiponectin, and leptin messenger ribonucleic acid expression in adipose tissue before birth. *Endocrinology* **148**, 878-885
- 24 Taylor, P. D. and Poston, L. (2007) Developmental programming of obesity in mammals. *Exp. Physiol.* **92**, 287-298
- 25 Milagro, F. I., Campión, J. and Martínez, J. A. (2006) Weight gain induced by high-fat feeding involves increased liver oxidative stress. *Obesity* **14**, 1118-1123
- 26 Darimont, C., Turini, M., Epitoux, M., Zbinden, I., Richelle, M., Montell, E., Ferrer-Martinez, A. and Macé, K. (2004) β 3-Adrenoceptor agonist prevents alterations of muscle diacylglycerol and adipose tissue phospholipids induced by a cafeteria diet. *Nutr. Metab.* **1**, 4-13
- 27 Folch, J., Lees, M. and Sloane-Stanley, G. (1957) A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* **226**, 1861-1869
- 28 Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. (1951) Protein measurement with folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265-275
- 29 Roe, J. H. and Kuetner, C. A. (1943) The determination of ascorbic acid in whole blood and urine through the 2,4-dinitrophenylhydrazine derivatives of dehydroascorbic acid. *J. Biol. Chem.* **147**, 399-407
- 30 Aebi, H. (1974) Caralase. *Methods of Enzymatic Analysis*, 2nd edn, vol. 2 (Bergmeyer, H. U., ed.), pp. 673-684, Verlag Chemie, Weinheim
- 31 Paglia, D. E. and Valentine, W. N. (1967) Studies on the quantitative and qualitative characterizations of erythrocyte glutathione peroxidase. *J. Lab. Clin. Med.* **70**, 158-169
- 32 Goldberg, D. M. and Spooner, R. J. (1992) Glutathione reductase. *Methods of Enzymatic Analysis*, 3rd edn, vol. 3 (Bergmeyer, H. U., ed.), pp. 258-265, Verlag Chemie, Weinheim
- 33 Elstner, E. F., Youngman, R. J. and Obwald, W. (1983) Superoxide dismutase. *Methods of Enzymatic Analysis*, 3rd edn, vol. 3 (Bergmeyer, H. U., ed.), pp. 293-302, Verlag Chemie, Weinheim
- 34 Levine, R. L., Garland, D., Oliver, C. N., Amici, A., Climent, I., Lenz, A. G., Ahn, B. W., Shaltiel, S. and Stadtman, E. R. (1990) Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol.* **186**, 464-478
- 35 Pellizzon, M., Buison, A., Ordiz, F., Santa Ana, L. and Jen, K. C. (2002) Effects of dietary fatty acids and exercise on body-weight regulation and metabolism in rats. *Obes. Res.* **10**, 945-955
- 36 Armiage, J. A., Taylor, P. D. and Poston, L. (2005) Experimental models of developmental programming: consequences of exposure to an energy rich diet during development. *J. Physiol.* **565**, 3-8
- 37 Levin, B. E. and Govek, E. (1998) Gestational obesity accentuates obesity in obesity-prone progeny. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* **275**, R1374-R1379
- 38 Levin, B. E. (2006) Metabolic imprinting: critical impact of the perinatal environment on the regulation of energy homeostasis. *Phil. Trans. R. Soc.* **361**, 1107-1121
- 39 Srinivasan, M., Katewa, S. D., Palaniyappan, A., Pandya, J. D. and Patel, M. S. (2006) Maternal high-fat diet consumption results in fetal malprogramming predisposing to the onset of metabolic syndrome-like phenotype in adulthood. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **291**, E792-E799
- 40 Sreekumar, R., Unnikrishnan, J., Fu, A., Nygren, J., Short, K. R., Schimke, J., Barazzoni, R. and Nair, K. S. (2002) Impact of high-fat diet and antioxidant supplement on mitochondrial functions and gene transcripts in rat muscle. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **282**, E1055-E1061
- 41 Unger, R. H. (2003) Lipid overload and overflow: metabolic trauma and the metabolic syndrome. *Trends Endocrinol. Metab.* **14**, 398-403
- 42 Frankel, E. D. and Finley, J. W. (2008) How to standardize the multiplicity of methods to evaluate natural antioxidants. *J. Agric. Food Chem.* **56**, 4901-4908
- 43 Sies, H. (2007) Total antioxidant capacity: appraisal of a concept. *J. Nutr.* **137**, 1493-1495
- 44 Bravo, P. E., Morse, S., Borne, D. M., Aguilar, E. A. and Reisin, E. (2006) Leptin and hypertension in obesity. *Vasc. Health Risk Manag.* **2**, 163-169
- 45 Baron, A. D. (2001) Impaired glucose tolerance as a disease. *Am. J. Cardiol.* **88**, 16-19
- 46 Urakawa, H., Katsuki, A., Sumida, Y., Gabazza, E. C., Murashima, S., Morioka, K., Maruyama, N., Kitagawa, N., Tanaka, T., Hori, Y. et al. (2003) Oxidative stress is associated with adiposity and insulin resistance in men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **88**, 4673-4676
- 47 Mayne, S. T. (2003) Antioxidant nutrients and chronic disease: Use of biomarkers of exposure and oxidative stress status in epidemiologic research. *J. Nutr.* **133**, 933-940
- 48 Miller, A. A., De Silva, T. M., Jackman, K. A. and Sobey, C. G. (2007) Effect of gender and sex hormones on vascular oxidative stress. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* **34**, 1037-1043
- 49 Azevedo, R. B., Lacava, Z. G. M., Miyasaka, C. K., Chaves, S. B. and Curi, R. (2001) Regulation of antioxidant enzyme activities in male and female rat macrophages by sex steroids. *Braz. J. Med. Biol. Res.* **34**, 683-687

Received 19 August 2008/7 October 2008; accepted 5 November 2008

Published as Immediate Publication 5 November 2008, doi:10.1042/CS20080413

Résumé

La notion de programmation épigénétique est basée sur l'hypothèse qu'une suralimentation maternelle provoque une obésité et des altérations métaboliques permanentes chez la progéniture conduisant à l'apparition des maladies métaboliques de l'adulte. Les objectifs de ce travail sont de déterminer les effets chronologiques du régime cafeteria (hyperlipidique et hypercalorique) sur le métabolisme des lipides et des protéines et le statut oxydant/antioxydant chez la rate pendant la gestation et la lactation, et chez sa progéniture sevrée et nourrie soit avec ce type de régime, soit avec le régime standard jusqu'à l'âge adulte.

Le régime cafeteria induit une obésité consécutive à une hyperphagie et une augmentation de l'efficacité nutritionnelle associée à une élévation du tissu adipeux et son enrichissement en lipides, à une hyperglycémie, un hyperinsulinisme, une hyperleptinémie et une hyperlipidémie avec altération de la composition en acides gras des lipides du sérum et des organes chez la rate gestante et allaitante tout comme chez le rat témoin. De plus, une altération du statut oxydant / antioxydant est notée chez ces rats qui montrent une réduction du pouvoir antioxydant total (ORAC), une augmentation des teneurs plasmatiques et tissulaires en malondialdéhyde (MDA), hydroperoxydes (HYDP), protéines carbonyles (PCAR) et des marqueurs de l'oxydation des lipoprotéines, et une modification des activités de la catalase et la SOD avec réduction au niveau du plasma et augmentation au niveau du foie, du muscle et du tissu adipeux en faveur d'un stress oxydatif évident.

Les nouveau-nés des rates nourries au régime cafeteria sont aussi obèses et présentent les mêmes altérations métaboliques que leurs mères. Ces altérations persistent jusqu'à l'âge adulte et ceci quelque soit le régime alimentaire postnatal. La persistance de l'obésité et des troubles métaboliques chez les rats obèses quelque soit leur régime postnatal suggère une mal programmation épigénétique suite à un milieu intra-utérin pléthorique. Le régime cafeteria ne provoque pas des altérations plus importantes des teneurs sériques en glucose, insuline, leptine, lipides, lipoprotéines et du profil en acides gras que celles observées avec le régime standard chez ces rats obèses. Néanmoins, les altérations du statut oxydant / antioxydant sont majorées par le régime cafeteria.

Il est donc nécessaire de prendre en charge les anomalies du métabolisme et de la balance oxydante / antioxydante associées à l'obésité chez la mère pendant la gestation et chez la progéniture dès la naissance et d'organiser une prévention précoce d'ordre nutritionnel en particulier.

Mots clés: gestation – glucose – insuline – leptine – lipides – lipoprotéines – obésité – organes – progéniture – rat – régime cafeteria – statut oxydant / antioxydant.

Abstract

The concept of epigenetic programming is based on the hypothesis that maternal overfeeding induces obesity and metabolic permanent alterations in the offspring leading to the onset of metabolic diseases in adult life. The objectives of this work are to determine the effects of cafeteria diet (hyperlipidic and hypercaloric) on lipid and protein metabolism and oxidant / antioxidant status in rats during gestation and lactation, and in their offspring weaned and fed either with this type of diet, either with standard diet until adulthood.

The cafeteria diet induced obesity resulting from hyperphagia and increased nutritional efficiency, associated with increased adipose tissue and its enrichment in lipids, hyperglycemia, hyperinsulinemia, hyperleptinemia and hyperlipidemia with impaired fatty acid composition of serum and organs in pregnant and lactating rats and in controls. Moreover, these rats showed several alterations of oxidant / antioxidant status like a reduction in total antioxidant capacity (ORAC), increased levels in plasma and tissue malondialdehyde (MDA), hydroperoxides (HYDP), carbonyl proteins (PCAR) and markers of lipoprotein oxidation, and changes in catalase and SOD activities of with reduction in plasma and increase in liver, muscle and adipose tissue in relation with oxidative stress.

Pups from cafeteria fed dams were also obese and had metabolic changes similar to that obtained in their mothers. These alterations persisted into adulthood regardless the type of postnatal diet. The persistence of obesity and metabolic disorders in obese rats regardless their postnatal diet suggested epigenetic programming in intra-uterine life. The cafeteria diet didn't give rise to more significant changes in serum levels of glucose, insulin, leptin, lipids, lipoproteins and fatty acid profile than those seen with the standard diet in these obese rats. However, oxidant / antioxidant status alterations are increased by cafeteria diet.

An improvement of maternal metabolic alterations and oxidant/antioxidant status during pregnancy and in the offspring at birth, with adequate nutrition, could have beneficial effects in the progeny.

Key words: cafeteria diet – glucose – insulin – leptin – lipids – lipoproteins – obesity – offspring – organs – oxydant / antioxydant status – pregnancy – rat.

ملخص:

مفهوم البرمجة اللاجينية تقوم على افتراض أن الإفراط في الأكل عند الأم لحامل من أسباب ظهور السمعة والتغيرات الأيضية الدائمة في الدرية مما أدى إلى ظهور الأمراض الأيضية لدى البالغين أهداف هذا العمل هي لتحديد الآثار الناتجة على حمية كافييتريا (غنية بالدهن مرتفع الحريات) على أيض الليبيد البروتينات و مركز الأوكسدة / المضادات للأوكسدة عند الفترات أثناء الحمل و الرضاعة و عند الدرية المفطومين ذات تغذية من هذه الحمية مقارنة مع الحمية المعيار حتى سن البلوغ.

حمية كافييتريا تسبب السمعة بزيادة كفاءة التغذية مرتبطة بزيادة النسخ الدهني و تشبعه بالدهن ارتفاع نسبة الجلوكوز، الأنسولين و اللبئين في مصل الدم مع اضطرات تكويفي الأحماض الدهنية في المصل و الأعضاء لدى الفترات الحوامل و المرضعات و عند الفترات الشواهد . وعلاوة على ذلك، تغيير الوضع المؤكسد/ المضاد للأوكسدة، أظهرت هذه الفترات انخفاض إجمالي للقدرة المضادة للأوكسدة (ORAC) زيادة في مستويات البلازما و الأنسجة للمالونات ثنائية الأدهيد، الهيدروبيروكسيد، البروتين الكاربونيلي و علامات للأوكسدة للبروتينات الليبيدية، و التغيرات في الأنشطة لأنزيمات الكاتلاز و سوبر أوكسيد ديموتاز (SOD) مع تخفيضات في مستويات البلازما و زيادة في الكبد و العضلات و الأنسجة الدهنية، وهذا ما يؤكد الأوكسدة.

المولود الجدد للفترات التي غذيت على حمية كافييتريا يعانون من السمعة المفرطة، و لهم نفس التغيرات الأيضية كماهاتهم. هذه التغيرات تستمر حتى إلى مرحلة البلوغ ذلك بصرف النظر عن هذا النظام الغذائي، استمرار السمعة و الاضطرابات الأيضية عند الفترات البدناء يشير إلى وجود نظام سوء البرمجة اللاجينية داخل الرحم حمية الكافييتريا لا تؤدي إلا مزيد من التغيرات الكبيرة في المستويات الجلوكوز الأتسوليوني، اللبئين، البروتينات الليبيدية، اللبيدات و الأحماض الدهنية في مصل الدم التي لوحظت مع المعيار الذي يعتمد في هذه الفترات البدناء... إلا أن تغيرات الوضع المؤكسد المضاد للأوكسدة هي بنسبة مرتفعة. ولذلك من الضروري دعم الاضطرابات الأيضية و التوازن مؤكسد / مضادات الأوكسدة المرتبطة بالسمعة عند الأم في فترة الحمل و عند الولادة، و تنظيم الميكرو و الوقاية من التغذية خاصة.

الكلمات الرئيسية: الحمل، جلوكوز، أنسولين، لبئين، الليبيدات، السمعة، البروتينات الليبيدية، الأعضاء، الفار حمية كافييتريا، وضع الأوكسدة / مضاد الأوكسدة.