

III

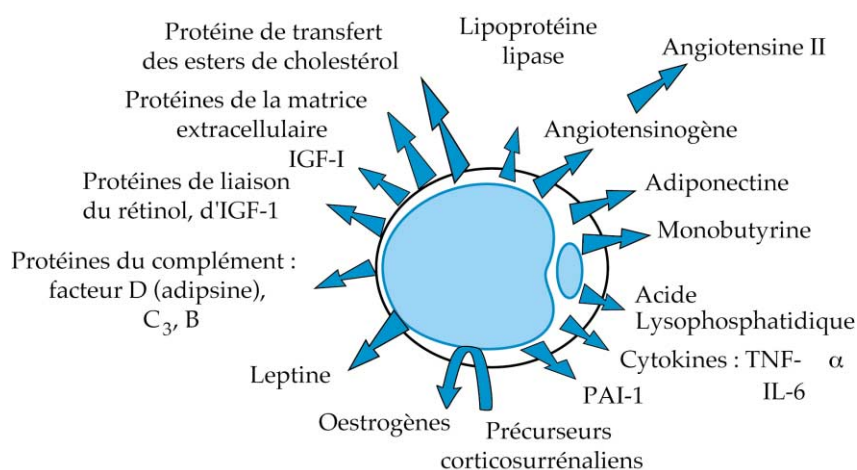
**A**pproche biologique



## 11

## Développement du tissu adipeux blanc et différenciation adipocytaire

Le tissu adipeux blanc (TAB), qui apparaît faiblement au cours du deuxième trimestre de la grossesse puis plus fortement au cours du dernier trimestre (Poissonnet et coll., 1983), se développe pour l'essentiel après la naissance. Si l'excès de tissu adipeux blanc pose problème chez l'enfant comme chez l'adulte, il n'en demeure pas moins que le développement de ce tissu constitue un processus physiologique nécessaire. En effet les adipocytes blancs, qui représentent environ la moitié des cellules constituant le tissu adipeux, sont de véritables cellules sécrétrices dotées de diverses activités endocrines et paracrines (figure 11.1) (Ailhaud, 1998).



**Figure 11.1 : L'adipocyte est une cellule sécrétrice à activités endocrine (leptine) et paracrine (angiotensinogène)**

Ces adipocytes sont en premier lieu connus pour jouer un rôle de stockage et de mobilisation de l'énergie (sous la forme de triglycérides) ainsi que de stockage des vitamines liposolubles et du cholestérol mais également pour

jouer un rôle de stockage de polluants de type organochloré (Ohmiya et Nakai, 1977 ; Chevrier et coll., 1998). Contrairement à une idée largement répandue mais démontrée comme erronée chez l'animal comme chez l'homme, l'acquisition de nouveaux adipocytes reste possible tout au long de la vie même s'il existe des périodes plus critiques. Fait aggravant, dans des conditions physiologiques, cette acquisition se révèle largement être un processus irréversible. Le renouvellement des adipocytes, même dans des conditions de jeûne prolongé n'a pu être démontré (Miller et coll., 1983). Leur élimination par apoptose, même si ce phénomène existe, n'apparaît pas quantitativement important (Okuno et coll., 1998 ; Niesler et coll., 1998). Les adipocytes trouvent leur origine dans des cellules précurseurs (préadipocytes). Le développement excessif du TAB peut se produire soit par augmentation du nombre d'adipocytes (hyperplasie du tissu adipeux) soit par augmentation de la quantité de triglycérides accumulés dans les adipocytes (hypertrophie adipocytaire) soit, dans le cas des obésités les plus sévères, par hyperplasie et hypertrophie combinées (Salans et coll., 1973).

### **Périodes « sensibles » du développement du tissu adipeux blanc**

Au début du dernier trimestre de la grossesse, les adipocytes sont présents dans tous les principaux dépôts adipeux (Poissonnet et coll., 1983). Lors d'une grossesse menée à terme, la masse adipeuse représente de l'ordre de 15 % du poids du nouveau-né. L'analyse longitudinale à partir d'échantillons prélevés par biopsie au cours de la première année indique que l'augmentation de la masse adipeuse (0,7 à 2,8 kg) se produirait majoritairement par hypertrophie (Häger et coll., 1997). D'autres études transversales et longitudinales soulignent cependant l'existence d'un processus hyperplasique détectée chez des enfants à partir de l'âge de 2 ans (Knittle et coll., 1979). Une seule étude plus récente a permis d'évaluer la capacité de prolifération et de différenciation des préadipocytes isolés du tissu adipeux sous-cutané d'enfants âgés de un à onze ans. Les résultats montrent que cette capacité est plus importante pendant la première année de vie et diminue par la suite (Hauner et coll., 1989a). Ces résultats sont en accord avec l'étude du développement du tissu adipeux blanc chez le rat (Wang et coll., 1989). Toutefois une seconde vague proliférative a été rapportée chez des enfants dans la tranche d'âge de sept à onze ans (Hauner et coll., 1989a ; Baum et coll., 1986). Il est important de souligner que l'hyperplasie du TAB constatée chez le patient obèse se révèle d'autant plus importante que l'obésité s'est installée plus précocement (avant l'âge de 10 ans), alors que l'hypertrophie apparaît comme plus importante dans les obésités apparues plus tardivement (Hirsch et Knittle, 1970). Quoiqu'il en soit, hyperplasie et hypertrophie combinées peuvent co-exister dans les obésités sévères de l'adulte (Salans et coll., 1973), ce phénomène étant lié à la présence résiduelle de préadipocytes même chez les personnes âgées (Hauner

et coll., 1989b). En accord avec ces observations, chez le rat âgé, la plupart des dépôts adipeux répondent à un régime hyperlipidique ou hyperglucidique par un processus hypertrophique/hyperplasique combiné (Faust et coll., 1978). Au vu de l'ensemble des résultats obtenus chez l'enfant, et malgré les réserves techniques nécessaires concernant la détermination de la cellularité du tissu adipeux, il est clair que la prime enfance constitue une période particulièrement sensible et critique au cours de laquelle se produit une hyperplasie active du tissu adipeux, hyperplasie qui peut alors s'accompagner d'une hypertrophie.

### Facteurs adipogéniques et différenciation adipocytaire

La présence permanente de cellules précurseurs d'adipocytes tout au long de la vie soulève le problème de la caractérisation des facteurs adipogéniques nécessaires à la différenciation des préadipocytes en adipocytes. L'isolement et l'étude *in vitro* de préadipocytes humains a permis de montrer que les hormones requises sont peu nombreuses et que leurs taux circulants sont associés soit à l'état nutritionnel (insuline, facteur insulino-mimétique 1 (IGF-1)) soit à l'activation de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (glucocorticoïdes) (Ailhaud et Hauner, 1998). La démonstration que les acides gras naturels et certains de leurs métabolites (prostacycline issue du métabolisme de l'acide arachidonique) se comportaient comme de véritables hormones adipogéniques sur les préadipocytes de rongeurs en lignées clonales immortalisées (Gaillard et coll., 1989 ; Négrelet et coll., 1989 ; Vassaux et coll., 1992) mais également sur des préadipocytes isolés à partir de tissu adipeux humain (Vassaux et coll., 1992 ; Amri et coll., 1994), a permis d'établir un lien conceptuel entre régime hyperlipidique et formation excessive d'adipocytes (figure 11.2).

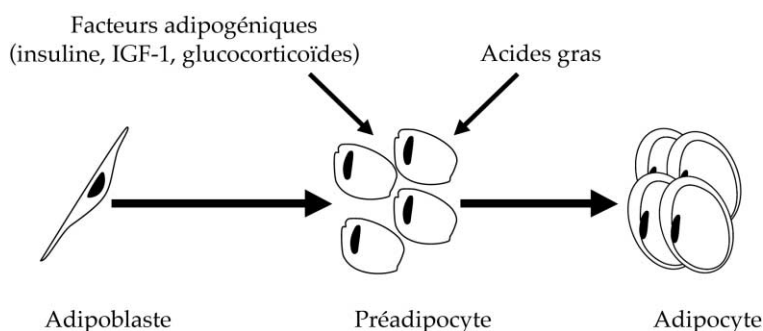


Figure 11.2 : Processus de différenciation adipocytaire

Un lien moléculaire plus direct a pu être établi avec le clonage de récepteurs nucléaires détecteurs d'acides gras naturels et capables de les lier ainsi que certains de leurs métabolites (famille des « peroxisome proliferator-activated

receptors » ou PPARs). La famille des PPARs jouent un rôle-clef dans la différenciation adipocytaire et dans le développement du tissu adipeux (Amri et coll., 1994 ; Amri et coll., 1995 ; Tontonoz et coll., 1994 ; Bastié et coll., 1999), en particulier PPAR $\gamma$  (Barak et coll., 1999 ; Kubota et coll., 1999 ; Rosen et coll., 1999). L'ensemble des résultats obtenus à l'aide de modèles cellulaires de préadipocytes montre donc qu'il suffit d'une panoplie très limitée d'hormones « adipogéniques » (insuline, IGF-1, glucocorticoïdes) pour former des adipocytes à partir des cellules précurseurs. Les acides gras se comportent également comme de véritables hormones adipogéniques via les PPARs et entraînent une modulation positive de l'expression de certains gènes (Xu et coll., 1999). Ces gènes codent pour des enzymes dont l'activité favorise la formation d'adipocytes avec accumulation de triglycérides. Fait important, tous les acides gras ne sont pas équivalents pour entraîner le processus de différenciation *in vitro*, les acides gras polyinsaturés (*polyunsaturated fatty acids*, PUFA) de type  $\omega 6$  (linoléate, arachidonate) étant plus efficaces que les PUFA de type  $\omega 3$  (eicosapentaénoate, docosahexaénoate). En particulier, l'acide arachidonique se comporte comme un puissant facteur adipogénique (Gaillard et coll., 1989).

### **Développement du tissu adipeux blanc : relations avec la quantité et la nature des lipides alimentaires**

Au cours du développement comme au cours de la vie adulte, une augmentation de la masse adipeuse se trouve associée à un régime riche en lipides (Romieu et coll., 1988 ; Tucker et Kano, 1992 ; Klesges et coll., 1992). Chez l'adulte, contrairement aux protéines et aux glucides, une augmentation de la richesse en lipides de l'alimentation n'entraîne pas de réponse oxydative à court terme avec pour conséquence un stockage des lipides dans le tissu adipeux (Schutz et coll., 1989). Il est vraisemblable que les signaux satiétogènes générés par les lipides ne sont pas suffisamment efficaces pour contrôler l'excédent calorique ainsi apporté (Blundell et coll., 1995).

Chez le rat adulte, un régime hyperlipidique entraîne une augmentation de la masse adipeuse par hypertrophie et hyperplasie combinée (Faust et coll., 1978 ; Klyde et Hirsch, 1979). Ce phénomène se produit indépendamment du contenu calorique du régime (Oscari et coll., 1984). Toutefois l'ingestion de régimes hyperlipidiques riches en acides gras saturés ou insaturés a conduit à des résultats divergents chez le rat. L'hypertrophie des sites périrénaux et épидидymaires est moindre lorsque le régime est enrichi en acides gras mono- et polyinsaturés (Parrish et coll., 1990), alors qu'une autre étude a rapporté que l'expansion du TAB passait plutôt par une hyperplasie (site inguinal) après ingestion d'un régime riche en acides gras saturés (Shillabeer et Lau, 1994). Chez le raton, l'ingestion d'un régime riche en PUFA  $\omega 3$  ( $\alpha$ -linoléate) se traduit par une hypoplasie et une hypotrophie par rapport à

l'ingestion des régimes riches en acides gras saturés, en acides gras monoinsaturés (oléate) ou en acides gras polyinsaturés  $\omega 6$  (linoléate) (Okuno et coll., 1997). Plus récemment (Clearly et coll., 1999), une étude très complète a été effectuée chez le raton génétiquement obèse ou non-obèse, soumis avant comme après sevrage à un régime isocalorique riche soit en acides gras saturés (laurique, myristique, palmitique) qui rappelle la composition en acides gras du lait maternel, soit en acides gras insaturés (oléate et linoléate). L'analyse au sevrage de la cellularité du site inguinal montre que le premier régime favorise l'hypertrophie et le second l'hyperplasie. A l'âge adulte, lorsqu'il est maintenu, le régime « saturé » finit par également entraîner un processus hyperplasique. Ces observations démontrent que, dans une période critique de la mise en place du tissu adipeux blanc, les préadipocytes sont particulièrement sensibles à la nature des stimuli adipogéniques représentés par les acides gras et que, selon la nature de ces derniers, la réponse initiale favorisée est de type soit hyperplasique (acides gras polyinsaturés  $\omega 6$ ) soit hypertrophique (acides gras saturés). L'hyperplasie installée, c'est-à-dire les adipocytes formés en excès, la masse adipeuse ne pourra alors être modulée que par le contenu en triglycérides des adipocytes qui résulte du flux d'entrée des acides gras dans l'adipocyte et du flux de sortie via la lipolyse. De tels résultats sur l'hyperplasie, phénomène quasi-irréversible (voir plus haut), sont à rapprocher de l'influence bénéfique de l'allaitement maternel sur la prévention de l'obésité chez l'enfant de 5-6 ans (Von Kries et coll., 1999) si l'on se souvient i) de la richesse en acides gras saturés du lait maternel et surtout, par rapport à la composition des laits 1er âge, de la proportion nettement moindre d'acides gras polyinsaturés  $\omega 6$  tel l'acide linoléique ( $11,8 \pm 3,3$  % dans le lait maternel au lieu de 18 % dans les laits 1er âge) (Guesnet et coll., 1999) et ii) de la richesse en acides gras saturés du TAB du nouveau-né par rapport à celle du TAB de la mère et de son enrichissement en acides gras polyinsaturés avec l'allaitement au cours des six semaines suivantes (Thomas et coll., 1997).

**En conclusion**, il n'est donc pas exclu que, chez le nourrisson comme chez le jeune enfant (Boggio et coll., 1999), les conditions nutritionnelles qui prévalent depuis quelques décennies pourraient favoriser une augmentation du flux d'acides gras polyinsaturés  $\omega 6$  dans le tissu adipeux associée à une alimentation trop riche en lipides ainsi que favoriser l'augmentation des taux circulants et/ou locaux d'IGF-1 associée à une alimentation également trop riche en protéines (Rolland-Cachera et coll., 1999). Une telle situation pourrait alors conduire à une formation accrue d'adipocytes par hyperplasie. Par la suite, en dehors des périodes sensibles, la permanence d'une alimentation trop riche en lipides et en protéines devrait continuer à favoriser la formation d'un excès de masse adipeuse par hyperplasie et hypertrophie combinées. En tout état de cause, au vu du caractère « épidémique » de l'obésité chez l'adulte comme au vu de l'augmentation du surpoids et de l'obésité chez l'enfant observée dans diverses populations, les facteurs environnementaux d'origine alimentaire devraient jouer un rôle important. Dans cette perspective, la quantité et la

qualité des lipides ingérés comme la quantité de protéines à une période sensible du développement hyperplasique du tissu adipeux blanc devraient être prises en compte. L'obésité juvénile apparaîtrait ainsi comme une réponse normale de nos gènes à un environnement inadéquat et non pas une réponse anormale à un environnement satisfaisant.

## BIBLIOGRAPHIE

- AILHAUD G. L'adipocyte, cellule sécrétrice et endocrine. *Méd Sci* 1998, **14** : 858-864
- AILHAUD G, HAUNER H. Development of white adipose tissue. In : Handbook of Obesity. BRAY GA, BOUCHARD C, JAMES WPT, Eds. Marcel Dekker Inc., 1998, 359-378
- AMRI E, AILHAUD G, GRIMALDI P. Fatty acids as signal transducing molecules : involvement in the differentiation of preadipose to adipose cells. *J Lipid Res* 1994, **35** : 930-937
- AMRI EZ, BONINO F, AILHAUD G, ABUMRAD N, GRIMALDI P. Cloning of a protein that mediates transcriptional effects of fatty acids in preadipocytes. Homology to peroxisome proliferator-activated receptors. *J Biol Chem* 1995, **270** : 2367-2371
- BARAK Y, NELSON MC, ONG ES, JONES YZ, RUIZ-LOZANO P et coll. PPAR $\gamma$  is required for placental, cardiac, and adipose tissue development. *Mol Cell* 1999, **4** : 585-595
- BASTIE C, HOLST D, GAILLARD D, JEHL-PIETRI C, GRIMALDI PA. Expression of peroxisome proliferator-activated receptor PPAR(promotes induction of PPAR and adipocyte differentiation in 3T3C2 fibroblasts. *J Biol Chem* 1999, **274** : 21920-21925
- BAUM D, BECK RQ, HAMMER LD, BRASEL JA, GREENWOOD MRC. Adipose tissue thymidine kinase activity in man. *Pediatr Res* 1986, **20** : 118-121
- BLUNDELL JE, COTTON JR, DELARGY H, GREEN S, GREENOUGH A et coll. The fat paradox : fat-induced satiety signals versus high fat overconsumption. *Int J Obes* 1995, **19** : 832-835
- BOGGIO V, GROSSIORD A, GUYON S, FUCHS F, FANTINO M. Consommation alimentaire des nourrissons et enfants en bas âge en France en 1997. *Arch Pédiatr* 1999, **6**, sous presse.
- CHEVRIER J, DEWAILLY E, AYOTTE P, TREMBLAY A. Effects of body weight loss on the plasma concentration of lipophilic pollutants in obese individuals. *8th International Congress on Obesity*, Paris 1998, HTP17
- CLEARY MP, PHILLIPS FC, MORTON RA. Genotype and diet effects in lean and obese Zucker rats fed either safflower or coconut oil diets. *Proc Soc Exp Biol Med* 1999, **220** : 153-160
- FAUST IM, JOHNSON PR, STERN JS, HIRSCH J. Diet-induced adipocyte number increase in adult rats : a new model of obesity. *Am J Physiol* 1978, **235** : E279-E286
- GAILLARD D, NEGREL R, LAGARDE M, AILHAUD G. Requirement and role of arachidonic acid in the differentiation of preadipose cells. *Biochem J* 1989, **257** : 389-397
- GUESNET P, PUGO-GUNSAM P, MAURAGE P, PINAULT M, GIRAUDEAU B et coll. Blood lipid concentrations of docosahexaenoic and arachidonic acids at birth determine



their relative postnatal changes in term infants fed breast milk or formula. *Am J Clin Nutr* 1999, **70** : 292-298

HÄGER A, SJÖSTRÖM L, ARVIDSSON B, BJÖRNTORP P, SMITH U. Body fat and adipose tissue cellularity in infants : a longitudinal study. *Metabolism* 1977, **26** : 607-617

HAUNER H, WABITSCH M, PFEIFFER EF. Proliferation and differentiation of adipose tissue derived stromal-vascular cells from children of different ages. In : Obesity in Europe 88. BJÖRNTORP P, RISSNER S, Eds. John Libbey London-Paris, 1989a, 195-200

HAUNER H, ENTENMANN G, WABITSCH M, GAILLARD D, AILHAUD G et coll. Promoting effect of glucocorticoids on the differentiation of human adipocytes precursor cells cultured in a chemically defined serum. *J Clin Invest* 1989b, **84** : 1663-1670

HIRSCH J, KNITTLE JL. Cellularity of obese and nonobese human adipose tissue. *Fed Proc* 1970, **29** : 1516-1521

KLESGES RC, KLESGES LM, HADDOCK CK, ECK LH. A longitudinal analysis of the impact of dietary intake and physical activity on weight change in adults. *Am J Clin Nutr* 1992, **55** : 818-822

KLYDE BJ, HIRSCH J. Increased cellular proliferation in adipose tissue of adult rats fed a high-fat diet. *J Lipid Res* 1979, **20** : 705-715

KNITTLE JL, TIMMERS K, GINSBERG-FELLNER F, BROWN RE, KATZ DP. The growth of adipose tissue in children and adolescents. Cross-sectional and longitudinal studies of adipose cell number and size. *J Clin Invest* 1979, **63** : 239-246

KUBOTA N, TERAUCHI Y, MIKI H, TAMEMOTO H, YAMAUCHI T et coll. PPAR $\gamma$  mediates high-fat diet-induced adipocyte hypertrophy and insulin resistance. *Mol Cell* 1999, **4** : 597-609

MILLER JR WH, FAUST IM, GOLDBERGER AC, HIRSCH J. Effects of severe long-term food deprivation and refeeding on adipose tissue cells in the rat. *Am J Physiol* 1983, **245** : E74-E80

NEGREL R, GAILLARD D, AILHAUD G. Prostacyclin as a potent effector of adipose cell differentiation. *Biochem J* 1989, **257** : 399-405

NIESLER CU, SIDDLE K, PRINS JB. Human preadipocytes display a depot-specific susceptibility to apoptosis. *Diabetes* 1998, **47** : 1365-1368

OHMIYA Y, NAKAI K. Effect of starvation on excretion distribution and metabolism of DDT in mice. *Toboku J Exp Med* 1977, **122** : 143-153

OKUNO A, TAMEMOTO H, TOBE K, UEKI K, MORI Y et coll. Troglitazone increases the number of small adipocytes without the change of white adipose tissue mass in obese Zucker rats. *J Clin Invest* 1998, **101** : 1354-1361

OKUNO M, KAJIWARA K, IMAI S, KOBAYASHI T, HONNA N et coll. Perilla oil prevents the excessive growth of visceral adipose tissue in rats by down-regulating adipocyte differentiation. *J Nutr* 1997, **127** : 1752-1757

OSCAI LB, BROWN MM, MILLER WC. Effect of dietary fat on food intake, growth and body composition in rats. *Growth* 1984, **48** : 415-424

PARRISH CC, PATHY DA, ANGEL A. Dietary fish oils limit adipose tissue hypertrophy in rats. *Metabolism* 1990, **39** : 217-219

- POISSONNET CM, BURDI AR, BOOKSTEIN FL. Growth and development of human adipose tissue during early gestation. *Early Hum Dev* 1983, **8** : 1-11
- ROLLAND-CACHERA MF, DEHEEGER M, BELLISLE F. Increasing prevalence of obesity among 18-year-old males in Sweden : evidence for early determinants. *Acta Paediatr* 1999, **88** : 365-367
- ROMIEU I, WILLETT WC, STAMPFER MJ, COLDITZ GA, SAMPSON L et coll. Energy intake and other determinants of relative weight. *Am J Clin Nutr* 1988, **47** : 406-412
- ROSEN ED, SARRAF P, TROY AE, BRADWIN G, MOORE K et coll. PPAR $\gamma$  is required for the differentiation of adipose tissue *in vivo* and *in vitro*. *Mol Cell* 1999, **4** : 611-617
- SALANS LB, CUSHMAN SW, WEISMANN RE. Studies of human adipose tissue. Adipose cell size and number in nonobese and obese patients. *J Clin Invest* 1973, **52** : 929-941
- SCHUTZ Y, FLATT JP, JEQUIER E. Failure of dietary fat intake to promote fat oxidation : a factor favoring the development of obesity. *Am J Clin Nutr* 1989, **50** : 307-314
- SHILLABEER G, LAU DCW. Regulation of new fat cell formation in rats : the role of dietary fats. *J Lipid Res* 1994, **35** : 592-600
- THOMAS EL, HANRAHAN JD, ALA-KORPELA M, JENKINSON G, AZZOPARDI D et coll. Noninvasive characterization of neonatal adipose tissue by  $^{13}\text{C}$  magnetic resonance spectroscopy. *Lipids* 1997, **32** : 645-651
- TONTONOZ P, HU E, SPIEGELMAN BM. Stimulation of adipogenesis in fibroblasts by PPAR $\gamma$ 2, a lipid-activated transcription factor. *Cell* 1994, **79** : 1147-1156
- TUCKER LA, KANO MJ. Dietary fat and body fat : a multivariate study of 205 adult females. *Am J Clin Nutr* 1992, **56** : 616-622
- VASSAUX G, GAILLARD D, AILHAUD G, NEGREL R. Prostacyclin is a specific effector of adipose cell differentiation : its dual role as a cAMP- and Ca $^{2+}$ - elevating agent. *J Biol Chem* 1992, **267** : 11092-11097
- VON KRIES R, KOLEZTKO B, SAUERWALD T, VON MUTIUS E, BARNERT D et coll. Breast feeding and obesity : cross sectional study. *BMJ* 1999, **319** : 147-156
- WANG H, KIRKLAND JL, HOLLENBERG CH. Varying capacities for replication of rat adipocyte precursor clones and adipose tissue growth. *J Clin Invest* 1989, **83** : 1741-1746
- XU HE, LAMBERT MH, MONTANA VG, PARKS DJ, BLANCHARD SG et coll. Molecular recognition of fatty acids by peroxisome proliferator-activated receptors. *Mol Cell* 1999, **3** : 397-403

# 12

## Physiologie du tissu adipeux brun

La plus grande partie des réserves lipidiques du corps humain est stockée dans le tissu adipeux. Celui-ci est largement distribué dans les territoires sous-cutanés et la région intra-abdominale. Ce tissu est constitué principalement de cellules stockant les triglycérides (ou graisses de réserve) nommées adipocytes.

### Deux types de tissu adipeux chez les mammifères

Si chez l'adulte humain les adipocytes sont tous très semblables, il n'en est pas de même chez le bébé. En effet, au moment de la naissance, une partie des triglycérides est localisée dans des adipocytes particuliers nommés adipocytes bruns, les autres adipocytes étant appelés adipocytes blancs. Ainsi il existe principalement 2 types d'adipocytes chez les mammifères : les blancs et les bruns (Himms-Hagen et Ricquier, 1997).

Les adipocytes blancs sont largement majoritaires chez les adultes et constituent le tissu adipeux blanc. Ces cellules sont caractérisées par une grande et unique vacuole contenant les lipides (graisse uniloculaire). Les adipocytes bruns forment le tissu adipeux brun. Ce tissu est bien connu, anatomiquement et fonctionnellement chez les rongeurs et les animaux hibernants. Cependant, si l'on sait que les adipocytes bruns humains sont identiques aux adipocytes bruns des rongeurs, la distribution anatomique du tissu adipeux brun humain et son rôle physiologique chez le nouveau-né humain sont peu connus (Himms-Hagen et Ricquier, 1997).

A la différence du tissu adipeux blanc, les dépôts de tissu adipeux brun sont richement vascularisés et les adipocytes bruns sont directement innervés par des fibres orthosympathiques. Les adipocytes bruns contiennent plusieurs gouttelettes de graisse (graisse multiloculaire) et sont principalement caractérisés par la présence d'un très grand nombre de mitochondries. Cette simple observation indique que ces cellules ont une forte capacité d'oxydation des substrats que n'ont pas les adipocytes blancs (Nicholls et Locke, 1984).

## **Tissu adipeux brun : un organe thermogénique**

Des travaux effectués chez des rongeurs exposés au froid, des lapins nouveau-nés et des hibernants au cours du réveil ont bien démontré que la fonction du tissu adipeux brun est de produire de la chaleur pour maintenir (ou amener, dans le cas des animaux hibernants) la température du corps à 37°C. Par exemple, la température du sang qui sort du tissu adipeux brun du lapin nouveau-né est nettement plus élevée que celle du sang arrivant dans l'organe. Les adipocytes bruns humains sont morphologiquement identiques aux adipocytes bruns des rongeurs. On peut donc logiquement penser que la fonction du tissu adipeux brun des nouveau-nés humains est de produire de la chaleur et d'assurer une température corporelle normale, en particulier dans les cas où ces nouveau-nés sont exposés à une température basse (Himms-Hagen et Ricquier, 1997 ; Nicholls et Locke, 1984).

## **Thermogenèse, dépense énergétique et régulation du poids corporel**

Le poids corporel dépend de la différence entre les apports d'énergie (c'est à dire l'ingestion d'aliments) et les dépenses d'énergie. Les dépenses énergétiques comprennent le métabolisme de base, la thermogenèse adaptative (aussi appelée thermogenèse régulatrice), et la thermogenèse provoquée par l'exercice. La thermogenèse adaptative est la dépense énergétique provoquée par des changements environnementaux comme le froid, un excès de prise alimentaire, une infection microbienne ou virale. La thermogenèse est effectuée par un certain nombre de processus biochimiques dont les bases moléculaires et génétiques ont été peu analysées. Pour les espèces homéothermes, la régulation de la température corporelle est essentielle. Cette régulation se fait par la mise en jeu de mécanismes de thermolyse ou de thermogenèse. La détection d'une variation de la température externe ou interne déclenche la mise en marche de ces mécanismes de régulation. En dehors de l'exposition au froid ou au chaud, et de l'hibernation (réservée à certaines espèces), il existe de nombreuses situations physiologiques ou pathologiques qui tendent à modifier la température corporelle et mettent en jeu des processus de thermorégulation. Ces situations sont le jeûne, la prise alimentaire, l'exercice physique, l'hypothyroïdisme ou l'hyperthyroïdisme, la prise d'alcool, la présence d'agents infectieux, la présence de phéochromocytome ou de tumeurs malignes, le syndrome d'hypermétabolisme de Luft, l'hyperthermie maligne.

La thermogenèse n'est pas seulement un processus activé ou inhibé selon la situation dans laquelle se trouve l'organisme, c'est aussi une caractéristique des cellules des animaux homéothermes qui fait que leur température corporelle est spontanément proche de la valeur de 37°C même si le corps est

exposé à une température basse. Lorsqu'un mammifère est exposé à la température de neutralité thermique (18-20°C chez l'homme), la chaleur produite correspond au métabolisme de base. La valeur de ce métabolisme standard peut être mesurée directement par la chaleur produite, ou à partir de la consommation d'oxygène. La thermogénèse est un processus résultant du métabolisme en général, et en particulier de l'oxydation des substrats carbonés. Ainsi, un accroissement de la thermogénèse peut indiquer une augmentation de l'oxydation des graisses corporelles. Inversement, une diminution de la thermogénèse peut être due à une faible oxydation des lipides corporels. Ainsi, selon son intensité, la thermogénèse peut favoriser la diminution ou l'augmentation du stock de graisses corporelles. La thermogénèse contribue donc à la régulation du poids (Ricquier, 1985).

### **Mécanisme de production de chaleur par les cellules**

L'ensemble du métabolisme cellulaire génère de la chaleur. Chez un individu adulte au repos qui n'est pas en période de reproduction ou de lactation, toute l'énergie des aliments est perdue sous forme de chaleur via les réactions métaboliques cellulaires. Chez les animaux, l'énergie libre provient de l'oxydation des molécules alimentaires : sucres, graisses et protéines. L'oxydation de ces molécules est couplée à la réduction de certains coenzymes. L'oxydation de ces coenzymes par la chaîne mitochondriale représente un système générateur d'énergie libre sous forme d'un gradient de protons de part et d'autre de la membrane interne mitochondriale. Lorsque les mitochondries respirent, elles utilisent l'énergie du gradient de protons pour synthétiser de l'ATP par phosphorylation (théorie chimio-osmotique de Mitchell). Il y a couplage de la respiration à la synthèse de l'ATP. Cependant, ce couplage est imparfait et ne peut empêcher qu'une partie de l'énergie respiratoire soit perdue sous forme de chaleur (Nicholls et Locke, 1984 ; Klingenberg, 1990 ; Rolfe et Brown, 1997). Par ailleurs, d'autres processus comme la synthèse des protéines, le maintien des gradients membranaires de sodium et de potassium, la contraction musculaire sont couplés à l'hydrolyse de l'ATP et représentent des processus thermogéniques.

### **Mécanisme de production de chaleur par le tissu adipeux brun : importance de la protéine découplante UCP1**

Le frisson thermique génère de la chaleur mais empêche les déplacements et mouvements du corps. La thermogénèse sans frisson (aussi nommée thermogénèse métabolique) produit de la chaleur tout en permettant à l'individu d'utiliser normalement ses muscles. Une grande partie de la thermogénèse sans frisson chez les mammifères de petite taille est faite dans le tissu adipeux brun. On sait que le mécanisme de production de chaleur par les adipocytes bruns résulte d'un découplage particulier de la respiration. En effet, la présence d'un très grand nombre de mitochondries dans les adipocytes bruns leur

permet d'oxyder rapidement des substrats. Le couplage imparfait entre la respiration et la synthèse d'ATP (cf paragraphe précédent) permet donc aux adipocytes bruns de libérer de la chaleur en quantité importante puisque ces cellules oxydent rapidement les substrats. Cependant, ces cellules sont équipées d'une protéine spécifique nommée protéine découplante ou UCP1 (pour uncoupling protein 1). Cette protéine induit un fort découplage de la respiration des adipocytes bruns et leur permet de brûler des graisses et de produire de la chaleur, au lieu de synthétiser de l'ATP. De manière remarquable, cette protéine est régulée au niveau de son activité et de son expression afin de n'être fonctionnelle que lorsqu'il y a un besoin de thermogénèse (Himms-Hagen et Ricquier, 1997 ; Nicholls et Locke, 1984).

Alors que les rôles du tissu adipeux brun et de la protéine découplante mitochondriale UCP dans la thermogénèse induite par le froid chez les rongeurs, ont été bien démontrés (Enerbäck et coll., 1997), la découverte récente de nouvelles protéines de découplage de la respiration en 1997 permet de réexaminer les mécanismes moléculaires de la thermogénèse, leur éventuelle contribution à la genèse des obésités, et surtout leur intérêt pour développer une nouvelle stratégie de recherche de médicaments contre ce type de maladie (Ravussin et coll., 1988 ; Boss et coll., 1997 ; Fleury et coll., 1997 ; Gimeno et coll., 1997 ; Millet et coll., 1997 ; Vidal-Puig et coll., 1997 ; Dong et coll., 1997 ; Solanes et coll., 1997 ; Surwitt et coll., 1997 ; Bouchard et coll., 1997).

### **Intérêts de l'étude du tissu adipeux brun du bébé**

En fait, si la connaissance des mécanismes moléculaires de la thermogénèse des adipocytes bruns est bonne, la question de la distribution précise du tissu dans l'espèce humaine et celle des rôles du tissu dans cette espèce, sont sans réponse. La très forte capacité thermogénique des adipocytes bruns des rongeurs a été établie et il est très raisonnable de penser que les adipocytes bruns humains ont la même capacité à dissiper l'énergie sous forme de chaleur.

Un certain nombre de travaux anciens démontrent que le tissu adipeux brun est abondant chez le bébé et est très rare chez l'adulte humain. UCP1 étant une protéine spécifique des adipocytes bruns, sa détection permet de repérer les adipocytes bruns avec certitude. Toutefois, peu de travaux de caractérisation du tissu adipeux brun humain ont été faits en utilisant ce marqueur (Himms-Hagen et Ricquier, 1997). La localisation des dépôts de graisse brune chez le bébé est grossièrement connue. On peut cependant penser qu'il est important de faire une étude anatomique précise de la distribution des adipocytes bruns du bébé. Une telle étude, qui n'a jamais été faite, permettra aussi d'apprécier la quantité de tissu adipeux brun présente chez le nouveau-né humain.

La question de l'activité exacte du tissu adipeux brun du nouveau-né humain à son métabolisme est plus difficile. Il a été observé que le transfert de bébés de la température d'ambiance de 30°C à une température de 16°C s'accompagne d'un doublement de la consommation d'oxygène et d'une thermogénèse importante dont l'origine pourrait être le tissu adipeux brun (Himms-Hagen et Ricquier, 1997 ; Lean, 1992).

Plusieurs études génétiques basées sur la mesure de la fréquence de divers allèles du gène UCP1, suggèrent que ce gène pourrait contribuer à la régulation du poids corporel humain (Cassard et coll., 1990 ; Opper et coll., 1994 ; Clement et coll., 1996 ; Fumeron et coll., 1996). En fait, la participation directe du tissu adipeux brun des nouveau-nés humains à la thermorégulation n'a pas été vraiment étudiée. Ce travail reste à faire et implique la mise au point de protocoles analytiques ou expérimentaux particuliers (utilisation de sondes thermiques, analyse par RMN...).

**En conclusion**, le tissu adipeux brun est un organe capable de brûler rapidement les graisses et peut s'opposer à leur stockage. Potentiellement, ce tissu a donc un rôle anti-obésité. Outre un probable rôle du tissu adipeux brun dans le contrôle de la température corporelle et la combustion des graisses, quelques travaux récents suggèrent que la thermogénèse du tissu adipeux brun pourrait induire la satiété au niveau cérébral, la fin des prises de repas chez le bébé, et contrôler le rythme des repas (Himms-Hagen, 1995). Ces travaux suggèrent que la diminution de la température centrale induit la demande de nourriture et la prise d'aliment. La prise d'aliments activerait le tissu adipeux brun qui produit de la chaleur. L'augmentation de la température centrale déclencherait la fin de la tétée. De tels travaux doivent être poursuivis. S'ils étaient confirmés, l'importance physiologique du tissu adipeux brun dans l'équilibre énergétique des bébés serait établie.

## BIBLIOGRAPHIE

- BOSS O, SAMEC S, PAOLONI GA, ROSSIER C, DULLOO A, SEYDOUX J et coll. Uncoupling protein-3 : a new member of the mitochondrial carrier family with tissue-specific expression. *Febs Lett* 1997, **408** : 39-42
- BOUCHARD C, PERUSSE L, CHAGNON YC, WARDEN C, RICQUIER D. Linkage between markers in the vicinity of the uncoupling protein 2 gene and resting metabolic rate in humans. *Hum Mol Genet* 1997, **6** : 1887-1889
- CASSARD AM, BOUILLAUD F, MATTEI MG, HENTZ E, RAIMBAULT S et coll. Human uncoupling protein gene : structure, comparison with rat gene, and assignment to the long arm of chromosome 4. *J Cell Biochem* 1990, **43** : 255-264
- CLEMENT K, RUIZ J, CASSARD-DOULCIER AM, BOUILLAUD F, RICQUIER D et coll. Additive effect of A-->G (-3826) variant of the uncoupling protein gene and the Trp64Arg mutation of the beta 3-adrenergic receptor gene on weight gain in morbid obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1996 ; **20** : 1062-6

- ENERBÄCK S, JACOBSSON A, SIMPSON E, GUERRA M, YAMASHITA H et coll. Mice lacking mitochondrial uncoupling protein are cold-sensitive but not obese. *Nature*. 1997, **387** : 90-94
- FLEURY C, NEVEROVA M, COLLINS S, RAIMBAULT S, CHAMPIGNY et coll. Uncoupling protein-2 : a novel gene linked to obesity and hyperinsulinemia. *Nat Genet* 1997, **15** : 269-272
- FUMERON F, DURACK-BROWN I, BETOULLE D, CASSARD-DOULCIER AM, TUZET S et coll. Polymorphisms of the uncoupling protein (UCP) and  $\beta 3$  adrenoceptor genes in obese people submitted to a low calory diet. *Int J obes* 1996, **20** : 1051-54
- GIMENO R, DEMBSKI M, WENG X, DENG N, SHYJAN A et coll. Cloning and characterization of an uncoupling protein homolog. A potential modulator of human thermogenesis *Diabetes* 1997, **46** : 900-906
- GONG DW, HE Y, KARAS M, REITMAN M. Uncoupling protein-3 is a mediator of thermogenesis regulated by thyroid hormone,  $\beta 3$ -adrenergic agonist, and leptin. *J Biol Chem* 1997, **272** : 24129-24132
- HIMMS-HAGEN J, RICQUIER D. Brown adipose tissue. *In* : Handbook of obesity. Bray G, Bouchard C, James WPT, Eds. New York : Marcel Dekker, 1997, 415-441
- HIMMS-HAGEN J. Does thermoregulatory feeding occur in newborn infants ? A novel view of the role of brown adipose tissue thermogenesis in control of food intake. *Obes Res* 1995, **3** : 361-369
- KLINGENBERG M. Mechanism and evolution of the uncoupling protein of brown adipose tissue. *Trends Biochem Sci* 1990, **15** : 108-112
- LEAN MEJ. Brown adipose tissue and obesity. *In* : Obesity : Basic Concepts and Clinical Aspects. Belfiore F, Jeanrenaud B, Papalia D Eds. Basel : Karger, 1992 : 37-49
- MILLET L, VIDAL H, ANDREALLI F, LARROUY D, RIOU JP et coll. Increased uncoupling protein-2 and uncoupling protein-3 mRNA expression during fasting in obese and lean humans. *J Clin Invest* 1997, **100** : 2665-2670
- NICHOLLS DG, LOCKE RM. Thermogenic mechanisms in brown fat. *Physiol Rev* 1984, **64** : 1-64
- OPPERT JM, VOHL MC, CHAGNON M, DIONNE FT, CASSARD DA et coll. DNA polymorphism in the uncoupling protein (UCP) gene and human body fat. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1994, **18** : 526-531
- RAVUSSIN E, LILLIOJA S, KNOWLER W, CHRISTIN L, HOWARD B, BOGARDUS C. Reduced rate of energy expenditure as a risk factor for body-weight gain. *N Engl J Med* 1988, **318** : 467-472
- RICQUIER D. Thermogenèse et obésité. Mécanismes moléculaires. *Méd Sci* 1985, **1** : 147-153
- ROLFE DFS, BROWN GC. Cellular energy utilization and molecular origin of standard metabolic rate in mammals. *Physiol Rev* 1997, **77** : 731-758
- SOLANES G, VIDAL-PUIG A, GRUJIC D, FLIER JS, LOWELL BB. The human uncoupling protein-3 gene : genomic structure, chromosomal localization and genetic basis for short and long transcripts. *J Biol Chem* 1997, **272** : 25433-25436



SURWITRS, WANG S, PETRO AE, SANCHIS D, RAIMBAULT S et coll. Diet-induced changes in uncoupling proteins in obesity-prone and obesity-resistant mouse strains. *Proc Natl Acad Sci* 1998, **95** : 4061-4065

VIDAL-PUIG A, SOLANES G, GRUJIC D, FLIER JS, LOWELL BB. UCP3 : an uncoupling protein homologue expressed preferentially and abundantly in skeletal muscle and brown adipose tissue. *Biochem Biophys Res Commun* 1997, **235** : 79-82

# 13

## Génétique des obésités

Si la progression rapide de l'obésité chez l'enfant est le fait d'une modification récente de facteurs environnementaux, l'existence d'une prédisposition génétique à l'obésité conduit à se poser la question de l'éventuelle utilisation d'un dépistage génétique permettant d'orienter les programmes de santé publique vers les individus à risque. Une évaluation objective des données actuelles de la littérature s'impose d'autant plus qu'il existe souvent, plus particulièrement dans le cas de l'obésité, une médiatisation excessive de résultats scientifiques préliminaires. Dans ce chapitre, nous faisons donc le point sur les arguments en faveur d'une prédisposition génétique à l'obésité, sur les méthodes utilisées pour rechercher les variants génétiques prédisposant à l'obésité, et sur les résultats obtenus à ce jour chez l'homme.

### **Prédisposition génétique à l'obésité : historique et arguments épidémiologiques**

Dans son traité de médecine, Hufeland mentionnait dans sa définition de l'obésité « En général, une disposition congénitale a une grande influence ; ainsi certaines personnes restent maigres malgré la nourriture la plus riche, et d'autres deviennent obèses alors qu'elles sont soumises à restriction » (Hufeland, 1852). Au début du siècle, ce sont les travaux de Davenport (1923) qui montrent que l'obésité a tendance à se concentrer au sein de certaines familles (Davenport, 1923).

Depuis la fin des années 1960, les avancées dans le domaine de l'épidémiologie génétique ont permis de fournir de nouvelles méthodes et stratégies de recherche permettant de définir les bases génétiques de caractères quantitatifs et multifactoriels. Ces études d'épidémiologie génétiques visent donc à quantifier l'importance des ressemblances familiales et d'estimer les contributions relatives des facteurs génétiques et non génétiques pour un caractère d'intérêt (obésité, IMC, masse grasse...). Ces études tentent aussi de déterminer si un trait est influencé par la ségrégation d'un gène à effet majeur ou d'évaluer s'il existe un (ou des) gène(s) pouvant affecter la co-variation entre l'obésité et ses co-morbidités.

Le risque d'obésité en fonction de l'existence d'antécédents familiaux d'obésité est estimé par le coefficient  $\lambda r$  qui peut être défini comme le rapport entre 219

le risque d'être obèse lorsqu'on a un parent biologique obèse et le risque d'obésité dans la population générale. Le calcul de ce risque montre que la prévalence de l'obésité est significativement plus élevée au sein des familles d'individus obèses que dans la population générale (tableau 13.I). Ce risque augmente de façon linéaire avec la sévérité de l'obésité (Allison et coll., 1996a).

**Tableau 13.I : Risque ( $\lambda_r$ ) pour différents degrés d'obésité (d'après Allison et coll., 1996a)**

Seuil centile IMC	$\lambda_r$	Min-Max	$\lambda_r$ sans les données des jumeaux monozygotes
85	2,1	1,5-4,0	1,8
90	2,6	1,7-5,7	2,1
95	4,4	1,6-11,7	3,2

L'augmentation du risque d'obésité, lorsqu'on a un parent obèse, peut être due à la génétique mais aussi à l'environnement familial. Les contributions relatives de l'hérédité et de l'environnement familial sont estimées par les études d'héritabilité. Ces études portent sur des jumeaux monozygotes élevés séparément (Allison et coll., 1996b), sur des enfants adoptés (Stunkard et coll., 1986) ou sur des familles nucléaires (Comuzzie et coll., 1996 ; Rice et coll., 1997 ; Rice et coll., 1996 ; Whitaker et coll., 1997). Selon le type d'études, les valeurs d'héritabilité de l'obésité varient de 10 à 80 % ce qui illustre entre autre leur imprécision méthodologique. Cependant, une revue analytique de la littérature portant sur plus de 100 000 individus retrouve une héritabilité de 50 à 90 % (Maes et coll., 1997).

Enfin, des études manipulant l'alimentation de paires de jumeaux monozygotes pendant quelques semaines ont montré que les différences de réponses entre jumeaux de paires différentes sont plus importantes qu'entre les jumeaux de même génotype (intra-paire) confirmant ainsi que l'hérédité, dans des conditions environnementales définies, intervient dans la prédisposition à la prise de poids (Bouchard et Tremblay, 1997 ; Bouchard et coll., 1996b ; Bouchard et coll., 1990).

### **Prédisposition génétique à l'obésité : combien de gènes, combien de mutations ?**

L'existence d'une prédisposition génétique à l'obésité étant considérée comme acquise, la recherche des variations génétiques responsables de cette prédisposition représente donc désormais l'effort essentiel de la recherche (Barsh et

coll., 2000 ; Comuzzie et Allison, 1998). Les données du problème sont les suivantes : le génome humain comporte 3 milliards de paires de bases dont moins de 10 % codent pour environ 100 000 gènes. A une position donnée, un individu sur 10 000 en moyenne a une séquence différente (allèle). Il existe certaines positions où cette fréquence est plus importante. Ainsi, on estime qu'il existe 250 à 400 000 positions qui diffèrent dans au moins 1 % des individus. A 1/3 de ces positions, cette variation de la séquence d'ADN est présente chez plus de 15 % des individus (allèle fréquent). Parmi les variations présentes dans au moins 1 % des individus, 24 à 40 000 modifient la séquence codante d'un gène (Cargill et coll., 1999).

A priori, plusieurs hypothèses peuvent être envisagées quant à la nature des variations de l'ADN impliquées dans la prédisposition génétique à l'obésité (Barsh et coll., 2000 ; Comuzzie et Allison, 1998).

Cette prédisposition pourrait être, au moins en partie, le fait d'un nombre limité de gènes dans lesquels des variations additionneraient leurs effets. Certaines études de ségrégation familiales de phénotypes liés à l'obésité ont ainsi proposé l'existence d'un à trois déterminants génétiques majeurs qui seraient transmis de manière mendélienne ou non mendélienne. Quelques unes de ces études suggèrent notamment que la masse grasse et l'indice de masse corporelle (IMC) seraient influencés par la présence d'un seul gène (Bouchard et coll., 1996b). Au plan moléculaire, deux méthodes d'analyse sont susceptibles d'impliquer des variants fréquents dans la physiopathologie du trait considéré, les études d'associations et les études de liaison génétique. Depuis l'établissement d'une carte du génome humain, les études de liaisons génétiques peuvent s'intéresser à l'ensemble du génome sans faire d'hypothèse *a priori* sur les gènes impliqués : il s'agit alors d'études de criblage du génome.

La seconde hypothèse serait que la prédisposition génétique à l'obésité peut être liée à des variants rares dans un nombre important de gènes différents. Un cas extrême serait que pour chaque individu obèse non-apparenté, la prédisposition génétique soit le fait d'une mutation différente et que le nombre total de gènes dont une mutation puisse conduire à l'obésité soit supérieur à 100. Ainsi, dans chaque famille, l'obésité devrait être considérée comme une maladie monogénique ayant une expressivité variable, environnement dépendante. Il existe maintenant plusieurs exemples de telles obésités monogéniques mais celles-ci ne représentent ensemble qu'une faible portion de la prédisposition génétique à l'obésité.

La recherche de variants génétique de prédisposition à l'obésité a débuté au milieu des années 80 (Bouchard, 1995). Au plan méthodologique, cette recherche a suivi les progrès technologiques et en particulier l'évolution de la carte du génome humain. Il est donc souvent nécessaire d'analyser le résultat de ces études dans un contexte historique tout autant que scientifique. Ainsi, les premières études d'associations positives ont eu et ont toujours un impact plus important, indépendamment de leur valeur scientifique réelle.

Une association ou une liaison génétique avec un trait relatif à l'obésité ont été retrouvées pour plus de 200 gènes, marqueurs génétiques ou régions chromosomiques. Un rapport mis à jour annuellement résume l'ensemble de ces données de la littérature (Chagnon et coll., 2000). Une mise à jour à plus court terme de ce rapport est accessible sur le site internet <http://www.obesity.chair.ulaval.ca/genemap.html#Top>. Plutôt que de reprendre ici l'ensemble de ces résultats, nous en offrons une revue analytique critique et sélective.

### Etudes de criblage du génome

Ce sont des études de liaisons génétiques qui consistent à étudier la co-ségrégation d'un nombre important de marqueurs régulièrement espacés sur le génome avec un trait qualitatif (obésité) ou quantitatif (IMC) (Comuzzie et Allison, 1998). Elles utilisent des variants génétiques particuliers, très polymorphes tels que les marqueurs microsatellites. Ces travaux ont été rendus possible par la construction d'une carte génétique du génome humain, c'est-à-dire la mise en évidence de nombreux marqueurs génétiques couvrant l'ensemble du génome. Dans ce type d'études, les marqueurs génétiques ne sont donc pas choisis en fonction d'une hypothèse physiopathologique.

De telles études sont utilisées avec succès pour identifier des gènes responsables de maladies monogéniques rares. Dans ce cas, si la maladie est homogène, quelques grandes familles suffisent à localiser le gène responsable avec une précision suffisante. Pour ces études, on utilise des méthodes d'analyses paramétriques classiques de liaison génétique, basées sur l'estimation d'un rapport de vraisemblance de liaison sous l'hypothèse nulle de non liaison (*lod-score*).

Cependant, dans le cas de l'obésité, comme dans de nombreuses autres maladies complexes, la transmission ne se fait pas de manière homogène dans toutes les familles. Dans la mesure où des paramètres comme la fréquence ou la pénétrance du ou des différents gènes de la maladie ne sont pas connus, il est impossible d'utiliser les méthodes classiques de liaison génétique. Un moyen de contourner ces difficultés d'analyses dues à la complexité de la maladie est d'utiliser les méthodes d'analyses non paramétriques de partage d'allèles dans des fratries atteintes. Cette méthode, connue sous le nom d'analyse de *sib-pair*, teste l'hypothèse de liaison en estimant la proportion d'allèles partagés identiques par descendance par des paires de frères et sœurs. Sous l'hypothèse nulle de non liaison, la transmission des allèles d'un marqueur génétique donné, des parents à leurs enfants, se fait au hasard et la moyenne des proportions d'allèles partagés par toutes les paires possibles de germains affectés dans une étude est égale à 0,5. Un excès de partage d'allèles parmi les paires d'affectés (c'est-à-dire une proportion moyenne  $> 0,5$ ) indique une distorsion de la distribution aléatoire due à une liaison génétique entre le marqueur et la maladie. L'avantage essentiel de cette méthode est qu'elle ne nécessite pas d'hypothèses a priori sur les mécanismes génétiques qui jouent un rôle dans le développement

de la maladie. Ces études portent sur plusieurs centaines de fratries dans lesquelles au moins deux individus sont obèses.

Théoriquement, ce type d'études devrait pouvoir localiser sur le génome des gènes connus ou inconnus dans lesquels plusieurs mutations rares ou un variant fréquent prédisposerait au trait considéré. On montre aisément que la détectabilité d'une telle région chromosomique dépend de l'importance qualitative de son implication dans la variation du phénotype et du nombre de familles dans lequel il joue un rôle. Lorsqu'une liaison génétique est observée, cela devrait indiquer la présence, dans la même région chromosomique que le marqueur génétique, d'un gène dont des variations sont impliquées dans le caractère étudié. Le travail de recherche qui consiste à trouver le gène impliqué à partir de sa localisation est le clonage positionnel.

L'un des problèmes de ce type d'étude est la définition du seuil de significativité utilisé pour considérer un résultat comme positif. En effet, ce seuil doit être défini en tenant compte du nombre de tests effectués (nombre de marqueurs génétiques  $\times$  nombre de phénotypes considérés) afin d'éviter la publication de résultats faussement positifs (Lander et Kruglyak, 1995). En pratique, les investigateurs utilisent souvent le seuil de significativité qui permet de rapporter un nombre de résultats convenable.

Enfin, il faut garder en mémoire que lorsque ce type d'étude aboutit à un résultat positif, il indique simplement une liaison statistique. Seul la démonstration de l'existence de variations génétiques causant cette liaison statistique confirme l'implication du gène dans la maladie.

Malgré la description de nombreuses liaisons génétiques entre diverses régions du génome et plusieurs pathologies multifactorielles (diabète de type I, diabète de type II, schizophrénie, alcoolisme), ce type d'études n'a pas encore abouti à la découverte d'un nouveau gène dont une ou des altérations seraient responsables d'une telle maladie.

Les études de criblages systématiques du génome de familles d'obèses, effectuées dans plusieurs populations, sont représentées dans le tableau 13.II. Il ressort clairement de l'analyse combinée de ces études qu'il n'existe pas un petit nombre de gènes majeurs prédisposant à l'obésité de manière homogène dans toutes les populations.

La seule région chromosomique retrouvée dans deux études comme étant liée à un trait biologique en rapport éventuellement avec l'obésité (leptinémie) est localisée sur le chromosome 2p21. Aucun variant génétique expliquant cette liaison génétique n'a été caractérisé à ce jour.

### **Etudes sur gènes candidats, liaisons et associations**

Un « gène candidat » est un gène pour lequel on peut faire l'hypothèse de son implication dans un trait complexe sur la base des connaissances que l'on en a (fonction, expression, rôle dans des modèles animaux....). Si le trait est

**Tableau 13.II : Etudes de criblage systématique du génome de familles d'obèses**

Population	Nombre d'individus	Liaison chromosome	Phénotype
Indiens Pimas (Norman et coll., 1997 et 1998)	874	11q21-22 3p24.2-p22 11q23-24	% masse grasse Dépense d'énergie
Méxicains Américains (Comuzzie et coll., 1997)	> 5000	2p21 8q11.1	Leptinémie
Français (Hager et coll., 1998)	514	10p 2p 5 cen-q	Obésité Leptinémie Leptinémie
Américains (Lee et coll., 1999)	513	20q13	Obésité

raisonnablement bien défini et les voies impliquées sont partiellement connues, on peut postuler que les protéines et donc les gènes qui les codent, sont de bons candidats pour ce trait particulier. Une autre source de gènes candidats potentiels provient des régions de synténie d'animaux ayant un trait pathologique identique à celui que l'on veut étudier chez l'homme. Pour l'obésité, le nombre potentiel de gènes candidats est immense. Ainsi, tous les gènes exprimés dans le tissu adipeux, tous les gènes impliqués dans le métabolisme, tous les gènes impliqués dans l'homéostasie énergétique chez la souris sont des candidats potentiels à un rôle dans l'obésité lorsqu'ils sont défectueux chez l'homme.

Lorsque l'on émet l'hypothèse de l'implication d'un gène particulier dans un trait lié à l'obésité, on dispose de plusieurs méthodes pour tenter de démontrer ce rôle.

On peut tout d'abord rechercher une liaison génétique entre un marqueur génétique de la région chromosomique contenant ce gène et le trait considéré. Le principe en est le même que pour les études de criblage du génome mais restreint à une seule localisation chromosomique. Quarante et une études portant sur trente gènes ont mis en évidence des résultats positifs avec des phénotypes aussi différents que la somme des plis cutanés ou le quotient respiratoire (Chagnon et coll., 2000). Comme pour les études de criblage du génome, lorsqu'une liaison génétique est mise en évidence, celle-ci peut correspondre à l'effet d'un variants fréquent ou à l'effet de multiples variants rares dans le gène considéré. La principale critique que l'on peut apporter à toutes ces études est qu'aucune d'entre elles n'a été confirmée par la mise en évidence d'un ou plusieurs variants causals dans le gène considéré dans la population étudiée.

La deuxième méthode utilisée pour démontrer l'implication d'un gène candidat dans l'obésité est de rechercher des variants fréquents dans ce gène chez un petit nombre d'individus puis de comparer la fréquence des variants, chez des obèses et des individus de poids normal (études cas-témoins). De même, on

peut comparer les valeurs d'un phénotype quantitatif (IMC, masse grasse....) entre les porteurs et les non porteurs d'un variant (études de cohortes). Ce type d'étude est appelé étude d'association. En fait, ces études consistent simplement à considérer la variation de l'ADN à une position donnée comme un trait qualitatif à deux classes (présence ou non du variant) ou à trois classes (homozygote pour un variant, hétérozygote, homozygote pour le second variant). Les variants étudiés peuvent être situés à l'intérieur des gènes (exons, introns) ou dans les régions régulatrices du gène. Les études d'association sont théoriquement susceptibles de détecter l'effet faible d'un variant sur un phénotype dans une population restreinte. Techniquement simples et peu onéreuses ces études se sont multipliées mais présentent souvent de nombreux biais conceptuels ou méthodologiques. Tout d'abord le choix des individus contrôles est critique et peut être une source de biais majeur par un phénomène de stratification (Altshuler et coll., 1998). Un des moyens pour éviter ce biais est d'utiliser comme contrôle des individus provenant des mêmes familles en utilisant des tests particuliers (tel que le TDT, *Transmission Disequilibrium Test*). Ensuite, le nombre de tests effectués pour chacun des variants dépend du nombre de phénotypes collectés. Souvent, le nombre de tests est important et les auteurs ne corrigent pas leurs résultats en conséquence (Altshuler et coll., 1998). D'autre part, il existe pour ces études un biais de publication tendant à rendre plus visible les études positives. Enfin, il est important de considérer le contexte historique de ces études. Les études d'association sont les premières à avoir été employées pour estimer l'implication d'une variation de la séquence d'ADN dans la prédisposition à l'obésité. Les premiers résultats positifs ont donc été amplement médiatisés et référencés dans la littérature scientifique indépendamment de leur valeur réelle.

L'analyse critique de ces études d'association publiées dans la littérature implique donc de se poser, pour chaque gène candidat et pour chaque variant considéré, les questions suivantes :

- Quelle est la valeur réelle des arguments physiopathologiques pour un rôle du gène considéré dans la pathologie ? En particulier, existe-t-il des modèles animaux transgéniques venant à l'appui de cette hypothèse ?
- Le variant considéré modifie-t-il la fonction du gène et si oui, par quels mécanismes ? Aussi étonnant que cela puisse paraître, la plupart des études d'association publiées dans le domaine de l'obésité s'intéressent à des variants génétiques qui ne modifient pas la séquence codante des gènes considérés et pour lesquelles la preuve d'un rôle potentiel n'est pas démontrée.
- Quelle est la population étudiée, comment a été choisie la population contrôle ?
- Combien de phénotypes ont été étudiés ? Lorsque plusieurs phénotypes ont été étudiés, les résultats ont-ils été corrigés ?
- Le plus important est, bien sûr, pour chaque étude positive de vérifier si d'autres travaux confirment les résultats.



Un exemple qui illustre bien certains des problèmes posés par les variants fréquents est celui du polymorphisme W64R (une substitution tryptophan -> arginine au codon 64) du récepteur  $\beta$ -3 adrenergique, un récepteur aux catécholamines dont la principale fonction, chez les rongeurs, est d'activer la thermogénèse dans la graisse brune. L'hypothèse que ce variant puisse altérer la balance énergétique et conduire à une obésité semble, à première vue raisonnable. Cependant, chez l'homme, la graisse brune n'est présente que chez le nouveau-né. D'autre part, le rôle fonctionnel du variant W64R, qui modifie bien la séquence codante du gène, est discuté (Li et coll., 1996 ; Pietri-Rouxel et coll., 1997). Retrospectivement, on comprend donc mieux, qu'après une première étude impliquant ce variant dans la prise de poids chez des patients ayant une obésité morbide (Clement et coll., 1995), plus de quarante études portant sur plus de 7000 patients aient abouti à des résultats très discordants (Chagnon et coll., 2000). En particulier, deux méta-analyses réévaluant l'ensemble des données publiées trouvent une association significative pour l'une et une absence d'association significative pour l'autre, entre le variant W64R et l'obésité (Allison et coll., 1998 ; Fujisawa et coll., 1998).

Au total, quatre-vingt-dix études portant sur quarante-trois variants dans quarante gènes trouvent des associations positives avec divers phénotypes liés à l'obésité (Chagnon et coll., 2000). Trente-cinq études publiées, portant sur vingt-deux de ces variants décrivent des résultats négatifs.

Parmi les études positives, seules vingt-trois, portant sur 6 gènes, s'intéressent à des variants modifiant la séquence codante d'un gène. Dans deux cas seulement, la fonction du variant a été testée avec des résultats contradictoires dans un cas.

En bref, il n'existe pas, pour l'instant, de variant génétique fréquent ayant fait la preuve de sa contribution au déterminisme de l'obésité commune (Barsh et coll., 2000). L'existence même de tels variants reste à démontrer.

### **Formes monogéniques d'obésité**

Sont classées comme telles, les formes d'obésité pour lesquelles des arguments génétiques et/ou moléculaires, démontrent clairement l'implication d'un seul gène dans la maladie. L'existence de telles formes d'obésité confirme le rôle potentiel de la génétique dans cette pathologie mais ce groupe des obésités monogéniques est, en fait, extrêmement hétérogène.

Il comporte tout d'abord les syndromes associant des anomalies du développement et une obésité (tableau 13.III) (Gunay-Aygun et coll., 1997). Dans ces syndromes, l'obésité est souvent au second plan. La co-transmission mendélienne de l'obésité avec les divers anomalies du syndrome démontre son caractère monogénique. La plupart des gènes responsables de ces syndromes n'ont pas encore été caractérisés mais leur localisation chromosomique a été établie et leur clonage positionnel est en cours. La mise en évidence de ces

**Tableau 13.III : Obésités monogéniques associées à des anomalies du développement**

Syndrome	Anomalies associées	Transmission	Gène ou localisation chromosomique
Prader-Willi	Hypotonie musculaire Retard mental Petite taille Hypogonadisme	Autosomique Dominante (empreinte)	15q11 SNRPN
Cubito-mammaire	Anomalies du développement mammaire et des membres supérieurs Retard pubertaire Anomalies dentaires	Autosomique Dominante	12q23-q24.1 TBX3
Bardet-Biedl	Retard mental Rétinite Pigmentaire Polydactylie Hypogonadisme	Autosomique Récessive	5 loci
Cohen	Hypotonie musculaire Retard mental Anomalies faciales	Autosomique Récessive	8q22-q23
Alstrom	Rétinite pigmentaire Surdité Diabète	Autosomique Récessive	2p14-p13

gènes ouvrira probablement de nouvelles perspectives dans la compréhension de la physiopathologie de l'obésité.

Un second sous-groupe d'obésité monogénique comporte les cas pour lesquels la nature des gènes impliqués a été déterminée sur la base d'anomalies endocriniennes associées (tableau 13.IV). Ces obésités sont sévères et débutent dans l'enfance. Elles sont rares et sont toutes récessives. Une des caractéristiques des gènes mutés dans ces obésités est leur implication dans le contrôle

**Tableau 13.IV : Obésités monogéniques associées à des troubles endocriniens**

Gène	Rôle du produit du gène	Symptômes associés à l'obésité	Nombre de cas (Nombre de familles)
LEP ( <i>Leptin</i> )	Défaut de signalisation au cerveau de la masse adipeuse	Hypogonadisme hypogonadotrophique	5 (2) Montague et coll., 1997 ; Strobel et coll., 1998
LEPR ( <i>Leptin receptor</i> )	Défaut de signalisation au cerveau de la masse adipeuse	Hypogonadisme hypogonadotrophique	3 (1) Clement et coll., 1998
POMC ( <i>Pro-opiomelanocortin</i> )	Absence de précurseurs de l'ACTH, de l' $\alpha$ MSH et la $\beta$ endorphine	Insuffisance corticotrope	2 (2) Krude et coll., 1998
PCSK1 ( <i>Protein convertase subtilisin/kexin type1</i> )	Défaut de maturation de la POMC	Hyperproinsulinémie Hypocortisolisme Hypogonadisme hypogonadotrophique	1 (1) Jackson et coll., 1997

pondéral par la leptine. La découverte de ces mutations a donc aussi permis de démontrer l'importance de cette hormone et de ces neuromédiateurs dans la régulation de l'homéostasie énergétique chez l'homme.

Enfin, récemment, des mutations dans le récepteur de type 4 de la mélanocortine ont été identifiées comme causant une obésité commune débutant dans l'enfance (Vaisse et coll., 1998 ; Yeo et coll., 1998). Ces mutations seraient retrouvées chez 2 à 5 % des enfants obèses (Hinney et coll., 1999) et constituent donc la première cause fréquente d'obésité commune. L'étude de la ségrégation de chacun de ces variants et l'étude de l'expressivité des phénotypes liés au métabolisme énergétique chez les porteurs de ces mutations devrait permettre de préciser la place respective de l'environnement dans l'apparition de l'obésité chez ces sujets génétiquement prédisposés.

**En conclusion**, même si l'existence d'une prédisposition génétique à l'obésité semble établie, il n'y a pas actuellement d'élément permettant de prédire quelle en sera la complexité c'est-à-dire de prédire le nombre de gènes impliqués, le nombre de variants dans chacun de ces gènes, leurs effets respectifs et leurs éventuelles interactions. Il n'existe à ce jour qu'un seul gène dans lequel de nombreuses mutations ont été impliquées dans une prédisposition à l'obésité commune chez l'enfant. Ce gène est le gène MC4-R. Il semble que des mutations dans MC4-R soient retrouvées chez 1 à 3 % des enfants obèses. L'hétérogénéité de la fonction de chacune des mutations retrouvées dans ce gène ainsi que la complexité de l'interaction de chacune de ces mutations avec l'environnement pourra éventuellement servir de paradigme à la complexité de la prédisposition génétique à l'obésité. L'utilisation de la génétique comme outil de santé publique est donc, dans le cas de l'obésité, actuellement illusoire.

## BIBLIOGRAPHIE

ALLISON DB, FAITH MS, NATHAN JS. Risch's lambda values for human obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1996a, **20** : 990-999

ALLISON DB, KAPRIO J, KORKEILA M, KOSKENVUO M, NEALE MC, HAYAKAWA, K. The heritability of body mass index among an international sample of monozygotic twins reared apart. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1996b, **20** : 501-506

ALLISON DB, HEO M, FAITH MS, PIETROBELLI A. Meta-analysis of the association of the Trp64Arg polymorphism in the beta3 adrenergic receptor with body mass index. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1998, **22** : 559-566

ALTSHULER D, KRUGLYAK L, LANDER, E. Genetic polymorphisms and disease [letter ; comment] *N Engl J Med* 1998, **338** : 1626

228 BARSH GS, FAROOQI IS, O'RAHILLY S. Genetics of body-weight regulation. *Nature* 2000, **404** : 644-651

- BOUCHARD C, TREMBLAY A, DESPRES JP, NADEAU A, LUPIEN PJ, THERIAULT G, DUSSAULT J, MOORJANI S, PINAULT S, FOURNIER G. The response to long-term overfeeding in identical twins. *N Engl J Med* 1990, **322** : 1477-1482
- BOUCHARD, C. The genetics of obesity : from genetic epidemiology to molecular markers *Mol Med Today* 1995, **1** : 45-50
- BOUCHARD C, RICE T, LEMIEUX S, DESPRES JP, PERUSSE L, RAO DC. Major gene for abdominal visceral fat area in the Quebec Family Study. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1996a, **20** : 420-427
- BOUCHARD C, TREMBLAY A, DESPRES JP, NADEAU A, LUPIEN PJ, MOORJANI S, THERIAULT G, KIM SY. Overfeeding in identical twins : 5-year postoverfeeding results. *Metabolism* 1996b, **45** : 1042-1050
- BOUCHARD C, TREMBLAY A. Genetic influences on the response of body fat and fat distribution to positive and negative energy balances in human identical twins. *J Nutr* 1997, **127** : 943S-947S
- CARGILL M, ALTSHULER D, IRELAND J, SKLAR P, ARDLIE K et coll. Characterization of single-nucleotide polymorphisms in coding regions of human genes. [published erratum appears in *Nat Genet* 1999, **23** : 373] *Nat Genet* 1999, **22** : 231-238
- CHAGNON YC, PERUSSE L, WEISNAGEL SJ, RANKINEN T, BOUCHARD, C. The human obesity gene map : the 1999 update. *Obes Res* 2000, **8** : 89-117
- CLEMENT K, VAISSE C, MANNING BS, BASDEVANT A, GUY-GRAND B et coll. Genetic variation in the beta 3-adrenergic receptor and an increased capacity to gain weight in patients with morbid obesity. *New England J Med* 1995, **333** : 352-354
- CLEMENT K, VAISSE C, LAHLOU N, CABROL S, PELLOUX V et coll. A mutation in the human leptin receptor gene causes obesity and pituitary dysfunction [see comments. *Nature* 1998, **392** : 398-401
- COMUZZIE AG, BLANGERO J, MAHANEY MC, HAFFNER SM, MITCHELL BD et coll. Genetic and environmental correlations among hormone levels and measures of body fat accumulation and topography. *J Clin Endocrinol Metab* 1996, **81** : 597-600
- COMUZZIE AG, HIXSON JE, ALMASY L, MITCHELL BD, MAHANEY MC et coll. A major quantitative trait locus determining serum leptin levels and fat mass is located on human chromosome 2. *Nat Genet* 1997, **15** : 273-276
- COMUZZIE AG, ALLISON DB. The search for human obesity genes. *Science* 1998, **280** : 1374-1377
- DAVENPORT CB. Body build and its inheritance. Carnegie Institution, Washington, 1923
- FUJISAWA T, IKEGAMI H, KAWAGUCHI Y, OGIHARA T. Meta-analysis of the association of Trp64Arg polymorphism of beta 3- adrenergic receptor gene with body mass index. *J Clin Endocrinol Metab* 1998, **83** : 2441-2444
- GUNAY-AYGUN M, CASSIDY SB, NICHOLLS RD. Prader-Willi and other syndromes associated with obesity and mental retardation. *Behav Genet* 1997, **27** : 307-324
- HAGER J, DINA C, FRANCKE S, DUBOIS S, HOUARI M et coll. A genome-wide scan for human obesity genes reveals a major susceptibility locus on chromosome 10. *Nat Genet* 1998, **20** : 304-308

- HINNEY A, SCHMIDT A, NOTTEBOM K, HEIBULT O, BECKER I et coll. Several mutations in the melanocortin-4 receptor gene including a nonsense and a frameshift mutation associated with dominantly inherited obesity in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 1999, **84** : 1483-1486
- HUFELAND CW. *Enchiridion Medicum : Or Manual of the practice of Medicine, the result of fifty years experience, Revised from the 6th German edition*, NELSON R, Ed., William Radde, New York, 1852
- JACKSON RS, CREEMERS JW, OHAGI S, RAFFIN-SANSON ML, SANDERS L et coll. Obesity and impaired prohormone processing associated with mutations in the human prohormone convertase 1 gene. *Nat Genet* 1997, **16** : 303-306
- KRUDE H, BIEBERMANN H, LUCK W, HORN R, BRABANT G, GRUTERS A. Severe early-onset obesity, adrenal insufficiency and red hair pigmentation caused by POMC mutations in humans. *Nat Genet* 1998, **19** : 155-157
- LANDER E, KRUGLYAK L. Genetic dissection of complex traits : guidelines for interpreting and reporting linkage results. *Nat Genet* 1995, **11** : 241-247
- LEE JH, REED DR, LI WD, XU W, JOO EJ et coll. Genome scan for human obesity and linkage to markers in 20q13. *Am J Hum Genet* 1999, **64** : 196-209
- LI LS, LONNQVIST F, LUTHMAN H, ARNER P. Phenotypic characterization of the Trp64Arg polymorphism in the beta 3- adrenergic receptor gene in normal weight and obese subjects. *Diabetologia* 1996, **39** : 857-860
- MAES HH, NEALE MC, EAVES LJ. Genetic and environmental factors in relative body weight and human adiposity. *Behav Genet* 1997, **27** : 325-351
- MONTAGUE CT, FAROOQI IS, WHITEHEAD JP, SOOS MA, RAU H et coll. Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans. *Nature* 1997, **387** : 903-908
- NORMAN RA, THOMPSON DB, FOROUD T, GARVEY WT, BENNETT PH et coll. Genomewide search for genes influencing percent body fat in Pima Indians : suggestive linkage at chromosome 11q21-q22. Pima Diabetes Gene Group. *Am J Hum Genet* 1997, **60** : 166-173
- NORMAN RA, TATARANNI PA, PRATLEY R, THOMPSON DB, HANSON RL et coll. Autosomal genomic scan for loci linked to obesity and energy metabolism in Pima Indians. *Am J Hum Genet* 1998, **62** : 659-668
- PIETRI-ROUXEL F, ST JOHN MANNING B, GROS J, STROSBERG AD. The biochemical effect of the naturally occurring Trp64- > Arg mutation on human beta3-adrenoceptor activity. *Eur J Biochem* 1997, **247** : 1174-1179
- RICE T, DESPRES JP, DAW EW, GAGNON J, BORECKI IB et coll. Familial resemblance for abdominal visceral fat : the HERITAGE family study. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1997, **21** : 1024-1031
- RICE T, PERUSSE L, BOUCHARD C, RAO DC. Familial clustering of abdominal visceral fat and total fat mass : the Quebec Family Study. *Obes Res* 1996, **4** : 253-261
- STROBEL A, ISSAD T, CAMOIN L, OZATA M, STROSBERG AD. A leptin missense mutation associated with hypogonadism and morbid obesity. *Nat Genet* 1998, **18** : 213-215

STUNKARD AJ, SORENSEN TI, HANIS C, TEASDALE TW, CHAKRABORTY R et coll. An adoption study of human obesity. *N Engl J Med* 1986, **314** : 193-198

VAISSE C, CLEMENT K, GUY-GRAND B, FROGUEL P. A frameshift mutation in human MC4R is associated with a dominant form of obesity. *Nat Genet* 1998, **20** : 113-114

WHITAKER RC, WRIGHT JA, PEPE MS, SEIDEL KD, DIETZ WH. Predicting obesity in young adulthood from childhood and parental obesity. *N Engl J Med* 1997, **337** : 869-873

YEO GS, FAROOQI IS, AMINIAN S, HALSALL DJ, STANHOPE RG, O'RAHILLY S. A frameshift mutation in MC4R associated with dominantly inherited human obesity. *Nat Genet* 1998, **20** : 111-112

## 14

## Comportement alimentaire et facteurs nutritionnels précoces

Le développement rapide du nombre d'obèses ne semble pas à l'heure actuelle lié à une modification du patrimoine génomique. Il semblerait découler d'une exacerbation du fonctionnement d'un ensemble de facteurs de régulation qui n'ont pas pu évoluer suffisamment vite pour s'adapter au passage des états de carence alimentaire observés dans la vie des hommes de la préhistoire jusqu'à il y a à peine un siècle, à des états d'abondance et de disponibilité alimentaire tels que nous les vivons actuellement dans nos sociétés évoluées.

Le déséquilibre énergétique positif à l'origine du développement de surpoids résulte non seulement de la quantité et de la qualité des aliments ingérés, mais également d'une importante diminution de l'activité physique liée entre autres aux progrès des moyens de locomotion, mais aussi au développement de modes de vie sédentaire (Martinez-Gonzales et coll., 1999 ; Jebb et Moore, 1999). A ces deux facteurs, il convient d'ajouter les changements de vie et de comportements dans la société actuelle où les interactions entre individus ont considérablement évolué. Le stress du « combat pour la nourriture dans un environnement naturel hostile » de nos ancêtres s'est souvent généralisé et multiplié en stress superficiels et/ou créés artificiellement par l'homme lors du changement de ses conditions de vie. L'impact de ce facteur « stress » est difficile à évaluer avec précision car d'une part, il est difficilement paramétrable et mesurable, et d'autre part, il est éminemment variable et dépendant de la sensibilité de chaque individu. L'ensemble de ces facteurs nutritionnels, environnementaux ou comportementaux, est perçu et intégré par le système nerveux central qui met en œuvre des processus de régulation afin de maintenir l'individu en vie dans les meilleures conditions possibles.

L'intérêt pour cette boîte noire que constitue le cerveau et son rôle dans la régulation du comportement alimentaire s'est manifesté bien avant l'explosion du phénomène « obésité » tel que nous le connaissons à l'heure actuelle. Il y a plus de cinquante ans, Hetherington et Ranson (1940) et Anand et Brobeck (1940) avaient émis l'hypothèse selon laquelle le comportement alimentaire résultait d'une interaction entre deux zones hypothalamiques, le noyau ventromédian et l'hypothalamus latéral. En effet, la lésion électrolytique du noyau ventromédian entraînait hyperphagie et obésité alors que celle de l'hypothalamus latéral induisait inanition et perte de poids. Le noyau

ventromédian était donc considéré comme le centre de la satiété alors que l'hypothalamus latéral était celui de la faim. A partir des années 1970, cette théorie des deux centres duals a été remise en question. De nouveaux noyaux hypothalamiques ont été impliqués dans cette régulation de la prise alimentaire. Ceci concerne en particulier le noyau paraventriculaire hypothalamique, mais aussi les noyaux dorsomédians, arqués et suprachiasmatiques. Les noyaux suprachiasmatiques jouent un rôle bien particulier puisqu'ils sont le siège de l'horloge interne présente dans le système nerveux central et qu'ils sont impliqués dans la régulation des rythmes biologiques et en particulier dans celle des rythmes de la prise alimentaire (Stoynev et Ikonov, 1987). L'ensemble de ces noyaux interagissent entre eux pour former des réseaux complexes de régulation par l'intermédiaire de nombreux médiateurs présents dans les populations neuronales de ces noyaux. Ces neuromédiateurs comprennent à la fois les neurotransmetteurs classiques tels que l'adrénaline, la noradrénaline, la dopamine, la sérotonine et le GABA, mais aussi de nombreux neuropeptides (Morley, 1987). Ces noyaux reçoivent également des informations en provenance d'autres zones du cerveau comme le système limbique ou le tronc cérébral. Ce dernier est en particulier la zone d'arrivée de nombreuses informations provenant de la périphérie et entre autres véhiculée par le nerf vague.

Certaines informations sont liées directement à l'alimentation : le glucose, les acides gras, les acides aminés proviennent de la digestion et de l'absorption des aliments ingérés et induisent la sécrétion d'hormones pancréatiques et intestinales (figure 14.1). D'autres hormones jouant un rôle dans le métabolisme telles que les hormones sexuelles et la leptine, qui est le reflet du stockage de l'énergie ingérée dans le tissu adipeux, sont également des signaux importants. Parallèlement, l'axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien caractérisé par la cascade corticolibérine (CRH) hypothalamique - ACTH - cortisol prend en compte les réactions vis-à-vis des événements liés au stress (figure 14.1). Tous ces facteurs interagissent fortement entre eux et une intégration se fait au niveau hypothalamique. Le résultat de cette intégration conduit au comportement alimentaire.

Les principales données concernant les régulations centrales du comportement alimentaire ont été recueillies à partir de modèles animaux normaux ou obèses. Par ailleurs, elles ont été principalement recueillies sur des animaux adultes. Les données sont rares chez l'homme adulte ou enfant car le liquide céphalo-rachidien qui est le principal moyen d'abord du système nerveux central pour ce qui concerne les neuromédiateurs ne reflète pas avec exactitude ce qui se passe au niveau tissulaire dans les différentes zones du cerveau.



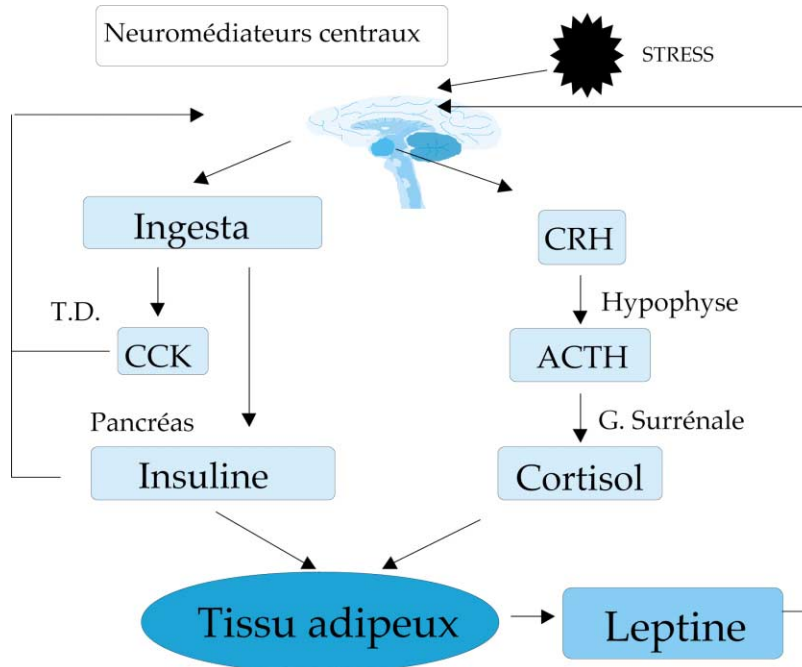


Figure 14.1 : Modèle simplifié des interactions entre périphérie et système nerveux central prenant en compte les aspects nutritionnels et environnementaux pour la régulation du comportement alimentaire. TD : tube digestif

### Stress, axe hypothalamo-surrénalien et comportement alimentaire

Malgré de nombreuses études et en raison de sa complexité, le stress est mal défini en termes de statut neuropeptidergique et d'impact sur la régulation pondérale. Cependant, il est clair que l'hyperactivation de l'axe hypothalamo-surrénalien joue un rôle dans le développement de l'obésité en relation avec d'autres hormones comme l'insuline (Yukimura et coll., 1978 ; Chalew et coll., 1995 ; Tempel et Leibowitz, 1994 ; Strack et coll., 1995). Des études épidémiologiques ont montré que des augmentations modestes de cortisol sont associées avec une augmentation de la prévalence de l'obésité, de l'hypertension et du diabète. D'un point de vue mécanistique, les glucocorticoïdes contrarient l'action de l'insuline : ils inhibent la captation du glucose dans les tissus périphériques et stimulent la production de glucose par la gluconéogenèse hépatique. Ces effets anti-insuline sont généralement compensés par une augmentation de la sécrétion d'insuline pour maintenir la glycémie à un niveau normal. Ils ont un effet trophique sur le tissu adipeux ; ils stimulent la différenciation des préadipocytes en adipocytes en présence d'insuline, ce qui entraîne obésité du tronc (profonde) et hyperlipidémie.

Le caractère pulsatile de la sécrétion de cortisol (maximum le matin et taux plus bas le soir) rend parfois le diagnostic difficile pour différencier syndrome de Cushing, obésité et sujets normaux surtout si on examine des valeurs ponctuelles. Les comparaisons entre taux de cortisol et d'ACTH sont également source de conflit. Cette variabilité des taux peut être réduite par une intégration des valeurs sur 24 h (valeurs de l'aire sous la courbe ; VAC) avec des prises de sang en continu ou très fréquentes. Ces VAC ne sont pas modifiées par l'âge et le sexe chez les sujets normaux. Ce n'est pas le cas chez les obèses. Les enfants obèses ont des VAC plus basses d'un écart type que celle des enfants normaux, mais le cycle nyctéméral n'est pas modifié. Les VAC augmentent avec l'âge chez les obèses et sont multipliées par 2 ou 3 par rapport aux enfants. Chez les enfants obèses, les VAC faibles entraînent une réduction de l'exposition des tissus aux effets anti-insuline du cortisol. En revanche, avec l'âge, l'augmentation de la VAC se surajoute à l'insulinorésistance.

Au niveau central, la corticolibérine ou CRH (*corticotropin-releasing-hormone*) est à l'origine de l'activation de l'axe hypothalamo-surrénalien. Elle est la principale hormone hypothalamique stimulant la libération de l'ACTH hypophysaire qui à son tour stimule la sécrétion de corticostérone des glandes surrénales. Elle est synthétisée en abondance au niveau de neurones du noyau paraventriculaire qui projettent vers la zone externe de l'éminence médiane. Elle est considérée comme le principal médiateur de la réponse au stress. Elle induit des effets anxiogènes chez le rat et son expression dans le noyau paraventriculaire est augmentée après différents types de stress (immobilisation éther, peur...). Ces stimuli ont également des effets au niveau du système à CRH des noyaux de l'amygdale. C'est dans cette zone qu'elle interagit très fortement avec le neuropeptide Y.

L'injection intracérébroventriculaire (ICV) de corticolibérine induit une diminution de la prise alimentaire normale physiologique chez le rat (période nocturne) ou après stimulation par un jeûne, l'insuline ou la noradrénaline (Richard, 1998). Aucun effet n'est observé lorsqu'elle est injectée dans le noyau ventromédian ou l'hypothalamus latéral. Son principal site d'action est le noyau paraventriculaire où son injection inhibe la prise alimentaire stimulée par le NPY, suggérant ainsi qu'elle pourrait inhiber de façon tonique l'action des neuromodulateurs orexigènes. Les récepteurs de type 2 (CRF2) seraient impliqués dans cette inhibition. Des liens existent également entre corticolibérine et interleukines. La corticolibérine pourrait donc jouer un rôle dans l'anorexie observée pendant les phases fébriles de la maladie.

Cependant, ses variations nyctémérales ne sont pas liées à la répartition des repas. Son action pourrait donc se faire dans des conditions où la suppression ou la diminution de la prise de nourriture est associée à un stress. Cette notion a été récemment étendue à tout événement biologiquement significatif. La prise en charge d'un repas en fait partie. La mesure *in vivo* de la libération du CRH dans l'amygdale a permis d'apporter un certain nombre d'éléments en faveur de cette hypothèse (Merali et coll., 1998). En effet, cette libération est

augmentée en période prandiale et postprandiale. Le fait que cette libération puisse se produire à la fois dans des conditions « négatives » pour l'individu (stress d'immobilisation) ou « positives » pour l'individu suggère que la prise d'un repas pourrait être interprétée comme un élément de stress. L'observation du monde animal montre bien que cet événement requiert bien souvent vigilance et/ou agressivité (« *fight for food*<sup>1</sup> »). La sensibilité individuelle à ces événements est également à prendre en compte. Des différences ont ainsi pu être observées entre individus obèses et normaux. Un jeûne de courte durée induit une activation du système à CRH du noyau paraventriculaire chez le rat Zucker obèse alors qu'il est sans effet chez son homologue maigre (Timofeeva et Richard, 1997).

Chez l'homme, à l'heure actuelle, les conditions environnementales dans nos sociétés d'abondance ont pu conduire à l'évolution de cette situation. Un dysfonctionnement de ces mécanismes ne faisant pas la différence entre éléments positifs et négatifs de l'acte alimentaire pourrait donc être associé à des désordres du comportement alimentaire (anorexie, boulimie).

## Neuromodulateurs et prise alimentaire

Le rôle des neurotransmetteurs classiques dans la régulation de la prise de nourriture est bien connu. Les principales drogues développées et commercialisées pour diminuer la consommation de nourriture (dexfenfluramine, sibutramine...) agissent sur les mécanismes sérotoninergiques et/ou catécholaminergiques.

Les neuropeptides et leurs mécanismes d'action constituent de nouvelles cibles thérapeutiques. Ces peptides ont tout d'abord été détectés au niveau du tractus digestif. La cholécystokinine (CCK) et la neurotensine ont été parmi les plus étudiées pour leur action anorexigène (Beck, 1992). Depuis la fin des années 1970 et le début des années 80, bien d'autres neuropeptides ont été mis en évidence (Morley, 1987) dans les noyaux hypothalamiques. Ils peuvent être soit stimulateurs, soit inhibiteurs de la prise de nourriture. Les peptides anorexigènes comprennent la vasopressine, la pro-opiomélanocortine (POMC) et ses molécules dérivées, ainsi que le CART (*Cocaine and Amphetamine Regulated Transcript*) en plus de la corticolibérine et ceux cités ci-dessus (Kristensen et coll., 1998). Les principaux agents orexigènes sont le neuropeptide Y (NPY) et la galanine ainsi que l'hormone de mélanocortine (MCH), l'AgRP (*Agouti-Related Protein*) et les orexines A et B découvertes très récemment (Sakurai et coll., 1998 ; Bittencourt et coll., 1992).

Pour exercer leur action biologique, la plupart de ces neuropeptides utilisent plusieurs types de récepteurs. Ils sont au nombre de 5, voire 6 (dont 4 clonés)

1. combat pour la nourriture.

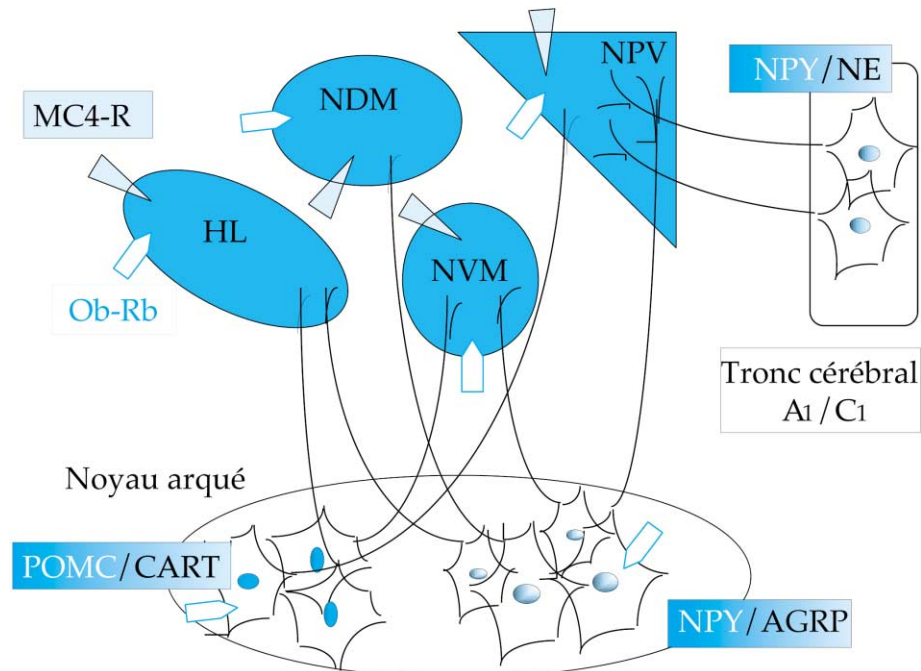
pour le NPY, 3 pour la galanine, 2 pour la neurotensine et la CCK et 5 pour la pro-opiomélanocortine. Tous les types de récepteurs ne sont pas impliqués dans la régulation du comportement alimentaire. Par exemple, seuls les types  $Y_1$  et  $Y_5$  sont activés par le NPY (Inui, 1999), et la voie utilisée par la POMC et ses dérivés est celle médiée principalement par le récepteur de type 4 (MC 4-R) pour la régulation de ce comportement.

### **Neuropeptides orexigènes et réseaux neuronaux**

Le neuropeptide Y (NPY) est sans doute le neuropeptide le plus étudié au cours des 15 dernières années pour son action sur le comportement alimentaire (Stanley, 1993). Il a été découvert en 1984 et a fait l'objet de nombreuses études pour deux raisons principales. D'une part, c'est l'un des peptides les plus abondants présent dans le cerveau, ce qui facilite sa détection. D'autre part, ses effets stimulateurs sur la prise de nourriture lorsqu'il est injecté dans les ventricules cérébraux ou des noyaux hypothalamiques comme l'aire périfornicale, les noyaux paraventriculaires ou ventromédians, sont très puissants même chez des animaux rassasiés. Au niveau hypothalamique, il est principalement synthétisé dans des neurones du noyau arqué. Ceux-ci projettent vers les noyaux paraventriculaires et dorsomédians pour former un réseau purement peptidergique. Le noyau paraventriculaire reçoit également des afférences NPYergiques venant du tronc cérébral où le NPY est colocalisé avec les catécholamines (figure 14.2). Cependant, les mesures des variations du contenu en peptide des noyaux, de l'expression de son ARNm et de sa libération au niveau paraventriculaire ont permis de conclure à la prédominance de l'axe noyau arqué-noyau paraventriculaire pour les effets orexigènes du NPY. Le NPY stimule la prise de nourriture non seulement sur le plan quantitatif mais aussi sur le plan qualitatif. En effet, en situation de choix, il oriente préférentiellement la prise de nourriture vers la consommation de glucides. En retour, ceux-ci permettent de réguler les taux de NPY hypothalamiques à court et long terme (Beck, 1999). A long terme, lorsque les régimes sont denses en énergie, ces niveaux de NPY peuvent être aussi régulés par les lipides apportés par les régimes ingérés.

Parallèlement à ces effets orexigènes, le NPY exerce des effets métaboliques indépendants en inhibant la dépense énergétique et en facilitant le stockage d'énergie dans le tissu adipeux. On a ainsi pu rendre obèse des rats normaux avec des perfusions chroniques de NPY dans les ventricules cérébraux. Des taux élevés de NPY mesurés dans l'hypothalamus de modèles animaux d'obésité comme le rat Zucker contribuent au développement de leur surpoids et de leur hyperphagie. Cependant, l'exemple de la souris ob/ob knock-out pour le NPY qui conserve un surpoids certain montre bien qu'il existe une redondance des circuits cérébraux qui régulent le comportement alimentaire et impliquent de nombreux facteurs.

238 La galanine pourrait être un autre de ces facteurs. Injectée dans les ventricules cérébraux ou dans le noyau paraventriculaire, elle stimule aussi la prise de



**Figure 14.2 : Réseaux neuronaux impliqués dans la régulation du comportement alimentaire.** NPY : neuropeptide Y ; POMC : pro-opiomélanocortine ; CART : *Cocaine and Amphetamine Regulated Transcript* ; AgRP : *Agouti Related Protein* ; NE : norépinéphrine ; Ob-Rb : forme longue du récepteur de la leptine ; MC4-R : récepteur de type 4 de la mélanocortine. En italique, les différentes aires cérébrales : ARC : noyau arqué ; NPV : noyau paraventriculaire ; NDM : noyau dorsomédian ; NVM : noyau ventromédian ; HL : hypothalamus latéral.

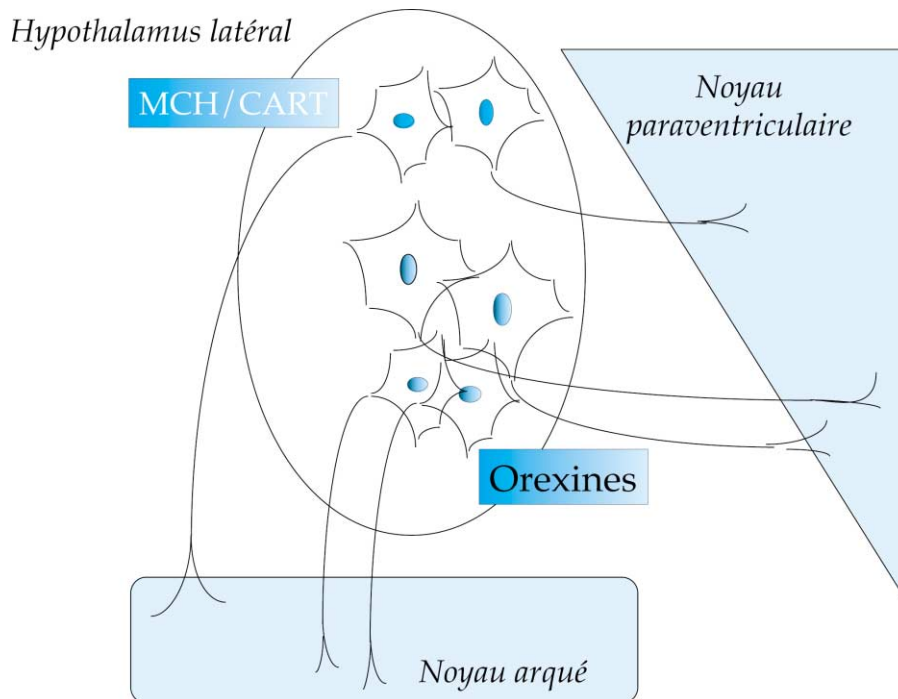
nourriture mais de façon moins importante et sur une période plus courte que le NPY. Elle est synthétisée dans l'hypothalamus au niveau de deux populations neuronales : l'une dans le noyau arqué, l'autre dans le noyau paraventriculaire. Les neurones de ce dernier noyau ont des contacts avec des terminaisons NPYergiques provenant du noyau arqué. C'est cette population de neurones qui semble impliquée dans le comportement alimentaire. La population du noyau arqué, de par les interrelations existant entre galanine et GRF (*Growth Hormone Releasing Factor*) et les projections des neurones vers l'éminence médiane serait plutôt impliquée dans les mécanismes de régulation de l'hormone de croissance.

Un certain nombre de travaux ont montré que la galanine stimule préférentiellement la consommation de lipides (Leibowitz et coll., 1998). Ces travaux ont été discutés et certains chercheurs ont émis l'hypothèse que les préférences nutritionnelles de chaque individu pourraient influencer cette stimulation de la consommation de lipides (Crawley, 1999). Cependant, des travaux

récents ont permis de montrer une très forte association entre la consommation excessive de lipides chez le rat Brattleboro et une surexpression de la galanine au niveau du noyau paraventriculaire de ce rat (Odorizzi et coll., 1999). De même, il a été montré que les rats préférant les lipides ont des taux diminués de galanine dans ce noyau suggérant ainsi l'existence d'une libération accrue du peptide. Ils ont aussi des taux plus élevés de neuropeptide Y dans ce noyau. La préférence nutritionnelle est donc liée à un équilibre entre différents neuropeptides et le noyau paraventriculaire apparaît comme le centre intégrateur de ces peptides.

La découverte de l'AgRP découle directement de l'étude d'un modèle de souris obèse/hyperphage à pelage jaune (Tritos et Maratos-Flier, 1999). Le phénotype de cette souris est dû à l'hyperexpression de la protéine Agouti dans tout l'organisme de cet animal. Elle agit comme un antagoniste naturel au niveau des récepteurs de la mélanocortine ; les récepteurs de type 1 (MC1-R) sont impliqués dans la couleur anormale de ces souris tandis que ceux de type 3 et 4 (MC3-R et MC4-R) le sont dans les dérégulations de la prise alimentaire et le développement de l'obésité. Ceci a été confirmé par l'obtention de souris obèse lorsque l'on procède à une délétion du gène du récepteur de type 4. Ce récepteur s'exprime en quantité importante dans les neurones des noyaux paraventriculaires et dorsomédians ainsi que dans l'hypothalamus latéral. Son principal ligand est l' $\alpha$ MSH et l'injection aiguë d'antagonistes des MC4-R comme le SHU 9119, les HS 104 et HS 024 induisent de fortes augmentations de la prise de nourriture chez des rats rassasiés alors qu'à long terme on assiste aussi à une forte augmentation du poids corporel. Ces résultats indiquent l'existence d'une inhibition tonique de la prise de nourriture relayée par les récepteurs MC4-R. La protéine Agouti n'est pas exprimée dans le cerveau. C'est l'AgRP, une molécule apparentée découverte en 1997, et qui est un antagoniste des MC3-R et MC4-R, qui y est active. Elle est synthétisée dans le noyau arqué et en particulier dans de nombreux neurones synthétisant le NPY. Les neurones à AgRP du noyau arqué projettent vers le noyau paraventriculaire mais aussi vers d'autres sites hypothalamiques et extra-hypothalamiques. AgRP et NPY pourraient donc être co-libérés au niveau des terminaisons nerveuses dans le noyau paraventriculaire (figure 14.2). La fonction de l'AgRP serait donc de lever l'inhibition tonique induite par l' $\alpha$ MSH car l'hyperexpression de cette protéine conduit aussi au développement de l'obésité. Son expression est augmentée par le jeûne.

L'hormone de mélanocortine (MCH) a été découverte en 1983 mais est revenue dans l'actualité après la mise en évidence de ses effets sur le comportement alimentaire en 1996 (Qu et coll., 1996 ; Shimada et coll., 1998). Elle est synthétisée dans une population de neurones de l'hypothalamus latéral et la zone incerta qui projettent entre autres vers l'aire périfornicale et de nombreuses zones extra hypothalamiques (figure 14.3).



**Figure 14.3 : Projections hypothalamiques des neurones de l'hypothalamus latéral synthétisant la MCH (hormone de mélanocortination) et les orexines.**

Par ses effets et ses variations, elle ressemble au NPY à moindre échelle. La stimulation de la prise de nourriture est plus faible et de plus courte durée. Elle n'a pas d'effet sur la prise cumulée de nourriture sur 24 h. A très faible dose, des effets anorexigènes ont même été observés mais ces résultats n'ont pas été confirmés. Le jeûne n'induit qu'une augmentation modérée de son ARNm dans l'hypothalamus latéral. Cette expression est aussi augmentée chez la souris *ob/ob*. Par contre, à l'inverse du NPY, son injection chronique (2 fois/jour pendant 8 jours) n'a pas d'effet sur le poids corporel et on observe une accoutumance après 5 jours où la stimulation de la prise alimentaire pendant les 2 heures suivant l'injection disparaît. Son action pourrait se faire en liaison avec l' $\alpha$ MSH puisque l'injection d'un peptide à des doses 2 à 3 fois supérieures inhibe l'action de l'autre peptide.

Cette action pourrait se rapprocher de celle observée avec l'AgRP et décrite ci-dessus mais les mécanismes restent cependant encore inconnus.

Les orexines A et B appelées aussi hypocretines ont été mises en évidence en 1998 (Sakurai et coll., 1998). Elles constituent une nouvelle famille de peptides impliqués dans le comportement alimentaire. Elles sont synthétisées dans une population de neurones de l'hypothalamus latéral, distincte de celle synthétisant la MCH, dans la partie dorsale de l'hypothalamus et la zone

périorfornicale (figure 14.3). Des projections importantes sont observées dans les noyaux hypothalamiques mais aussi dans le locus cœruleus ou dans le noyau du lit de la strie terminale. Les neurones à orexines de l'hypothalamus latéral ont des contacts synaptiques directs avec les neurones à NPY du noyau arqué.

Les effets orexigènes des orexines sont moins importants que ceux du NPY. Ces effets sont observés pour l'orexine A lorsqu'elle est injectée dans les ventricules cérébraux, dans l'hypothalamus latéral et l'aire périorfornicale. Dans le noyau paraventriculaire, les effets ne sont visibles qu'à plus haute dose. Des effets contradictoires ont été décrits pour l'orexine B.

Au niveau fonctionnel, il existe des différences importantes avec le NPY. Comme pour le NPY, le jeûne induit une augmentation de l'expression des ARNm des orexines mais, une restriction calorique faible, qui n'a aucun effet sur les contenus en NPY, induit une forte diminution de l'orexine A dans l'hypothalamus latéral. De même, les concentrations sont diminuées dans cette zone chez la souris ob/ob. Ces résultats semblent donc indiquer que les orexines constitueraient une première étape dans la réaction de l'organisme lors d'une diminution des apports énergétiques (Beck et Richy, 1999). Une libération accrue d'orexines, en particulier au niveau du noyau arqué grâce aux connexions mentionnées ci-dessus, pourrait permettre d'activer le système à NPY et, par conséquent, déclencher la recherche et la prise de nourriture.

### **Neuropeptides anorexigènes et réseaux neuronaux**

En dehors de la corticolibérine dont les effets ont été décrits ci-dessus, le CART (*Cocaine and Amphetamine Regulated Transcript*) est le plus récent peptide hypothalamique anorexigène découvert puisque ses effets inhibiteurs de la prise alimentaire ont été mis en évidence en 1997/1998 (Kristensen et coll., 1998).

Ce peptide est synthétisé dans le noyau arqué mais aussi dans le noyau paraventriculaire et l'hypothalamus latéral. Les neurones du noyau arqué co-expriment aussi la POMC (figure 14.2). Plusieurs faits expérimentaux, en dehors de sa localisation dans les noyaux hypothalamiques, plaident en faveur de son action anorexigène. L'injection d'anticorps anti-CART stimule la prise de nourriture chez le rat pendant la phase nocturne. L'expression de son ARNm dans le noyau arqué est diminuée par le jeûne et chez les animaux obèses (rat Zucker fa/fa et souris ob/ob). Enfin, son injection centrale inhibe la prise de nourriture stimulée par le NPY. Cet effet pourrait être lié aux terminaisons NPYergiques proche des neurones à CART du noyau paraventriculaire. Le CART pourrait donc jouer un rôle régulateur non négligeable.



### Interactions entre neuropeptides du système nerveux central et hormones périphériques

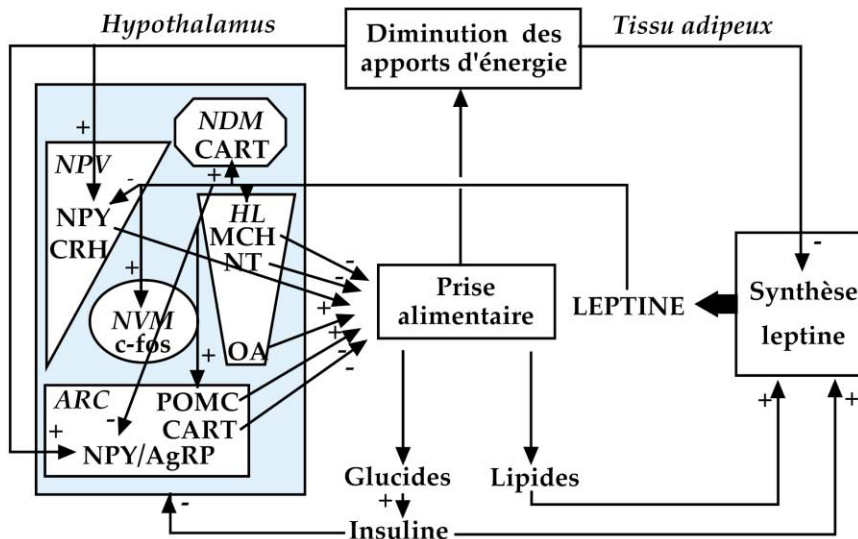
Parmi les paramètres liés aux aspects nutritionnels, l'insuline est une hormone qui interagit de manière importante avec le système nerveux central. Sa sécrétion résulte directement de l'absorption de nourriture et son action inhibitrice en retour sur les systèmes hypothalamiques classiques (dont celui du NPY) a été largement décrit (Schwartz et coll., 1992).

La découverte de la leptine en 1994 a permis de relancer les études sur les relations entre système périphérique et système nerveux central. Elle est sécrétée par le tissu adipeux, en quantité proportionnelle à son importance et reflète donc l'état des réserves énergétiques de l'organisme. Sa physiologie a également fait l'objet de nombreuses revues (Campfield et Smith, 1998 par exemple) de même que ses liens avec le système à NPY (Beck, 1998). Sa production par le tissu adipeux est liée à la composition des régimes ingérés et en particulier à la teneur en lipides (Stricker-Krongrad et coll., 1998). Une étude récente a aussi pu montrer que sous régime hyperlipidique, le niveau de sécrétion de leptine pouvait être prédictif du gain de poids ultérieur (Ahren, 1999).

Ces deux hormones périphériques interagissent avec les systèmes neuropeptidiques centraux grâce à des récepteurs spécifiques localisés principalement sur le noyau arqué mais aussi dans d'autres zones impliquées dans le comportement alimentaire comme le noyau ventromédian ou l'hypothalamus latéral (figure 14.2). Les récepteurs à forme longue de la leptine (Ob-Rb) sont localisés sur des populations distinctes de neurones dans le noyau arqué : l'une synthétise NPY et AgRP et l'autre les dérivés de la POMC ( $\alpha$ MSH surtout) et le CART. Ces relations sont avérées par une diminution des ARNm de la POMC et du CART chez la souris ob/ob déficiente en leptine ou par les conséquences d'un jeûne à l'origine de la chute brutale des taux de leptine. À l'inverse, l'administration de leptine stimule l'expression des ARNm du CART dans le noyau arqué et active ces neurones ainsi que le montre l'expression des gènes précoces comme le c-fos.

Des liens entre leptine et CCK, CRH et neurotensine sont bien établis. Ainsi, l'administration de leptine combinée avec de la CCK d'une part, ou avec de la neurotensine d'autre part, induit une inhibition synergique de la prise alimentaire à très court terme. L'injection ICV de leptine induit une augmentation des contenus hypothalamiques de CRH alors que le blocage du CRH par un antagoniste spécifique (CRH 9-41  $\alpha$ -hélical) s'accompagne d'une diminution des effets anorexigènes de la leptine. La leptine stimule aussi *in vitro* la libération de CRH dans les coupes d'hypothalamus de façon dose-dépendante. Il existe donc une relation entre stress et gestion de l'énergie ingérée et particulièrement avec son stockage dans le tissu adipeux. La leptine produit donc ses effets anorexigènes à la fois en inhibant les circuits stimulateurs et en stimulant les circuits inhibiteurs avec une prise en compte du paramètre stress.

Les principaux peptides et zones hypothalamiques impliqués dans la régulation du comportement alimentaire sont indiqués sur la figure 14.4. L'ensemble forme un réseau extrêmement complexe qui gère l'équilibre entre neuropeptides orexigènes et anorexigènes pour réguler la prise de nourriture tant sur le plan quantitatif que sur le plan qualitatif. Cette multirégulation complexe permet une certaine redondance des circuits afin de pouvoir pallier une déficience dans l'un ou l'autre des mécanismes. Le cerveau est averti du statut nutritionnel de l'individu ainsi que de ses réserves énergétiques par deux messagers principaux, l'insuline et la leptine, qui possèdent des récepteurs hypothalamiques présents sur des populations de neurones distinctes synthétisant et/ou co-synthétisant des neuropeptides différents. Les systèmes hypothalamiques de régulation sont mis en place très tôt dans la vie, ce qui augure bien l'importance qu'ils ont dans le développement de l'individu.



**Figure 14.4 : Schéma simplifié de la régulation neuropeptidergique du comportement alimentaire en liaison avec les hormones périphériques liées à la prise de nourriture.** CRH : corticolibérine ; NT : neurotensine ; OA : orexine A ; autres abréviations, voir les figures 14.2 et 14.3.

### Ontogenèse des neuropeptides, conditions de vie précoces et régulation pondérale

Des études sur l'ontogenèse des neuropeptides ont été faites pour deux des plus importants neuropeptides orexigènes, le NPY et la galanine par des techniques d'immunohistochimie et de mesures radioimmunologiques des contenus cérébraux.

### Ontogénèse des systèmes hypothalamiques orexigènes

Le NPY est détecté dès le 14<sup>ème</sup> jour de la vie fœtale dans le diencéphale et dans le tronc cérébral (Kagotani et coll., 1989). Il apparaît donc en même temps que la somatostatine mais avant la plupart des médiateurs hypothalamiques tels que les catécholamines, la substance P, la corticolibérine, détectées respectivement les 15<sup>ème</sup>, 16<sup>ème</sup> et 17<sup>ème</sup> jours. Il n'est pas détecté avant le 19<sup>ème</sup> jour de la vie fœtale dans le cortex, l'hippocampe et le mésencéphale.

Dans le mésencéphale et le diencéphale, la concentration de NPY augmente rapidement dans les derniers jours de la vie fœtale et les premiers jours après la naissance. Elle est multipliée par 3 entre le 19<sup>ème</sup> jour de la vie fœtale et le jour de la naissance, approchant ainsi celle du rat adulte.

Au niveau hypothalamique, la première apparition de NPY a lieu au 14<sup>ème</sup> jour dans le noyau arqué, dans l'aire hypothalamique dorsolatérale, au 16<sup>ème</sup> jour dans le noyaux paraventriculaires et dorsomédians, et au 18<sup>ème</sup> jour dans le noyau suprachiasmatique. Après la naissance, le nombre de cellules immunoréactives au NPY augmente dans le noyau arqué et dans l'aire hypothalamique dorsolatérale. Les fibres à NPY apparaissent vers le 17<sup>ème</sup> ou le 19<sup>ème</sup> jour de la vie fœtale, tout spécialement dans les noyaux arqués et paraventriculaires. Dans l'aire préoptique et le noyau suprachiasmatique, elles ne sont apparentes qu'après la naissance.

Des études s'appuyant sur les techniques d'hybridation *in situ* et l'autoradiographie ont montré que le profil de développement des récepteurs à NPY est similaire à celui des neurones à NPY (Tong et coll., 1997). Dans la plupart des régions cérébrales, l'apparition des ARN messagers du récepteur Y<sub>1</sub> impliqué dans la régulation du comportement alimentaire survient dès le 14<sup>ème</sup> jour de la vie fœtale. Il augmente et arrive à son plateau après la naissance ; il reste élevé durant 2 semaines et atteint sa concentration définitive à la 3<sup>ème</sup> semaine. Dans l'hypothalamus, le récepteur Y<sub>1</sub> a été détecté le 18<sup>ème</sup> jour de la vie fœtale.

A la naissance, le système NPYergique est presque complètement mature. Cette mise en place précoce suggère que ce neuropeptide joue un rôle important dans le processus de maturation du système nerveux central (Tong et coll., 1997).

La galanine possède un profil de développement tout à fait différent du NPY. Présente uniquement après la naissance, elle est détectée en très petites quantités pour la 1<sup>ère</sup> fois le 2<sup>ème</sup> jour après la naissance dans le noyau paraventriculaire. Une augmentation nette y est observée à 7 jours. Puis ses taux continuent à augmenter jusqu'à 28 jours dans toutes les zones cérébrales pour atteindre l'état observable chez l'animal adulte (Sizer et coll., 1990 ; Giorgi et coll., 1995).

Ainsi, chacun de ces deux peptides possède sa propre période d'apparition au cours du développement du système nerveux central. Le neuropeptide Y apparaît dans la période embryonnaire, et la galanine plus tardivement dans la

période post-natale. Cette observation montre que selon le temps où ils sont actifs, les facteurs externes et environnementaux peuvent ne pas avoir le même effet d'un système à l'autre.

### **Conditions nutritionnelles précoces et systèmes neuropeptidergiques**

Pendant la phase de différenciation neuronale, ces systèmes sont sensibles aux conditions nutritionnelles et métaboliques précoces. En effet, les fœtus sont totalement dépendants de l'alimentation de leur mère. Ceci est aussi valable pendant la période d'allaitement postnatale où la qualité et la quantité du lait maternel dépend des aliments ingérés par la mère. Les déséquilibres nutritionnels peuvent également engendrer des changements hormonaux et en particulier pour les hormones interagissant avec les systèmes hypothalamiques. Ces déséquilibres peuvent être qualitatifs ou quantitatifs.

#### **Aspects qualitatifs**

L'influence de l'équilibre glucido-lipidique du régime maternel a été abordée dans une étude récente (Kozak et coll., 1998). Les mères ont été nourries du début de la gestation jusqu'à la fin de l'allaitement soit avec un régime contrôle équilibré soit avec un régime très riche en lipides (RL) soit avec un régime très riche en glucides (RG). Au sevrage, les petits ont été nourris avec le régime équilibré. Durant la période de gestation, le type de régime n'altère pas la capacité de reproduction chez les rats femelles, ni la durée de gestation. Le nombre de petits par portée et la survie des ratons nés de mères RG ou RL ne sont pas affectés par rapport au groupe contrôle. A la naissance, les petits RG sont cependant plus lourds que les petits contrôle ou RL. La performance maternelle durant la période de lactation a été estimée par la mesure du gain de poids chez les nourrissons. Ils montrent que la performance des mères RL est altérée par rapport au groupe contrôle tandis que la performance des mères RG est comparable à celle des mères contrôles. Cela se traduit par une croissance des ratons RL moins rapide que celle des deux autres groupes jusqu'au sevrage. Ce déficit pondéral est observable jusqu'à l'âge adulte.

La glycémie et l'insulinémie sont gravement perturbées chez les ratons RL nés de mères nourries avec le régime hyperlipidique. La diminution importante du taux plasmatique de ces deux paramètres indiquent l'existence d'un état carencé. Ils pourraient être en partie responsable de la croissance moins forte de ces animaux jusqu'à l'âge adulte. Les concentrations de ces paramètres se normalisent cependant à l'âge adulte après 4 mois d'ingestion d'un régime équilibré mais il est probable que leur fonctionnement n'est pas optimal ainsi que le montre leur déficit pondéral non résorbé. La tendance nette à l'augmentation des triglycérides circulants au sevrage ou à l'âge adulte est un élément supplémentaire en faveur de cette hypothèse.

246 Ces variations des paramètres liés au métabolisme général sont associées à des modifications comportementales mises en évidence lors de tests de choix

alimentaire (Beck, communication personnelle). Les rats « contrôle » montrent une préférence sensible pour les glucides au sevrage. C'est une situation classique déjà décrite dans la littérature. Elle diminue légèrement jusqu'à l'âge adulte. Chez les rats nés de mères nourries avec des régimes déséquilibrés, l'apparition de cette préférence est décalée dans le temps. Ce décalage est plus important pour les rats RL que pour les rats RG. En effet, un délai supplémentaire de 30 jours au moins est nécessaire à l'installation de cette préférence pour les glucides chez les rats RL. Ces modifications de préférences alimentaires pourraient avoir des répercussions à la fois utiles et néfastes pour un animal placé dans un milieu où existe une certaine diversité alimentaire. D'une part, elles pourraient constituer une adaptation au « stress » nutritionnel précoce en permettant à l'animal d'orienter ses choix vers des sources d'énergie plus riche pour compenser son retard de croissance et améliorer son état métabolique. D'autre part, dans une finalité opposée, ces choix vers des aliments riches en énergie pourraient amplifier les désordres observés et conduire à des troubles plus graves (obésité, problèmes cardiovasculaires, diabète). Seule une expérimentation à long terme sur des rats RG et RL placés en situation de choix permettrait de détecter si cette adaptation est plutôt positive ou négative.

Les neuropeptides hypothalamiques, NPY et galanine, mesurés dans cette expérimentation ne varient pas significativement dans les noyaux arqués et paraventriculaires au sevrage. Cette absence de variation ne permet cependant pas d'affirmer que ces peptides fonctionnent normalement dans ces deux noyaux. Une étude dynamique de la libération extra-cellulaire de peptides grâce à la technique de microdialyse/push-pull ou la mesure des sites récepteurs devrait apporter des indications précieuses concernant leurs rôles dans ces zones.

Les seuls changements importants sont observés dans le noyau ventromédian chez les animaux au sevrage. Une augmentation globale des concentrations est détectée pour le NPY et la galanine (Kozak et coll., 1998). Les taux se normalisent à l'âge adulte mais le fonctionnement du système à NPY reste perturbé. En effet, lors des tests de stimulation de la prise alimentaire par le NPY exogène, on constate une diminution de la sensibilité des rats RG par rapport aux rats contrôle, mais avec une réponse maximale comparable dans les deux groupes. A l'inverse, les rats RL ont sensibilité nettement plus élevée au NPY avec une réponse maximale obtenue dès la plus petite dose injectée. Cependant, le niveau maximum de cette réponse est très inférieure à celle des deux autres groupes et n'évolue plus avec des injections de doses plus élevées (Beck, communication personnelle).

Le dernier point intéressant à souligner dans cette expérimentation est la baisse des taux de galanine dans l'éminence médiane des rats RL. Il est peu probable que cela joue un rôle dans les choix alimentaires mais cette diminution pourrait jouer un rôle dans le déficit pondéral car la galanine et l'hormone de croissance sont impliquées dans des systèmes de régulation étroitement liés.

Parallèlement à ces effets métaboliques, les régimes hyperlipidiques ingérés pendant les périodes de fin de gestation et d'allaitement ont un impact sur l'axe hypothalamo-surrénalien des petits après le sevrage (Trottier et coll., 1998). La sécrétion d'ACTH en situation de stress est ainsi plus élevée que chez des petits nés de mères nourries avec un régime contrôle. Le déséquilibre alimentaire pendant ces périodes précoces est donc aussi à l'origine de perturbations dans la perception de l'environnement qui peuvent amplifier les désordres métaboliques.

Cette expérimentation a permis de montrer que les conditions nutritionnelles précoces ont des répercussions à long terme sur les systèmes hypothalamiques et hormonaux associés. Placés dans des conditions de vie non idéales, les individus ayant ces perturbations voient leurs systèmes de régulation pondérale altérés.

### **Aspects quantitatifs**

Différentes études ont montré qu'une suralimentation pendant les premiers temps après la naissance induite chez le rat en diminuant la taille des portées entraîne pendant toute la vie une hyperphagie et une obésité qui sont associées à des modifications des systèmes neuropeptidergiques (Plagemann et coll., 1992a, 1998a et b ; 1999a, b et c ; Heidel et coll., 1999, Voits et coll., 1996). Les études des systèmes centraux ont principalement comparé l'importance des populations de neurones synthétisant les neuromédiateurs entre rats normaux (portée de 10 ratons) et rats suralimentés jusqu'au sevrage (portée de 3 ratons). Ces données morphologiques devront cependant être confirmées par des analyses plus fines de contenus et de l'expression des peptides.

Les premiers signes d'obésité des ratons suralimentés dès la naissance sont associés à une diminution du nombre des neurones à CCK dans le noyau paraventriculaire (Plagemann et coll., 1998a). Ces animaux présentent également une absence de réaction aux effets anorexigènes de faibles doses de CCK injectées intrapéritonéalement (Voits et coll., 1996). La suralimentation précoce est aussi associée à une augmentation du nombre des neurones à galanine dans les noyaux paraventriculaires et arqués (Plagemann et coll., 1999a et b) corrélée au poids corporel et à l'insulinémie. Une augmentation de la population des neurones à NPY a également été détectée sans changement des concentrations locales (Plagemann et coll., 1999c). Parallèlement, on a pu constater chez les rats obèses une plus grande inhibition par le NPY des neurones du noyau ventromédian qui signalent la satiété (Heidel et coll., 1999). Des modifications des neurotransmetteurs classiques (catécholamines, dopamine) sont également observées (Plagemann et coll., 1998b).

L'ensemble de ces données indique qu'une suralimentation néonatale s'accompagne de variations importantes des populations neuronales synthétisant les différents neuromédiateurs centraux. Elle est associée au développement d'une obésité à l'âge adulte.

## **Perturbations métaboliques périnatales et systèmes neuro-peptidergiques**

Les différentes études publiées dans la littérature se sont surtout intéressées à l'insuline. Des troubles métaboliques chez la mère pendant la gestation tels que diabète ou hyperinsulinisme sont aussi annonciateurs du développement d'obésité pour la descendance (Plagemann et coll., 1992b, 1997 ; Dorner et Plagemann, 1994). Là aussi, des augmentations du nombre de neurones à NPY et galanin sont observées au sevrage dans le noyau arqué des petits nés de ces mères métaboliquement perturbées (Plagemann et coll., 1998c, 1999d). Ces modifications contribuent à la dysrégulation du comportement alimentaire et de la régulation pondérale plus tard à l'âge adulte.

**En conclusion**, en raison de la multiplicité des neuromodulateurs impliqués et de la redondance des circuits neuronaux activés dans la détermination du comportement alimentaire, le traitement des hyperphagies, et de l'obésité qui en découle, ne pourra plus se faire en ciblant spécifiquement un neuropeptide ou un neurotransmetteur à l'aide de drogues antagonistes. Comme dans le cas du SIDA, la mise en place d'une multithérapie apparaît comme la meilleure solution pour obtenir des effets significatifs et durables dans le temps. Ces traitements longs et donc coûteux, pourraient être plus efficaces en privilégiant la prévention pendant les phases précoces de la vie (gestation, prime enfance), lorsque ces circuits se mettent en place au niveau central. Un bon équilibre, à la fois sur le plan nutritionnel et environnemental (émotionnel) devrait permettre une optimisation du fonctionnement de ces divers circuits cérébraux. La détermination des conditions de cet équilibre apparaît comme un challenge pour la recherche future dans ce domaine.

## **BIBLIOGRAPHIE**

- AHREN B. Plasma leptin and insulin in C57Bl/6J mice on a high-fat diet : relation to subsequent changes in body weight. *Acta Physiol Scand* 1999, **165** : 233-240
- ANAND BK, BROBECK JR. Hypothalamic control of food intake in rats and cats. *Yale. J Biol Med* 1940, **24** : 123-140
- BECK B. Cholecystokinin, neurotensin and corticotropin-releasing factor - 3 important anorexic peptides. *Ann Endocrinol* 1992, **53** : 44-56
- BECK B. Neuropeptide Y, insuline, leptine et contrôle de la masse grasse. *In* : La masse grasse - Aspects physiopathologiques. B MESSING, MS BILLAUX, Eds, Arnette Editions : Vélizy-Villacoublay, 1998 : 37-52
- BECK B. Quantitative and macronutrient-related regulation of hypothalamic neuropeptide Y, galanin and neurotensin. *In* : Neural and metabolic control of macronutrient intake. Berthoud HR, Seeley RJ, Eds CRC Press : Boca Raton (USA), 1999 : 461-470

BECK B, RICHY S. Hypothalamic hypocretin/orexin and neuropeptide Y : Divergent interaction with energy depletion and leptin. *Biochem Biophys Res Comm* 1999, **258** : 119-122

BITTENCOURT JC, PRESSE F, ARIAS C, PETO C, VAUGHAN J et coll. The melanin concentrating hormone system of the rat brain : an immuno- and hybridization histochemical characterization. *J Comp Neurol* 1992, **319** : 218-245

CAMPFIELD LA, SMITH FJ. Overview : neurobiology of OB protein (leptin). *Proc Nutr Soc* 1998, **57** : 429-440

CHALEW S, NAGEL H, SHORE S. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis in obesity. *Obes Res* 1995, **3** : 371-382

CONE RD. Le système de la mélanocortine centrale et son rôle dans l'homéostasie énergétique. *Ann Endocrinol* 1999, **60** : 3-9

CRAWLEY JN. The role of galanin in feeding behavior. *Neuropeptides* 1999, **33** : 369-375

DORNER G, PLAGEMANN A. Perinatal hyperinsulinism as possible predisposing factor for diabetes mellitus, obesity and enhanced cardiovascular risk in later life. *Horm Metab Res* 1994, **26** : 213-221

GIORGI S, FORLONI G, BALDI G, CONSOLO S. Gene expression and in vitro release of galanin in rat hypothalamus during development. *Eur J Neurosci* 1995, **7** : 944-950

HEIDEL E, PLAGEMANN A, DAVIDOWA H. Increased response to NPY of hypothalamic VMN neurons in postnatally overfed juvenile rats. *Neuroreport* 1999, **10** : 1827-1831

HETHERINGTON AW, RANSON SW. Hypothalamic lesions and adiposity in the rat. *Anat Rec* 1940, **78** : 149-172

INUI A. Neuropeptide Y feeding receptors : are multiple subtypes involved ? *Trends Pharmacol Sci* 1999, **20** : 43-46

JEBB SA, MOORE MS. Contribution of a sedentary lifestyle and inactivity to the etiology of overweight and obesity : current evidence and research issues. *Med Sci Sports Exerc* 1999, **31** : S534-S541

KAGOTANI Y, HASHIMOTO T, TSURUO Y, KAWANO H, DAIKOKU S, CHIHARA K. Development of the neuronal system containing neuropeptide Y in the rat hypothalamus. *Int J Develop Neurosci* 1989, **7** : 359-374

KOZAK R, MERCER JG, BURLET A, MOAR KM, BURLET C, BECK B. Hypothalamic neuropeptide Y content and mRNA expression in weanling rats subjected to dietary manipulations during fetal and neonatal life. *Regulat Pept* 1998, **75** : 397-402

KRISTENSEN P, JUDGE ME, THIM L, RIBEL U, CHRISTJANSEN KN et coll. Hypothalamic CART is a new anorectic peptide regulated by leptin. *Nature* 1998, **393** : 72-76

LEIBOWITZ SE, AKABAYASHI A, WANG JA. Obesity on a high-fat diet : Role of hypothalamic galanin in neurons of the anterior paraventricular nucleus projecting to the median eminence. *J Neurosci* 1998, **18** : 2709-2719

MARTINEZ-GONZALEZ MA, MARTINEZ JA, HU FB, GIBNEY MJ, KEARNEY J. Physical inactivity, sedentary lifestyle and obesity in the European Union. *Int J Obes* 1999, **23** : 1192-1201



- MERALI Z, MCINTOSH J, KENT P, MICHAUD D, ANISMAN H. Aversive and appetitive events evoke the release of corticotropin-releasing hormone and bombesin-like peptides at the central nucleus of the amygdala. *J Neurosci* 1998, **18** : 4758-4766
- MORLEY JE. Neuropeptide regulation of appetite and weight. *Endocr Rev* 1987, **8** : 256-287
- ODORIZZI M, MAX JP, TANKOSIC P, BURLET C, BURLET A. Dietary preferences of Brattleboro rats correlated with an overexpression of galanin in the hypothalamus. *Eur J Neurosci* 1999, **11** : 3005-3014
- PLAGEMANN A, HEIDRICH I, GOTZ F, ROHDE W, DORNER G. Obesity and enhanced diabetes and cardiovascular risk in adult rats due to early postnatal overfeeding. *Exp Clin Endocrinol* 1992a, **99** : 154-158
- PLAGEMANN A, HEIDRICH I, ROHDE W, GOTZ F, DORNER G. Hyperinsulinism during differentiation of the hypothalamus is a diabetogenic and obesity risk factor in rats. *Neuroendocrinol Lett* 1992b, **14** : 373-378
- PLAGEMANN A, HARDER T, KOHLHOFF R, ROHDE W, DORNER G. Overweight and obesity in infants of mothers with long-term insulin-dependent diabetes or gestational diabetes. *Int J Obes* 1997, **21** : 451-456
- PLAGEMANN A, RAKE A, HARDER T, MELCHIOR K, ROHDE W, DORNER G. Reduction of cholecystokinin-8S-neurons in the paraventricular hypothalamic nucleus of neonatally overfed weanling rats. *Neurosci Lett* 1998a, **258** : 13-16
- PLAGEMANN A, HARDER T, LINDNER R, RAKE A, JANERT U et coll. Catecholamines and tyrosine hydroxylase expression in the hypothalamus of neonatally overnourished weanling rats. *Biogenic Amines* 1998b, **14** : 273-291
- PLAGEMANN A, HARDER T, RAKE A, MELCHIOR K, RITTEL F et coll. Hypothalamic insulin and neuropeptide Y in the offspring of gestational diabetic mother rats. *Neuroreport* 1998c, **9** : 4069-4073
- PLAGEMANN A, HARDER R, RAKE A, MELCHIOR K, ROHDE W, DORNER G. Increased number of galanin-neurons in the paraventricular hypothalamic nucleus of neonatally overfed weanling rats. *Brain Res* 1999a, **818** : 160-163
- PLAGEMANN A, HARDER T, RAKE A, VOITS M, FINK H et coll. Perinatal elevation of hypothalamic insulin, acquired malformation of hypothalamic galaninergic neurons, and syndrome X-like alterations in adulthood of neonatally overfed rats. *Brain Res* 1999b, **836** : 146-155
- PLAGEMANN A, HARDER T, RAKE A, WAAS T, MELCHIOR K et coll. Observations on the orexigenic hypothalamic neuropeptide Y-system in neonatally overfed weanling rats. *J Neuroendocrinol* 1999c, **11** : 541-546
- PLAGEMANN A, HARDER T, MELCHIOR K, RAKE A, ROHDE W, DORNER G. Elevation of hypothalamic neuropeptide Y-neurons in adult offspring of diabetic mother rats. *Neuroreport* 1999d, **10** : 3211-3216
- QU DQ, LUDWIG DS, GAMMELTOFT S, PIPER M, PELLEYMOUNTER MA et coll. A role for melanin-concentrating hormone in the central regulation of feeding behaviour. *Nature* 1996, **380** : 243-247
- RICHARD D. Le rôle du système à corticolibérine dans la régulation du bilan d'énergie. *Med Sci* 1998, **14** : 877-888

- SAKURAI T, AMEMIYA A, ISHII M, MATSUZAKI I, CHEMELLI RM et coll. Orexins and orexin receptors : A family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior. *Cell* 1998, **92** : 573-585
- SCHWARTZ MW, FIGLEWICZ DP, BASKIN DG, WOODS SC, PORTE DJR. Insulin in the brain - a hormonal regulator of energy balance. *Endocr Rev* 1992, **13** : 387-414
- SHIMADA M, TRITOS NA, LOWELL BB, FLIER LS, MARATOSFLIER E. Mice lacking melanin-concentrating hormone are hypophagic and lean. *Nature* 1998, **396** : 670-674
- SIZER AR, RÖKAEUS A, FOSTER GA. Analysis of the ontogeny of galanin in the rat central nervous system bt immunochemistry and radioimmunoassay. *Int J Develop Neurosci* 1990, **8** : 81-97
- STANLEY BG. Neuropeptide Y in multiple hypothalamic sites controls eating behavior, endocrine, and autonomic systems for body energy balance. In : *Biology of Neuropeptide Y and Related Peptides*. Eds. COLMERS WF, WAHLESTEDT C. Humana Press Inc : Totowa (USA), 1993 : 457-509
- STOYNEV AG, IKONOMOV OC. Circadian regulation of feeding in rats : suprachiasmatic versus ventromedial hypothalamic nuclei. *Appetite* 1987, **9** : 217-229
- STRACK AM, SEBASTIAN RJ, SCHWARTZ MW, DALLMAN MF. Glucocorticoids and insulin : Reciprocal signals for energy balance. *Am J Physiol* 1995, **37** : R142-R149
- STRICKER-KRONGRAD A, CUMIN F, BURLET C, BECK B. Hypothalamic neuropeptide Y and plasma leptin after long-term high-fat feeding in the rat. *Neurosci Lett* 1998, **254** : 157-160
- TEMPEL DL, LEIBOWITZ SF. Adrenal steroid receptors : interactions with brain neuropeptide systems in relation to nutrient intake and metabolism. *J Neuroendocrinol* 1994, **6** : 479-501
- TIMOFEEVA E, RICHARD D. Functional activation of CRH neurons and expression of the genes encoding CRH and its receptors in food-deprived lean (Fa/?) and obese (fa/fa) Zucker rats. *Neuroendocrinology* 1997, **66** : 327-340
- TONG YA, DUMONT Y, SHEN SH, QUIRION R. Comparative developmental profile of the neuropeptide Y Y-1 receptor gene and protein in the rat brain. *Mol Brain Res* 1997, **48** : 323-332
- TRITOS NA, MARATOS-FLIER E. Two important systems in energy homeostasis : melanocortins and melanin-concentrating hormone. *Neuropeptides* 1999, **33** : 339-349
- TROTTIER G, KOSKI KG, BRUN T, TOUFEXIS DJ, RICHARD D, WALKER CD. Increased fat intake during lactation modifies hypothalamic-pituitary-adrenal responsiveness in developing rat pups : A possible role for leptin. *Endocrinology* 1998, **139** : 3704-3711
- VOITS M, FORSTER S, RODEL S, VOIGT JP, PLAGEMANN A, FINK H. Obesity induced by unspecific early postnatal overfeeding in male and female rats : hypophagic effect of CCK-8S. *Naunyn - Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1996, **354** : 374-378
- YUKIMURA Y, BRAY GA, WOLFSSEN AR. Some effects of adrenalectomy in the fatty rat. *Endocrinology* 1978, **103** : 1924-1928