

UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNOLOGIES DE LILLE

ECOLE DOCTORALE « BIOLOGIE ET SANTE »
De Lille-Nord de France

N° d'ordre : 40452

Année 2010

Conséquences d'une dénutrition maternelle périnatale
sur la mise en place de l'axe hypothalamo-adipocytaire
chez le rat mâle : focus sur la leptine

THESE DE DOCTORAT

*Présentée
et soutenue publiquement par*

Fabien DELAHAYE

Le 30 novembre 2010 devant le jury ci-dessous

Président	Pr Bastide Bruno, Université des sciences et technologies de Lille
Rapporteurs	Dr Abdennebi-Najar Latifa, Institut Polytechnique la Salle de Beauvais Pr Bado André, INSERM, Paris
Examineurs	Pr Junien Claudine, INRA, Jouy en Josas Pr Mathias Paulo, Université de Maringa, Brésil
Directeur	Pr Vieau Didier, Université des sciences et technologies de Lille
Co-directeur	Pr Breton Christophe, Université des sciences et technologies de Lille

Un grand nombre d'études épidémiologiques et expérimentales indique qu'une malnutrition périnatale sensibilise au développement, à l'âge adulte, de pathologies telles que le diabète de type 2, l'hypertension ou encore l'obésité, toutes trois regroupées sous le terme de syndrome métabolique. Ces pathologies sont associées à une altération de l'équilibre entre prise alimentaire et dépense énergétique suggérant que les systèmes de régulations impliqués dans cet équilibre se mettent en place durant la période périnatale qui constitue un moment clef de la programmation.

L'axe hypothalamo-adipocytaire, constitué du système nerveux central et du tissu adipeux, joue un rôle majeur dans le contrôle du métabolisme. En effet, ces deux tissus vont, via leur interlocuteur privilégié la leptine, être capables de réguler à la fois la prise alimentaire et la dépense énergétique. Ainsi, même si des altérations de cet axe ont été décrites dans différents modèles expérimentaux de pathologies métaboliques chez l'adulte, peu de travaux ont porté sur les conséquences de stress périnataux sur la mise en place de l'axe hypothalamo-adipocytaire chez le nouveau-né, au moment où sont appliquées les perturbations.

Nous avons entrepris, en ciblant nos travaux sur la leptine, d'analyser les conséquences d'une dénutrition maternelle périnatale de 50% (modèle FR50) sur la mise en place de cet axe hypothalamo-adipocytaire chez le raton nouveau-né de la naissance au sevrage.

Les animaux témoins présentent un pic de leptine autour de la deuxième semaine de vie qui est fortement réduit chez les ratons FR50. Cette diminution est associée à une altération des connexions hypothalamiques des neurones à POMC, le précurseur de l' α -MSH un puissant peptide anorexigène. La réduction des taux de leptine chez le nouveau-né est accompagnée d'une diminution des concentrations de leptine dans le plasma des mères et dans le lait, ce qui montre que la période de lactation et le statut nutritionnel de la mère jouent un rôle capital dans les mécanismes de programmation. En périphérie, les animaux issus de mères dénutries présentent un changement transitoire de phénotype du tissu adipeux blanc périgonadique, avec l'apparition d'un phénotype de type brun se caractérisant, en particulier, par la présence d'adipocytes multiloculaires, et la surproduction de la protéine découplante UCP1. L'ensemble de nos travaux indique que la dénutrition maternelle périnatale modifie la mise en place de l'axe hypothalamo-adipocytaire et que la période de lactation constitue une période clé pour la programmation de mécanismes impliqués dans le contrôle du métabolisme énergétique.

La thèse a été pour moi un réel épanouissement tant sur le plan scientifique que personnel, il m'est alors très difficile de trouver les mots justes pour remercier tout ceux qui m'ont accompagnés au cours de cette aventure. J'espère donc que chacun trouvera dans ces quelques lignes le reflet de toute ma considération et de ma sympathie.

Ma première pensée va à Didier, véritable pilier sans qui cette thèse n'aurait aucun sens. Tu as su me faire confiance et m'insuffler un peu de cette passion qui te caractérise tant. Toujours disponible et à l'écoute, tu as su me guider sans m'étouffer et pour tout cela, je tiens à te témoigner toute ma gratitude et mon respect le plus profond. J'aimerais aussi que tu retrouves ici tout le plaisir que j'ai eu à discuter, « hypothétiser » et même élucubrer avec toi dans des moments où je m'égarais. Une nouvelle fois, si j'en suis là aujourd'hui c'est grâce à toi, ainsi avec simplicité et sincérité Merci.

Mon cher Christophe, tu as su être là aux différents moments clefs de ma thèse et tu es resté disponible tout au long de ces trois années. Tu sais à quel point j'ai apprécié travailler avec toi et je ne peux que regretter cette distance qui s'est lentement insinuée entre nous rendant nos échanges plus rares mais toujours aussi constructifs et réjouissants. Je tenais également à te remercier pour ces moments de simplicités et de légèretés que nous avons partagés qui ont oxygénés mes journées.

J'aimerais adresser une affection particulière à Christine, pour ta disponibilité, ta sincérité et ton intérêt. Tu es notre « maman du labo » et sincèrement c'est un titre que tu mérites amplement, j'ai toujours pu compter sur toi et tu as su être à l'écoute de mes problèmes scientifiques et personnels, pour tout ça un grand merci. Merci pour tout ce que tu m'as apporté et sur l'œil nouveau que tu as su conserver et me faire partager à l'égard de mes travaux.

Isabelle, malgré tous nos différents (trapèze ou pyramide, utilité d'un kangoo) saches que tu as compté énormément durant ma thèse et que je t'estime profondément. C'est avec grand plaisir que je me suis associé à certains de tes travaux et que j'ai pu faire mes armes en immuno ! Mon plus grand regret est de ne pas être musicien et d'ainsi n'avoir pu répondre positivement à toutes tes tractations ! Un grand merci pour ta considération et ta bienveillance.

Jean merci pour ta bonne humeur, ta disponibilité et l'intérêt que tu m'as témoigné au cours de ces années.

Anne, Valérie, Capucine et Geoffrey membres émérites de la « Dream Team », un grand merci pour vos petits coups de pouce si précieux, votre disponibilité et votre gentillesse.

Ma vie au labo n'aurait pu être ce qu'elle a été sans mes chers confrères Ouma, Marie-Amélie, Sylvain et JS qui je l'espère n'auront pas besoin de ces quelques lignes pour savoir à quel point, ils ont été incontournables dans cette thèse.

Ouma, les mots me manquent pour exprimer tout ce que tu m'as apporté pendant ma thèse. J'aurai envie de dire que ce silence veut en dire long mais les silences ce n'est pas ton truc donc je vais tenter de développer. Tu as su faire de chaque jour une nouvelle aventure toujours plus palpitante, de chaque café un régal et de chaque moment une évidence. Sans toi cette thèse n'aurait pas eu le même goût ni la même couleur. MERCI.

Marie-Amélie, merci pour toutes tes délicates attentions et ta disponibilité. Nous avons su au cours de ces années nous découvrir, nous apprécier, nous épauler dans les moments pas toujours évidents qui font partie prenante de la thèse. Nous avons également eu nos désaccords mais cela n'enlève en rien au plaisir de t'avoir eu à mes côtés durant ces années.

Sylvain, mon cher colocataire, merci de m'avoir supporté pendant ces années. Sache que j'ai beaucoup apprécié et appris de nos longues conversations. J'ai beaucoup d'estime pour toi et pour le thésard passionné que tu es.

JS, sache que j'ai été honoré d'être ton « mini-tuteur » et que cette année à collaborer avec toi a été un réel plaisir pour moi. J'espère avoir su te passer le flambeau de la meilleure manière qui soit. Je suis certain que la poursuite du projet est entre de bonnes mains.

Une petite attention à l'équipe Q-PCR, merci Isabelle pour ta chaleur et ta gentillesse. Manue, tu as su m'inculquer les bases de la Q-PCR, j'ai pris un réel plaisir à travailler avec

toi et je suis honoré et très heureux que nous ayons pu dépasser le cadre du travail. C'est avec grand plaisir que j'ai pu partager ta vie de famille.

Une nouvelle fois un grand merci à toute cette équipe qui m'a permis d'avancer au cours de ces années. J'aimerais également porter une attention particulière à toutes ces personnes « étrangères » au labo qui ont su m'épauler au cours de ce long périple (pas si long que ça en fait...).

Sophie, je ne pense pas pouvoir dire que tu as été hors du labo durant ces années tant cette thèse est imprégnée de ta chaleur, de ton écoute et de ta compréhension. Tu as toujours été là pour moi, tu as su me conseiller et me motiver. Tu connais toute l'estime que j'ai pour toi et j'espère sincèrement avoir pu t'apporter tout autant de réconfort que tu ne l'as fait pendant cette étape qu'est la thèse. MERCI.

Sylvie, Olivier, Caro et Matthieu merci pour tous ces moments (souvent culinaires) que nous avons partagés.

Maman, Papa, Christel, Cédric, David, Yori, Yaelle et Elodie que dire de cette famille formidable, sans qui rien de tout ça n'aurait été possible. Merci, ce mot qui m'est si cher me semble ici trop peu pour exprimer toute ma reconnaissance face à tout ce que vous m'apportez au quotidien et à votre soutien.

Publications

1 - Delahaye F, Breton C, Risold PY, Enache M, Dutriez-Casteloot I, Laborie C, Lesage J, Vieau D. Maternal perinatal undernutrition drastically reduces postnatal leptin surge and affects the development of arcuate nucleus proopiomelanocortin neurons in neonatal male rat pups. *Endocrinology* 149:470-475, 2008.

2 - Delahaye F, Lukaszewski MA, Cisse O, Dutriez-Casteloot I, Montel V, Dickes-Coopman A, Laborie C, Lesage J, Breton C, Vieau D. Maternal perinatal undernutrition programs a “brown-like” phenotype of gonadal white fat in male rat at weaning. *The journal American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 299, R101-10, 2010.

3- Breton C, Lukaszewski MA, Risold PY, Enache M, Guillemot J, Rivière G, **Delahaye F**, Lesage J, Dutriez-Casteloot I, Laborie C, Vieau D. Maternal prenatal undernutrition alters the response of POMC neurons to energy status variation in adult male rat offspring. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 296:E462-E472, 2009.

Communication orale

Delahaye F. Impact de la dénutrition maternelle périnatale sur la mise en place de l'axe hypothalamo-adipocytaire chez le rat mâle, 9^{ème} journée André Verbert, Lille, 2009.

Communications affichées

Delahaye F, Breton C, Risold PY, Enache M, Dutriez-Casteloot I, Laborie C, Lesage J and Vieau D. Maternal perinatal undernutrition impedes postnatal leptine surge and affects the development of arcuate nucleus POMC neurons in neonatal male rats. 11^{ème} Journée Scientifique du réseau LARC-Neurosciences le 12 octobre 2007, Rennes.

Delahaye F, Lukaszewski MA, Watez JS, Cisse O, Dutriez-Casteloot I, Laborie C, Lesage J, Breton C and Vieau D. Maternal perinatal undernutrition programs a “brown-like” phenotype of gonadal white fat in male rat at weaning. The 7th International Congress of Neuroendocrinology - icn2010, du 11 au 16 juillet, Rouen.

Delahaye F, Lukaszewski MA, Watez JS, Cisse O, Dutriez-Casteloot I, Laborie C, Lesage J, Breton C and Vieau D. Maternal perinatal undernutrition programs a “brown-like” phenotype

of gonadal white fat in male rat at weaning. First E.G.I.D. symposium "Diabetes research breakthroughs : the vintage 2010", 13 octobre 2010, Lille.

Prix

Premier prix de la meilleure communication orale à la 9^{ème} journée André Verbert.

INTRODUCTION.....	19
I-1) Données historiques	21
I-2) Comment définir le syndrome métabolique ?	23
I-3) Le syndrome métabolique: un problème à l'échelle mondiale	23
II – La « programmation » du syndrome métabolique.....	29
II-1) La programmation génique	29
II-2) La programmation développementale.....	29
II-2-1) Le retard de croissance intra-utérin	29
II-2-2) L'hypothèse de Barker.....	31
II-2-3) RCIU et programmation de l'hypertension	34
II-2-4) RCIU et programmation du diabète de type 2	34
II-2-5) RCIU et programmation de l'obésité.....	35
II-3) Mécanismes de programmation fœtale	36
II-3-1) Perturbations périnatales et programmation endocrinienne	37
II-3-1-1) L'axe somatotrope	37
II-3-1-1-1) Le fonctionnement	37
II-3-1-1-2) Mise en place de l'axe.....	37
II-3-1-1-3) Altérations de l'axe somatotrope et leurs conséquences.....	39
II-3-1-2) L'axe corticotrope	41
II-3-1-2-1) Le fonctionnement	41
II-3-1-2-2) Mise en place	42
II-3-1-2-3) Les altérations de l'axe corticotrope et leurs conséquences	43
II-3-1-3) Les axes thyroïdienne et gonadotrope.....	51
II-3-2) La programmation épigénétique	53
II-3-3) Les fenêtres de programmation	54
II-3-4) Les modèles animaux de programmation.....	55
III – Les principaux acteurs du contrôle de l'homéostasie énergétique : focus sur la prise alimentaire	59
III-1) Rôle du système nerveux central	59
III-1-1) Le noyau arqué	61
III-1-1-1) Rôle	61
III-1-1-2) Les signaux orexigènes	62
III-1-1-2-1) Le neuropeptide Y	62
III-1-1-2-2) L'agouti related peptide.....	65
III-1-1-2-3) La galanine	65
III-1-1-2-4) Le glutamate et le γ -aminobutyric acid.....	66
III-1-1-3) Les signaux anorexigènes	66
III-1-1-3-1) α -Melanocyte Stimulating Hormone.....	66
III-1-1-3-2) Cocaine and Amphetamine Regulated Transcript	67
III-1-2) Le noyau ventromédian	67
III-1-3) L'aire hypothalamique latérale.....	68
III-1-3-1) Le rôle	68
III-1-3-2) Les signaux orexigènes	68
III-1-3-2-1) Melanin-Concentrating Hormone.....	68
III-1-3-2-2) Les hypocrétines	70
III-1-4) Le noyau dorsomédian	70
III-1-5) Le noyau paraventriculaire.....	71
III-1-6) Le noyau suprachiasmatique	71
III-1-7) Le tronc cérébral.....	71

III-2) Rôle des signaux périphériques	73
III-2-1) La ghréline.....	73
III-2-2) Le peptide YY	73
III-2-3) La cholécystokinine.....	74
III-2-4) Le Glucagon like peptide-1	74
III-2-5) L'insuline	75
III-2-6) La leptine.....	77
III-3) Focus sur le tissu adipeux	79
III-3-1) Les différents types de tissu adipeux.....	81
III-3-2) Tissus adipeux blancs <i>versus</i> tissu adipeux brun : une nouvelle piste anti-obésité ?.....	82
IV - La leptine hormone clef des programmations périnatales	85
IV-1) Au niveau central.....	85
IV-2) Au sein du tissu adipeux.....	87
Objectifs	89
Article 1.....	93
I- Conclusion générale	97
I-1) Mise en place du réseau impliqué dans le contrôle de la prise alimentaire.....	97
I-2) Conséquences de la dénutrition maternelle périnatale	98
I-3) Implication potentielle de la leptine	102
II - Travaux complémentaires	104
II-1) MATERIELS ET METHODES	104
II-1-1) Animaux et traitements.....	104
II-1-2) Coupes histologiques de l'intestin et coloration.....	106
II-1-3) Dosages plasmatiques de leptine	107
II-1-4) Etude de la perméabilité membranaire	108
II-1-5) Etude microscopique	108
II-1-6) Analyses statistiques	108
II-2) Résultats	109
II-2-1) Etude de l'absorption intestinale	109
II-2-1-1) Histologie	109
II-2-1-2) Perméabilité membranaire intestinale	111
II-2-2) Analyse des taux plasmatique de leptine chez les mères.....	115
II-2-3) Analyse des taux de leptine dans le lait maternel.....	115
II-2-4) Conséquences des adoptions croisées.....	117
II-2-4-1) Evolution de la prise de poids	117
II-2-4-2) Evolution des taux plasmatiques de leptine	117
II-2-1) Sources de leptine en période post-natale précoce	118
II-2-1-1) La leptine endogène	118
II-2-1-2) La leptine exogène	118
II-2-2) Causes de la chute des taux plasmatiques observée chez les animaux FR50.	119
II-2-1-1) Diminution de la production endogène	119
II-2-1-2) Diminution du passage de la leptine via la barrière intestinale.....	120
II-2-1-3) Diminution de l'apport via la lactation.....	122
II-2-1-4) Origine du pic.....	123
II-2-3) Les adoptions croisées un moyen de restaurer le pic de leptine ?	125
Article 2.....	131
I - Conclusion générale	135
I-1) Conséquences sur le phénotype du tissu adipeux.....	135
I-2) Conséquences sur la fonction endocrine du tissu adipeux	141

DISCUSSION	145
I- L'axe hypothalamo-adipocytaire	147
II - La leptine pourrait-elle exercer un effet de programmation en périphérie ?.....	151
III - Existe-t-il d'autres facteurs hormonaux impliqués dans la programmation ?	155
References	159

AACE	American Association of Clinical Endocrinologists
ACTH	Hormone Adrénocorticotrope
ADH	Hormone Antidiurétique
AGRP	Agouti-Related Peptide
AHL	Aire Hypothalamique Latérale
α-MSH	α -Melanocyte Stimulating Hormone
AVP	Arginine Vasopressine
BHE	Barrière Hémato-Encéphalique
CBG	Corticosteroid Binding Globulin
CCK	Cholécystokinine
CLIP	Corticotropin-Like Intermediary lobe Peptide
CART	Cocaine and amphetamine regulated transcript
CNTF	Ciliary Neurotrophic Factor
CRH	Corticotropin Releasing Hormone
D1/D2	5' Désiodases de type ½
EGIR	European Group for the study of Insulin Resistance
FITC	Isothiocyanate de Fluoresceine
GABA	Acide γ -Aminobutyrique
GLP-1	Glucagon-Like Peptide 1
GH	Growth Hormone
GH-RH	Growth Hormone-Releasing Hormone
GnRH	Gonadotropin Releasing Hormone
IDF	International Diabetes Federation
IGF-1	Insuline-like Growth Factor 1
IGFBPs	Insulin Growth Factor Binding Proteins
KO	Knock-Out, gène inactivé par recombinaison homologue

LH	Luteinizing Hormone
MC3-R/MC4-R	Récepteurs des mélanocortines
MCH	Melanin-Concentrating Hormone
MCH-1R/MCH-2R	Melanin-Concentrating Hormone receptors 1 et 2
NA	Noyau Arqué
NCEP ATPIII	National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III
NDM	Noyau Dorsomedian
NPV	Noyau Paraventriculaire
NPY	Neuropeptide Y
NTS	Noyau du Tractus Solitaire
NVM	Noyau Ventromedian
Ob-R	Récepteur de la leptine
11-β-HSD1/2	11β-Hydroxysteroid Dehydrogenase de type 1/2
PC1/2	Prohormone Convertase 1/2
POMC	Proopiomélanocortine
PPAR-α	Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-α
RCEU	Retard de Coissance Extra Utérin
RCIU	Retard de Croissance Intra-Utérin
SM	Syndrome Métabolique
SNC	Système Nerveux Central
SRIH	Somatostatine
TRH	Thyrotropin Releasing Hormone
TSH	Thyroid Stimulating Hormone
UCP1	Uncoupling Protein 1
WHO	World Health Organisation

Tableau 1	critères d'appartenance au syndrome métabolique selon les différents organismes
Figure 1	prévalence de l'obésité parmi la population adulte des Etats-Unis de 1985 à 2005
Figure 2	prévalence de l'obésité selon les données du WHO entre 2005 et 2015
Figure 3	prévalence du diabète de type 2 (en millions d'individus) en 2000 avec une projection pour 2030 et l'évolution en pourcentage
Figure 4	courbe de croissance durant la gestation
Figure 5	concept de programmation foétale selon l'hypothèse de Barker
Figure 6	représentation schématique de l'axe somatotrope
Figure 7	représentation schématique de l'axe corticotrope
Figure 8	le modèle FR50
Figure 9	altérations de l'axe corticotrope chez les rats mâles issus de mères ayant subi une restriction calorique périnatale globale de 50%
Figure 10	équilibre entre dépense énergétique et prise de poids à la base du métabolisme et principaux facteurs orexigènes et anorexigènes impliqués
Figure 11	principales interconnexions impliquées dans la régulation de la prise alimentaire dans le système nerveux central
Figure 12	principales afférences périphériques contrôlant la prise alimentaire
Figure 13	les différentes isoformes du récepteur de la leptine Ob/R
Figure 14	les différents types d'adipocytes
Figure 15	action de la leptine au niveau du noyau arqué et sur la mise en place des connexions hypothalamiques impliquées dans le contrôle de l'homéostasie énergétique
Figure 16	observations par microscopie à fluorescence du passage intracellulaire du Dextran-FITC au niveau du duodénum des animaux Témoins et FR50 à PND10
Figure 17	mesure de la perméabilité au Dextran-FITC au niveau du duodénum par fluorimétrie dans le plasma des rats Témoins et FR50 à PND10
Figure 18	mesure de la perméabilité à la leptine humaine par dosage ELISA dans le plasma des rats Témoins et FR50 à PND10
Figure 19	dosage ELISA de la leptine dans le plasma des mères pendant la lactation

- Figure 20** dosage ELISA de la leptine dans le lait des mères pendant la lactation
- Figure 21** évolution de la masse pondérale au cours de la période post-natale précoce au sein des quatre groupes expérimentaux.
- Figure 22** dosage de la leptine plasmatique par ELISA à PND10, PND21 et PND30 au sein des quatre groupes expérimentaux.
- Figure 23** protocole d'injections du BRDU pour suivre l'évolution du tissu adipeux chez les animaux FR50
- Figure 24** étude de l'expression de la forme longue du récepteur à la leptine (Ob-Rb) dans différents tissus par PCR-semiquantitative chez le raton témoin âgé de 10 jour
- Figure 25** dosage ELISA des concentrations plasmatiques d'insuline dans les groupes FR50 et Témoins à différents stades du développement
- Figure 26** dosage ELISA des concentrations plasmatiques d'apeline dans les groupes FR50 et Témoins à différents stades du développement

Introduction

I - Le syndrome métabolique : un problème majeur de santé publique

I-1) Données historiques

Diabète de type 2, hypertension ou encore obésité sont des termes malheureusement de plus en plus d'actualité. Cet « engouement » s'appuie sur des faits réels inquiétants comme la progression constante de ces pathologies touchant une population de plus en plus jeune. Conscient de l'impact d'une telle propension, un grand nombre de slogans « anti-obésité », visant à enrayer la croissance de ces pathologies, a vu le jour. Ces trois désordres métaboliques font partie de ce que l'on appelle aujourd'hui le syndrome métabolique (SM), également dénommé syndrome X. Ce syndrome, qui regroupe diverses altérations métaboliques, représente une des premières causes de mortalité au niveau mondial. Il a, pour la première fois, été énoncé par Reaven en 1988 pour décrire une relation de cause à effet entre la résistance à l'insuline, l'hypertension, le diabète de type 2 et les maladies cardiovasculaires. Cependant, il ne fut pas précurseur d'une telle relation puisque dès les années 1920, des liens ont été établis entre hypertension et diabète de type 2 (pour revue Nilsson, 2001), puis entre obésité, hypertriglycéridémie et hypertension (pour revue Albrink *et al.*, 1980) ; chacune de ces différentes pathologies représentant alors un facteur de risques vis à vis de celles qui lui étaient associées. Néanmoins, le SM reste un concept difficilement appréhendable avec de nombreuses manifestations pathologiques différant selon l'individu touché, présentant des signes cliniques hétérogènes, fruits d'influences génétiques et environnementales diverses, amenant ambiguïtés et controverses.

WHO, 1998	EGIR, 1999	NCEP:ATPIII, 2001	AACE, 2003	IDF, 2006
<p>Insulinémie élevée, altération de la réponse au glucose suite à un jeûne ou intolérance au glucose et deux des critères suivants :</p> <p>Obésité abdominale : tour de hanche > 0,9, IMC \geq30 kg/m², taille >94 cm</p> <p>Bilan lipidiques : triglycérides >150 mg/dl, HDL-C<35mg/dl</p> <p>Pression artérielle > 140/90 mm Hg</p>	<p>Insulinémie supérieure à 25% en réponse à un jeûne par rapport à la moyenne d'individus non diabétiques et deux des critères suivants :</p> <p>Taille \geq94 cm pour les hommes, \geq80 cm pour les femmes</p> <p>Triglycérides > 2,0 mmol/l, HDL-C< 1,0 mg/dl</p> <p>Pression artérielle > 140/90 mm Hg ou sous traitement antihypertension</p> <p>Glycémie à jeun \geq6,1 mmol/l</p>	<p>Trois ou plus des critères suivants :</p> <p>Taille \geq102 cm pour les hommes, \geq89 cm pour les femmes</p> <p>Triglycérides >150 mg/dl</p> <p>HDL-C<40mg/dl pour les hommes, <50mg/dl pour les femmes</p> <p>HDL-C<40mg/dl pour les hommes, <50mg/dl pour les femmes</p> <p>Pression artérielle > 130/85 mm Hg</p> <p>Pression artérielle > 130/85 mm Hg</p> <p>Glycémie à jeun \geq110 mg/dl</p>	<p>Intolérance au glucose et deux des critères suivants :</p> <p>Triglycérides >150 mg/dl</p> <p>HDL-C<40mg/dl pour les hommes, <50mg/dl pour les femmes</p> <p>Pression artérielle > 130/85 mm Hg</p>	<p>Obésité avec des critères spécifiques selon l'ethnie et deux des critères suivants :</p> <p>Triglycérides >150 mg/dl</p> <p>HDL-C<40mg/dl pour les hommes, <50mg/dl pour les femmes</p> <p>Pression artérielle > 130/85 mm Hg</p> <p>Glycémie à jeun \geq100 mg/dl</p>

Tableau 1 : critères d'appartenance au syndrome métabolique selon les différents organismes

I-2) Comment définir le syndrome métabolique ?

Dans ce contexte, l'établissement d'une unique définition de ce syndrome semble illusoire, et c'est pourquoi le SM est défini de manière hétérogène selon cinq organismes faisant référence en la matière (tableau 1). La première définition officielle du SM a été donnée par la World Health Organization (WHO) en 1998. Etaient alors considérés comme atteints d'un syndrome métabolique, les individus qui présentaient une hyperinsulinémie, une intolérance au glucose et deux caractéristiques parmi les suivantes : une obésité abdominale, une dyslipidémie ou une hypertension. Par la suite, se sont succédées 4 autres définitions du groupe européen d'étude de la résistance à l'insuline (European Group for the study of Insulin Resistance [EGIR]), du National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III (NCEP :ATPIII), de l'American Association of Clinical Endocrinologists (AACE) et de l'International Diabetes Federation (IDF). C'est la définition du NCEP : ATPIII, en 2001, qui a permis une utilisation répandue du terme de SM. Elle s'appuie sur la circonférence de la taille, la triglycéridémie, la cholestérolémie, les valeurs de pression artérielle et la glycémie avec des taux seuils plus élevés que ceux de la définition du WHO. En revanche, elle n'inclut pas l'hyperinsulinémie ou l'intolérance au glucose comme facteur prédominant. La coexistence de ces définitions rend difficile le dépistage du SM, et l'estimation de sa prévalence à l'échelle mondiale, ainsi que son suivi épidémiologique.

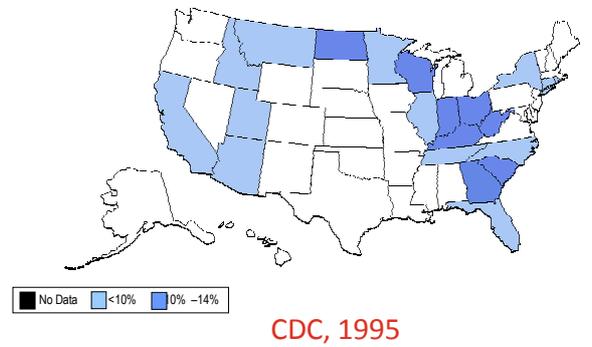
I-3) Le syndrome métabolique: un problème à l'échelle mondiale

L'importante prévalence du SM est un phénomène mondial : en effet, il ne touche plus uniquement les pays développés, mais concerne également les pays en voie de développement. Face aux différentes définitions, et afin de pouvoir évaluer l'ampleur du SM, il a été nécessaire de s'accorder sur une définition consensuelle pour mener les études épidémiologiques. Ainsi, la plupart des études font référence aux critères du NCEP, qui devront, somme toute être ajustés selon la population envisagée. En effet, il est important de tenir compte de l'origine de la population pour établir les valeurs seuils. Ces critères énoncés par le NCEP permettent de cibler des pathologies indissociables du SM que sont l'obésité et le diabète de type 2. C'est pourquoi leur évolution permet de suivre l'impact du SM à l'échelle mondiale.

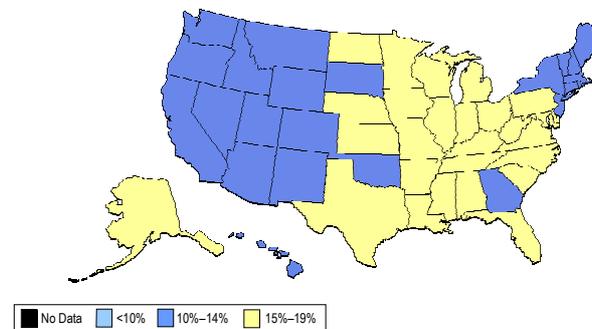
Prévalence de l'obésité* parmi la population adulte
des Etats-Unis

CDC, 1985 (Center of Diseases Control à Atlanta)

(*BMI ≥ 30 , ou surpoids de ~ 13 kg pour une personne mesurant 1m60)



(*BMI ≥ 30 , ou surpoids de ~ 13 kg pour une personne mesurant 1m60)



(*BMI ≥ 30 , ou surpoids de ~ 13 kg pour une personne mesurant 1m60)

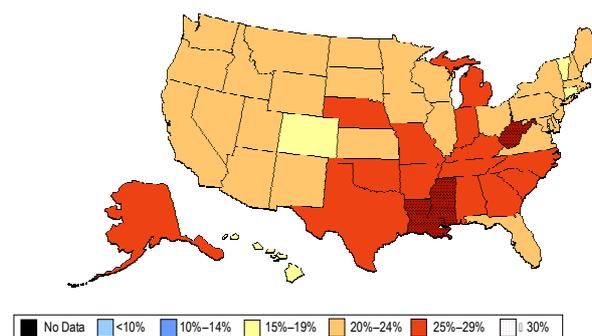


Figure 1 : prévalence de l'obésité parmi la population adulte des Etats-Unis de 1985 à 2005

Au cours de ces 20 dernières années, l'obésité a pris des proportions d'épidémie aux Etats-Unis (figure 1). A l'heure actuelle, on estime qu'environ 30% des individus de la population adulte présentent un surpoids (BMI entre 25 et 29,9 kg/m²), 32% sont obèses (BMI ≥ 30 kg/m²) et 5% sont atteints d'obésité morbide (BMI ≥ 40 kg/m²). Vient s'ajouter à ces chiffres, un phénomène alarmant qui est l'augmentation de l'obésité dans une population de plus en plus jeune. Ainsi, près de 20% des enfants et des adolescents avec un sex ratio identique sont en surpoids aux Etats-Unis. Bien entendu, même si les Etats-Unis sont souvent cités lorsqu'il est question de surpoids et de SM, il ne faut pas perdre de vue que la présence du SM ne se cantonne pas à l'Amérique du nord. L'Europe est, elle aussi, largement concernée par l'augmentation de la prévalence du SM. Les chiffres sont plus faibles et diffèrent selon les pays, mais restent néanmoins tout aussi préoccupants, car c'est en moyenne plus de 20% de la population adulte qui est concernée par le SM. Comme nous l'avons brièvement évoqué précédemment, les pays en voie de développement sont également fortement marqués par le SM. Dépendamment des critères de définitions, le SM toucherait environ 26% des mexicains, entre 18 et 41% des individus en Inde et 16% de la population chinoise (Figure 2). Au regard de ces chiffres alarmants, la WHO a qualifié le SM de réelle épidémie. L'utilisation de ce terme démontre le réel enjeu que représente à l'échelle mondiale le SM car il s'agit de la première utilisation du terme d'épidémie pour une maladie non infectieuse. Les prédictions quant à la propagation de la maladie n'étant pas optimistes, nous pourrions passer très prochainement au terme de pandémie.

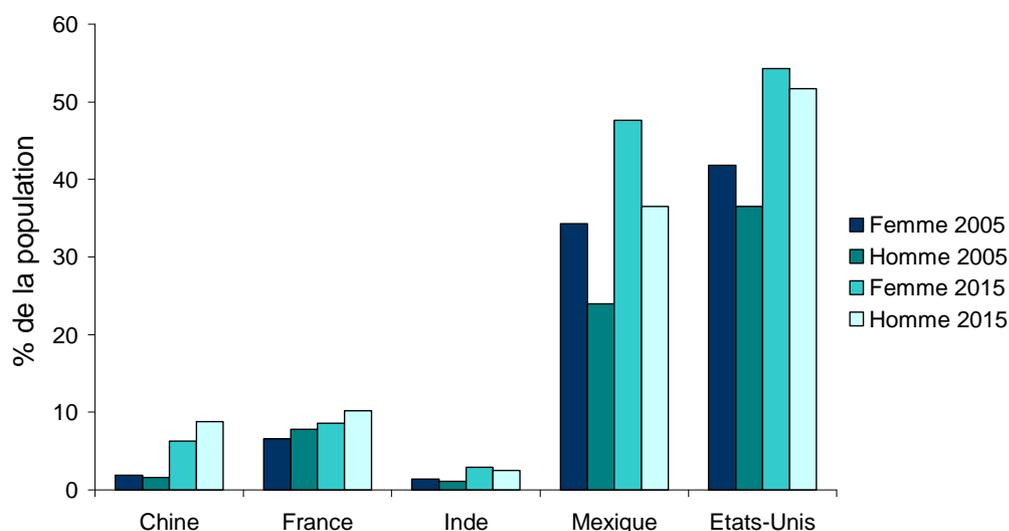


Figure 2 : prévalence de l'obésité selon les données du WHO entre 2005 et 2015

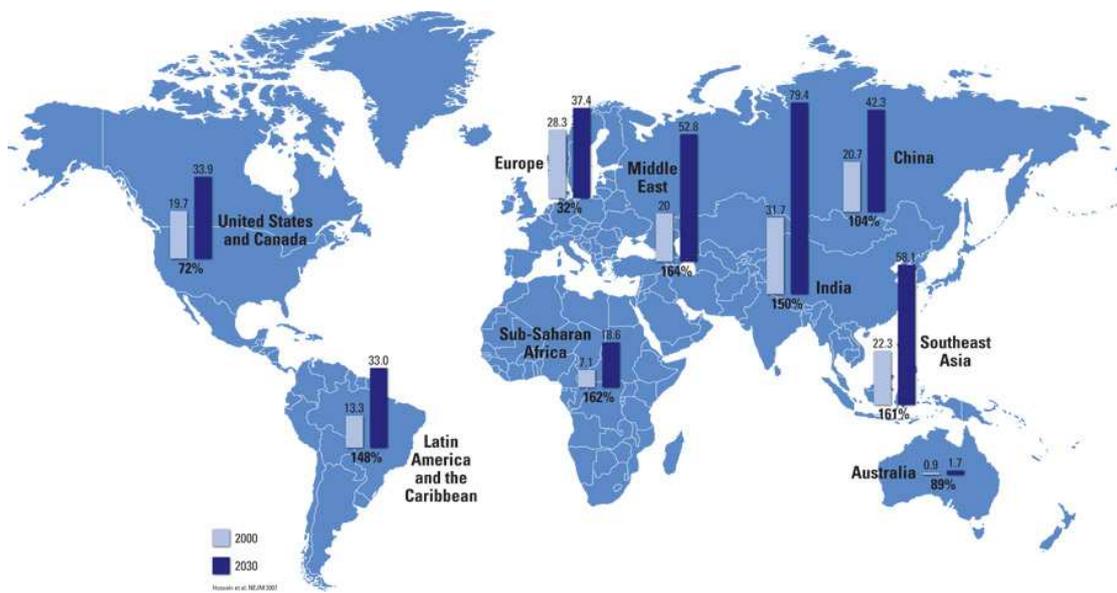


Figure 3 : prévalence du diabète de type 2 (en millions d'individus) en 2000 avec une projection pour 2030 et l'évolution en pourcentage. D'après Wild *et al.*, 2004.

Le diabète de type 2 est également un des facteurs moteurs du SM et est étroitement lié à l'obésité. Ainsi, selon la WHO en 2001, 171 millions de personnes souffraient d'un diabète de type 2, ce qui représente 2,8% de la population mondiale. Les prédictions pour 2030 font état d'un doublement de ce chiffre puisqu'on passerait à 366 millions de personnes atteintes du diabète de type 2, soit 4,4% de la population mondiale (Wild *et al.*, 2004) (Figure 3). Tout comme l'obésité, le problème du diabète de type 2 n'est plus un problème limité aux pays développés. En effet, même si le taux de mortalité se révèle plus faible dans les pays en développement qu'en Amérique du nord, 2 à 3% contre 8% pour les Etats-Unis et le Canada, la situation est plus que préoccupante dans ces pays où le changement brutal de style de vie s'accompagne d'une très forte prévalence du diabète de type 2. Ces pays en voie de développement se retrouvent confrontés à l'arrivée de la culture occidentale ce qui bouleverse leurs habitudes de vie et crée une véritable rupture dans leur hygiène de vie, à l'image des pays occidentalisés où la nourriture est plus abondante, moins équilibrée et l'effort physique de plus en plus limité. Ils se retrouvent donc dans une situation inédite où ils doivent faire face à la fois à la malnutrition et au SM.

L'hygiène de vie n'est pas l'unique facteur de risque lié à l'essor du SM. Ainsi l'étude d'une cohorte d'individus s'étalant de 1988 à 1994 révèle qu'un quart de la population nord américaine (Etats-Unis et Canada) présente un syndrome métabolique d'après les critères du NCEP, et que cette prévalence est étroitement liée à l'âge puisque 60% des personnes atteintes sont âgées de 60 ans ou plus. Ainsi le vieillissement de la population (Alexander *et al.*, 2008), en plus de la progression de l'obésité (Flegal *et al.*, 2002), contribue vraisemblablement aux 14 millions de cas supplémentaires de SM recensés entre 1990 et 2000 aux USA.

L'impact de ces facteurs va également pouvoir être influencé par l'origine ethnique de l'individu. Ainsi au sein du continent nord américain, dans lequel on retrouve un grand nombre d'ethnies, les communautés ne vont pas avoir la même propension à développer un SM. La communauté hispanique est la plus touchée puisque 32% de la population présente un SM (Ford *et al.*, 2002). Cette population est d'ailleurs prédisposée également au développement du diabète de type 2. A l'inverse, les hommes noirs américains jouissent d'une faible prévalence du SM, suggérant qu'ils bénéficient d'un terrain génétique favorable, bien que leur mode vie puisse aussi contribuer à cet effet protecteur (Ford *et al.*, 2002).

Le problème majeur auquel nous sommes confrontés est le bouleversement du mode de vie, qui conduit, en particulier, à un déséquilibre entre prise alimentaire et dépense énergétique, au profit de la prise alimentaire. En regardant les chiffres répertoriant les cas de SM, on note une réelle disparité entre les différentes régions du globe et il semble clair que l'une des causes de ces variations est le niveau d'occidentalisation des pays même si on note des disparités au sein d'un même pays. Ce dernier point sous-entend que nous ne sommes pas tous égaux devant le SM, et que des facteurs génétiques et/ou environnementaux nous « programmeraient » à développer ou non un syndrome métabolique.

II – La « programmation » du syndrome métabolique

II-1) Le déterminisme génétique

L'impact plus ou moins marqué du syndrome métabolique sur une population confrontée au même style de vie suggère que tous les individus ne vont pas développer la même sensibilité face aux altérations métaboliques. La différence étant marquée entre les différentes ethnies, le bagage génétique semble jouer un rôle dans la prédisposition au développement du SM. Ainsi, de nombreux modèles animaux présentant une mutation génétique conduisant au syndrome métabolique ont vu le jour (pour revue Cornier *et al.*, 2008). Ces modèles, développés pour la plupart chez la souris, ont permis d'identifier des gènes clefs du développement du SM et leur impact sur l'obésité, la sensibilité à l'insuline, la répartition des lipides ou encore la pression artérielle. Parmi les gènes incriminés, on retrouve bien entendu des gènes impliqués dans les régulations métaboliques comme la 11 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase de type 1 (11- β -HSD1), le peroxisome proliferator-activated receptor- α (PPAR- α), la proopiomélanocortine (POMC), et la leptine et son récepteur, notamment. Même si ces gènes représentent un terrain d'étude intéressant pour la meilleure compréhension des mécanismes mis en jeu dans la genèse du SM, il ne faut pourtant pas perdre de vue que des mutations géniques ne peuvent expliquer, à elles seules, les centaines de millions de cas de SM recensés dans le monde. Outre les facteurs environnementaux liés au mode de vie, de nombreuses études suggèrent dorénavant que des perturbations pendant la période périnatale (englobant la gestation et la petite enfance) pourraient sensibiliser au développement du SM.

II-2) La programmation développementale

II-2-1) Le retard de croissance intra-utérin

Un petit poids de naissance, pour une durée de gestation normale, ce qui reflète un retard de croissance intra-utérin (RCIU), constitue un facteur de risque supplémentaire de développement du SM (Rosenberg, 2008).

Le retard de croissance intra-utérin est une notion dynamique : elle exprime la déviation de la courbe de croissance du fœtus *in utero* par rapport aux courbes de référence.

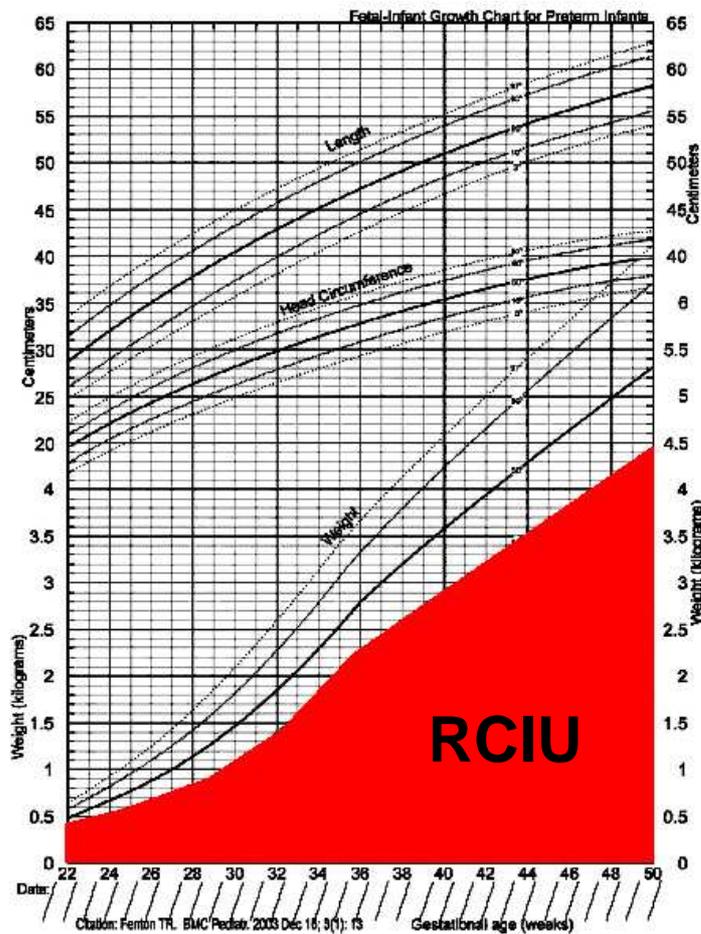


Figure 4 : courbe de croissance durant la gestation (**RCIU** : Retard de croissance intra-utérin). D'après Fenton *et al.*, 2003

L'hypotrophie relève d'une définition statistique qui repose sur le poids estimé du fœtus ou mesuré du nouveau-né : sont hypotrophiques tous les fœtus et les enfants dont le poids est inférieur à celui correspondant au 10^{ème} percentile des courbes de référence pour leur âge gestationnel (Figure 4). Il s'agit en France des courbes de Leroy et Lefort pour le fœtus, de Leroy ou de Lubchenco à la naissance, modulées à l'échelon individuel en fonction de divers facteurs (sexe, génétiques, ethniques, familiaux, rang de naissance, poids habituel et taille de la mère). Ainsi, l'UNICEF estimait en 2004 que 15% des naissances dans le monde présentent un RCIU puisqu'à terme les nouveau-nés ont un poids inférieur à 2500g. Pombo, en 1952, s'est intéressé aux causes de ces variations de poids au cours de la gestation. Il a ainsi montré que 62% des variations de croissance au cours de la vie fœtale étaient d'origine environnementale. A contrario, l'impact de la génétique est moindre puisque le patrimoine génétique de la mère serait responsable de 20% des variations pondérales et celui du père le serait à hauteur de 18% (Robert, 1997). Le RCIU peut être dû à une défaillance au niveau maternel, fœtal ou encore placentaire mais dans 30% des cas de RCIU, la cause directe du retard reste inconnue. Il existe différents types de RCIU dépendamment de la période pendant laquelle a lieu la variation de la courbe de croissance par rapport aux valeurs références. Le type I, altérant simultanément non seulement la taille et le poids, mais aussi le périmètre crânien s'établit au deuxième trimestre de la grossesse. Il est appelé RCIU symétrique puisqu'il altère les trois paramètres de la croissance de manière harmonieuse. Le type II, altérant uniquement le poids, appelé asymétrique, apparaît plus tardivement au troisième trimestre de la grossesse. La cause en est la malnutrition due à des lésions placentaires altérant les échanges fœto-maternels.

II-2-2) L'hypothèse de Barker

Les premières corrélations entre petits poids de naissance et développement de pathologies à l'âge adulte datent des années 1980. Les docteurs Genser et Wadsworth établissent un lien entre petit poids de naissance et le développement d'une hypertension systolique à l'âge de 36 ans chez des individus ayant présenté un RCIU (Wadsworth *et al.*, 1985). A la suite de cette première mise en évidence, un grand nombre d'études épidémiologiques sur des cohortes variées a vu le jour. Barker fait ainsi figure de pionnier dans ce domaine, et montre en 1988 dans une étude publiée avec Osmond, l'existence d'une corrélation inverse entre la pression artérielle d'enfants âgés de 10 ans et leur poids de naissance ; plus le poids de naissance est faible, plus la pression artérielle est élevée.

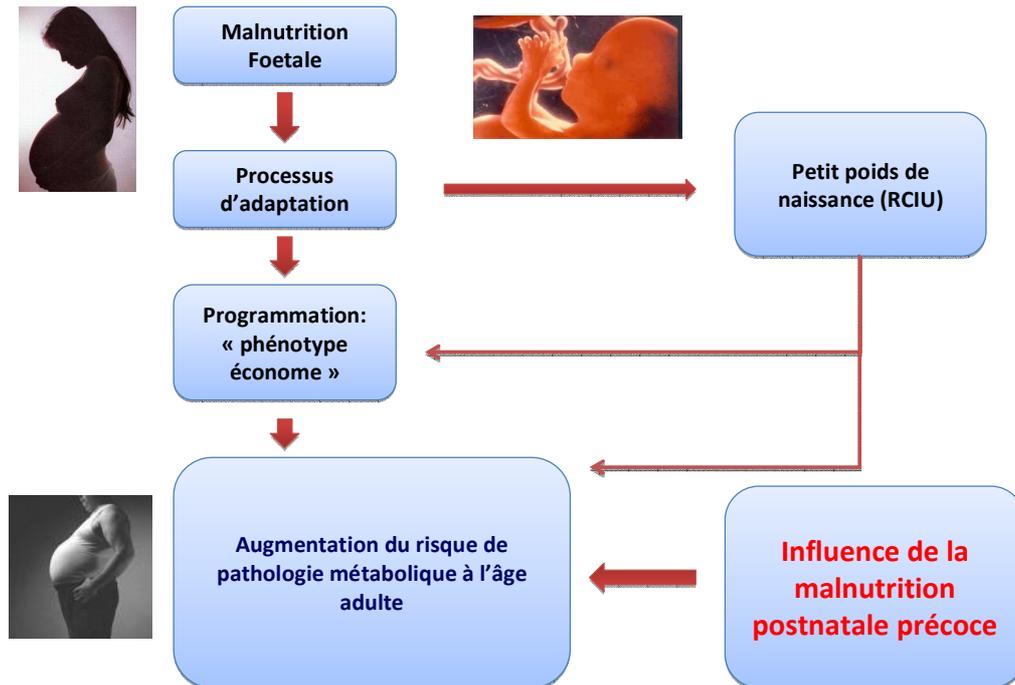


Figure 5 : concept de programmation foetale selon l'hypothèse de Barker

Ils émettent alors l'hypothèse que la survenue de l'hypertension pourrait être en lien avec un environnement intra-utérin délétère. Sont alors posés les premiers jalons de la notion de programmation fœtale. En 1993, Barker émet l'hypothèse que l'ontogenèse est une période critique durant laquelle des altérations, via l'environnement, pourraient conditionner l'apparition de maladies chroniques chez l'adulte (Figure 5). Dix ans après ces premières observations Barker va étayer sa théorie de programmation fœtale. Ainsi en 1998, il émet l'hypothèse que la vie fœtale est une période pendant laquelle le fœtus va, en interaction avec son environnement, mettre en place des valeurs seuils lui permettant de faire face à son environnement post-natal et ainsi d'être apte à répondre aux différents stimuli environnementaux (Barker, 1998). Pour jauger l'environnement extérieur, le fœtus ne peut se fier qu'aux informations lui arrivant de l'interface maternelle. On comprend alors que s'il existe un décalage entre l'environnement extérieur et l'interface maternelle, le nouveau-né ne sera pas totalement adapté à sa vie post-natale. Ce décalage pourra ainsi être la cause d'altérations métaboliques dues à une « mésadaptation ». L'un des meilleurs exemples de décalage entre environnement fœtal et post-natal est la grande famine d'Amsterdam qui a touché les Pays-Bas durant l'hiver 1944/1945. Barker a largement étudié les personnes nées durant cette famine qui a été de courte durée, permettant ainsi de suivre des personnes ayant, pendant la gestation, été soumises à une réduction de leur apport nutritif et, pendant leur développement post-natal, soumises à un apport nutritif standard, la famine ayant pris fin. Les conditions étaient alors réunies pour générer un véritable décalage entre milieu gestationnel et post-natal, ce qui s'est traduit chez ces personnes, à l'âge adulte, par une plus forte propension à développer un syndrome métabolique. Ceci donne alors tout son sens à l'hypothèse de l'existence d'un « thrifty phenotype » littéralement « phénotype économe » que l'on peut expliquer comme l'adaptation à un environnement restreint (celui présenté durant la gestation) qui sera alors préjudiciable lors du retour à un environnement standard (ou encore si ce dernier est pléthorique) durant la vie post-natale. Les premières notions de phénotype économe ont vu le jour en 1962, lorsque Neel (pour revue Neel, 1999), en étudiant des populations connues pour leur prédisposition à développer un diabète de type 2, celle de l'île Nauru et celle des Indiens Pima d'Arizona, a émis l'hypothèse que leur patrimoine génétique les avait conditionnés à un environnement restreint ne leur permettant pas d'appréhender de manière adéquate un environnement de type standard. Cette notion de phénotype économe sur laquelle repose l'hypothèse de Barker va pouvoir être la clef de l'implication du RCIU dans l'apparition du SM. De nombreuses études vont donc tenter d'établir un lien entre RCIU et les pathologies phares du SM que sont l'hypertension, le diabète de type 2 et l'obésité.

II-2-3) RCIU et programmation de l'hypertension

Un grand nombre d'études épidémiologiques et expérimentales a vu le jour afin de vérifier l'importance du RCIU dans la susceptibilité accrue à développer une hypertension artérielle. En 1989, David Barker s'intéresse à une cohorte regroupant 9921 enfants nés en avril 1970 et appartenant au programme « British births survey » et 3259 adultes âgés de 36 ans (Barker *et al.*, 1989). Les enfants présentant un faible poids de naissance montre une augmentation de leur pression systolique de 0,38 mm Hg pour les garçons et de 1,32 mm Hg pour les filles, et chez les adultes, le faible poids de naissance est associé à une augmentation de 2,57 mm Hg pour les hommes et de 1,83 mm Hg pour les femmes. Le RCIU est alors reconnu comme un facteur clef dans le développement d'une hypertension mais la survenue de l'hypertension semble également proportionnelle à l'âge des individus. Une seconde étude portant sur 449 adultes âgés de 46 à 54 ans et nés entre 1935 et 1943 à Preston au Royaume Uni (Barker, 1990) indique qu'une diminution du poids de naissance de 3,4 kgs à 2,5 kgs se traduit par une augmentation de la pression artérielle de 11 mm Hg confortant une fois encore l'importance du poids de naissance. Cette étude a également étudié le lien éventuel entre l'âge gestationnel auquel a lieu la perte de poids et la pression artérielle. Il ne semble pas y avoir de corrélation, ce qui signifie que le défaut de croissance seul (qu'il soit harmonieux ou non) est suffisant pour altérer la pression artérielle. D'autres études ont étayé ces constatations (Barker, 2002 ; Eriksson, 2005) et ont permis d'établir un lien fort entre risque de développer des pathologies cardiovasculaires et petit poids de naissance. L'hypertension étant une caractéristique du SM, il est alors possible d'extrapoler en spéculant que le RCIU puisse également prédisposer au développement d'un SM.

II-2-4) RCIU et programmation du diabète de type 2

Le diabète de type 2 résulte d'altérations du métabolisme glucidique comme la résistance à l'insuline ou encore l'intolérance au glucose. Une étude réalisée à Hertfordshire (Royaume-Uni) en 1991, sur 370 hommes âgés de 59 à 70 ans montre que 40% des personnes présentant un poids de naissance inférieur à 2,5kgs sont plus fréquemment sujets à des problèmes de tolérance au glucose et/ou au développement d'un diabète de type 2. A l'inverse, ces altérations ne sont retrouvées que chez 5% des enfants nés avec un poids et une croissance à l'image de la courbe standard (Hales *et al.*, 1991). D'autres études sont venues ensuite conforter l'idée que le petit poids de naissance sensibilise à la survenue d'un diabète de type 2 ou de troubles de la régulation de la glycémie (de Rooij *et al.*, 2006a ; Eriksson,

2005; Kyle and Pichard, 2006; Ozanne and Hales, 2002a; de Rooij *et al.*, 2006b ; Ozanne and Hales, 2002b ; Ravelli *et al.*, 1998). Ainsi, le risque de développer un trouble du métabolisme glucidique est environ 6 fois plus élevé chez les individus présentant un petit poids de naissance. Une information importante émergeant de ces études est l'existence d'une corrélation similaire entre le risque de présenter un trouble du métabolisme glucidique et le poids du nouveau-né à un an suggérant que l'environnement fœtal ne serait pas seul à pouvoir influencer le développement du syndrome métabolique et que la période de croissance post-natale précoce pourrait également jouer un rôle.

II-2-5) RCIU et programmation de l'obésité

Après avoir établi un lien entre RCIU et hypertension et diabète de type 2, la question d'une relation éventuelle entre RCIU et obésité s'est posée. Bien que ce lien ne soit pas aussi clairement établi qu'avec les deux autres facteurs clefs du SM, plusieurs études se sont penchées sur la question. De fait, une corrélation entre nutrition pendant la vie fœtale et la période précoce (0-3 ans), et adiposité à l'âge adulte a été mise en évidence ; une sous- ou surnutrition pendant la période fœtale et post-natale précoce augmentant le risque de développer une obésité à l'âge adulte (Martorell *et al.*, 2001). Chez un enfant normal, la courbe de corpulence augmente de 0 à 1 an puis diminue de 1 à 5 ans pour former à 6 ans un rebond d'adiposité. Une étude dirigée par Rolland-Cachera (1984) montre que les enfants présentant un RCIU voient leur rebond d'adiposité avancé à l'âge de trois ans. Ce décalage se traduira chez l'adulte par une sensibilité accrue à développer une obésité. Les enfants présentant un petit poids de naissance sont amenés, pour rattraper la courbe de croissance standard, à avoir une croissance post-natale plus rapide. Ce phénomène est appelé « catch-up » et pourrait être délétère. Une croissance post-natale trop rapide s'accompagne à l'âge adulte d'une dyslipidémie (Barker *et al.*, 1993b ; Sinclair *et al.*, 2007), tandis qu'un rattrapage précoce avant 7 ans, entraîne une augmentation de la pression artérielle à l'adolescence et à l'âge adulte (Eriksson *et al.*, 2000). De plus, une augmentation de la mortalité à la suite de maladies cardiovasculaires a été observée sur une population d'adultes nés avec un faible poids de naissance et ayant subi un rattrapage de croissance précoce (Eriksson *et al.*, 1999).

L'ensemble de ces études démontre qu'à la fois le RCIU et le « catch-up » sont des éléments indissociables de la prédisposition au syndrome métabolique. Afin de mieux comprendre ces mécanismes de prédisposition, il est nécessaire d'identifier les systèmes physiologiques connus pour être impliqués dans la survenue d'un petit poids de naissance et donc, dans la programmation périnatale.

II-3) Mécanismes de programmation foetale

L'ensemble des données épidémiologiques suggère donc qu'une altération de la croissance périnatale conditionne non seulement l'évolution du fœtus/nouveau-né, mais qu'elle a des effets délétères et ce, jusqu'à l'âge adulte. C'est pourquoi il est intéressant de voir quelles vont être les principales cibles physiologiques et endocriniennes sensibles à des modifications de l'environnement pré- et post-natal. L'utilisation de modèles animaux a permis à Waterland et Garza de mettre en avant différents paramètres sensibles aux variations environnementales. Parmi ceux-ci, ils mentionnent : des variations de la structure de différents organes, des altérations du nombre de cellules au sein de l'organe, des mécanismes épigénétiques, ou encore des variations de l'environnement endocrinien (Fowden and Forhead, 2004 ; Waterland and Garza, 1999). En effet, l'altération de la structure d'un organe au cours de l'ontogenèse va conduire à une modification de son organisation via la vascularisation et/ou l'innervation par exemple, ce qui entraînera des modifications de la réponse cellulaire aux hormones et aux nutriments tout au long de la vie. Ainsi, la restriction en nutriments affecte la division cellulaire et le nombre de cellules au sein d'un organe (Waterland and Garza, 1999), et si elle a lieu pendant la période de mise en place du système nerveux central, elle cause une diminution du nombre de cellules au sein du cerveau (Winick and Noble, 1966), témoignant d'une malléabilité des différents systèmes pendant le développement.

II-3-1) Perturbations périnatales et programmation endocrinienne

II-3-1-1) L'axe somatotrope

II-3-1-1-1) Le fonctionnement

L'axe somatotrope est largement impliqué dans le développement puisqu'il est responsable de la sécrétion de la GH (Growth Hormone) et de l'IGF-1 (Insulin-like Growth Factor 1), les deux principaux facteurs de croissance. La GH est sécrétée par les cellules somatotropes de l'adénohypophyse sous la régulation positive de la GH-RH (Growth Hormone-Releasing Hormone) et négative de la somatostatine (Pombo *et al.*, 2001), toutes deux fabriquées et secrétées par l'hypothalamus. Une fois la GH sécrétée en périphérie, elle stimule la libération d'IGF-1 au niveau du foie. Ce dernier sera responsable d'un rétrocontrôle négatif sur la sécrétion de GH (Holt, 2002) (Figure 6) et se liera à différentes protéines de liaison, les Insulin-like Growth Factor Binding Proteins (IGFBPs) pour augmenter sa demi-vie et contrôler sa biodisponibilité (Hwa *et al.*, 1999). Dans la mesure où la GH et IGF1 sont étroitement liés à la croissance, la question de leur implication éventuelle dans la programmation s'est naturellement posée.

II-3-1-1-2) Mise en place de l'axe

La fonctionnalité de l'axe va être dépendante de la mise en place de ces différents constituants. L'apparition de contacts entre l'éminence médiane et l'antéhypophyse se fait de manière très précoce chez le rat puisque dès le 12^{ème} jour de gestation on peut mettre en évidence des connexions entre ces deux tissus (Szabó and Csányi, 1982), le système semble être mature au 16^{ème} jour de gestation, car à ce stade les connexions sont similaires à celles observées chez le rat adulte. Cette maturation du système hypothalamo-hypophysaire se fait chez l'homme dès la 12^{ème} semaine de gestation, période à laquelle le système porte est fonctionnel (Thliveris and Currie, 1980). Les neurones responsables de la sécrétion du GH-RH et de la somatostatine vont également se mettre en place durant la gestation, les neurones à GH-RH apparaissant au 19^{ème} jour chez le rat (Daikoku *et al.*, 1985) et ceux à somatostatine dès le 16^{ème} jour (Hoffman and Sladek, 1980). Chez l'homme ces mêmes neurones se mettent en place au cours de la 18^{ème} semaine (Bresson *et al.*, 1984) et de la 10^{ème} semaine (Kaplan *et al.*, 1976), respectivement.

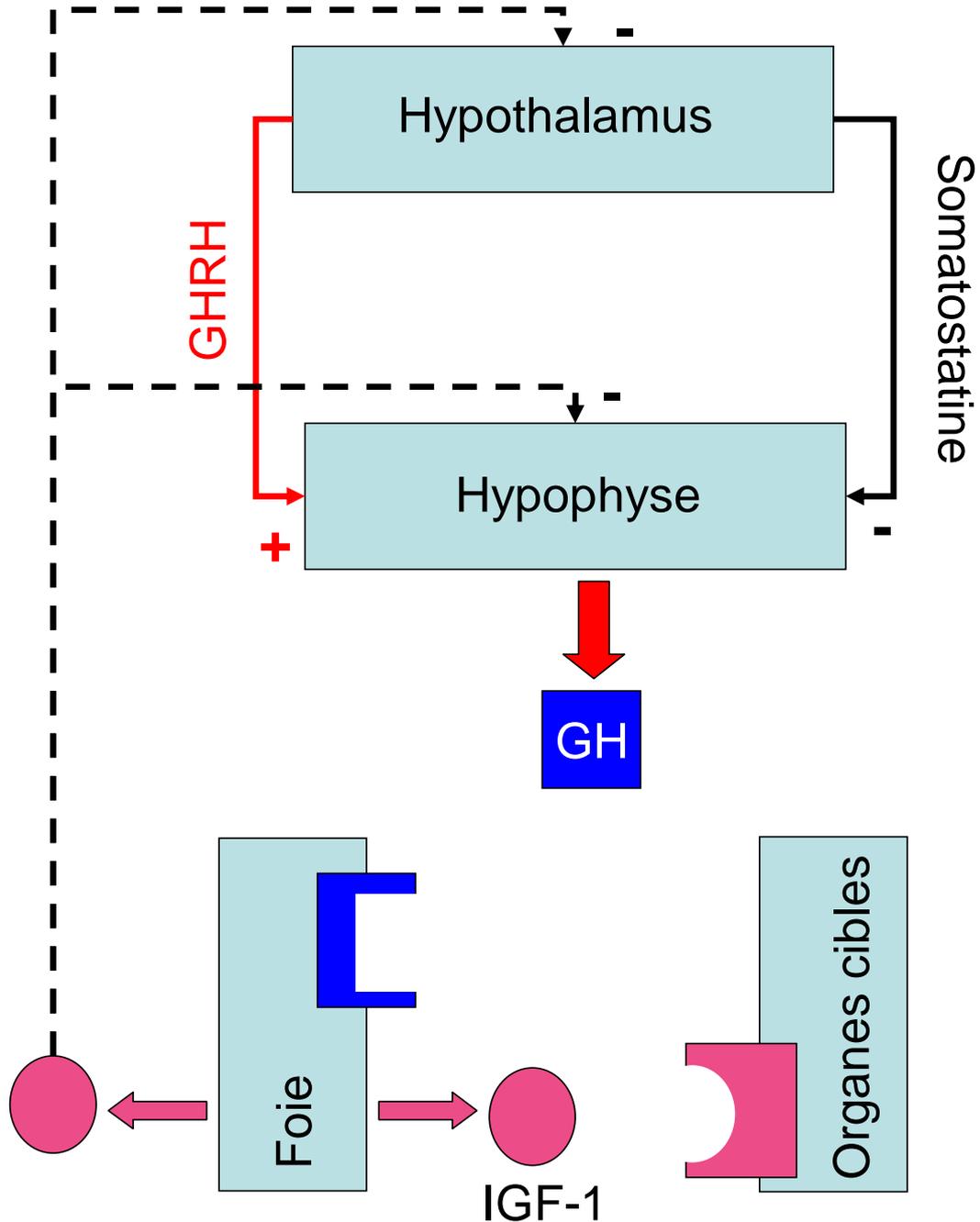


Figure 6 : représentation schématique de l'axe somatotrope (**GH** : Growth hormone ; **GHRH** : Growth hormone releasing hormone ; **IGF-1** : Insulin like growth factor 1)

Les cellules cibles de ces neurones que sont les cellules somatotropes sont détectées chez le rat dès le 19^{ème} jour de gestation (Li *et al.*, 1977) et chez l'homme au cours de la 8^{ème} semaine (Begeot *et al.*, 1977). La régulation de ces cellules via la GH-RH et la somatostatine est efficace chez l'homme au cours de la vie fœtale car l'ajout de GH-RH ou de somatostatine dans un milieu de culture de cellules antéhypophysaires fœtales est responsable d'une augmentation ou d'une diminution de la libération de GH (Baird *et al.*, 1984). Chez le rat, on observe une augmentation de la sensibilité à la GH-RH au cours du développement par rapport à la période post-sevrage (Cella *et al.*, 1985). En parallèle, l'inhibition via la somatostatine est efficace après le 5^{ème} jour suivant la naissance (Oliver *et al.*, 1982). Au cours de cette mise en place de l'axe somatotrope, la GH et l'IGF-1 vont être détectés durant la période fœtale avec une augmentation de leur concentration au cours de la gestation (Rieutort, 1974 ; Spencer *et al.*, 1985). La mise en place précoce de cet axe au cours de l'ontogénèse en fait un acteur clef du développement et donc une cible dans la programmation fœtale et dans la survenue au cours du développement d'un RCIU.

II-3-1-1-3) Altérations de l'axe somatotrope et leurs conséquences

L'existence de modèles animaux présentant une délétion d'IGF-1 ou de son récepteur permet de confirmer l'implication de l'axe somatotrope dans la croissance fœtale. En effet, ces animaux vont respectivement présenter une diminution de 40% et de 55% de leur croissance (Baker *et al.*, 1993). Chez l'homme, une délétion partielle du gène codant IGF-1 se traduit par l'apparition d'un RCIU sévère (Woods *et al.*, 1996). Ce RCIU n'est pas seulement la conséquence d'une altération de l'axe somatotrope, puisqu'à l'âge adulte, les individus présentent également un risque doublé d'être atteints de maladies cardiovasculaires (Erfurth *et al.*, 2001). Ce risque semble être en lien avec les taux d'IGF-1 inversement corrélés aux risques cardiovasculaires et à l'apparition de plaques d'athérome (Holt, 2002). L'utilisation de modèles animaux a permis de mieux comprendre l'implication de cet axe et de sa mise en place dans l'apparition de ces troubles métaboliques. Vickers et ses collaborateurs ont mis au point un modèle de dénutrition maternelle prénatale chez la rate qui donne naissance à des animaux présentant un RCIU très marqué (de plus de 20%) et qui, à l'âge adulte, sont hyperinsulinémiques, hyperleptinémiques, hypertendus et obèses.

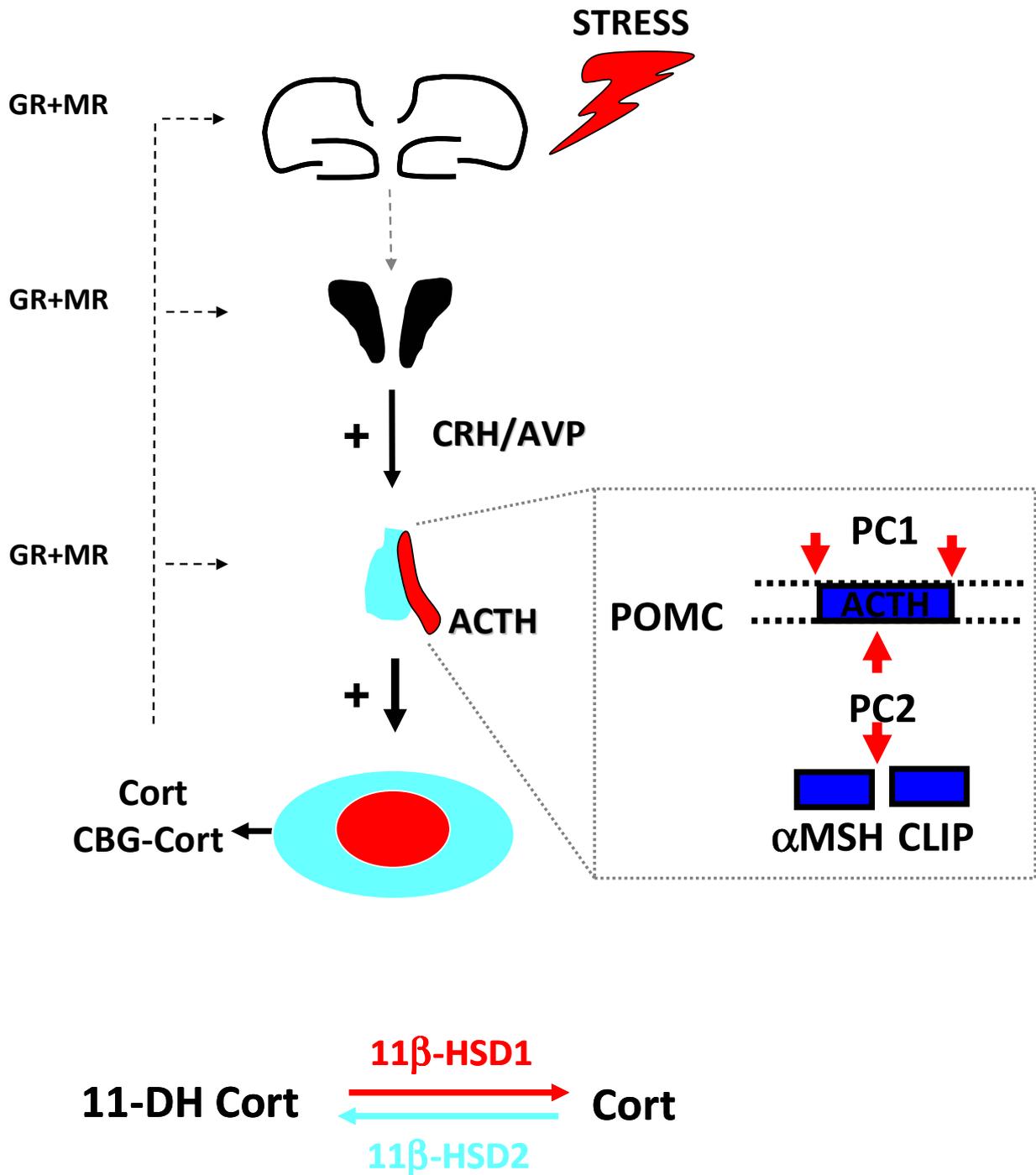


Figure 7 : représentation schématique de l'axe corticotrope (**Cort** : Cortisol chez l'Homme et corticostérone chez les rongeurs ; **11-DH Cort** : 11 déhydrocortisol/déhydrocorticostérone, forme inactive du cortisol ou de la corticostérone ; **CRH** : Corticotropin releasing hormone ; **AVP** : Arginine vasopressine ; **ACTH** : Hormone adrénocorticope ; **POMC** : Proopiomélanocortine ; **PC1/2** : Pro-hormone convertase de type 1/2 ; **α-MSH** : α-melanocyte stimulating hormone ; **CLIP** : Corticotropin-like intermediary lobe peptide ; **CBG** : Corticostéroïd binding globulin ; **GR/MR** : Récepteurs aux glucocorticoïdes/minéralocorticoïdes)

A l'aide de ce modèle, baptisé FR30 car il résulte d'une réduction de l'apport calorique global de 70% pendant toute la gestation, les auteurs ont montré que, suite à un traitement par des injections d'IGF-1 à raison de 3µg/g d'animal/jour pendant deux semaines, l'ensemble des symptômes mentionnés précédemment est réduit (Vickers *et al.*, 2001). Cette étude suggère que la dénutrition maternelle puisse altérer la bonne mise en place de l'axe somatotrope et que cette altération puisse avoir des conséquences à long terme. Cette altération de l'axe somatotrope est également décrite chez l'homme, puisque des enfants présentant un RCIU ont une sécrétion moindre d'IGF-1 et d'IGFBP (Holt, 2002). Cependant, l'existence de conséquences à long terme n'est pas encore clairement établie. Une étude menée sur une cohorte de jeunes adultes australiens établit un lien entre le RCIU et une diminution de GH dans les urines (Holt, 2002). A l'inverse aucune corrélation n'a été retrouvée dans une étude réalisée en Angleterre (Holt, 2002). Ainsi, l'axe somatotrope qui, via la GH et IGF-1, est directement impliqué dans la croissance du fœtus/nouveau-né, est altéré chez les nouveau-nés avec un RCIU. Cette altération peut avoir des conséquences à long terme et constitue donc une cible privilégiée de la programmation.

II-3-1-2) L'axe corticotrope

II-3-1-2-1) Le fonctionnement

Au sein de l'axe corticotrope, en réponse à un stimulus tel qu'un stress, l'hypothalamus reçoit des afférences des centres nerveux supérieurs (Cunningham and Sawchenko, 1988 ; Ungerstedt, 1971), les intègre, et en réponse libère le CRH (Corticotropin Releasing Hormone) et l'arginine vasopressine (AVP), à un moindre niveau. Le CRH et l'AVP stimulent la libération dans la circulation sanguine de l'hormone adrénocorticotrope (ACTH), produite par les cellules corticotropes adénohypophysaires, qui est issue de la protéolyse d'un précurseur de plus haut poids moléculaire la POMC sous l'action d'une enzyme, la prohormone convertase 1 (PC1, figure 7). L'ACTH stimule la libération et la production de glucocorticoïdes (cortisol chez l'homme et corticostérone chez les rongeurs) au niveau du cortex surrénalien en se fixant sur le récepteur aux mélanocortines de type 2 (MC2-R). En retour, afin d'éviter l'emballlement de l'axe et la surproduction de glucocorticoïdes, ces derniers exercent un rétrocontrôle négatif sur les différents acteurs de l'axe corticotrope (voir pour revue Canny *et al.*, 1990 ; McEwen *et al.*, 1986 ; Munck *et al.*, 1990) via les récepteurs de type GR et MR (Figure 7). Notons que naturellement les glucocorticoïdes ont une préférence pour les MR qui est le récepteur des minéralocorticoïdes (aldostérone en

particulier). Ainsi pour assurer la fonction de l'aldostérone, les tissus qui y sont sensibles sont pourvus d'une enzyme la 11β -hydroxysteroid dehydrogenase (11β -HSD) de type 2 qui inactive localement les glucocorticoïdes. Il existe également une 11β -HSD1 qui active localement la production de glucocorticoïdes. Ainsi le rapport 11β -HSD1/ 11β -HSD2 joue un rôle important dans l'activité de l'axe corticotrope en modulant la concentration locale de glucocorticoïdes (figure 7). Enfin, la corticosteroid binding globulin (CBG), qui est produite par le foie, module aussi l'activité de l'axe en transportant les glucocorticoïdes qui sont, par ailleurs, inactifs lorsqu'ils sont liés à cette protéine hépatique (figure 7). L'axe corticotrope est activé de façon aiguë en réponse à un stress et/ou à une modification importante des environnements interne et externe, mais il joue également un rôle prépondérant dans le développement, la maturation et l'homéostasie du fœtus ainsi que dans la préparation à la survie du nouveau-né au monde extérieur (pour revue Freemark, 1999). On observe, juste avant le terme, un pic de glucocorticoïdes (Brooks *et al.*, 1996) qui est corrélé à une augmentation du surfactant au niveau des poumons du fœtus, à une diminution de l'épaisseur de la paroi des alvéoles ce qui augmente le volume au niveau pulmonaire et prépare ainsi le fœtus à une respiration autonome (Mendelson, 2000). Au niveau hépatique, les glucocorticoïdes augmentent le stockage du glycogène qui servira de source de glucose immédiatement après la naissance et seront impliqués dans la régulation du métabolisme du glucose en vue de maintenir une glycémie adéquate entre les prises alimentaires (Fowden, 1995).

II-3-1-2-2) Mise en place

Le rôle prépondérant joué par les glucocorticoïdes dans le développement du fœtus, nécessite une mise en place précoce, durant la gestation, de l'axe corticotrope. Chez le rat, la maturation de l'axe corticotrope intervient durant la deuxième moitié de la gestation (Grino *et al.*, 1995), les premières sécrétions de corticostérone ayant lieu au 13^{ème} jour de gestation (E13). La sensibilité à l'action de l'ACTH, permettant la régulation des taux de corticostérone, apparaît entre E16 et E17. Deux jours avant la fin de la gestation, c'est à dire à E19, a lieu un pic plasmatique de corticostérone chez le fœtus. Le messenger de la POMC, le précurseur de l'ACTH, est détecté au niveau hypophysaire dès E15 et va voir son expression augmenter entre E17 et E21 (Grino *et al.*, 1989). Le dialogue entre hypothalamus et hypophyse qui s'établit grâce au CRH et à l'AVP est fonctionnel dès E17. Les récepteurs aux glucocorticoïdes sont, quant à eux, exprimés de manière différentielle selon leur type ; le récepteur GR sera présent dès le milieu de la gestation et fortement exprimé au niveau des

différents acteurs de l'axe, tandis que le récepteur de type MR semble être exprimé uniquement durant les 3 derniers jours de gestation au niveau de l'hippocampe et du septum latéral (Diaz *et al.*, 1998). Une expérience réalisée en traitant des femelles gestantes avec de la métopyrone, une substance qui va bloquer la synthèse de glucocorticoïdes, a permis d'établir que le rétrocontrôle négatif qu'exercent les glucocorticoïdes n'est opérationnel qu'entre E17 et E18 (Baram and Schultz, 1992). Ces observations indiquent que l'axe corticotrope se met en place de manière séquentielle, à partir de E13 jusque E18, ce qui suggère que des perturbations environnementales durant cette période pourraient avoir des conséquences sur son activité. Par ailleurs, il est à noter que les glucocorticoïdes sont capables de passer la barrière placentaire ce qui a, au moins deux conséquences : 1) les glucocorticoïdes maternels peuvent agir sur le fœtus ; et 2) un stress maternel pendant la gestation est susceptible, via l'augmentation des glucocorticoïdes de la mère, de modifier l'activité de l'axe corticotrope du fœtus en exerçant des rétrocontrôles aux différents niveaux de l'axe.

II-3-1-2-3) Les altérations de l'axe corticotrope et leurs conséquences

En s'appuyant sur des données recueillies à partir de cohortes d'individus présentant un RCIU, les glucocorticoïdes ont été suggérés comme étant potentiellement impliqués dans l'apparition de maladies cardiovasculaires, et plus largement d'altérations métaboliques fréquemment rencontrées chez ces personnes (Seckl, 1997). En effet, le RCIU est souvent accompagné d'une augmentation des taux de cortisol chez le nouveau-né (Goland *et al.*, 1993). Dans le même ordre d'idée, il a été montré qu'un excès de glucocorticoïdes entraîne un retard de la croissance fœtale à la fois dans les modèles animaux et chez l'Homme (Reinisch *et al.*, 1978; Seckl, 1997). En plus de cette altération de croissance, les individus soumis à une surexposition aux glucocorticoïdes présentent une hypertension permanente et une hyperglycémie à l'âge adulte (Benediktsson *et al.*, 1993 ; Lindsay *et al.*, 1996; Nyirenda *et al.*, 1998). Il semblerait donc que le RCIU ne soit pas la cause d'une augmentation des taux de glucocorticoïdes chez le nouveau-né, mais qu'à l'inverse une augmentation des taux de glucocorticoïdes, mimant une suractivation de l'axe corticotrope, soit un réel frein à la croissance fœtale. Durant la vie fœtale, l'accès aux glucocorticoïdes par le fœtus est dépendant de la quantité de glucocorticoïdes maternels capables de passer la barrière placentaire.

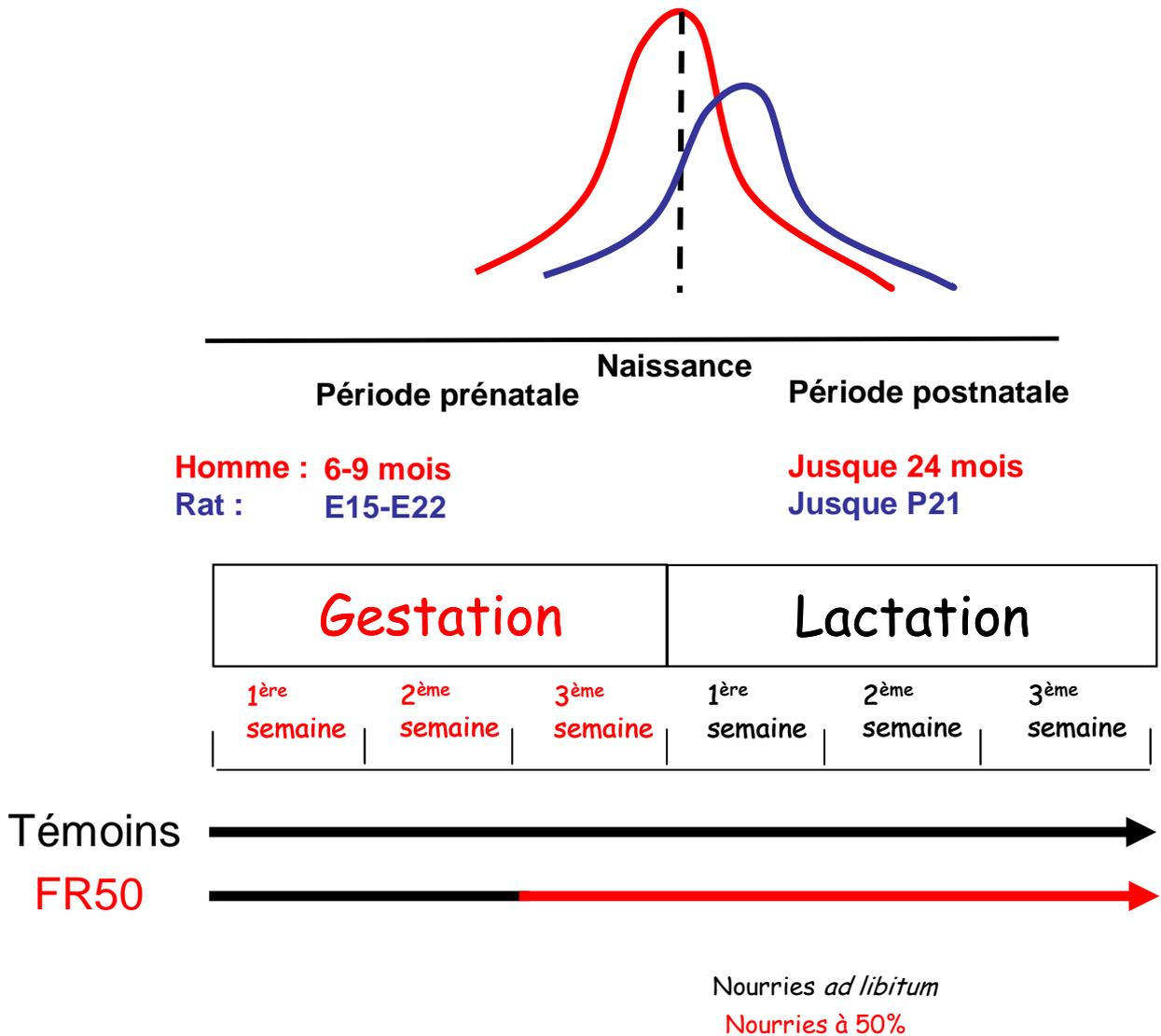


Figure 8 : le modèle FR50

En effet, cette dernière limite le passage des glucocorticoïdes grâce à l'action de la 11 β -HSD2 qui va inactiver la corticostérone ou le cortisol en 11 déhydrocorticostérone et cortisone, respectivement (Murphy *et al.*, 1974 ; Seckl, 1993 ; figure 7). Ainsi, en conditions normales, 75% des glucocorticoïdes présents chez le fœtus sont le fruit d'une production endogène (Beitins *et al.*, 1973). C'est pourquoi, une inactivation de la 11 β -HSD2 ou une augmentation du rapport 11 β -HSD1/11 β -HSD2 et/ou de la production de glucocorticoïdes maternels (en cas de stress), vont entraîner une surexposition du fœtus à ces hormones stéroïdes. Une déficience de l'activité de la 11 β -HSD2, par rapport à celle de la 11 β -HSD1, entraîne une altération de la croissance du fœtus, et à plus long terme, une augmentation de la propension à développer des maladies métaboliques (Seckl, 1997). Chez le rat, le traitement de la femelle gestante avec le carbenoxolone, un inhibiteur de la 11 β -HSD2, se traduit par un RCIU, une hypertension et une résistance à l'insuline chez la descendance. De la même manière, des bébés nés avec un petit poids de naissance présentent une hypoactivité de la 11 β -HSD2 (Stewart *et al.*, 1995). La période de gestation s'avère être une véritable interface entre la mère et le fœtus, et les axes corticotropes de la mère et du fœtus interagissent de manière étroite. Ainsi, comme nous l'avons déjà évoqué précédemment, une surexposition du fœtus aux glucocorticoïdes maternels aura également un impact sur la mise en place de son propre axe corticotrope. Les glucocorticoïdes étant impliqués dans de multiples fonctions physiologiques, il est important de savoir si des perturbations périnatales ont ou non un impact à long terme sur l'activité de l'axe corticotrope.

Pour ce faire, un grand nombre d'équipes de recherches a développé différents modèles animaux de stress périnataux permettant d'étudier à court et à long terme les conséquences d'altérations pendant la gestation et/ou la lactation. Le développement de nombreux modèles expérimentaux différents (espèce, sexe, intensité du stress, période durant laquelle il est impliqué) rend bien souvent l'interprétation délicate. C'est pourquoi je ne présenterai ici que les conséquences d'un stress par dénutrition, en m'appuyant quasi exclusivement sur le modèle FR50, développé au sein de notre laboratoire pour lequel a été étudiée la fonction corticotrope de la mère, du fœtus, du nouveau-né, de l'animal pré-pubère (sevrage), du jeune adulte (4 mois) et de l'adulte mature (8 mois ; pour revues Lesage *et al.*, 2006 ; Vieau *et al.*, 2007). Ce modèle de dénutrition maternelle périnatale consiste en une réduction de la ration alimentaire maternelle de 50% à partir du début de la 3^{ème} semaine de gestation jusqu'au sevrage (modèle FR50 ; Figure 8).

		ANIMAUX FR50 vs ANIMAUX TEMOINS			
		E21	P21	4 MOIS	8 MOIS
Hippocampe	MR ARNm	↓	↑	↑	↑
	GR ARNm	↓	↑	↓	↓↓
Hypothalamus	CRH ARNm	↓	↔	↔	↔
	AVP ARNm	nd	nd	↔	↑
Adénohypophyse	POMC ARNm	↔	↔	↑	↑
	ACTH	↓↓	↓	↔	↔
Corticosurrénale	cortisone	↓	↔	↔	↑↑
	cortisone libre	↓	↑	↔	↑↑
REPONSE AU STRESS					
		4 MOIS		8 MOIS	
		C	FR50	C	FR50
Hippocampe	MR ARNm	↓	↔	↓	↔
	GR ARNm	↓	↑	↓	↑
Hypothalamus	CRH ARNm	↓	↓	↓	↓
	AVP ARNm	↑	↔	↑	↔
Adénohypophyse	POMC ARNm	↑	↔	↑	↓
	ACTH	↑↑	↔	↑↑	↑
Corticosurrénale	cortisone	↑↑	↑↑	↑↑	↔
	cortisone libre	↑↑	↑↑	↑↑	↔

augmentation	↑	FR50 vs	
diminution	↓	Témoins	
stable	↔	Animaux	
non déterminé	nd	stressés vs	
		animaux non	stressés

Figure 9 : altérations de l'axe corticotrope chez les rats mâles issus de mères ayant subi une restriction calorique périnatale globale de 50% (FR50 ; **GR/MR** : Récepteurs aux glucocorticoïdes/minéralocorticoïdes ; **CRH** : Corticotropin releasing hormone ; **AVP** : Arginine vasopressine ; **ACTH** : Hormone adrénocorticotrope ; **POMC** : Proopiomélanocortine). D'après Vieau *et al.*, 2007.

La particularité de ce modèle expérimental est de couvrir la période critique de mise en place du système nerveux central chez le rat.

En effet, le jeûne et la restriction alimentaire, qui sont vécus comme un stress, vont entraîner une surproduction de glucocorticoïdes chez l'Homme (Fichter and Pirke, 1986; Gold *et al.*, 1986) et chez le rat (Belda *et al.*, 2005; Stewart *et al.*, 1988). Cependant, les mécanismes impliqués ne sont pas encore parfaitement connus. La malnutrition maternelle, via l'augmentation de la production de glucocorticoïdes, va donc pouvoir modifier la mise en place et l'activité de l'axe corticotrope du descendant.

Conséquences à la naissance

Un grand nombre d'études visant à mieux comprendre l'impact de la dénutrition maternelle sur l'axe corticotrope a été réalisé chez le mouton. Chez la brebis, la gestation dure environ 147 jours et la parturition est dépendante d'une hyperactivité pré-partum de l'axe corticotrope du fœtus. Des altérations de la mise en place de la fonction corticotrope du fœtus pourront alors se traduire par des variations de la durée de la gestation.

Ainsi, une diminution de la ration alimentaire maternelle de 15% durant les 70 premiers jours de gestation se traduit par une baisse de la fonctionnalité de l'axe corticotrope du fœtus au 130^{ème} jour de gestation. Dans ce modèle, on observe une hyposécrétion d'ACTH en réponse à la CRH et à l'AVP ainsi qu'une diminution de la sécrétion de cortisol et une réduction de l'expression des récepteurs de type GR au niveau de l'hypophyse (Hawkins *et al.*, 2000a; Hawkins *et al.*, 2001 ; Hawkins *et al.*, 2000b). Une réduction de la ration alimentaire maternelle de 50% pendant la période de croissance rapide du placenta (entre le 28^{ème} et le 77^{ème} jour de gestation) provoque une diminution de la 11 β -HSD2 au niveau placentaire avec une augmentation du poids du placenta, mais pas de variation du poids de naissance (Whorwood *et al.*, 2001). On remarque cependant, chez ces animaux, une augmentation au niveau des glandes surrénales de l'expression des récepteurs de type GR et de celle du récepteur de type 1 à l'angiotensine (Whorwood *et al.*, 2001), suggérant que des altérations de l'axe corticotrope pourraient contribuer à l'augmentation de la pression artérielle observée chez les agneaux issus de mères dénutries. Des études réalisées chez le rat, à partir d'un modèle de dénutrition maternelle périnatale de 50% (pendant la dernière semaine de gestation), montrent une augmentation des taux plasmatiques d'ACTH et de la corticostérone chez la mère entre E19 et E21. A E21, une diminution du poids des surrénales,

des taux plasmatiques de CBG maternelle, de la 11 β -HSD2 au niveau du placenta est observée (Lesage *et al.*, 2001 ; Figure 9), ce qui suggère que le fœtus, en fin de gestation, est surexposé aux glucocorticoïdes maternels. A la naissance, une hypoactivité de l'axe corticotrope se manifestant par des faibles taux plasmatiques d'ACTH, une atrophie des surrénales et plus en amont, une diminution de l'expression du CRH au niveau hypothalamique ainsi qu'une sous expression des récepteurs aux glucocorticoïdes (type GR/MR) au niveau de l'hippocampe, sont rapportées. Toutes ces altérations sont la conséquence directe d'une surexposition fœtale aux glucocorticoïdes. En effet, il a été démontré que si l'on régule chez la mère la sécrétion de corticostérone, via une surrénalectomie supplémentée d'injections de corticostérone exogène, les perturbations de l'axe corticotrope chez le nouveau-né sont abolies. Ainsi, à court terme, la dénutrition maternelle entraîne une hypoactivité de l'axe corticotrope du fœtus à la naissance. La question étant, bien entendu, de savoir si cette perturbation de l'axe corticotrope perdure ou non.

Conséquences au sevrage

Les animaux FR50 au sevrage ont un poids plus faible ainsi qu'une atrophie des surrénales, du foie et du thymus (Léonhardt *et al.*, 2002). Ils présentent, en conditions basales, des taux comparables de corticostérone tandis qu'on observe une diminution de ceux d'ACTH et de CBG par rapport aux animaux contrôles, ce qui se traduit par une proportion plus élevée de corticostérone libre (Figure 9). Cette diminution des taux d'ACTH indépendante des taux de corticostérone suggère une sensibilité plus importante à l'action de l'ACTH ou une libération de corticostérone non exclusivement ACTH dépendante. Cette réduction des taux d'ACTH n'est pas accompagnée d'une diminution de l'expression de la POMC au niveau hypophysaire, ce qui suggère soit un déficit de la protéolyse de la POMC ou, au contraire, une augmentation du clivage d'ACTH en α -MSH et CLIP sous l'action de la prohormone convertase de type 2 [PC2 ; figure 7 ; (Noel and Mains, 1991)]. Ces animaux présentent également une augmentation du taux de récepteurs aux glucocorticoïdes au niveau de l'hippocampe. En réponse à un stress par inhalation d'éther, on note une réduction de la sécrétion d'ACTH par rapport aux animaux témoins, ce qui suggère une hyporéponse au stress que l'on observe habituellement lors de la 2^{ème} semaine de vie chez les ratons. Ces données suggèrent donc que la restriction alimentaire pourrait entraîner un retard de maturation ou éventuellement une programmation différente de l'axe corticotrope. Si tel est le cas, une modification de l'activité de l'axe corticotrope des rats FR50, par rapport aux

animaux témoins, devrait encore être observée à l'âge adulte.

Conséquences chez l'adulte

Les conséquences de la dénutrition maternelle sur la fonction corticotrope du descendant adulte sont dépendantes du modèle expérimental (espèce étudiée, intensité de la dénutrition, période pendant laquelle elle est appliquée, durée de cette dénutrition, sexe de l'animal). A titre d'exemple, chez le cobaye, une dénutrition de 48h pendant la période clef de mise en place des récepteurs aux glucocorticoïdes (52^{ème} jour de gestation) cause une diminution de l'expression de ces récepteurs au niveau de l'hippocampe et de l'hypothalamus (Lingas *et al.*, 1999), ce qui entraîne une altération, dépendante du sexe, de l'activité de l'axe corticotrope chez ces mêmes animaux à 3 mois (Lingas and Matthews, 2001). En revanche, une étude réalisée chez le rat à partir d'un modèle de dénutrition à 75% pendant la dernière semaine de gestation ne montre pas d'altération de l'axe corticotrope chez la descendance à trois mois, que ce soit en conditions basales ou en réponse à un stress léger par manipulation (Jezová *et al.*, 2002). Dans un modèle de dénutrition maternelle de 50% couvrant la gestation et la lactation, aucune conséquence à l'âge de deux mois (Chisari *et al.*, 2001) et de 4 mois n'a été constatée quant à la fonction corticotrope en conditions de bases (Sebaai *et al.*, 2002 ; figure 9). En revanche, les animaux FR50 âgés de 4 mois présentent de subtiles modifications de la fonction corticotrope en réponse à un stress de déshydratation de 72 heures (Sebaai *et al.*, 2002 ; figure 9), indiquant une maladaptation de ces animaux en réponse à un stress. De manière très intéressante, ces mêmes rats FR50 âgés de 8 mois présentent des altérations très importantes de leur fonction corticotrope aussi bien en conditions basales qu'en réponse au stress de déshydratation (Sebaai *et al.*, 2004 ; figure 9). Ils présentent, en particulier, une hypercorticotéronémie très intense, qui n'est pas modifiée par le stress de déshydratation, suggérant que l'activité de leur axe corticotrope est maximale en conditions de bases, et qu'ils ne peuvent donc plus répondre de manière appropriée à un stress. Ainsi, en dépit de résultats variables selon les modèles expérimentaux, il semble clair que l'axe corticotrope est une cible privilégiée de la programmation et que les anomalies ont tendance à apparaître au cours du vieillissement. Il est à noter que l'hyperactivation de l'axe corticotrope au cours du vieillissement est naturellement observée, et que la surproduction de glucocorticoïdes serait responsable de l'atrophie hippocampique observée chez les sujets âgés, et donc des problèmes mnésiques subséquents (Scaccianoce *et al.*, 1990). Ainsi, il semble raisonnable d'envisager que la dénutrition périnatale accélère, en quelque sorte, les processus physiologiques observés au cours du vieillissement.

Conséquences chez l'Homme

Pour des raisons éthiques évidentes, il n'y a aucune étude chez l'Homme faisant un lien direct entre malnutrition et altérations de l'axe corticotrope. Cependant, un grand nombre d'études fait état de corrélations entre poids de naissance et altérations de l'axe corticotrope (Clark *et al.*, 1996 ; Phillips and Jones, 2006; Phillips *et al.*, 1998 ; Phillips *et al.*, 2000). Il a été montré que le poids de naissance est inversement corrélé aux taux de cortisol détecté chez des garçons âgés de 7 à 9 ans en réponse à un stress, et que pour les filles du même âge, seuls les taux matinaux de cortisol sont en lien inverse avec le poids de naissance (Jones *et al.*, 2006). Chez les adultes, un faible poids de naissance est associé à une augmentation des taux de cortisol à l'état basal et en réponse à l'ACTH (Levitt *et al.*, 2000 ; Reynolds *et al.*, 2001). Ces études ne permettent pas d'établir un lien direct entre RCIU et altérations de l'axe corticotrope mais rapportent un dérèglement de cet axe chez les personnes présentant un faible poids à la naissance.

Cependant des données physiopathologiques indiquent qu'une hyperproduction de glucocorticoïdes est associée à de nombreuses altérations métaboliques. Ainsi, les patients atteints d'un syndrome de Cushing, une pathologie d'origine tumorale qui entraîne une surproduction non contrôlée de glucocorticoïdes, sont fréquemment obèses, diabétiques et hypertendus. Par ailleurs, l'augmentation de la pression artérielle programmée par la dénutrition maternelle (Rivière *et al.*, 2005 ; Vickers *et al.*, 2000) est également un des symptômes clefs du syndrome de Cushing et est retrouvée chez 80% des patients (Baid and Nieman, 2004 ; Sacerdote *et al.*, 2005). Il en est de même pour l'obésité et le diabète de type 2, fréquemment retrouvés chez les animaux adultes issus de mères dénutries (pour revues Holemans *et al.*, 2003 ; Gluckman *et al.*, 2005) et chez les patients atteints du syndrome de Cushing (Salehi *et al.*, 2005 ; Summers and Nelson, 2005). Ces observations suggèrent que la dénutrition maternelle, via la surexposition aux glucocorticoïdes qu'elle procure au fœtus, pourrait largement contribuer à la prédisposition aux maladies chroniques de l'adulte via une programmation à court, moyen et long terme de la fonction corticotrope de la descendance (pour revues Lesage *et al.*, 2006 ; Vieau *et al.*, 2007).

II-3-1-3) Les axes thyroïdienne et gonadotrope

L'étude de ces axes quant à leur impact potentiel dans la programmation est encore limitée. Néanmoins, étant donné leurs fonctions physiologiques, une dérégulation de leur activité pourrait également être modifiée par des altérations périnatales et contribuer ainsi de manière plus ou moins directe à la programmation de troubles métaboliques.

L'axe thyroïdienne est constitué de l'hypothalamus qui va sécréter la TRH (Thyrotropin Releasing Hormone) et de la somatostatine (SRIH), de la cellule thyroïdienne antéhypophysaire stimulée par la TRH et inhibée par le SRIH, et qui libère la TSH (Thyroid Stimulating Hormone), cette dernière étant capable de stimuler la sécrétion des hormones thyroïdiennes (T3 et T4) au niveau de la thyroïde. Cet axe neuroendocrinien est impliqué notamment dans la thermorégulation (Reinehr, 2010) et les activités métaboliques. Ainsi, l'hormone thyroïdienne T3 est indispensable au bon fonctionnement d'UCP1 (Uncoupling Protein 1) au sein du tissu adipeux brun. La sécrétion de T3 est dépendante de son activation, c'est à dire de son passage de la forme T4 à T3. Cette transition est réalisée grâce à deux enzymes les 5' désiodases de type 1 (D1) et 2 (D2) (Gereben *et al.*, 2008). Le rôle de l'axe thyroïdienne dans la thermorégulation est confirmé chez les souris dont le gène D2 a été inactivé par recombinaison homologue (KO). Les souris KO présentent une absence de thermogénèse au sein du tissu adipeux brun (de Jesus *et al.*, 2001). Par ailleurs, l'hyperthyroïdie va avoir des conséquences métaboliques se traduisant en particulier par une augmentation de la lipolyse et une perte de poids, tandis que dans le cas d'une hypothyroïdie un phénotype inverse est observé (Hollenberg, 2008). Dans leur ensemble, ces données suggèrent que cet axe pourrait être impliqué dans la survenue de troubles métaboliques et donc dans les mécanismes de programmation. De plus, des perturbations de la croissance au cours du développement vont être responsables à l'âge adulte chez la femme d'une hyperthyroïdie (Kajantie *et al.*, 2006), et de la même manière, des altérations des taux des hormones thyroïdiennes sont rencontrées dans des modèles de restriction protéique ainsi que des variations de l'activité des enzymes D1 et D2 (Dutra *et al.*, 2003 ; Lisboa *et al.*, 2008). L'axe thyroïdienne semble donc un candidat intéressant qui, via des modifications précoces de son activité, pourrait contribuer à la programmation de maladies métaboliques. Néanmoins, à ce jour et à notre connaissance, aucune donnée n'est disponible quant à sa modulation potentielle par une réduction calorique globale pendant la période périnatale.

L'activité de l'axe gonadotrope va être sous l'influence de modifications métaboliques. En effet, lors d'un déficit de la balance énergétique, la sécrétion des hormones reproductives est amoindrie (Gao and Horvath, 2008). Pour restaurer le fonctionnement de l'axe, il est nécessaire d'avoir des valeurs seuils de leptine, une adipocytokine fabriquée par le tissu adipeux, censée être le reflet de la masse grasse. La leptine agit sur les sécrétions de GnRH (Gonadotropin Releasing Hormone) hypothalamique et de LH (luteinizing hormone ; Gao and Horvath, 2008) antéhypophysaire, toutes deux essentielles au bon fonctionnement de l'axe gonadotrope. Cependant, cette communication entre la leptine et l'axe gonadotrope n'est pas à sens unique puisqu'il existe également d'autres relations entre l'axe gonadotrope et le métabolisme. Ainsi, les œstrogènes, impliqués dans les mécanismes de régulation du comportement sexuel, sont également capables d'influencer le métabolisme en diminuant la prise alimentaire, l'adiposité, et en augmentant la dépense énergétique chez les animaux et chez l'Homme (Gao and Horvath, 2008). Les récepteurs aux œstrogènes sont colocalisés avec ceux de la leptine dans des noyaux clefs du métabolisme comme le noyau arqué ou le noyau ventromédian (Gao and Horvath, 2008), et des injections d'œstrogènes dans ces noyaux sont responsables d'une réduction de la prise alimentaire et de la prise de poids (Gao and Horvath, 2008). De plus, les œstrogènes vont être capables de modifier l'action de la leptine. Ainsi chez des souris ovariectomisées, déficientes en œstrogènes, on constate une diminution de la sensibilité à la leptine se traduisant par une augmentation du Neuropeptide Y (NPY) hypothalamique, un puissant facteur orexigène (Gao and Horvath, 2008). L'ensemble de ces données suggère que l'axe gonadotrope est capable d'interagir et de réguler, tout au moins en partie, le métabolisme de par son étroite relation avec la leptine. Ce rôle de la leptine peut être souligné dans un modèle de souris génétiquement modifiées, présentant une forme tronquée, inactive, de la leptine, les souris ob/ob. Ces souris présentent d'importants troubles de leur fertilité pouvant être rétablis via un traitement par la leptine (Gao and Horvath, 2008). De la même manière, des individus présentant des mutations du récepteur à la leptine développent un hypogonadisme (Farooqi et al., 2007). Il est donc raisonnable d'envisager que la programmation puisse également toucher cet axe. Néanmoins, peu d'études rapportent des effets d'une restriction calorique périnatale sur l'axe gonadotrope. Cependant, à l'aide du modèle FR50, il a été montré que les rats mâles présentaient au sevrage une altération du développement des testicules avec une diminution du poids des gonades et une atrophie des tubes séminifères. Chez les femelles, la dénutrition s'accompagne d'une diminution du poids de l'utérus et des ovaires ainsi que de perturbations du développement des follicules

(Léonhardt *et al.*, 2003). Ces animaux vont présenter un retard pubertaire. Ce retard de puberté n'est pas retrouvé dans une étude plus récente menée par Sloboda et collaborateurs (2009) qui s'est intéressée à l'impact de différents régimes sur la mise en place de cet axe gonadotrope. Ils ont ainsi montré qu'une sous- ou surnutrition pendant la gestation ou pendant à la fois la gestation et la lactation avance l'âge de la puberté. Ces différentes études montrent qu'un lien étroit existe entre le métabolisme et la reproduction mais que l'impact de l'un sur l'autre même s'il est avéré n'est pas totalement élucidé.

II-3-2) La programmation épigénétique

L'héritage génétique n'est pas seul responsable du développement d'un individu. Il existe d'autres facteurs influençables par l'environnement qui vont pouvoir moduler le développement : on parle alors de facteurs épigénétiques. La transcription d'un gène va varier notamment en fonction de l'accessibilité de la chromatine de l'ADN. La transcription aura lieu lorsque la chromatine est en « position ouverte » ; on parle alors d'euchromatine. A l'inverse, elle sera bloquée lorsque la chromatine est en « position fermée » ; dans ce cas on la qualifie d'hétérochromatine. Ce changement de conformation de la chromatine est dépendant de modifications touchant les histones ou les régions promotrices de différents gènes, mais pas uniquement. Ainsi, une méthylation de la cytosine au niveau d'un doublet cytosine guanine, au sein d'îlots CpG, va limiter l'accessibilité à l'ADN et diminuer l'expression du gène cible (Waterland and Garza, 1999). Ces phénomènes de méthylation sont conservés lors de la réplication de l'ADN par l'action de DNA méthyltransferases (DNMTs) assurant ainsi la pérennité des modifications (Waterland and Garza, 1999). Différents travaux récents suggèrent que ces modifications épigénétiques sont à la base de processus physiopathologiques résultant des programmations périnatales (pour revue Junien, 2006).

Une étude menée par Bogdarina et ses collaborateurs (2007) s'appuyant sur le lien entre la programmation fœtale et l'hypertension via l'implication du système rénine-angiotensine, a mis en évidence, dans un modèle de restriction protéique chez le rat, une diminution de la méthylation du gène codant le récepteur à l'angiotensine de type 1b (AT1b) au niveau des glandes surrénales. Cette chute de méthylation s'accompagne d'une augmentation de l'expression du récepteur AT1b ce qui pourrait contribuer au phénotype d'hypertension retrouvé chez les descendants de rates dénutries. De la même manière, dans un modèle animal consistant à réduire la taille des portées pendant la lactation chez le rat, ce qui mime une surnutrition pendant la période post natale précoce, il a été montré une

hyperméthylation du promoteur de la POMC, un des relais clef du signal de la leptine et de l'insuline au niveau du système nerveux central. En effet, la POMC, via l'un de ses fragments de maturation, l' α -MSH, constitue un puissant signal anorexigène (Plagemann *et al.*, 2009). De plus, une étude réalisée à l'aide d'un modèle de restriction protéique a mis en évidence chez la descendance une altération de la méthylation des promoteurs des gènes codant PPAR α et le récepteur aux glucocorticoïdes de type GR au niveau du foie. Il a été démontré que les modifications étaient observées non seulement chez les animaux de première génération (F1) mais aussi qu'elles étaient transmissibles à la seconde génération (F2) (Burdge *et al.*, 2007). Ces résultats indiquent que la dénutrition maternelle ainsi que d'autres paradigmes de programmation périnatale sont capables d'influencer l'expression génique et que cette pression environnementale a des conséquences immédiates mais également à plus long terme.

II-3-3) Les fenêtres de programmation

La mise en place des différents organes et systèmes physiologiques et neuroendocriniens impliqués dans la programmation et plus généralement le développement du système nerveux central, sont des phénomènes dynamiques où chaque acteur va avoir sa propre cinétique de maturation. Cette mise en place est dépendante de l'espèce. Ainsi, chez l'Homme la maturation du système nerveux central a lieu principalement avant la naissance, tandis que chez le rat elle se déroule en grande partie durant la période de lactation. Il semble donc clair que selon la période durant laquelle a lieu le stress périnatal, les conséquences en découlant ne seront pas les mêmes. A cet égard l'analyse des individus nés pendant la famine d'Amsterdam s'est révélée une fois de plus très informative. Il a été montré que selon l'âge gestationnel, la famine n'allait pas avoir les mêmes conséquences à long terme. Ainsi, les personnes touchées à partir du milieu de la gestation ont développé à l'âge adulte une intolérance au glucose (Ravelli *et al.*, 1998), non retrouvée chez des individus ayant subi la famine uniquement de manière précoce pendant la gestation. Ces derniers ont développé, quant à eux, une obésité et des maladies cardiovasculaires (Ravelli *et al.*, 1999; Roseboom *et al.*, 2000a ; Roseboom *et al.*, 2000b). Enfin, lorsque la famine affecte uniquement la fin de la gestation, les individus développent une hypertension à l'âge adulte (Roseboom *et al.*, 1999 ; Roseboom *et al.*, 2001). Cette cohorte témoigne du lien existant entre période du développement durant laquelle a lieu le stress et maladies déclarées à l'âge adulte. Pour mieux cibler les périodes critiques de développement, plusieurs études se sont intéressées à l'impact d'une dénutrition à différents temps de la gestation et/ou de la lactation. Une étude réalisée

chez la brebis faisant varier la durée de la restriction alimentaire, du 2^{ème} au 27^{ème} jour de gestation ou du 2^{ème} au 64^{ème} jour de gestation montre que dans le premier cas la descendance souffre d'hypertension, tandis que dans le second aucune perturbation métabolique n'a été répertoriée (Gatford *et al.*, 2000). L'augmentation de la sensibilité à l'insuline va se traduire par une augmentation de l'inhibition de la lipolyse pouvant conduire à l'obésité. Cette étude suggère, qu'en plus de la période ciblée, la durée de la restriction peut avoir un impact sur la programmation. De la même manière, une étude réalisée chez le cobaye, a montré qu'un stress de très courte durée (48h) par restriction alimentaire entre le 50 et le 51^{ème} jour de gestation (le terme est à 70 jours), période critique de la mise en place des récepteurs GR et MR, avait des répercussions sur l'axe HPA à 3 mois chez ces animaux et ce de manière différente selon le sexe (Lingas and Matthews, 2001). Par ailleurs, des études réalisées chez le rat ont voulu discriminer les conséquences d'une dénutrition pendant la gestation de celles d'une restriction alimentaire appliquée pendant la lactation. Pour cela, les auteurs ont comparé les données métaboliques de 4 groupes expérimentaux : un premier groupe issu de mères dénutries uniquement pendant la gestation ; un second groupe uniquement pendant la lactation ; un troisième groupe couvrant à la fois la gestation et la lactation, et un dernier groupe ne subissant pas de dénutrition. L'analyse des résultats indique que les animaux témoins et les animaux restreints uniquement pendant la gestation se comportent de manière similaire tandis que les deux autres groupes présentent une masse pondérale et des taux de leptine plus faibles (Zambrano *et al.*, 2006 ; Léonhardt *et al.*, 2003). Ces résultats indiquent que, chez le rat, la lactation, plus que la gestation, semble être une période cruciale pour influencer la programmation de désordres métaboliques.

II-3-4) Les modèles animaux de programmation

Bien que les études épidémiologiques aient permis d'émettre l'hypothèse d'une origine développementale des maladies chroniques de l'adulte, il a été nécessaire, pour mieux comprendre les mécanismes sous-jacents, de développer des modèles animaux de programmation. Le retard de croissance étant un élément principal dans la prédisposition aux pathologies chroniques de l'adulte, de nombreux modèles expérimentaux de RCIU ont été développés. Les premières expériences de dénutrition périnatale ont été réalisées en 1973 sur des rats sevrés prématurément et soumis ou non à un régime hyperglucidique, ce dernier étant la cause chez les rats nouveau-nés, d'une augmentation de la cholestérolémie (Hahn and Kirby, 1973). Faisant suite à cette expérience princeps, un grand nombre de modèles de restriction alimentaire périnatale a vu le jour, les descendants adultes ayant comme

caractéristique de présenter au moins un trait de syndrome métabolique. Ainsi, des modèles de restriction alimentaire maternelle de 50% que ce soit durant la dernière semaine de gestation (21 jours) chez la rate (Blondeau *et al.*, 2001; Garofano *et al.*, 1999), du 12,5^{ème} au 18,5^{ème} jour de gestation (21 jours) chez la souris (Jimenez-Chillaron *et al.*, 2005), du 110^{ème} jour de gestation jusqu'au terme (147 jours) chez la brebis (Gardner *et al.*, 2005) ou encore de 30% de restriction pendant toute la gestation (70 jours) chez le cobaye (Kind *et al.*, 2003), vont tous conduire à des altérations du métabolisme glucidique chez la descendance à l'âge adulte. Une restriction protéique, ne concernant donc plus l'ensemble des éléments nutritifs mais uniquement les protéines, conduira aux mêmes altérations chez l'adulte (Ozanne and Hales, 2002b). L'hypertension, largement associée au syndrome métabolique, est également retrouvée au sein de différents modèles de dénutrition maternelle : de 30% du 10^{ème} jour de gestation au terme chez la souris (Kawamura *et al.*, 2007) ; de 70% pendant toute la gestation chez le rat (Rivière *et al.*, 2005) ; de 50% pendant les 30 derniers jours de gestation chez le mouton (Edwards and McMillen, 2001). Des modèles visant à réduire l'apport nutritif apporté au fœtus par ligature des artères utérines conduisent à une altération du métabolisme du glucose combinée à une augmentation de la pression systolique (Schreuder *et al.*, 2006). Il existe également des modèles expérimentaux visant à limiter l'apport en oxygène au fœtus, en jouant sur la capacité du placenta à faire passer l'oxygène ou à l'aide d'inhalation de monoxyde d'azote, qui causent une programmation de troubles cardiovasculaires (Zhang, 2005). De la même manière, une surexposition maternelle aux glucocorticoïdes provoque des troubles neuro-développementaux chez le rat (Finer *et al.*, 2000 ; Lajic *et al.*, 1998 ; Trautman *et al.*, 1995) et une augmentation de la pression artérielle à l'âge de 4 mois (Woods and Weeks, 2005).

L'ensemble de ces données indique que les stress prénataux ont des conséquences délétères à long terme. Pour étudier l'importance de la période post-natale précoce (lactation, en particulier) sur les mécanismes de programmation, des modèles d'altérations nutritionnelles, pendant la gestation et la lactation ou pendant la lactation uniquement, ont été développés. Le modèle FR50 qui couvre une partie de la gestation et toute la lactation donne naissance à des descendants qui présentent un léger RCIU, ce retard de croissance étant largement accentué au sevrage et accompagné d'altérations de la mise en place de l'axe corticotrope (Lesage *et al.*, 2006 ; Vieau *et al.*, 2007). Il s'agit plus en réalité d'un modèle de retard de croissance extra-utérin (RCEU). Plagemann et ses collaborateurs ont, quant à eux, développé un modèle permettant de moduler l'apport alimentaire pendant la lactation en

faisant varier la taille des portées. Les animaux présents dans les petites portées sont suralimentés tandis que les rats inclus dans des portées de grande taille sont sous-alimentés. De manière, très intéressante, une suralimentation pendant la période post-natale va conduire aux mêmes altérations que celles observées lors d'une restriction alimentaire, indiquant que la quantité de lait ingéré est sans aucun doute un facteur de programmation chez le rat (Plagemann *et al.*, 1999).

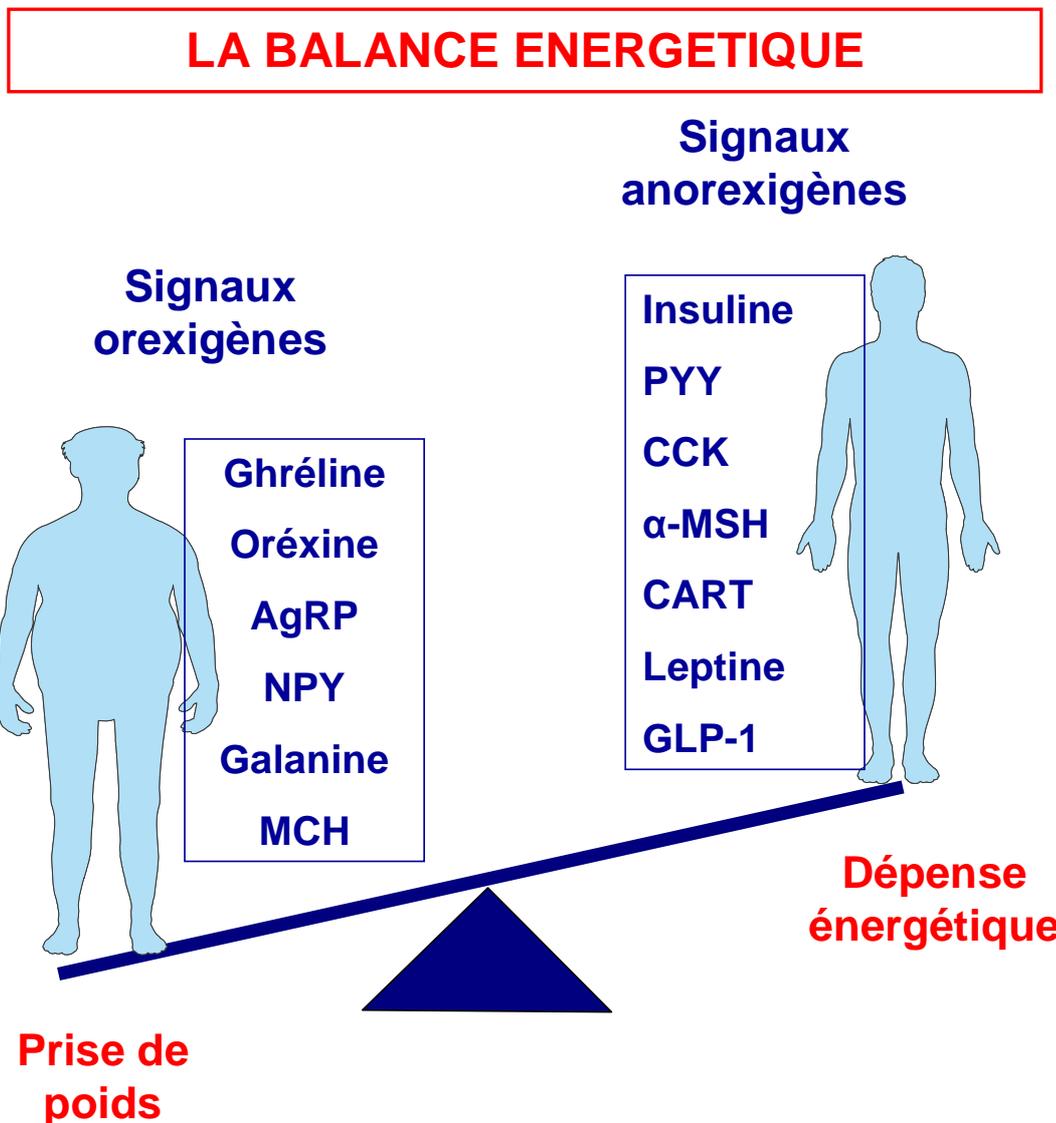


Figure 10 : équilibre entre dépense énergétique et prise de poids à la base du métabolisme et principaux facteurs orexigènes et anorexigènes impliqués dans le déséquilibre entre le contrôle de la prise alimentaire et la dépense énergétique responsable de la survenue de trouble métabolique (**AgRP** : Agouti-related peptide ; **NPY** : Neuropeptide Y ; **MCH** : Melanin-concentrating hormone ; **PYY** : Peptide YY ; **CCK** : Cholécystokinine ; **α -MSH** : α -melanocyte stimulating hormone ; **CART** : Cocaine and amphetamine regulated transcript)

III – Les principaux acteurs du contrôle de l'homéostasie énergétique : focus sur la prise alimentaire

Comme nous l'avons déjà largement évoqué, l'ensemble des modèles expérimentaux conduisant à un RCIU s'accompagne à l'âge adulte de l'apparition d'un ou plusieurs traits de syndrome métabolique. Dans de nombreux cas, le SM ou les pathologies qui lui sont associées, en particulier l'obésité, résulte d'une augmentation de la prise alimentaire et/ou d'une diminution de la dépense énergétique. L'homéostasie énergétique est assurée par l'équilibre entre prise alimentaire et dépense énergétique. Si cet équilibre est rompu, l'individu s'expose au développement de pathologies de type hypertension, diabète de type 2 ou encore obésité (Figure 10). Il est donc indispensable d'identifier les principaux acteurs impliqués dans le contrôle de la prise alimentaire et de la dépense énergétique tant au niveau central qu'au niveau périphérique.

III-1) Rôle du système nerveux central

Le comportement alimentaire résulte de la prise alimentaire (faim) et de l'arrêt de cette même prise de nourriture (satiété). La prise de nourriture est indispensable à la survie d'un individu mais va pouvoir également se révéler être très délétère si elle n'est pas correctement régulée. Cette régulation est propre à chaque espèce. En effet, toutes ne présentent pas le même rythme de vie et les mêmes besoins énergétiques. Cependant, la nécessité d'une régulation fine de la prise alimentaire est incontestable et les troubles de la prise alimentaire, qu'ils se concrétisent par une hyper ou une hypophagie, vont pouvoir engendrer une obésité ou à l'inverse une anorexie. Cette régulation va être dépendante de différents facteurs comme l'environnement externe (rythme circadien, saisons) ou l'état énergétique de l'organisme. Afin de recouper ces différentes informations, il faut un centre capable de les intégrer et de donner naissance à une réponse adéquate. Les premières avancées, quant à l'identification de ce centre régulateur, datent du milieu du XX^{ème} siècle. Anand et Brobeck en 1951 mettent en avant le rôle central de l'hypothalamus dans le contrôle de la prise alimentaire à l'aide d'expériences visant à détruire certaines régions hypothalamiques. En effet, à l'aide d'électrodes, il a créé des lésions dans les différents noyaux hypothalamiques, un à un, pour ensuite étudier l'impact qu'à chacun de ces noyaux sur le comportement alimentaire.

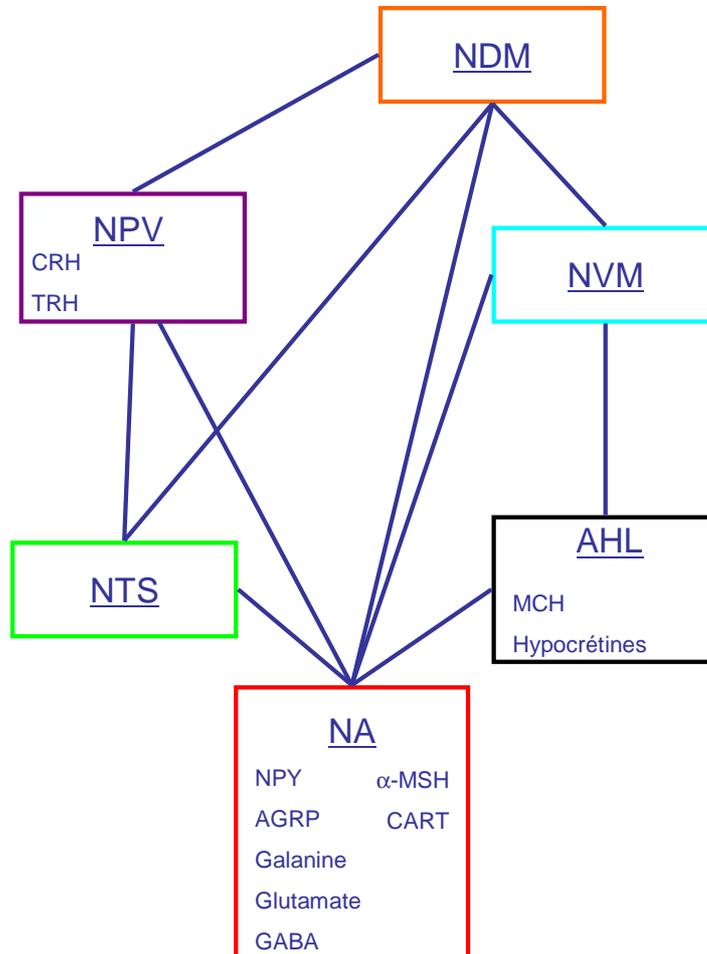


Figure 11 : principales interconnexions impliquées dans la régulation de la prise alimentaire dans le système nerveux central (**NDM** : Noyau dorsomédian ; **NVM** : Noyau ventromédian ; **NPV** : Noyau paraventriculaire ; **NTS** : Noyau du tractus solitaire ; **AHL** : Aire hypothalamique latérale ; **NA** : Noyau arqué ; **CRH** : Corticotropin releasing hormone ; **TRH** : Thyrotropin-releasing hormone ; **MCH** : Melanin-concentrating hormone ; **NPY** : Neuropeptide Y ; **AGRP** : Agouti-related peptide ; **GABA** : Acide γ -aminobutyrique **α -MSH** : α -melanocyte stimulating hormone ; **CART** : Cocaine and amphetamine regulated transcript)

Il montre ainsi que plusieurs noyaux sont impliqués dans ce contrôle et que la destruction d'un de ces noyaux impacte de manière globale toute la régulation de la prise alimentaire, suggérant que ces noyaux sont interconnectés (Figure 11), et que cette interconnexion est indispensable au bon fonctionnement du comportement alimentaire. Chez les rongeurs, ce réseau capable de contrôler la prise alimentaire se met en place pendant une période précoce du développement post-natal (Bouret *et al.*, 2004). Ces connexions partent du noyau arqué pour atteindre les différents noyaux impliqués dans le contrôle du métabolisme énergétique selon une cinétique bien précise (Figure 15). La période post-natale précoce joue donc un rôle clef, pouvant influencer la mise en place de ces connexions, et ainsi perturber le contrôle du métabolisme énergétique, et donc finalement contribuer notamment au développement du surpoids et de l'obésité.

III-1-1) Le noyau arqué

III-1-1-1) Rôle

Le noyau arqué peut être considéré comme le chef d'orchestre de la régulation de la prise alimentaire de par sa capacité à intégrer différents signaux hormonaux impliqués dans l'homéostasie énergétique (Funahashi *et al.*, 2000). Par ailleurs, sa position centrale dans le réseau hypothalamique autour du 3^{ème} ventricule et son contact étroit avec l'éminence médiane, facilitent l'accès des hormones périphériques à ce noyau, le rendant donc crucial dans l'intégration des peptides comme la leptine, l'insuline ou la ghréline (Friedman and Halaas, 1998 ; Schwartz *et al.*, 1992a ; Schwartz *et al.*, 1992b). Ce noyau contient un grand nombre de neurones impliqués dans le contrôle de la prise alimentaire tels ceux produisant le NPY (Everitt, 1989), l' α -MSH (Finley *et al.*, 1981 ; Mansour *et al.*, 1988), la galanine (Merchantaler *et al.*, 1993), l'acide γ -aminobutyrique (GABA) (Decavel and Van den Pol, 1990), le cocaine and amphetamine regulated transcript (CART) (Kristensen *et al.*, 1998) ou encore l'agouti related protein (AgRP) (Shutter *et al.*, 1997 ; Figure 11). Ces différents neurones vont émettre des projections vers divers noyaux de l'hypothalamus comme le noyau ventromédian (NVM), le noyau dorsomédian (NDM) ou encore le noyau paraventriculaire (NPV). L'ensemble de ces peptides va jouer un rôle différent dans le contrôle de la prise alimentaire. En effet, le NPY, l'AgRP, la galanine et le GABA sont des peptides orexigènes qui vont favoriser la prise de nourriture, tandis qu'à l'inverse l' α -MSH et le CART sont des peptides anorexigènes qui vont inhiber cette même prise de nourriture.

III-1-1-2) Les signaux orexigènes

III-1-1-2-1) Le neuropeptide Y

Le neuropeptide Y (NPY) qui a été isolé à partir de l'intestin de porc (Tatemoto, 1982), est un peptide de 36 acides aminés membre de la famille des peptides pancréatiques. Il est exprimé largement au sein du SNC mais plus principalement dans le tronc cérébral et les noyaux arqué et dorsomédian de l'hypothalamus. Son rôle dans le contrôle de la prise alimentaire a été mis en avant grâce à des injections intra-cérébroventriculaires (icv) chez le rat qui causent une augmentation de la prise alimentaire (Clark *et al.*, 1984). Des injections chroniques de NPY entraînent une hyperphagie et une diminution de la thermogénèse qui vont, toutes deux, conduire à l'obésité (Stanley *et al.*, 1986). L'étude de modèles présentant des augmentations de la prise alimentaire a révélé une hausse de l'expression du NPY au niveau hypothalamique chez ces animaux par rapport aux animaux témoins (Williams *et al.*, 1989 ; Wilding *et al.*, 1993). Il existe 5 types de récepteurs au NPY : Y1, Y2, Y4, Y5 et Y6 (Gehlert, 2004 ; Wahlestedt and Reis, 1993). Cependant seuls Y1 (Pedrazzini *et al.*, 1998) et Y5 (Marsh *et al.*, 1998; Pedrazzini *et al.*, 1998) sont impliqués dans le contrôle de la prise alimentaire. Le NPY est exprimé de manière ubiquiste au sein de l'hypothalamus et son rôle est de stimuler la prise alimentaire lorsque les réserves énergétiques sont basses. Son expression sera donc sensible au jeûne (Sahu *et al.*, 1988). Cependant, même si il est largement impliqué dans le contrôle du métabolisme, il semble exister des systèmes capables de compenser l'action du NPY puisque les souris KO pour ce gène ne présentent pas d'altération marquée du comportement alimentaire ou de la prise de poids (Erickson *et al.*, 1996).

Bien que l'expression du NPY ne se limite pas au noyau arqué, c'est à ce niveau que les hormones périphériques vont pouvoir majoritairement influencer le contrôle de la prise alimentaire. C'est pourquoi il est intéressant de pouvoir discriminer les projections propres au noyau arqué de l'expression *in situ* du NPY dans les différents noyaux. Afin d'identifier ces projections partant du noyau arqué, il faut observer les fibres co-localisées avec l'AgRP. En effet, contrairement au NPY, l'AgRP a une expression confinée au sein du noyau arqué, et sa mise en évidence dans d'autres noyaux est donc le fruit de projections. Les neurones à NPY du noyau arqué vont se projeter vers un grand nombre de noyaux au sein de l'hypothalamus : le NPV, l'aire hypothalamique latérale (ALH), NDM (Broberger *et al.*, 1998) et le VMH (Bai *et al.*, 1985) ainsi qu'au niveau du noyau du tractus solitaire (Broberger *et al.*, 1998). Ces

différents réseaux se mettent en place au cours du développement. Ainsi, chez la souris, le NPY est présent au niveau du NPV dès le deuxième jour de vie mais uniquement à partir du 16^{ème} jour au sein de l'AHL (Grove *et al.*, 2001). L'expression hypothalamique du NPY varie au cours du développement et présente un pic à P16 (Singer *et al.*, 2000), mais ces variations d'expression n'ont pas d'impact sur la prise alimentaire pendant la période précoce du développement témoignant d'une immaturité du système orexigène à NPY. Une semaine avant la fin du sevrage, le NPY n'est pas apte à réguler la prise alimentaire mais son expression au sein du noyau arqué va être modifiée en fonction de l'état énergétique de l'organisme. Ainsi une séparation maternelle entraîne une augmentation de l'expression du NPY et d'AgRP sans changement du comportement alimentaire (Grove *et al.*, 2001). La leptine, quant à elle, va être incapable de faire varier l'expression du NPY durant la première semaine de vie (Grove *et al.*, 2001), ce qui suggère que l'expression du NPY n'est pas uniquement sous le contrôle de la leptine, en tout cas dans les stades précoces du développement.

Il existe en effet, d'autres facteurs qui vont être capable de réguler l'expression du NPY.

Le rythme circadien contrôle l'expression du NPY puisque, chez le rat, les niveaux d'ARN messager du précurseur du NPY augmentent juste avant le début de la phase nocturne, période durant laquelle l'animal réalise la quasi-totalité de sa prise alimentaire (Akabayashi *et al.*, 1994).

La sérotonine est également capable d'influencer l'expression du NPY. Les fibres sérotoninergiques et à NPY sont étroitement liées au niveau du noyau arqué (Guy *et al.*, 1988). L'augmentation du signal sérotoninergique cause une diminution de la prise alimentaire conjointement à une diminution de l'expression du NPY (Dube *et al.*, 1992). L'influence de la sérotonine a été confirmée par l'utilisation de différents agents pharmacologiques. Ainsi le traitement avec le fenfluramine responsable d'une augmentation de la sérotonine, via l'augmentation de la libération au niveau hypothalamique et une diminution de la recapture au niveau neuronal, diminue l'expression du NPY et à terme conduit à une anorexie. A l'inverse, l'utilisation de fluoxétine qui empêche la recapture de la sérotonine au niveau de la fente synaptique, augmente l'expression du NPY et conduit à une hyperphagie (Rogers *et al.*, 1991 ; Dryden *et al.*, 1996).

Les hormones sexuelles, testostérone et œstrogènes, vont également jouer un rôle sur l'expression du NPY. Elles sont responsables de l'augmentation de son message au niveau de l'hypothalamus (Sahu *et al.*, 1992 ; Sahu *et al.*, 1994 ; Sahu *et al.*, 1989). De plus, une gonadectomie abaisse le taux de preproNPY, et cette diminution sera corrigée par des injections de testostérone (Sar *et al.*, 1990). A l'inverse, les œstrogènes inhibent la prise alimentaire, tandis qu'une ovariectomie produit l'effet opposé (Kalra and Kalra 1996).

Les glucocorticoïdes régulent l'expression du NPY de manière plus discrète même si les neurones à NPY sont riches en récepteurs aux glucocorticoïdes (Hisano *et al.*, 1988). Le traitement d'animaux surrénalectomisés par des glucocorticoïdes exogènes conduit à une augmentation de l'expression du gène NPY et à une hausse de la prise alimentaire et du poids de l'animal (Larsen *et al.*, 1994). Le NPY est donc sensible aux glucocorticoïdes bien que chez ces mêmes animaux surrénalectomisés, il n'y ait pas de variation de son expression de manière globale au niveau de l'hypothalamus. Néanmoins, des modifications plus fines de l'expression de son gène sont retrouvées au niveau du NPV et du NDM, deux noyaux riches en récepteurs aux glucocorticoïdes. Cependant, la diminution de NPY observée ne modifie pas notablement la prise alimentaire (Akabayashi *et al.*, 1994). Ainsi même s'il existe bien un lien entre glucocorticoïdes et expression du NPY, les neurones à NPY étant capables de réagir à une exposition aux glucocorticoïdes, cette voie de contrôle ne semble pas être fortement impliquée dans la régulation de la prise alimentaire.

Les cytokines peuvent moduler l'effet orexigène du NPY. En effet, dans un grand nombre d'infections et de pathologies, on constate une perte d'appétit. A titre d'exemple, l'interleukine-1 est responsable d'une diminution de la prise alimentaire (Plata-Salamán, 1991), tout comme une autre cytokine, le ciliary neurotrophic factor (CNTF ; Xu *et al.*, 1998a). Des injections icv de CNTF entraînent une diminution de l'expression du NPY et de son récepteur Y1, ce qui, *in fine*, sera responsable d'une chute de la prise alimentaire (Xu *et al.*, 1998b).

Enfin, **la leptine** va également être capable d'influencer l'expression du NPY. Dans des modèles d'obésité due à une déficience en leptine (souris ob/ob) ou en son récepteur (souris db/db ; rat fa/fa) une augmentation de l'expression du NPY est observée (Beck, 2006).

III-1-1-2-2) L'agouti related peptide

L'agouti related peptide (AgRP) est un peptide de 132 acides aminés (Wilson *et al.*, 1999), dont le gène est principalement exprimé au niveau de l'hypophyse et de l'hypothalamus. Il est co-localisé avec la POMC et les récepteurs MC3-R et MC4-R, récepteurs des mélanocortines et de l' α -MSH, en particulier (Bagnol *et al.*, 1999). On le retrouve également au niveau des NPV, NDM, NVM et de l'éminence médiane. L'AgRP n'a pas un rôle direct sur le contrôle de la prise alimentaire, mais se comporte plutôt comme un antagoniste de l'action anorexigène de l' α -MSH puisqu'il se fixe également sur les récepteurs MC3-R et MC4-R. Tout comme pour le NPY, l'AgRP ne semble pas indispensable au maintien d'un métabolisme adéquat comme le montrent les souris KO pour ce gène qui ne présentent pas de troubles majeurs du métabolisme (Qian *et al.*, 2002).

III-1-1-2-3) La galanine

La galanine, un neuropeptide de 29 acides aminés issu de la protéolyse d'un précurseur peptidique, est exprimée principalement au niveau du cerveau et de l'intestin. Elle est impliquée dans les phénomènes cognitifs et de mémoire, dans les mécanismes de la douleur, dans la neurotransmission et la sécrétion hormonale mais également dans la régulation du comportement alimentaire (Leibowitz, 1998 ; Leibowitz, 1995). Au niveau central, son action est proche de celle du NPY. Elle est co-exprimée avec le GABA, la noradrénaline, la sérotonine et le NPY et est retrouvée dans les noyaux arqués, dorsomédian et periventriculaire ainsi que dans le tronc cérébral et le noyau du tractus solitaire (Tan *et al.*, 2004). Une administration icv de galanine augmente la prise alimentaire, en particulier l'appétence pour les lipides, tandis que des injections chroniques augmentent la prise alimentaire pendant la phase lumineuse chez le rongeur mais n'ont pas de conséquence sur la prise de poids ni sur les calories ingérées (Smith *et al.*, 1994). L'impact de la galanine en conditions normales sur le comportement alimentaire reste encore à définir. L'utilisation du M40, un inhibiteur du récepteur à la galanine, bloque l'effet propre de la galanine mais ne parvient pas à modifier la prise alimentaire (Corwin *et al.*, 1993 ; Corwin *et al.*, 1995 ; Crawley, 1995). Ces différentes observations suggèrent qu'il pourrait exister un mécanisme compensatoire permettant de prendre le relais en cas d'inhibition du système à galanine ou que la galanine exerce des effets subtils dans des conditions physiologiques particulières. L'expression de la galanine semble liée à celle de la POMC mais pas du NPY, suggérant qu'elle puisse interagir avec la β -endorphine, un peptide orexigène dérivé de la POMC (Xu *et al.*, 1999).

III-1-1-2-4) Le glutamate et le γ -aminobutyric acid

Ces deux neurotransmetteurs sont produits au sein de différents noyaux hypothalamiques. Il s'agit, en réalité, des neurotransmetteurs les plus abondants, et tous deux stimulent la prise alimentaire. L'injection via une canule de glutamate au sein de l'AHL provoque l'augmentation de la prise alimentaire (Stanley *et al.*, 1993a ; Stanley *et al.*, 1993b). Le GABA, qui est un inhibiteur de la transmission synaptique, est étrangement responsable d'une augmentation de la prise alimentaire. Cependant, les fibres gabaergiques, qui sont en contact avec les neurones contenant l' α -MSH au niveau du noyau arqué (Horvath *et al.*, 1992), pourraient donc contrôler la libération de ce peptide anorexigénique dérivé de la POMC, ce qui aurait pour conséquence une augmentation de la prise alimentaire. L'utilisation du Muscinol, un agoniste du récepteur GABA_A, et de GABA qui inhibent tous deux la sécrétion d' α -MSH (Jegou *et al.*, 1993) a permis de conforter cette hypothèse.

III-1-1-3) Les signaux anorexigènes

III-1-1-3-1) α -Melanocyte Stimulating Hormone

L' α -MSH qui est constituée de 13 acides aminés est l'acteur principal du système anorexigène, et l'extinction du gène de son précurseur, la POMC, est responsable d'une augmentation de la prise alimentaire et de la prise de poids (Yaswen *et al.*, 1999). Les neurones contenant ce peptide se trouvent principalement au niveau du noyau arqué et vont émettre des projections vers le NDM, l'aire préoptique, le NPV ou encore l'AHL (Kim *et al.*, 2000 ; Jacobowitz and O'Donohue, 1978). Il existe 5 types de récepteurs aux mélanocortines mais seuls deux sont présents au niveau du cerveau et lient l' α -MSH, les récepteurs de type 3 et 4 (Mountjoy *et al.*, 1992) ; le MC4 avec une bonne affinité et le MC3 avec une affinité moindre (Cone, 1999). Le récepteur de type 4 est retrouvé au niveau du cortex, du thalamus, du tronc cérébral, de la moelle épinière et de l'hypothalamus (Mountjoy *et al.*, 1994). Au niveau hypothalamique, il est présent au sein des NPV, NDM, NVM et de l'AHL notamment (Kim *et al.*, 2000), et semble médier l'effet majeur de l' α -MSH sur le contrôle de la prise alimentaire. En effet, l'inactivation de son gène va se traduire par une obésité, une hyperphagie, et une hyperinsulinémie accompagnée d'une hyperglycémie (Huszar *et al.*, 1997). Le KO du gène du récepteur de type 3 est, quant à lui, responsable d'une augmentation de la masse grasse. Ces différentes études confirment l'implication du système mélanocortinergique dans la régulation de la prise alimentaire. Comme nous l'avons évoqué

précédemment, l' α -MSH et l'AgRP vont entrer en compétition quant à la fixation sur le récepteur pour moduler l'effet anorexigène de l' α -MSH (Challis *et al.*, 2004). L'administration icv d'un agoniste non spécifique du MC3 ou du MC4, le MTH, cause une diminution de la prise alimentaire (Fan *et al.*, 1997) ce qui suggère que le rôle de l' α -MSH via ce récepteur prédomine par rapport à celui de l'AgRP.

III-1-1-3-2) Cocaine and Amphetamine Regulated Transcript

Le Cocaine and Amphetamine Regulated Transcript (CART) est un peptide issu de la protéolyse d'un précurseur qui donnera 102 ou 89 acides aminés, et est co-localisé avec la POMC au niveau du noyau arqué. Il va, comme l' α -MSH, exercer une action anorexigène. Le CART est principalement exprimé au niveau du noyau arqué mais aussi dans l'AHL et le NPV (Vrang *et al.*, 1999). Des injections icv de CART vont empêcher la reprise de nourriture suite à un jeûne (Lambert *et al.*, 1998). A l'inverse l'administration icv d'un antisérum dirigé contre le CART va augmenter la prise alimentaire (Kristensen *et al.*, 1998), confirmant ainsi le rôle anorexigène de ce peptide. Cependant, en dépit de ce rôle avéré dans la régulation de la prise alimentaire, les souris KO pour ce gène ne présentent pas d'altération du comportement alimentaire en présence d'un régime standard (Asnicar *et al.*, 2001). Ces données une nouvelle fois suggèrent l'existence de mécanismes de compensation pouvant limiter l'impact d'une suppression du signal CART.

III-1-2) Le noyau ventromédian

Comme souligné précédemment, l'importance du NVM dans le contrôle de la prise alimentaire a été mise en évidence par Anand et Brobeck en démontrant qu'une lésion du noyau hypothalamique ventromédian, qui contient le NVM, entraîne une hyperphagie (Anand and Brobeck, 1951). Le NVM est considéré comme le centre de la satiété en opposition au centre de la faim représenté par l'AHL (voir paragraphe suivant). Il a donc pour rôle d'exercer un frein permanent sur la prise alimentaire puisque l'altération des projections du NVM vers l'AHL entraîne une hyperphagie (Sclafani and Kirchgessner, 1986). Le NVM est un relais important dans le cheminement des informations visant à réguler la prise alimentaire et est qualifié de champ récepteur. Des injections au niveau du NVM de NPY (Morley, 1987), de galanine (Kyrkouli *et al.*, 1990), de GABA (Kelly *et al.*, 1977), et de β -endorphine (Grandison and Guidotti, 1977) vont augmenter la prise alimentaire et, à l'inverse, des

injections de leptine vont l'inhiber témoignant ainsi de l'éventail de facteurs auxquels le NVM est capable de répondre. Le NVM possède donc l'ensemble des récepteurs des différents signaux provenant du noyau arqué : POMC (Everitt and Hökfelt, 1989), CART (Koylu *et al.*, 1997), NPY (Finley *et al.*, 1981). Il va également émettre des projections à la fois vers le PVN et le DMN (Bernardis and Bellinger, 1987). Enfin, le NVM est un noyau où l'expression du BDNF est importante ; l'administration de ce dernier dans le ventricule latéral cause une diminution de la prise alimentaire et de la masse corporelle (Pelleymounter *et al.*, 1995).

III-1-3) L'aire hypothalamique latérale

III-1-3-1) Le rôle

L'aire hypothalamique latérale est considérée classiquement comme le centre de la faim puisque des lésions au niveau de cette région se traduisent par une diminution de la prise alimentaire (Bernardis and Bellinger, 1996). Tout comme le noyau arqué est capable de relayer des informations sur l'homéostasie de l'organisme, l'ALH possède des neurones sensibles au glucose qui vont être stimulés par une hypoglycémie. Les informations sur la glycémie sont acheminées via le tronc cérébral (Bernardis and Bellinger, 1996). L'ALH est également le lieu de synthèse des orexines et de la Melanin-Concentrating Hormone (MCH ; Inui, 2000), deux facteurs orexigènes (Figure 11).

III-1-3-2) Les signaux orexigènes

III-1-3-2-1) Melanin-Concentrating Hormone

La Melanin-Concentrating Hormone (MCH) est un peptide de 19 acides aminés issu de la protéolyse d'un précurseur (Segal-Lieberman *et al.*, 2006). Il existe deux types de récepteurs de la MCH, tous deux couplés à une protéine G : les récepteurs MCH-1R et MCH-2R, ce dernier étant non fonctionnel chez le rongeur (Maulon-Feraille *et al.*, 2002 ; Saito and Nagasaki, 2008). Le messenger du récepteur de type 1 est exprimé au niveau de l'hypophyse mais a également été retrouvé dans un adénome hypophysaire somatotrope suggérant que la MCH pourrait influencer la sécrétion de GH (Segal-Lieberman *et al.*, 2006). Le rôle de la MCH dans la régulation du comportement alimentaire a été mis en évidence grâce à l'utilisation de souris ob/ob chez qui des injections icv de MCH entraînent une augmentation de la prise alimentaire associée à une diminution de la dépense énergétique. De plus, des

souris déficientes en MCH présentent une hypophagie qui s'accompagne d'une perte de poids, d'une augmentation du métabolisme ainsi que d'une diminution de la leptine (Shimada *et al.*, 1998), ce qui conforte le rôle de la MCH en tant que facteur orexigène.

III-1-3-2-2) Les hypocrétines

Les hypocretines, appelées également orexines, ont été découvertes conjointement par deux équipes (de Lecea *et al.*, 1998 ; Sakurai *et al.*, 1998). Elles sont issues de la protéolyse d'un précurseur et deux peptides biologiquement actifs de 30 acides aminés, dénommés respectivement orexines 1 et 2 ont été identifiés. Le gène de la pré-pro-orexine est exprimé au niveau de l'hypothalamus latéral et dorsal et de l'aire périfornicale (Sakurai, 2006 ; Gao and Horvath, 2008 ; Sakurai *et al.*, 1998). Les orexines/hypocrétines exercent leurs effets biologiques via deux types de récepteurs (type 1 et 2) qui sont présents au niveau du noyau arqué, du NVM, du noyau suprachiasmatique et du NPV. Les fibres contenant ces deux hormones sont en contact avec les neurones à NPY au niveau du noyau arqué (Horvath *et al.*, 1999). Des injections aiguës en icv d'orexines 1 et 2 stimulent la prise alimentaire (Sakurai *et al.*, 1998). Des injections icv d'orexine 1 pendant la phase lumineuse entraînent une augmentation de la prise alimentaire tandis que lors de la phase sombre, l'action de l'orexine est masquée par l'effet du NPY (Haynes *et al.*, 1998). Ceci suggère que ces hormones auraient plutôt un rôle au niveau de la variation du rythme circadien, ce qui se traduirait par une augmentation de la prise de nourriture chez les rongeurs pendant la phase lumineuse, plutôt qu'un rôle direct sur le contrôle de la prise alimentaire. Cette hypothèse est étayée par le fait que les personnes atteintes de narcolepsie présentent souvent une altération du récepteur à l'orexine (Ganjavi and Shapiro, 2007) ce qui suggère que les orexines seraient plutôt responsables d'un maintien de l'éveil ce qui, bien entendu, est une condition *sine qua non*, pour s'alimenter (pour revue Saper, 2006).

III-1-4) Le noyau dorsomédian

De la même manière, que pour la majeure partie des noyaux impliqués dans la régulation de la prise alimentaire, le rôle du NDM a été défini à l'aide de lésions (Bernardis and Bellinger, 1987 ; Satoh *et al.*, 1997). L'action sur la prise alimentaire du NDM semble être liée à l'expression du NPY. En effet, une augmentation de l'expression de c-Fos (gène de réponse précoce qui est l'un des premiers à être stimulé lors d'une activation cellulaire) a été mise en évidence au sein du NDM, lors d'une injection de leptine qui entraîne une diminution de l'expression du NPY (Elmqvist *et al.*, 1997) et de la prise alimentaire. De plus, chez les souris DIO et MC4 KO présentant toutes deux des troubles du métabolisme, on constate une augmentation de l'expression du NPY au sein du NDM. Le NDM reçoit des projections du noyau arqué (Bai *et al.*, 1985) et va émettre des projections vers le NPV et le NVM (Bernardis

and Bellinger, 1987), et sert donc d'interface entre ces différents noyaux.

III-1-5) Le noyau paraventriculaire

Ce noyau bordant le troisième ventricule est le principal site de sécrétion du CRH et de la TRH tous deux impliqués dans le contrôle de la dépense énergétique (Figure 11). Des injections icv de CRH inhibent la prise alimentaire et le gain de poids chez le rat (Vettor *et al.*, 2002), et augmentent la dépense énergétique chez l'homme (Smith *et al.*, 2001). De la même manière, des injections icv de TRH diminuent la prise alimentaire chez le rat (Vettor *et al.*, 2002). De plus, l'expression du TRH est stimulée par l' α -MSH et inhibée par le NPY et l'AgRP. Ce noyau reçoit donc des projections de neurones à NPY, à POMC, à galanine et à orexine. Il semble donc jouer un rôle d'intégration des différents signaux (Neary *et al.*, 2004).

III-1-6) Le noyau suprachiasmatique

Comme évoqué précédemment, le comportement alimentaire suit un rythme circadien. Une perturbation de ce rythme peut entraîner des troubles du comportement alimentaire conduisant notamment à l'obésité (Leon and Roth, 1977). Des lésions de ce noyau causent des variations de la régulation de la prise alimentaire (Nagai *et al.*, 1978), et on observe chez ces animaux une prise alimentaire en continu suggérant que le noyau suprachiasmatique est à la base d'un signal anorexigène.

III-1-7) Le tronc cérébral

Il existe une communication entre l'hypothalamus et le tronc cérébral jouant un rôle dans le contrôle de la prise alimentaire, cette interface se réalisant au niveau du noyau du tractus solitaire (NTS) (Ter Horst *et al.*, 1989). Le NTS contient les récepteurs Y1 et Y5 au NPY (Glass *et al.*, 2002 ; Dumont *et al.*, 1998) qui sont les deux récepteurs principalement impliqués dans le contrôle orexigénique exercé par le NPY. Par ailleurs, au sein du NTS, l'expression de ce peptide va varier en parallèle de la prise alimentaire (Yoshihara *et al.*, 1996). Le NTS reçoit à la fois des informations provenant du nerf vague (Williams *et al.*, 2001) et émet des projections notamment des neurones à NPY vers le NPV (Sawchenko *et al.*, 1985). Il est donc bien à la croisée des informations provenant de l'hypothalamus et du tronc cérébral. L'un des rôles du NTS est de contrôler la fréquence des repas, ce qui a pour conséquence de modifier leur taille (Grill and Smith, 1988).

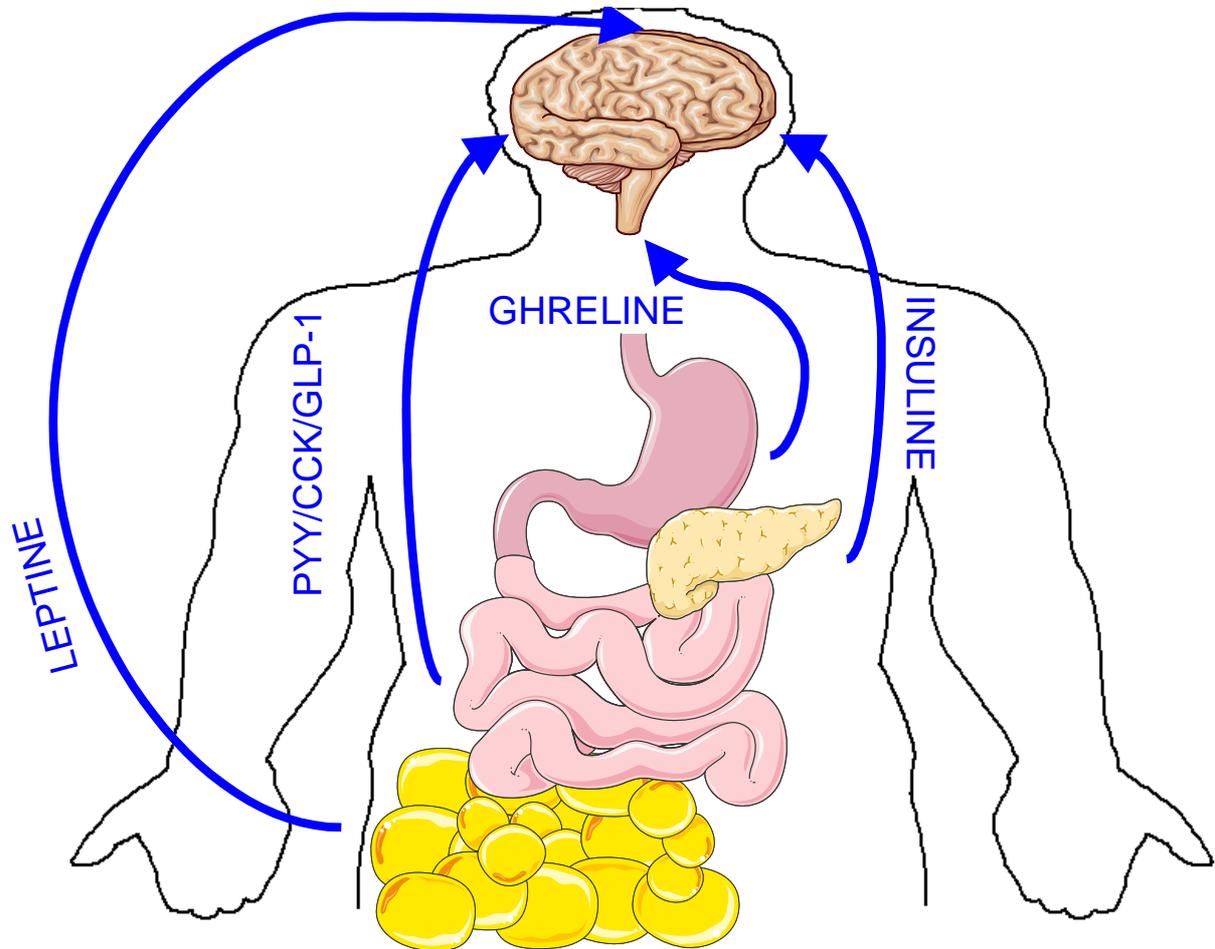


Figure 12 : principales afférences périphériques contrôlant la prise alimentaire (**PYY :** Peptide YY ; **CCK :** Cholécystokinine ; **GLP-1 :** glucagon-like peptide 1)

III-2) Rôle des signaux périphériques

III-2-1) La ghréline

La ghréline est une hormone de 28 acides aminés issue de la protéolyse d'un précurseur et produite par l'estomac. La ghréline existe sous deux formes : une forme inactive non modifiée et une forme active lorsqu'elle est octanoylée. Il s'agit du seul facteur périphérique orexigénique connu à ce jour (Nakazato *et al.*, 2001 ; Date *et al.*, 2000 ; Figure 12). L'expression de son messenger varie dépendamment de la prise alimentaire, et augmente avant chaque repas pour décliner une heure après la fin de la prise alimentaire. La ghréline semble donc être un signal initiateur de la prise alimentaire (Cummings *et al.*, 2001). Elle agit via un récepteur le GH secretagogue receptor 1a (GHSR1a) et fait varier à la fois l'expression de GH et la prise alimentaire via le système NPY/AgRP (Tamura *et al.*, 2002). Des injections icv de ghréline vont augmenter la prise alimentaire, cette action ayant lieu via son récepteur puisque l'utilisation d'un antagoniste de celui-ci, le [α -lys-3]-GHRP-6, bloque l'action de la ghréline. Ces injections vont activer c-Fos dans les neurones à NPY laissant penser que cette action de la ghréline passe via le système à NPY. Cette implication du NPY est confirmée par l'utilisation d'antagonistes dirigés contre les récepteurs Y1 et Y5 ce qui a pour effet de bloquer la stimulation de la prise alimentaire par la ghréline (Nakazato *et al.*, 2001). La ghréline semble avoir un rôle antagoniste de la leptine car comme la leptine, elle utilise également les voies du NPY et de la POMC. En effet, un l'injection icv d' α -MSH court circuite les effets de la ghréline (Nakazato *et al.*, 2001). De plus, si on réalise un traitement à la leptine suivi d'un autre à la ghréline, les effets de la leptine sont atténués, laissant supposer une certaine compétition entre ces deux molécules (Nakazato *et al.*, 2001). L'expression du gène de la ghréline est diminuée chez les individus anorexiques (Cummings *et al.*, 2001), ce qui en fait un gène potentiellement cible du phénotype économe.

III-2-2) Le peptide YY

Le peptide YY composé de 36 acides aminés et découvert en 1985 par Adrian, est un membre de la famille des polypeptides pancréatiques qui contient notamment le NPY avec lequel il partage une forte homologie de séquence, lui permettant ainsi d'interagir avec le récepteur Y2. Il est sécrété majoritairement par le tractus gastrointestinal au niveau de l'iléon et du colon (Figure 12) pour être, au niveau de la circulation, clivé dans sa forme la plus active, le PYY³⁻³⁶. Ce peptide est corrélé à l'état de satiété, ces taux étant faibles lors du repas et augmentant après celui-ci (Adrian *et al.*, 1985). Chez les personnes obèses, les taux de PYY

diminuent en période post-prandiale (Renshaw and Batterham, 2005), ce qui confirme le rôle satiétogène de ce peptide. Un KO du gène PYY se traduit, chez la souris, par un comportement hyperphagique et une obésité qui pourra être maîtrisée par des injections de PYY³⁻³⁶ (Batterham *et al.*, 2006). Le PYY exerce son rôle anorexigène sur la prise alimentaire via un passage à travers la barrière hémato-encéphalique en activant les neurones à POMC du noyau arqué (Batterham *et al.*, 2002), et via le nerf vague et le noyau du tractus solitaire de manière indépendante du noyau arqué (Koda *et al.*, 2005). En effet, lors d'une vagotomie on bloque les effets de ce peptide (Abbott *et al.*, 2005).

III-2-3) La cholécystokinine

La cholécystokinine (CCK) est issue de la protéolyse du proCCK et est présente principalement le long du tractus digestif au niveau du duodénum et du jéjunum (Larsson and Rehfeld, 1978 ; Figure 12). Les récepteurs de la CCK de type 1 et 2 sont exprimés au niveau du NTS, de l'hypothalamus et des afférences du nerf vague (Wynne *et al.*, 2005). Chez l'Homme, des injections en intraveineuse de CCK inhibent la prise alimentaire et diminuent la durée des repas, ce qui démontre le rôle anorexigène exercé par ce peptide (Muurahainen *et al.*, 1988). A l'inverse, l'utilisation d'un antagoniste du récepteur de type 1, le loxiglumide (LOX), produit une augmentation de la prise alimentaire et de la sensation de faim chez l'Homme (Beglinger *et al.*, 2001). Des souris KO pour le récepteur de type 1 ou l'utilisation d'un antagoniste de ce récepteur (via une administration en périphérie) sont responsables d'une obésité majoritairement due à une hyperphagie (Silver *et al.*, 1989). Le rôle de la CCK sur le comportement alimentaire est médié par le nerf vague qui relaie l'information jusqu'au tronc cérébral (Chen *et al.*, 2008).

III-2-4) Le Glucagon like peptide-1

Le Glucagon like peptide-1 (GLP-1) est issu de la protéolyse du proglucagon au niveau des cellules L de l'intestin (Figure 12). Comme d'autres peptides intestinaux, il est retrouvé au niveau de l'hypothalamus (Larsen *et al.*, 1997), et notamment au niveau du noyau paraventriculaire et du noyau arqué où est exprimé son récepteur (Shughrue *et al.*, 1996). Ce dernier est co-localisé à 60% avec les neurones à POMC (Sandoval *et al.*, 2008). Le GLP-1 est sécrété en fonction de l'apport alimentaire et va inhiber la prise alimentaire (Turton *et al.*, 1996). En effet, des injections icv ou intrapéritonéales de ce peptide vont, chez le rat, se traduire par une activation de c-Fos au sein des noyaux arqué et paraventriculaire diminuant de la sorte la prise alimentaire (Larsen *et al.*, 1997). Le GLP-1 est également retrouvé dans les

fibres en provenance du noyau du tractus solitaire (Alvarez *et al.*, 1996). C'est, en effet, via le nerf vague qu'il va exercer son action puisque dans le cas d'une vagotomie ou d'une rupture des connexions entre le tronc cérébral et l'hypothalamus, le GLP-1 est inactif.

III-2-5) L'insuline

L'insuline est constituée de 51 acides aminés et est issue de la protéolyse de la pro-insuline. Elle est sécrétée par les cellules β pancréatiques et exerce, en plus de son action hypoglycémiant bien connue, des effets sur le contrôle de la prise alimentaire assez proches de ceux de la leptine (voir paragraphe suivant) (Figure 12). En 1967 Bagdade et coll. ont établi, pour la première fois, le lien entre obésité et insuline en montrant que le surpoids diminuait la sensibilité à l'insuline. Parallèlement, il a été montré qu'elle était capable d'interagir avec des neurones clés du noyau arqué qui expriment son récepteur (Corp *et al.*, 1986 ; Marks *et al.*, 1990). Le rôle direct de l'insuline a été démontré par des injections chroniques dans le ventricule cérébral d'insuline qui entraînaient une diminution de la prise alimentaire et de l'adiposité chez le babouin (Woods *et al.*, 1979). L'insuline, étant une hormone périphérique, doit être capable, pour pouvoir exercer son action, d'atteindre le noyau arqué. L'injection en intraveineuse d'insuline fait augmenter conjointement ses concentrations plasmatiques et celles du liquide céphalorachidien chez les animaux et les hommes témoignant de sa capacité à traverser la barrière hémato-encéphalique (Woods and Porte, 1977 ; Wallum *et al.*, 1987). Ce passage s'effectue via des récepteurs exprimés par les cellules endothéliales au niveau des capillaires cérébraux capables d'effectuer un transport transendothélial (Hachiya *et al.*, 1988). Les récepteurs à l'insuline sont largement exprimés au sein du système nerveux central en général, et de l'hypothalamus, en particulier (Baskin *et al.*, 1988). L'insuline va être capable d'une part d'inhiber les systèmes orexigènes et d'autre part de stimuler les systèmes anorexigènes.

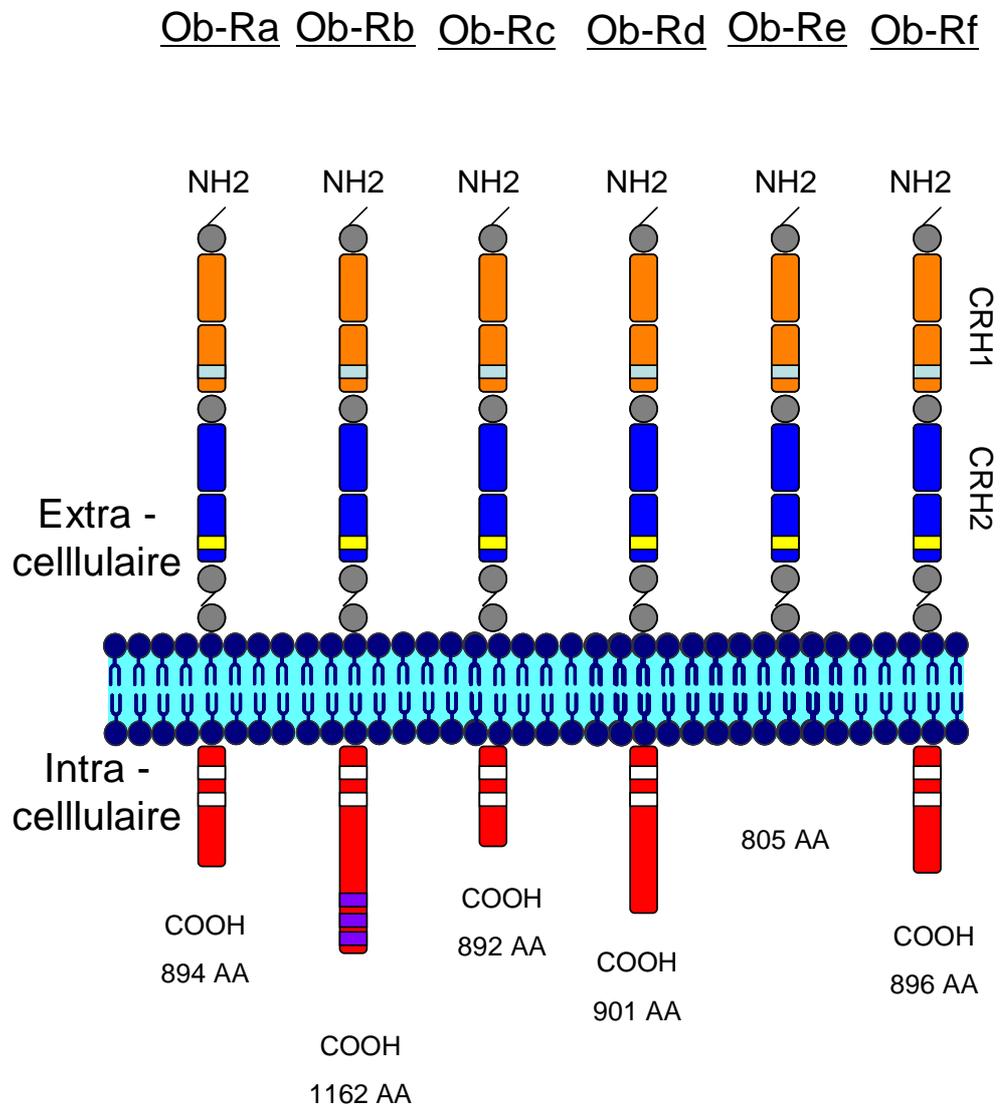


Figure 13 : les différentes isoformes du récepteur de la leptine Ob/R (CRH1/2 : Domaine cytokine receptor homology 1/2)

L'utilisation d'ARNs antisens, qui vont éteindre l'expression du gène du récepteur de l'insuline au sein de l'hypothalamus, est responsable de l'augmentation de la prise alimentaire en parallèle d'un accroissement de l'expression du NPY et de l'AgRP (Obici *et al.*, 2002). Des injections icv d'insuline vont, quant à elles, augmenter l'expression de l' α -MSH (Benoit *et al.*, 2002). Cette action de l'insuline passe via la voie PI3K qui est empruntée également par la leptine (Spanswick *et al.*, 2000). Des animaux présentant un KO spécifique du récepteur à l'insuline ou présentant une absence de IRS2 (Insulin Receptor Substrate 2), un élément clef de la réponse à l'insuline situé entre l'activation du récepteur et celle de la voie PI3K, développent une obésité (Burks *et al.*, 2000 ; Brumling *et al.*, 2000).

III-2-6) La leptine

La leptine (du grec *leptos* qui veut dire mince) est une hormone découverte par Zhang en 1994 par clonage positionnel dans un modèle de souris obèse (ob/ob) portant la mutation homozygote pour ce gène. Ces souris produisent une leptine tronquée biologiquement inactive. Son messenger est exprimé principalement au niveau du tissu adipeux. La leptine est une protéine de 16kDa qui est sécrétée dans la circulation sanguine sans qu'elle ne subisse de modifications post-traductionnelles. Elle possède une demi-vie de 5 à 9 minutes chez le rat et de 25 min chez l'Homme (Harris *et al.*, 1997 ; Klein *et al.*, 1996). Elle possède une forte homologie de séquence protéique (84%) entre l'homme et la souris (Zhang *et al.*, 1994).

Sa découverte constitue l'une des avancées majeures dans la compréhension de la régulation de la prise alimentaire, et à ce jour près de 20 000 articles scientifiques lui ont été consacrés. Cette hormone sécrétée par les adipocytes est considérée comme le reflet du niveau de masse grasse de l'organisme (Frederich *et al.*, 1995 ; Figure 12). Depuis sa découverte, l'expression de son messenger a également été mise en évidence dans le placenta (Bi *et al.*, 1997), les cellules stellaires hépatiques, le muscle squelettique (Wang *et al.*, 1998), la glande mammaire (Smith-Kirwin *et al.*, 1998), le SNC, l'hypophyse (Wilkison *et al.*, 2007) et dans l'estomac (Bado *et al.*, 1998 ; Oliver *et al.*, 2002) où elle semble dépendante de la CCK. En effet, des injections de CCK-8 en intrapéritonéale diminuent l'immunoréactivité de la leptine au niveau des cellules gastriques de manière dose dépendante (Bado *et al.*, 1998). La leptine peut traverser la barrière hémato-encéphalique (Banks *et al.*, 1996) ce qui lui permet d'aller agir sur le noyau arqué, les noyaux ventro et dorsomedian (Elmqvist *et al.*, 1998a) ainsi que de manière indirecte sur l'aire hypothalamique latérale (Elias *et al.*, 1999) ou encore sur le noyau paraventriculaire (Elmqvist *et al.*, 1998b ; figure 12), qui tous vont exprimer la forme active du récepteur à la leptine.

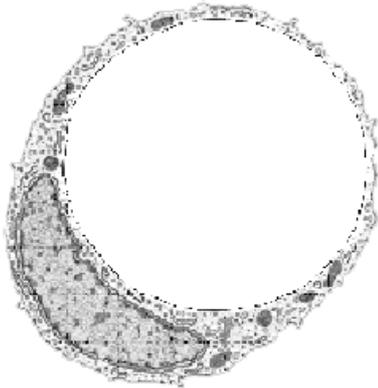
Le gène *db* codant le récepteur de la leptine a été identifié pour la première fois par Tartaglia et coll en 1995. Ce gène peut subir des mécanismes d'épissage alternatif aboutissant à la génération d'au moins 6 isoformes, de Ob-Ra à Ob-Rf se distinguant par la longueur de leur domaine intracellulaire/C-terminal (Chen *et al.*, 1996 ; Figure 13). Ces isoformes sont relativement conservées entre les rongeurs et l'Homme. Ob-Rb est l'isoforme longue, active puisque possédant un domaine intracellulaire, Ob-Re est une forme soluble et les quatre autres isoformes sont courtes. Ob-Re est capable de lier la leptine avec une forte affinité (Diamond *et al.*, 1997), et permet de stabiliser la leptine au niveau plasmatique, en augmentant sa demi-vie et en contrôlant sa disponibilité. Ob-Ra est retrouvé au niveau des vaisseaux cérébraux et du plexus choroïde, constituants de la barrière hémato-encéphalique (BHE ; Bjørbaek *et al.*, 1998) où il est capable de lier et d'internaliser la leptine (Belouzard and Rouillé, 2006) suggérant alors son implication dans le passage de la leptine à travers la BHE. L'étude du transport de la leptine a été effectuée dans un modèle cellulaire, le Madin-Darby-Canine-kidney (MDCK) dans deux conditions : la première lorsque les cellules expriment le récepteur de type Ob-Ra et la seconde lorsque les cellules ne l'expriment pas. Chez ces dernières, on note une diminution du passage de la leptine par rapport aux cellules exprimant la forme courte du récepteur de la leptine (Hileman *et al.*, 2000).

Au niveau du noyau arqué, les récepteurs Ob-Rb sont co-localisés avec les neurones à POMC, NPY, GHRH, et CART (Elias *et al.*, 1998 ; Elmquist *et al.*, 1998a). L'impact sur le comportement alimentaire de la leptine a été mis en évidence grâce aux modèles génétiquement modifiés, soit pour le gène de la leptine lui-même (souris *ob/ob*, Zhang *et al.*, 1994 ou pour son récepteur (souris *db/db*, Lee *et al.*, 1996; rats *zucker fa/fa*, Zucker and Zucker, 1967). Ces deux lignées de souris développent notamment une obésité sévère et un diabète de type 2 à l'âge adulte. Chez l'Homme des mutations touchant le gène de la leptine conduisent également à un phénotype d'obésité morbide (Krude *et al.*, 1998). La leptine joue donc un rôle anorexigène important, et l'injection en périphérie ou au niveau central de leptine chez des souris *ob/ob* diminue de manière drastique la prise alimentaire et réduit l'obésité (Campfield *et al.*, 1995). Ce rôle passe via le noyau arqué par une stimulation des neurones à POMC et CART, et une inhibition des neurones à NPY (Elias *et al.*, 1999 ; Schwartz *et al.*, 1996 ; Schwartz *et al.*, 1997). La leptine diminue également l'expression génique du pro-MCH, de la pro-galanine et de la pro-orexine (Sahu, 1998), et augmente celle de la pro-neurotensine et du pro-CRH (Sahu, 1998). Au niveau hypothalamique, son action n'est donc pas limitée au noyau arqué. Cette régulation de la prise alimentaire, via la leptine,

est dépendante de l'intégrité des connexions entre les différents noyaux hypothalamiques qui se mettent en place progressivement chez le rongeur nouveau-né pendant la lactation (Bouret and Simerly, 2004). Durant cette période la leptine est capable de moduler l'expression génique de POMC et de pro-NPY sans pour autant avoir d'impact sur la prise alimentaire (Proulx *et al.*, 2002), ce qui suggère que le rôle de la leptine est fortement dépendant de son action au niveau du noyau arqué. Deux voies principales d'activation des récepteurs à la leptine ont été identifiées : la première impliquant la voie JAK et la phosphorylation de STAT3, et la seconde impliquant la voie des PI3K (Obici, 2009). Cette seconde voie est d'ailleurs commune à la voie de signalisation de l'insuline.

III-3) Focus sur le tissu adipeux

Comme nous l'avons évoqué, le système nerveux central est un acteur majeur du contrôle de la prise alimentaire et du métabolisme énergétique. La prise alimentaire est très finement régulée au niveau central, via l'action des multiples facteurs orexigènes et anorexigènes dont nous avons établi une liste non exhaustive, mais également à l'aide d'afférences provenant de l'ensemble de l'organisme. La dépense énergétique résulte, quant à elle, d'un équilibre entre le stockage (lipogenèse) et la fonte des graisses (lipolyse). L'organe qui va être au cœur de cet équilibre est le tissu adipeux, ou plutôt les tissus adipeux. Cette action cruciale exercée par les dépôts graisseux dans le contrôle de la prise alimentaire et de la dépense énergétique s'exerce via diverses adipokines dont la leptine est le membre le plus étudié à ce jour.



Adipocyte Blanc :

- Forme arrondie (environ 100 μm)
- Vacuole lipidique unique (uniloculaire)

>>> Rôle de stockage énergétique

Adipocyte Brun :

- Forme polygonale (environ 30 μm)
- Plusieurs vacuoles lipidiques (multiloculaire)
- Riche en mitochondries et en UCP1

>>> Rôle dans la thermorégulation

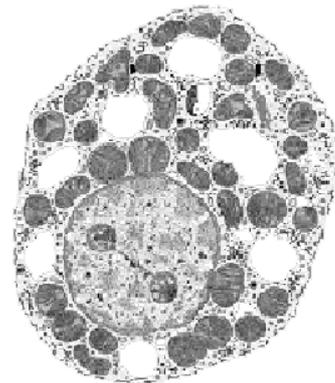


Figure 14 : les différents types d'adipocytes

III-3-1) Les différents types de tissu adipeux

Il existe globalement deux grands types de tissu adipeux chez les mammifères (Cinti, 1999) : 1) le tissu adipeux blanc contenant des adipocytes possédant une vacuole lipidique unique (uniloculaire) et couvrant la quasi-totalité de la cellule (Figure 14). Ces adipocytes jouent un rôle prépondérant dans le stockage de l'énergie sous forme de triglycérides. Cette réserve énergétique sera sollicitée dans des situations de déficit énergétique comme peut l'être notamment un jeûne. Cela conduira à un mécanisme de lipolyse permettant la libération d'acide gras libres et de glycérol dans la circulation sanguine afin de combler ce déficit énergétique ; 2) Le second type de tissu adipeux qui est brun aura pour vocation, à l'opposé de celle du tissu adipeux blanc, de jouer un rôle important dans la régulation de la thermogénèse. Ainsi, le tissu adipeux brun ne stocke pas les lipides mais les utilise pour produire de la chaleur via la protéine découplante UCP1 (Klaus *et al.*, 2001). Il s'agit d'une protéine membranaire mitochondriale « spécifique » du tissu adipeux brun capable de détourner le gradient électrochimique de protons de la chaîne respiratoire pour fournir de la chaleur (Cannon and Nedergaard, 2004). Les adipocytes bruns sont très riches en mitochondries, possèdent des vacuoles lipidiques multiloculaires et expriment très fortement UCP1 (Figure 14), contrairement aux adipocytes blancs qui sont pauvres en mitochondries, n'expriment pas UCP1, sont uniloculaires et ont une capacité oxydative très faible. Chez les rongeurs, ces deux types de tissu adipeux sont donc distinguables non seulement sur le plan morphologique et anatomique, mais aussi de par leur localisation dans l'organisme ; le tissu adipeux brun étant essentiellement localisé au niveau intrascapulaire. Le tissu adipeux blanc est, quant à lui, retrouvé dans différents endroits de l'organisme et peut être d'origine sous cutanée, périgonadique, périrénale ou encore péritonéale. Il est d'ailleurs intéressant de constater que selon ses origines, le tissu adipeux blanc peut présenter des régulations d'expression génique très variables (Tchkonia *et al.*, 2007). Il est donc plus correct de parler de tissus adipeux blancs. Dans certains modèles expérimentaux, on peut même le retrouver de manière ectopique dans le muscle squelettique ou encore dans le foie, comme c'est le cas lors de stéatoses hépatiques (Wendel *et al.*, 2010 ; Schmitz-Peiffer *et al.*, 1997). L'existence de tissu adipeux brun a longtemps été controversée chez l'Homme mais les techniques récentes d'imagerie ont permis de démontrer sa présence ce qui ouvre de nouvelles perspectives pour lutter contre l'obésité (Cypess *et al.*, 2009). Chez les rongeurs, comme dans un grand nombre d'espèces, le développement du tissu adipeux blanc a lieu en période post-natale précoce, immédiatement après la naissance (Ailhaud and Hauner, 2004). *A contrario*, le tissu adipeux

brun se développe précocement durant la vie fœtale protégeant ainsi le nouveau-né de l'exposition au froid lors de la parturition (Skála *et al.*, 1970). Il décline ensuite durant le développement chez la plupart des mammifères à l'exception des rongeurs et des hibernants où il restera présent tout au long de la vie. Cette différence dans la cinétique de mise en place des tissus adipeux blancs et brun a suggéré qu'ils puissent avoir une origine embryologique distincte. Il a récemment été démontré, chez la souris, que les adipocytes bruns, à l'inverse des blancs, proviendraient de la différenciation de cellules souches communes à celles mises en jeu dans la genèse des cellules du muscle squelettique (Seale *et al.*, 2008).

III-3-2) Tissus adipeux blancs *versus* tissu adipeux brun : une nouvelle piste anti-obésité ?

Les tissus adipeux blancs sont depuis très longtemps identifiés comme cibles dans le traitement de l'obésité car ils sont responsables de l'augmentation de la masse corporelle à la base de l'obésité. Les adipocytes blanc vont être capables de prolifération et d'hyperplasie afin d'augmenter les stocks de lipides au sein de l'organisme, et ce de manière proportionnelle à la prise alimentaire. Le tissu adipeux brun, quant à lui, était jusqu'alors négligé en regard de son influence dans la survenue de l'obésité. En effet, n'étant que très peu présent hors de la période précoce, il ne représentait qu'un intérêt limité. Cependant, les premières études faisant un lien entre tissu adipeux brun et obésité ont vu le jour dans les années 80. Chez le rongeur une ablation du tissu adipeux brun intrascapulaire ou une dénervation de ce tissu, conduisait à une augmentation des dépôts graisseux de l'animal puis à une obésité (Dulloo and Miller, 1984). Ces données indiquaient une action antilipogénique du tissu adipeux brun ce qui est en accord avec son rôle joué dans les mécanismes de thermogenèse, qui consistent finalement à convertir les graisses en chaleur. Ce constat a fait naître une idée plus qu'intéressante pour lutter contre l'obésité ; à savoir, est-il possible d'augmenter la proportion de tissu adipeux brun au détriment des tissus adipeux blancs afin d'augmenter la dépense énergétique et ainsi réduire le stockage des lipides ? Le tissu adipeux brun étant impliqué dans la thermogenèse, les première expériences visant à accroître la quantité de tissu adipeux brun ont consisté en une surexposition au froid, cette surexposition se traduisant par l'apparition d'adipocytes présentant un phénotype d'adipocyte brun au sein des dépôts de tissu adipeux blanc (Cousin *et al.*, 1992). Ce changement phénotypique était accompagné d'une surexpression d'UCP1 dans ces adipocytes. Dès lors, un grand nombre d'études a été mené et a montré l'importance de l'innervation sympathique dans l'acquisition d'un phénotype de type brun. En effet, chez des souris KO pour les 3 formes connues du récepteur β_3 adrénergique au niveau du tissu

adipeux brun, on constate une diminution de la capacité oxydative et l'apparition d'une obésité chez ces animaux (Bachman *et al.*, 2002). En utilisant un agoniste (CL 316,243) du récepteur β_3 , on réduit le surpoids dans un modèle d'obésité (Bloom *et al.*, 1992). Ce traitement a pour effet d'augmenter le rapport tissu adipeux brun sur tissu adipeux blanc au sein de ces animaux (Himm-Hagen, 1994) et permet d'observer des cellules multiloculaires au sein du tissu adipeux blanc (Himm-Hagen *et al.*, 2000). Il existe d'autres facteurs permettant l'apparition d'un phénotype brun au sein de dépôts de tissu adipeux blanc. Ainsi, (Tiraby *et al.*, 2003) et coll. (2003) ont montré que lorsque l'on surexprime le PPARgamma coactivator-1alpha (PGC-1 α), un co-régulateur de transcription largement impliqué dans le contrôle des métabolismes énergétique et glucidique, dans une lignée cellulaire murine ou humaine d'adipocytes blancs, on observe une augmentation de l'expression d'UCP1 qui s'accompagne de l'apparition d'adipocytes de type brun au sein des cultures d'adipocytes blancs. Ce même phénomène est observé lors d'un traitement à l'acide rétinoïque chez la souris qui entraîne une diminution des dépôts de tissu adipeux blanc, une augmentation de l'expression génique d'UCP1, de PGC-1 α et de PPAR α , témoignant ainsi d'une augmentation du métabolisme oxydatif et de la thermogénèse chez ces animaux (Mercader *et al.*, 2006). Enfin, l'apport nutritionnel durant la période post-natale précoce semble également avoir un impact sur la répartition du tissu adipeux blanc *versus* le tissu adipeux brun. En effet, en faisant varier la taille des portées chez le rat, il a été montré que les animaux élevés en portées de petite taille, ce qui augmente la quantité de lait ingéré et conduit à long terme à l'obésité, présentent une surexpression d'UCP1 au niveau du tissu adipeux brun lors des stades précoces. A l'âge adulte, ce même tissu sera désensibilisé et verra sa production d'UCP1 diminuée en conditions de bases et en réponse au froid (Xiao *et al.*, 2007). L'équilibre entre adipocytes blancs et adipocytes bruns semble fragile et modulable par différentes conditions environnementales. Cet équilibre constitue donc une cible intéressante à explorer dans les mécanismes de programmation périnatale mais aussi dans la lutte contre l'obésité. Ce dernier point est d'autant plus d'actualité que, bien que longuement controversée, la présence de tissu adipeux brun a été récemment montrée chez l'homme grâce aux techniques récentes d'imagerie ce qui ouvre évidemment de nouvelles perspectives pour lutter contre l'obésité (Cypess *et al.*, 2009). Les mécanismes impliqués dans le changement de phénotype adipocytes blancs/adipocytes bruns ne sont pas encore élucidés et plusieurs hypothèses co-existent. Ou bien les adipocytes bruns apparaissant au sein d'un dépôt de tissu adipeux blanc proviendraient d'un pool d'adipocytes bruns, déjà présents dans le dépôt graisseux, et qui, sous certaines conditions, prolifèreraient de manière plus ou moins importante (Klaus, 1995).

Ou alors, ils seraient le résultat d'une différenciation des adipocytes blancs en adipocytes bruns (Loncar, 1991). Quoi qu'il en soit, le tissu adipeux, de par sa fonction et sa capacité d'adaptation, se révèle donc être un acteur primordial de la régulation de la dépense énergétique et occupe une place prépondérante dans le survenue de l'obésité et du syndrome métabolique.

IV - La leptine hormone clef des programmations périnatales ?

Comme nous l'avons longuement évoqué, hypothalamus et tissu adipeux sont deux éléments incontournables de la régulation du métabolisme énergétique et sont donc possiblement impliqués dans la programmation des pathologies chroniques de l'adulte. Il va s'établir un réel dialogue entre ces deux protagonistes par le biais de la leptine et d'autres adipokines comme l'adiponectine, notamment. Ce dialogue entre le tissu adipeux et l'hypothalamus, appelé également axe cerveau-tissu adipeux (brain-adipose axis, en anglais) va être en partie responsable de l'équilibre entre dépense énergétique et prise alimentaire et donc, réguler le maintien de la masse pondérale. S'il est bien admis que des altérations du signal leptine sont associées au phénotype d'obésité, il s'avère que la leptine joue également un rôle clef dans l'ontogenèse de l'hypothalamus (Bouret *et al.*, 2004) et du tissu adipeux lui-même (Chen *et al.*, 2000).

IV-1) Au niveau central

L'action de la leptine dans la mise en place des connexions hypothalamiques impliquées dans la régulation du métabolisme énergétique a été mise en évidence grâce à l'utilisation de souris ob/ob. Il a été montré que les souriceaux ob/ob homozygotes présentaient des altérations des connexions entre le noyau arqué et les autres centres hypothalamiques impliqués dans le contrôle du métabolisme énergétique (Bouret and Simerly, 2004). La mise en place de ces connexions partant du noyau arqué s'effectue selon une chronologie bien précise (Bouret and Simerly, 2007). Tout d'abord les projections diffusent vers le noyau dorsomédian au 6^{ème} jour de vie, puis vers le noyau paraventriculaire entre le 8^{ème} et le 10^{ème} jour de vie, et enfin en direction de l'aire hypothalamique latérale au 12^{ème} jour de vie. La mise en place de ces connexions s'achève vers le sevrage, c'est à dire au 21^{ème} jour de vie post-natale. Si cette maturation est perturbée, le contrôle de la prise alimentaire est déficient comme l'ont montré Proulx et coll. (2002) qui ont observé des variations de l'expression des peptides orexigènes et anorexigènes au sein du noyau arqué sans modification de la prise alimentaire chez des rats nouveau-nés. Les souris ob/ob présentent une hyperphagie qui est responsable des anomalies métaboliques observées à l'âge adulte comme l'obésité et le diabète de type 2.

Bouret et ses collaborateurs ont montré qu'un traitement par la leptine exogène chez des souris ob/ob nouveau-nés (Bouret *et al.*, 2004), au moment du pic normalement observé chez les souriceaux contrôles (Ahima *et al.*, 1998), permet de rétablir les connexions entre les

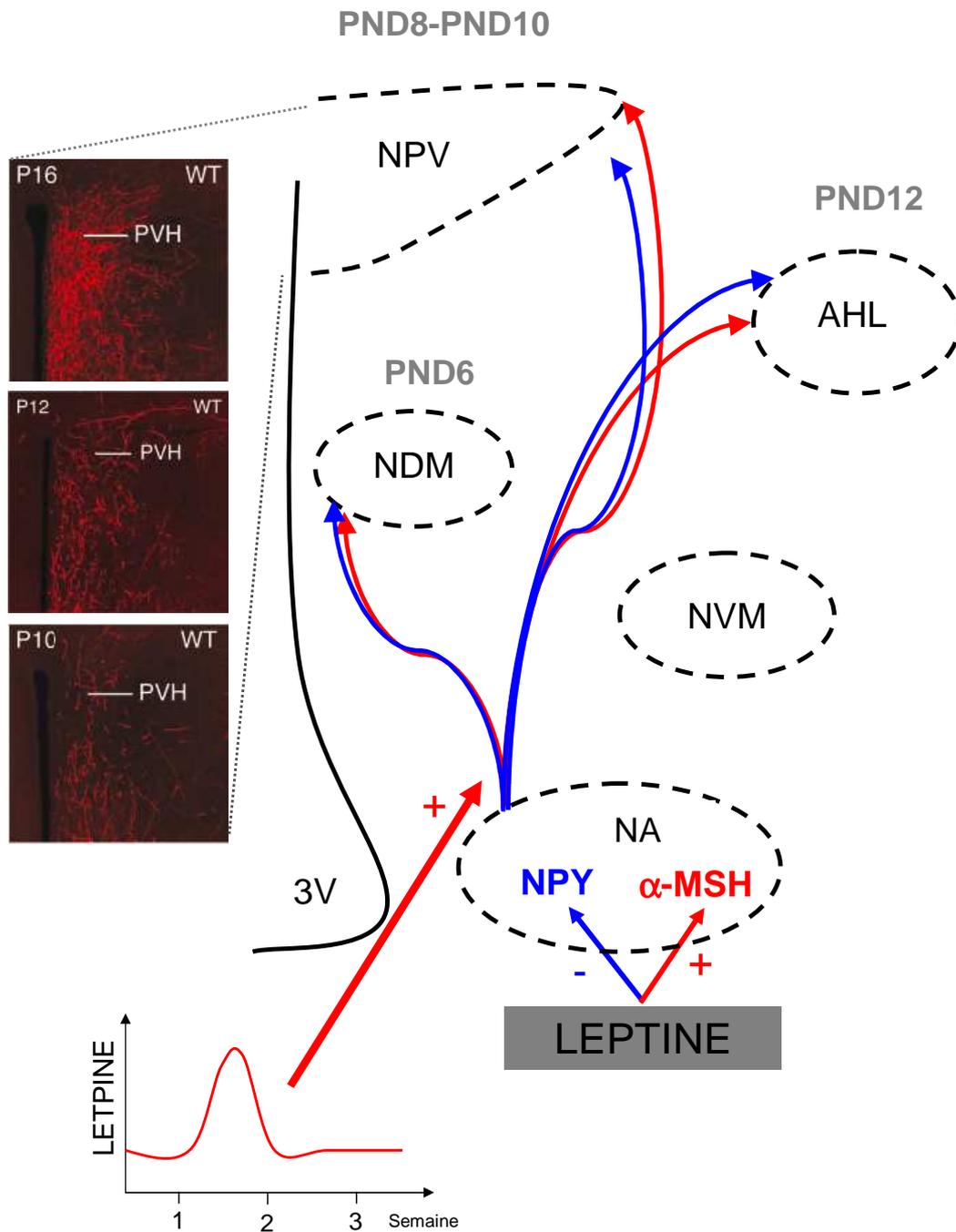


Figure 15 : action de la leptine au niveau du noyau arqué et sur la mise en place des connexions hypothalamiques impliquées dans le contrôle de l'homéostasie énergétique (NDM : Noyau dorsomedian ; NVM : Noyau ventromedian ; NPV/PVH : Noyau paraventriculaire ; NTS : Noyau du tractus solitaire ; AHL : aire hypothalamique latérale ; NA : Noyau arqué ; NPY : Neuropeptide Y ; α -MSH : α -melanocyte stimulating hormone ; 3V : 3^{ème} ventricule ; PND : Post-natal day). D'après Bouret and Simerly, 2007

différents noyaux hypothalamiques impliqués dans le contrôle du métabolisme énergétique, ce qui pourrait prévenir le développement des maladies métaboliques développées chez ces souris adultes. Cependant, jusqu'à présent aucun travail n'a rapporté les conséquences de ces injections précoces de leptine sur les souris ob/ob adultes et il semble donc peu probable que ces injections de leptine en période post-natale puissent prévenir totalement les désordres métaboliques des souris ob/ob. Si tel est le cas, il est donc vraisemblable que l'absence de leptine en dehors de cette période critique puisse être également dommageable. Dans cet optique, l'utilisation d'un antagoniste de la leptine injecté de PND2 à PND13 chez le rat, bloquant ainsi la réponse à la leptine durant cette période, se traduit à l'âge de 4 mois par une résistance à la leptine et à 8 mois par des troubles métaboliques importants et une hyperleptinémie (Attig *et al.*, 2008) soulignant alors l'importance de la leptine en période post-natale précoce. Par ailleurs, des traitements par la leptine en période post-natale précoce (entre le 3^{ème} et le 13^{ème} jour de vie) dans un modèle de RCIU, par dénutrition maternelle prénatale de 70% pendant toute la durée de la gestation, réduit la prise de poids, la masse grasse, les taux de leptine plasmatique chez les animaux adultes RCIU soumis à un régime obésogène (Vickers *et al.*, 2005). Ces données suggèrent que l'apport de leptine chez les rats RCIU en période post-natale précoce serait bénéfique et que les rats présenteraient, à l'instar de la souris, un pic de leptine pendant les deux premières semaines de vie. Malheureusement, le dosage plasmatique de leptine n'a pas été réalisé dans cette étude chez les rats nouveau-nés contrôles et RCIU. Par ailleurs, la mise en place des connexions hypothalamiques entre le noyau arqué et les autres noyaux impliqués dans le contrôle de l'homéostasie énergétique n'a pas été examinée non plus. Quoiqu'il en soit, il semble que la leptine puisse jouer un rôle neurodéveloppemental important chez les rongeurs et que son action pourrait s'exercer pendant les deux premières semaines de vie. Chez la souris, cette action serait concomitante à l'existence d'un pic plasmatique de leptine chez le nouveau-né, pic dont l'origine reste encore à déterminer.

IV-2) Au sein du tissu adipeux

Les observations précédentes suggèrent que la leptine agit sur le développement du SNC mais, dans la mesure où le récepteur Ob-Rb est exprimé dans d'autres tissus que l'hypothalamus, il semble légitime de penser que la leptine puisse jouer un rôle plus large que celui envisagé au cours du développement. De manière intéressante, il a été montré que le tissu adipeux lui-même exprime la forme longue du récepteur de la leptine, suggérant que cette dernière puisse exercer des actions de type autocrine/paracrine sur la graisse (Tartaglia,

1997). Sur la base de ces observations, des études *in vivo* et *in vitro* ont été réalisées. A partir de cultures de cellules primaires de tissu adipeux de rat, il a été montré que la leptine influence la prolifération des pré-adipocytes de façon dose-dépendante. A la concentration de 50 ng/mL, elle exerce un effet stimulateur, tandis qu'elle inhibe cette prolifération à des concentrations de 250 et 500 ng/mL respectivement (Wagoner *et al.*, 2006). Ces résultats suggèrent que la variation des taux de leptine au sein de l'organisme pourrait être responsable d'une augmentation ou d'une diminution des dépôts graisseux via une action autocrine du tissu adipeux. De manière tout aussi intéressante, il a été montré un effet lipolytique suite à l'injection périphérique de leptine sur le tissu adipeux blanc (Siegrist-Kaiser *et al.*, 1997), cet effet ne se produisant pas chez le rat *fa/fa* qui possède un récepteur à la leptine non fonctionnel. L'ensemble de ces données suggère que la leptine, en plus de son rôle anorexigène au niveau hypothalamique, est capable d'influencer la prolifération du tissu adipeux et d'exercer un effet lipolytique, suggérant qu'elle puisse localement réguler la quantité de graisse. Cet effet lipolytique pourrait être lié à l'insuline puisque la leptine bloque les effets de l'insuline et d'IGF-1 qui favorisent l'accumulation des lipides (Kim *et al.*, 2008). D'autres études montrent que la leptine peut également être impliquée dans le changement phénotypique du tissu adipeux blanc. Pendant la période de lactation, les rates allaitantes présentent une diminution des taux d'UCP1 au sein du tissu adipeux brun qui peut être contrée par l'injection de leptine chez ces animaux (Xiao *et al.*, 2004), indiquant que la leptine est impliquée dans les mécanismes d'expression d'UCP1. Plum et coll. ont montré que cet effet de la leptine n'était pas observé uniquement dans le tissu adipeux brun mais que cette adipokine était capable d'activer le système sympathique au sein du tissu adipeux blanc et entraîner l'apparition d'adipocytes présentant un phénotype proche de celui observé dans le tissu adipeux brun (Plum *et al.*, 2007). Enfin, il a été montré qu'une inactivation spécifique de l'action du récepteur de la leptine dans le tissu adipeux blanc de la souris entraîne l'apparition de traits de syndrome métabolique (augmentation de l'adiposité, résistance à l'insuline, hypertriglycémie, et diminution de la tolérance au glucose, en particulier) sans modification de la prise alimentaire ni du niveau d'expression d'Ob-Rb dans l'hypothalamus, indiquant ainsi qu'une altération de l'action de la leptine sur le tissu adipeux lui-même puisse avoir des conséquences métaboliques très délétères (Huan, 2003). Il est donc clair que le rôle de la leptine sur le contrôle du métabolisme énergétique dépasse très largement le cadre de l'hypothalamus et que des altérations précoces de la production de leptine pourraient donc avoir de nombreuses conséquences restant à définir.

Objectifs

Le syndrome métabolique, un réel problème de santé publique en constante progression depuis plusieurs décennies, touche des populations d'ethnies et d'âges divers le définissant comme une véritable épidémie. Tout l'enjeu de la recherche actuellement est d'améliorer les connaissances quant aux mécanismes impliqués dans la survenue des pathologies associées au syndrome métabolique et d'identifier de nouveaux marqueurs prédictifs permettant le dépistage et le traitement des individus à risque dans les meilleurs délais.

L'hypothèse de programmation mise au point par Barker stipule que l'environnement foetal est capable d'exercer une pression sur le développement du fœtus/nouveau-né qui se traduira à l'âge adulte par une plus grande propension à développer des pathologies de type : hypertension, diabète de type et obésité. Ainsi, même si l'impact d'un retard de croissance intra-utérin est mesuré, les mécanismes mis en jeu lors de cette programmation ne sont que très peu connus. Durant mon stage de Master, j'ai pu montrer que la dénutrition maternelle réduisait de façon drastique les taux plasmatiques de leptine chez le rat mâle nouveau-né.

C'est pourquoi, l'objectif de ma thèse sera, en ciblant nos travaux sur la leptine, de mieux comprendre les mécanismes mis en jeu dans la programmation de l'axe hypothalamo-adipocytaire chez le nouveau-né FR50 de la naissance au sevrage.

Je vais tout d'abord m'intéresser à l'impact de la dénutrition maternelle périnatale sur la mise en place des réseaux hypothalamiques impliqués dans le contrôle de la prise alimentaire pour voir si la diminution des taux plasmatiques de leptine a des influences neuro-développementales.

Pour mieux comprendre les variations plasmatiques de leptine, nous nous intéresserons au « trajet » de cette hormone durant la période post-natale précoce afin d'identifier les causes probables des variations plasmatiques chez le nouveau-né. Enfin, nous verrons s'il est possible de « déprogrammer » les altérations observées au niveau de la croissance et des taux de leptine dans le modèle FR50, à l'aide d'adoptions croisées.

La seconde partie des recherches est axée sur les répercussions de la dénutrition sur la mise en place d'un tissu clef du métabolisme : le tissu adipeux.

L'ensemble de ces points nous permettra de mettre en avant l'influence de la dénutrition maternelle sur la mise en place de l'axe hypothalamo-adipocytaire et de mieux définir le rôle de la leptine dans les mécanismes de programmation.

Enfin, dans la dernière partie de mon étude, j'analyserai les conséquences de la dénutrition maternelle périnatale sur les taux plasmatiques d'autres hormones impliquées dans la croissance et/ou les régulations métaboliques chez le rat mâle nouveau-né. Cette étude devrait permettre d'identifier d'autres facteurs susceptibles d'exercer un effet programmeur sur un certain nombre de tissus cibles, permettant ainsi d'explorer de nouvelles voies de recherche.

Article 1

Maternal perinatal undernutrition drastically reduces postnatal leptin surge and affects the development of arcuate nucleus proopiomelanocortin neurons in neonatal male rat pups.

Delahaye F, Breton C, Risold PY, Enache M, Dutriez-Casteloot I, Laborie C, Lesage J, Vieau D.

Endocrinology 149:470-475, 2008.

Le système nerveux central et les connexions impliquées dans le contrôle de la prise alimentaire se mettent en place durant la période post-natale précoce chez les rongeurs. Comme l'ont démontré Sébastien Bouret et ses collaborateurs (Bouret *et al.*, 2004), la leptine joue un rôle clef dans le neurodéveloppement durant cette période. Ainsi, nous avons voulu étudier à l'aide du modèle FR50, l'impact de la dénutrition maternelle périnatale sur les taux plasmatiques de leptine du nouveau-né et sur la mise en place des principaux systèmes hypothalamiques orexigènes et anorexigènes durant cette même période.

L'hypothèse principale était que la dénutrition maternelle pourrait influencer les taux plasmatiques de leptine du raton nouveau-né et modifier la mise en place des systèmes hypothalamiques impliqués dans le contrôle du métabolisme énergétique, ce qui pourrait contribuer, à l'instar de la situation rencontrée chez la souris ob/ob, à générer des troubles métaboliques à l'âge adulte.

Pour tester cette hypothèse, nous avons mesuré la leptine plasmatique des animaux témoins et FR50 aux stades de développement suivants : PND4 (correspondant au 4^{ème} jour de vie post-natale), PND7, PND10, PND14, PND17, PND21 (le sevrage) et PND30. Ce type de cinétique n'avait jamais été effectué chez des animaux ayant subi des altérations environnementales périnatales. Par ailleurs, les points choisis encadraient parfaitement le pic de leptine qui a lieu entre la 1^{ère} et la 2^{ème} semaine de vie du souriceau (Ahima *et al.*, 1998).

Dans un second temps, nous avons analysé, chez ces ratons nouveau-nés, les effets de la dénutrition sur l'expression génique de la POMC, précurseur de l' α -MSH, et du NPY, les deux principaux neuropeptides du noyau arqué exerçant respectivement des effets anorexigènes et orexigènes. Enfin, par des approches immunohistochimiques, les effets de la dénutrition maternelle périnatale ont été évalués sur les projections des fibres nerveuses des neurones à POMC et à NPY entre le noyau arqué et le noyau paraventriculaire, en particulier.

I- Conclusion générale

I-1) Mise en place du réseau impliqué dans le contrôle de la prise alimentaire

Les études de Bouret (2004) et de ses collaborateurs ont révélé que les connexions hypothalamiques entre le noyau arqué et les autres noyaux impliqués dans le contrôle du métabolisme énergétique, s'effectuent, chez le souriceau, progressivement au cours de la période de lactation sous la dépendance de la leptine. Ces connexions semblent indispensables au contrôle du métabolisme énergétique et l'absence de leptine en période post-natale précoce chez les souris ob/ob pourrait être responsable des troubles métaboliques (diabète de type 2, obésité) que ces souris développent à l'âge adulte, bien que cela n'ait pu être directement démontré. En effet, bien que des injections de leptine exogène, durant cette période critique, semblent restaurer les connexions hypothalamiques chez des souriceaux ob/ob, les effets à long terme de ces injections sur les altérations métaboliques des souris mutantes à l'âge adulte, n'ont jamais été rapportés. Ce développement post-natal du système nerveux central coïncide avec le pic de leptine qui apparaît autour du 10^{ème} jour de vie postnatale chez la souris (Ahima *et al.*, 1998) et chez le raton (Delahaye *et al.*, 2008).

Chez le rat témoin, nos travaux ont montré que le pic de leptine s'accompagne d'une augmentation de l'expression génique de la POMC et du pro-NPY dans l'hypothalamus. Chez ces mêmes animaux, on note la présence de connexions au 21^{ème} jour de vie entre les neurones à POMC et à NPY entre le noyau arqué et le noyau paraventriculaire de l'hypothalamus (Delahaye *et al.*, 2008). Il est donc vraisemblable que ces différents acteurs puissent interagir très précocement pour contrôler le métabolisme énergétique (avant le sevrage) ce qui est en accord avec les travaux de Proulx et de ses collaborateurs (Proulx *et al.*, 2002) qui ont montré que les neurones du noyau arqué sont sensibles à l'action de la leptine dès PND10. Ces dernières données indiquent que dès ce stade, qui correspond au moment où les taux de leptine plasmatiques sont les plus élevés chez le rongeur nouveau-né, le réseau d'interconnexions autour du noyau arqué semble déjà, d'une certaine manière, fonctionnel.

L'ensemble de ces données suggère que le pic plasmatique de leptine que l'on retrouve à la fois chez le souriceau et le rat nouveau-né pourrait être un signal de maturation à partir duquel vont se mettre en place les différents systèmes impliqués dans le contrôle de la prise alimentaire et de la dépense énergétique.

I-2) Conséquences de la dénutrition maternelle périnatale

Au cours de ce travail de thèse, nous avons montré, pour la première fois, qu'une perturbation environnementale pendant la période périnatale influençait les taux plasmatiques de leptine et que la dénutrition maternelle réduisait de manière drastique la concentration de cette adipocytokine durant toute la période de lactation (Delahaye *et al.*, 2008). Dans la mesure où le système nerveux central semble être sensible à cette hormone avant les 2 premières semaines de vie du rongeur, il était légitime de penser que la dénutrition maternelle, via la leptine, puisse altérer la structure et la fonction de ce système.

Nous avons montré que l'hypoleptinémie observée chez les rats FR50 tout au long de la lactation s'accompagnait à la fois d'une diminution de l'expression génique de la POMC dès le 14^{ème} jour de vie post-natale et d'une réduction des projections des neurones à POMC entre le noyau arqué et le NPV à PND21. Les animaux FR50 présentent donc un système anorexigène à POMC altéré suggérant, à l'image des animaux KO pour ce gène (Yaswen *et al.*, 1999), qu'ils ne seront pas capables de réguler leur prise alimentaire de manière adéquate, ce qui pourrait les sensibiliser ultérieurement au développement d'altérations métaboliques.

Les systèmes anorexigènes et orexigènes se mettent en place de manière parallèle ; ainsi une altération du système orexigène à NPY aurait pu s'ajouter à une altération du système anorexigène à POMC. Toutefois dans notre modèle, le système orexigène à NPY ne semble pas être sensible à la dénutrition maternelle puisque ni l'expression génique, ni les projections ne semblent être affectées. Le noyau arqué est une cible privilégiée de la leptine puisqu'elle est capable d'interagir directement avec lui au niveau de l'éminence médiane (Norsted *et al.*, 2008). Ainsi, des variations des taux plasmatiques de leptine peuvent avoir un impact direct sur l'expression génique dans le noyau arqué. La POMC est quasi exclusivement exprimé au sein du noyau arqué (Kim *et al.*, 2000), et c'est pourquoi des variations de l'expression de son messageur en son sein sont observées dans notre modèle. A l'inverse, l'expression du NPY qui n'est pas limitée au noyau arqué ne montre pas de grandes variations par PCR semi-quantitative. Il est concevable que les variations éventuelles de l'expression du NPY dans le noyau arqué soient masquées par le messageur NPY exprimé ailleurs dans l'hypothalamus. L'analyse par hybridation *in situ* de l'expression du NPY au sein du noyau arqué à P21 confirme les résultats obtenus par PCR. Il semblerait donc que contrairement à la POMC, qui va suite à la chute de leptine voir ses taux diminuer, le NPY ne soit pas sensible à ce stade au contrôle via la leptine. On observe alors, au sein du groupe

FR50, une forte augmentation du rapport NPY/POMC par rapport aux animaux contrôles et ce même s'il n'y a aucune variation du NPY. Ce changement de rapport se traduit par une augmentation globale du système orexigène au dépend du système anorexigène chez les animaux issus de mères dénutries comme en témoigne l'immunohistochimie qui montre à P21, que les connexions des fibres à NPY du noyau arqué vers le NPV ne semblent pas différentes entre témoins et FR50 tandis que le système POMC est incomplètement développé.

Dans le modèle FR50, nous ne savons pas si ces altérations perdurent à l'âge adulte, mais notre équipe a montré récemment qu'une dénutrition prénatale de 70% pendant toute la durée de la gestation (modèle FR30) induisait des perturbations des neurones à POMC qui persistaient à l'âge adulte (Breton *et al.*, 2009). Ces altérations semblent plus subtiles puisque non détectables en conditions basales où ni l'expression ni les projections des deux neuropeptides principaux que sont le NPY et la POMC ne varient entre les deux groupes à 4 mois. En revanche, lors d'un jeûne on observe une diminution de l'expression de la POMC et une augmentation de celle du NPY chez les animaux contrôles tandis que dans le groupe FR30, le jeûne s'accompagne bien d'une augmentation de l'ARN messenger du NPY sans aucune variation de celui de la POMC. Il semblerait donc que, dans ce modèle, la dénutrition maternelle ait un impact à long terme sur le système anorexigène à POMC. Ces altérations s'accompagnent d'un décalage du rythme jour/nuit de la prise alimentaire et d'une perturbation de la réponse au glucose chez ces mêmes animaux. Ces travaux soulignent l'impact de la période périnatale dans la mise en place des systèmes régulant la prise alimentaire et dans l'apparition de conséquences à court et à long terme. Il est vrai que ce modèle est un modèle de dénutrition prénatale n'incluant donc pas la période de lactation pendant laquelle le pic de leptine a lieu. Néanmoins, une restriction alimentaire de 70% pendant 3 semaines cause de grandes carences qui auront, sans nul doute, des répercussions sur la qualité de l'apport nutritif durant les premiers jours de la lactation.

D'autres travaux réalisés à l'aide d'un modèle « low protein » chez le rat ont également montré des altérations de la leptinémie au cours du sevrage et des projections des neurones à POMC au niveau du NPV à P16 (Coupé *et al.*, 2010). Dans l'ensemble ces résultats suggèrent que dans les modèles de dénitritions maternelles, les systèmes anorexigènes sont principalement touchés. De manière plus qu'intéressante, des études réalisées à partir de modèles de surnutrition témoignent d'altérations au niveau du système orexigène à NPY. Dans des modèles de petites portées correspondant en une augmentation de

la disponibilité en nutriments pour le nouveau-né, il a été montré une altération du système à NPY chez le jeune adulte avec une augmentation au niveau du NVM (Plagemann *et al.*, 1999). Cette surexpression a pour conséquence une augmentation de l'inhibition exercée par le NPY sur le NVM, qui est un centre de satiété, pouvant alors être impliqué dans l'hyperphagie observée chez ces animaux. Ainsi, à l'inverse de ce que l'on a observé dans des modèles de dénutrition, la surnutrition semble affecter préférentiellement les systèmes orexigènes. En observant, ces deux modèles diamétralement opposés puisque l'un correspond à une augmentation de la prise alimentaire et l'autre à une diminution de la prise alimentaire, on s'aperçoit qu'à long terme l'un et l'autre vont conduire aux mêmes troubles physiologiques en augmentant la prévalence du syndrome métabolique. Même si les conséquences à long terme semblent identiques dans les deux types de modèles, il n'en est pas de même pour les conséquences à court terme, puisque la sous nutrition touche préférentiellement le système anorexigène et tandis que la surnutrition touche préférentiellement le système orexigène. En effet, il semble logique d'imaginer que face à des apports nutritifs faibles, la mise en place d'un système anorexigène visant à limiter la prise alimentaire ne soit pas une priorité. C'est en accord avec la théorie du phénotype économe qui stipule que face à un environnement délétère l'individu va ajuster son développement ce qui pourra être inapproprié s'il est confronté à un environnement standard. L'idée est que pendant ces périodes critiques du développement la notion d'environnement « normal » est très subjective et dépend de différents facteurs environnementaux dont la nutrition. L'individu pourra donc modifier ses paramètres physiologiques et établir un nouveau seuil de normalité [notion de modulation du point de contrôle (set point)]. Ainsi, de la même manière face à un environnement nutritionnel pléthorique, le fœtus/nouveau-né pourra ajuster ses seuils physiologiques et considérer cet environnement comme normal. Ainsi, ce qui nous semble anormal par rapport à des animaux contrôles serait en réalité les paramètres physiologiques les mieux adaptés pour le développement le plus harmonieux des animaux restreints. Se pose alors la question de l'impact du changement de nourriture après le sevrage. On sait, dans les deux cas, que lorsque l'on passe à un régime hypercalorique les animaux présentent des troubles du métabolisme de manière plus fréquente que dans les groupes contrôles. Cependant, on peut se demander si dans les deux cas il s'agit réellement d'un problème d'adaptation ? La période de lactation est pour le nouveau-né l'occasion de se « calibrer » face à son environnement extérieur pour être le plus en adéquation possible avec celui-ci. Dans le cas de la surnutrition, le nouveau-né se prépare à être confronté à un apport nutritif abondant qui le conduira à une augmentation de sa prise de poids et à l'apparition de troubles métaboliques, symptômes largement retrouvés

dans les différents modèles de surnutrition. Nous pourrions dire ici que la programmation durant la lactation a été « efficace » puisqu'en présence d'un régime riche après le sevrage, il reproduit ce à quoi il a été confronté pendant son développement précoce. Dans le cas d'une sous-nutrition, le régime post sevrage n'est pas dans la continuité du régime donné pendant la lactation, ce qui se traduit par un décalage vis à vis de la programmation faite durant le développement précoce. On peut donc se demander si les conséquences que l'on observe au niveau du métabolisme à long terme chez ces animaux ne sont pas plus dues au stress causé par ce décalage que par l'impact de la sous-nutrition pendant la période périnatale. En effet, que se passerait-il si les nouveau-nés conservaient leur régime pauvre après le sevrage ? Il semble évident que leur vélocité de croissance serait moindre, mais qu'en serait-il pour les autres paramètres comme l'hypertension et l'intolérance au glucose ? On peut imaginer que le respect de la programmation c'est à dire d'être confronté à un environnement pauvre durant toute sa vie, pour ne pas créer de décalage, aurait moins de conséquences nocives sur le développement du nouveau-né, au moins sur le plan métabolique. Cette idée selon laquelle la survenue des troubles métaboliques n'est pas directement liée à la qualité et ou à la quantité de la nutrition pendant la lactation mais plutôt au décalage entre lactation et période post-sevrage permet d'expliquer les conséquences communes des différents modèles expérimentaux de malnutrition périnatale. Par ailleurs, il existe d'autres modèles expérimentaux d'altérations périnatales ne faisant pas appel à des manipulations nutritionnelles mais qui entraînent également des anomalies métaboliques à long terme. Néanmoins, l'étude de l'effet de ces stress périnataux sur la qualité et/ou la quantité du lait n'a jamais été réalisée. Il est donc possible que les effets « stress » et malnutrition soient intimement liés. De fait, il est sur le plan expérimental, extrêmement difficile de dissocier ces deux facteurs. En effet, il est clair désormais que la dénutrition programme les systèmes neuroendocriniens impliqués dans la réponse au stress (pour revue Lesage *et al.*, 2006 ; Vieau *et al.*, 2007 ; Vieau, 2009), et que les stress périnataux modifient le comportement alimentaire (Lesage *et al.*, 2004). Cependant, la période périnatale reste donc quoi qu'il en soit, une période clef dans le développement du nouveau-né pendant laquelle l'environnement aura un impact important à court et à long terme. Cependant, même si cette influence est établie, la mise en avant de facteurs impliqués dans la programmation reste d'actualité.

En résumé, la dénutrition maternelle périnatale affecte préférentiellement la mise en place de l'axe anorexigène à POMC et témoigne d'une importante malléabilité des différents systèmes face à leur environnement.

I-3) Implication potentielle de la leptine

Comme nous venons de le voir, la période post-natale est une période de grande vulnérabilité pendant laquelle le nouveau-né va être capable de modifier certains paramètres physiologiques pour mieux s'adapter à son environnement. Durant cette période, son contact avec le monde extérieur est très dépendant des échanges avec sa mère. Ces nouveau-nés vont donc s'adapter à leur nouveau cadre de vie via l'allaitement et le comportement maternel. Il est donc tout à fait envisageable que des informations biologiques en provenance de la mère puissent être transmises à la descendance afin que les nouveau-nés, à l'instar de la situation rencontrée chez le fœtus via le placenta, ajustent leurs paramètres physiologiques par rapport à ceux de leur mère et ainsi répondent pleinement à la notion de phénotype économe abordée précédemment. Si tel est le cas, il est concevable que les taux de leptine chez la mère fassent partie de ces informations à analyser. En effet, il semble plus que probable que la dénutrition appliquée pendant la lactation diminue la masse grasse de la mère ce qui devrait entraîner une chute de ses taux plasmatiques de leptine. Cette chute des taux de leptine pourrait être responsable d'une manière ou d'une autre de la diminution drastique de la concentration plasmatique de leptine chez les nouveau-nés FR50 (Delahaye *et al.*, 2008). Ce « signal leptine » qui pourrait être transmis via le lait (Picó *et al.*, 2007) pourrait favoriser la mise en place différente des systèmes contrôlant le métabolisme. Les taux de leptine chez le nouveau-né permettraient de l'informer sur la qualité de son environnement extérieur puisque ces taux sont en partie indexés sur les variations des taux plasmatiques maternels de leptine qui sont perçus comme un indicateur de l'état nutritionnel. Cette corrélation entre taux plasmatiques maternels et taux plasmatiques du nouveau-né est observée au sein des différents modèles. En effet, dans les modèles de dénitritions maternelles, les nouveau-nés présentent au sevrage une hypoleptinémie que ce soit dans des cas de dénutrition maternelle globale (Delahaye *et al.*, 2008), en augmentant la taille des portées (López *et al.*, 2005) ou encore dans des modèles de restriction protéique (Cripps *et al.*, 2009). A l'inverse, on observe une hyperleptinémie dans des modèles de surnutrition induite par une réduction de la taille des portées (López *et al.*, 2005). Dans les deux cas, d'hypo ou d'hyperleptinémie on observe des troubles de la mise en place des systèmes impliqués dans le contrôle de la prise alimentaire faisant de la leptine une cible privilégiée comme indicateur pour le nouveau-né.

Les taux de leptine durant la lactation semblent être un signal seuil indispensable au bon développement du raton. Ainsi, si ce seuil n'est pas atteint ou à l'inverse est dépassé, le nouveau-né serait alors inadapté face à un environnement standard ce qui aurait, à plus long terme, un effet délétère sur le métabolisme, en particulier.

II - Travaux complémentaires

Nos travaux et ceux de la littérature suggèrent que le pic de leptine observé chez le rongeur nouveau-né peut-être modulé lors de la période de lactation. Cependant l'origine de ce pic de leptine, qui conditionne la mise en place des systèmes hypothalamiques impliqués dans le contrôle de l'homeostasie énergétique, est encore mal définie. La chute de leptine observée chez les rats FR50 pourrait être la conséquence d'une diminution des concentrations de leptine maternelle (résultat de la dénutrition, et/ou d'une modification de la concentration de leptine dans le lait, et/ou d'une mauvaise absorption intestinale), et/ou d'une diminution de la production endogène de leptine par le tissu adipeux du nouveau-né. Pour mieux définir l'origine du pic plasmatique de leptine mais aussi et surtout pour mieux comprendre les effets de la dénutrition maternelle sur ces différents paramètres, nous avons décidé de comparer le « trajet » de la leptine chez les nouveau-nés contrôles et FR50. Par ailleurs, des adoptions croisées ont été réalisées pour mieux discriminer les effets pré- et post-nataux (allaitement) de la dénutrition sur la croissance et sur les concentrations post-natales de leptine.

II-1) MATERIELS ET METHODES

II-1-1) Animaux et traitements

Animaux

Notre étude porte sur des rats de souche Wistar (Charles River Laboratories, L'Arbresle, France). Des femelles (220-250g) sont mises une nuit en présence de mâles afin de permettre l'accouplement. La présence de spermatozoïdes dans le frottis vaginal détermine le jour 0 du développement embryonnaire (E0). Les femelles gestantes sont maintenues dans des conditions standards d'élevage (cycle d'éclairage jour/nuit de 12h/12h avec phase diurne de 8h à 20h ; température $22\pm 2^{\circ}\text{C}$), et ont libre accès à l'eau et à la nourriture. Au 14^{ème} jour de gestation (E14), elles sont placées en cages individuelles et séparées en deux groupes distincts :

- un groupe contrôle, dans lequel les femelles sont nourries *ad libitum* (bouchons SAFE 04 (Augy, France) composés de 4% de cellulose, de 3% de matières grasses brutes, de 16,5% de protéines, de 5,2% de cendres brutes et d'additifs de cuivre et de vitamines A, D3 et E) pendant la gestation (E0 à E21) et durant toute la lactation (de PND1 à PND21).

- un groupe exposé à une restriction alimentaire périnatale (FR50) où les femelles ont une ration alimentaire quotidienne réduite de 50% durant la dernière des trois semaines de gestation (E14 à E21) et pendant les trois semaines de lactation (PND1 à PND21).

- un groupe exposé à une restriction uniquement pendant la gestation puis adopté à PND1 par des mères témoins pendant les trois semaines de lactation (FR/T)

- un groupe où les femelles sont nourries *ad libitum* pendant toute la gestation puis adopté par une mère FR50 à PND1 pendant les trois semaines de lactation (T/FR)

La parturition survient à E21/PND0, et à PND1, les portées sont égalisées à 8 nouveau-nés par mère (en favorisant le nombre de mâles).

Notre étude a porté sur la descendance de rats mâles en période post-natale précoce. Les animaux provenant de mères contrôles et de mères dénutries formant respectivement les groupes témoins (T) et Food Restricted 50% (FR50). Les animaux ont été pesés à PND1, PND10, PND21, PND30. Chaque groupe est constitué de n=48 petits, (16 PND10, 16 PND21, 16 PND30) issus de 20 mères pour le groupe témoin et de 20 mères pour le groupe FR50.

Collecte des échantillons

Les sacrifices sont répartis en 3 stades : PND10, PND21 et PND30. Ceux-ci sont réalisés par décapitation afin de prélever rapidement et de manière stérile les différents échantillons (tissulaires et sanguins). Sont prélevés les différents dépôts de tissus adipeux blancs (périgonadique, perirénal et sous-cutané), le tissu adipeux brun interscapulaire, le cerveau, le foie, les 4 portions de l'intestin (duodenum, jéjunum, iléon, côlon), le pancréas ainsi que les surrénales. Les tissus destinés à la PCR ont été, après prélèvement, immédiatement congelés dans l'azote liquide (n=24 pour chaque tissu par groupe ; soit n=8 pour chaque stade). L'ensemble de ces tissus est ensuite conservé à -80°C.

Les prélèvements sanguins, additionnés de 20µl d'acide éthylène-diamine-tétraacétique (EDTA 5%), sont centrifugés 10 minutes à 5000 g à 4°C, et les plasmas sont récupérés et immédiatement conservés à -80°C.

Les échantillons de lait sont récupérés deux heures après avoir retiré les mères de leurs petits. Une dose de 0,5 ml de SYNTOCINON® (5 U.I./1mL SIGMA TAU, France), un analogue synthétique de l'ocytocine post-hypophysaire, est administrée en intra-péritonéale

(ip.) aux femelles avant de les anesthésier ip. avec 0,2 mL de pentobarbital sodique (54,7 µg/1mL, Ceva Santé Animale). Une pression manuelle est exercée sur la mamelle, sur laquelle on applique une pipette pasteur, permettant la remontée du lait par capillarité dans celle-ci. Les échantillons sont ensuite aliquotés et stockés à -80°C.

II-1-2) Coupes histologiques de l'intestin et coloration

Traitements des coupes et échantillons histologiques

Les prélèvements (duodenum, jéjunum, iléon, côlon), placés dans des cassettes histologiques (Histoset, Symport, Beloeil, Canada), sont fixés dans une solution de PBS 1X final, 4% de Formaldéhyde (ref. Sigma :25,254-9) pendant 16 à 24 heures à température ambiante, ou à 4°C si 36 heures ou plus. Les échantillons, toujours dans les cassettes, sont rincés 2 fois dans une solution de PBS 1X final (30 minutes/chaque bain), puis dans plusieurs bains d'éthanol à % croissant, permettant ainsi leur déshydratation : 30 minutes d'éthanol 50%, 30 minutes d'éthanol 70%, 2 heures d'éthanol 95% 3 à 4 fois et 2 heures d'éthanol absolu 3 à 4 fois puis toute la nuit. Un dernier passage dans l'éthanol absolu est réalisé avant que les prélèvements ne soient séchés sur papier buvard et immergés dans le toluène (30 minutes). Après séchage, les échantillons sont plongés dans de la paraffine chaude (60°C) pendant la nuit. Enfin, les prélèvements sont orientés dans un moule en aluminium et inclus dans leur « histoset », recouverts de nouvelle paraffine chaude et mis à refroidir (plaque réfrigérée) 30 minutes à 2 heures. Ils sont ensuite démoulés et stockés à 4°C.

Réalisation des coupes

Les blocs de paraffine sont “débités” au microtome (Leica RM2055) (coupes de 5 à 7 µm d'épaisseur). Les coupes résultantes (ou rubans), sont déposées sur un bain d'eau chauffant, puis récupérées sur lames de verre. Après au moins 12 heures de séchage (à température ambiante), elles peuvent être colorées.

Coloration

Les colorations sont de 2 types : la coloration au May Grünwald Giemsa (MGG) et la coloration à l'acide périodique suivie du réactif de Schiff (PAS) contre-coloré au Vert de Méthyle. Pour la coloration MGG, les coupes histologiques sont déparaffinées et déshydratées grâce à des bains successifs d'environ 10 minutes chacun (toluène, éthanol 100%, éthanol 95% et 2 bains d'eau distillée). Les échantillons sont ensuite colorés ; ce

procédé se réalise à 37°C où les lames sont plongées 15 minutes dans le May-Grünwald (Labo moderne LMR ref CL 610241/1L, 120mL colorant, quantité suffisante pour (qsp) 500mL avec eau distillée), puis 40 minutes dans le Giemsa (FLUKA ref 48900/500mL, 6mL colorant qsp 600mL avec eau distillée), suivi de 2 bains d'eau distillée. Trente secondes dans l'acide acétique 1% (dans de l'eau distillée) et 10 secondes dans l'acétone/alcool 100% sont ensuite nécessaires pour procéder au montage, consistant à passer les prélèvements dans un bain de toluène, puis de réaliser le montage à l'EUKITT ; laisser sécher. La coloration est parfaitement réussie si les noyaux sont colorés en rouge violacé et rose lors de l'observation microscopique. Au niveau cytoplasmique, les granulocytes basophiles apparaissent bleu ciel ou bleu foncé, les acidophiles rouge clair ou rosé, les érythrocytes rouge orangé, les granulations basophiles des érythrocytes bleu cobalt et enfin la nécrose en jaune.

Concernant la coloration périodique de Schiff, l'étape de déparaffinage et de déshydratation est la même que précédemment. Les lames sont ensuite plongées 15 minutes dans une solution de Per-iodate (0,5% H_5IO_6 dans de l'eau), rincées dans l'eau distillée, 20 minutes dans le réactif de Schiff puis de nouveau rincées à l'eau distillée jusqu'à ce que l'eau soit incolore. Une Contre-coloration est ensuite réalisée, 15 minutes dans le Vert de Methyl (0,5% dans 0,1M de tampon sodium acétate à pH 4,2), suivie d'environ 10 secondes dans l'Alcool 100%. L'étape de montage est la même que pour le MGG. Les polysaccharides sont colorés en rose-fushia en microscopie.

II-1-3) Dosages plasmatiques de leptine

Les taux plasmatiques de leptine chez les rats, les mères témoins et FR50 et les concentrations de leptine dans leur lait ont été dosés à PND10 et PND21 et à PND30 uniquement pour les rats. Une technique immunoenzymatique de type « Enzyme-linked immunosorbent assay » (ELISA) a été utilisée pour réaliser ces dosages (Rat Leptin Enzyme Immunoassay Kit, SPI-BIO/Bertin Pharma Biotech Division ; Brunswick AG). La leptine a été dosée à partir de 100µL de plasma avec 12 individus par groupe et par stade. Les dosages ont été réalisés en duplicate. La sensibilité du dosage est de 50pg/mL. Les coefficients de variation intra et inter-dosage sont respectivement de 3,8% et 7,0%.

Les taux plasmatiques de leptine humaine ont été dosés chez les rats Témoins et FR50 à PND10 à l'aide d'une technique immunoenzymatique de type « Enzyme-linked immunosorbent assay » (Human Leptin ELISA Kit, RayBio®, Norcross GA). La leptine recombinante humaine (Human Leptin - Cat no. LEP-5, PLR, Rehovot Israel), a été

administrée par voie orale (10 μ g/100 μ L) à l'aide de sonde alimentaire (ECIMED, Boissy-St-Léger, France) 2 heures après avoir retiré les rats de leur mère. Le sang est récupéré 4 heures après le gavage, à partir duquel la leptine humaine est dosée avec 100 μ L de plasma (n=13 animaux par groupe) en duplicate. La sensibilité du dosage est de 6pg/mL et les coefficients de variations intra et inter-dosage sont respectivement inférieurs à 10% et 12%.

II-1-4) Etude de la perméabilité membranaire

La perméabilité membranaire a été évaluée par administration orale d'Isothiocyanate de fluoresceine (FITC) couplée au Dextran de 20kDa (Sigma, ref.: FD20S-1G), une macromolécule non métabolisable qui est utilisée comme une sonde de perméabilité. Les rats âgés de 10 jours sont retirés de leur mère deux heures avant le début de l'expérimentation. Les animaux témoins et FR50 sont gavés avec 100 μ L de Dextran-FITC (125mg/mL) quatre heures avant sacrifice tandis que les animaux contrôles sont gavés avec 100 μ L de sérum physiologique. Le sang est récupéré au moment du sacrifice, lequel servira pour les mesures de fluorimétrie (longueur d'onde d'excitation : 485nm et longueur d'onde d'émission : 520nm; FLUOstar OPTIMA, BMG LABTECH, Offenburg, Germany). Chaque échantillon est dosé pur et au 1/10^{ème} en duplicate. Les duodénus prélevés et destinés à l'étude microscopique de la diffusion intestinale subissent les mêmes traitements de fixation, d'inclusion et de coupes que les échantillons utilisés en histologie.

II-1-5) Etude microscopique

L'observation des coupes histologiques ayant permis l'étude morphologique intestinale a été réalisée à l'aide d'un microscope optique couleur (Axioplan 2, Carl ZEISS) couplé à un système de numérisation (Axio Cam HRc, Carl ZEISS).

L'étude de la perméabilité membranaire intestinale est, quant à elle, effectuée à l'aide d'un microscope optique à fluorescence (Axio Imager Z1, Carl ZEISS) relié à un système d'acquisition (Axio Cam MRm, Carl ZEISS).

Les images des coupes histologiques et fluorescentes ont été traitées avec le logiciel AxioVision (Carl ZEISS).

II-1-6) Analyses statistiques

Toutes les données sont représentées sous la forme de moyennes accompagnées de leur erreur standard (SEM). L'analyse statistique est réalisée au moyen de l'analyse de variance

(ANOVA) à voies multiples suivie du test de Student-Newman-Keuls. Les moyennes sont également comparées à l'aide du test t de Student, à l'aide du logiciel SigmaStat, si les variables suivent une loi Normale. Le degré de significativité est fixé à $p < 0,05$.

II-2) Résultats

II-2-1) Etude de l'absorption intestinale

Pendant la période de lactation, si la leptine présente dans le lait contribue au taux plasmatique de cette adipocytokine du nouveau-né, cela nécessite qu'elle soit correctement absorbée par l'intestin. Il est donc possible d'envisager que la chute des taux plasmatiques de leptine observée chez les rats FR50 soit, en partie, la conséquence d'une altération de l'absorption intestinale par la dénutrition maternelle. Nous avons réalisé en parallèle une étude histologique aux stades PND10, PND21 et PND30 sur le duodénum, le jéjunum, l'iléon et le colon et une autre plus fonctionnelle à PND10 (au moment où le taux de leptine est maximal chez le raton) de l'intestin au sein des deux groupes.

II-2-1-1) Histologie

L'analyse des coupes histologiques ne révèle aucune différence majeure entre nos deux groupes. On ne note pas d'altération du nombre de villosités ou de leurs tailles, seule la section des coupes semblent légèrement inférieure pour les animaux FR50. Ceci ne traduit certainement pas une réelle perturbation développementale mais serait plutôt lié au retard de croissance des petits FR50 qui présentent des tailles des différents tissus proportionnelles à leur propre masse pondérale fortement amoindrie (Delahaye *et al.*, 2010).

II-2-1-2) Perméabilité membranaire intestinale

La capacité d'absorption de l'intestin chez les rats âgés de 10 jours, a tout d'abord été évaluée à l'aide de Dextran couplé au FITC ce qui permet le suivi de l'absorption au niveau des villosités et le dosage de la fluorescence dans le plasma. Nous avons utilisé une molécule de Dextran de 20kDa pour être le plus proche possible de la taille de la leptine (16kDa) permettant ainsi de mimer le trajet transcellulaire de la leptine à travers les entérocytes intestinaux. Après gavage des animaux avec la molécule de Dextran, nous avons prélevé les différentes sections d'intestin et réalisé des coupes (Figure 16). Sur ces coupes, aucune altération du passage de la molécule au niveau de la muqueuse intestinale n'est visible chez les animaux FR50. Cette absence d'anomalies grossières est confirmée par le dosage plasmatique de dextran qui ne montre aucune différence entre les 2 groupes de rats ce qui indique que le trajet transcellulaire intestinale des molécules d'environ 20kDa n'est pas modifié par la dénutrition maternelle périnatale (Figure 17).

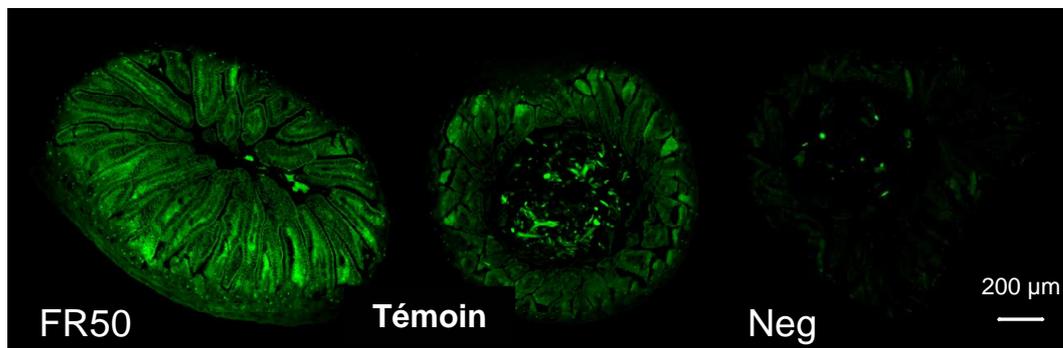


Figure 16 : observations par microscopie à fluorescence du passage intracellulaire du Dextran-FITC au niveau du duodénum des animaux Témoins et FR50 à PND10

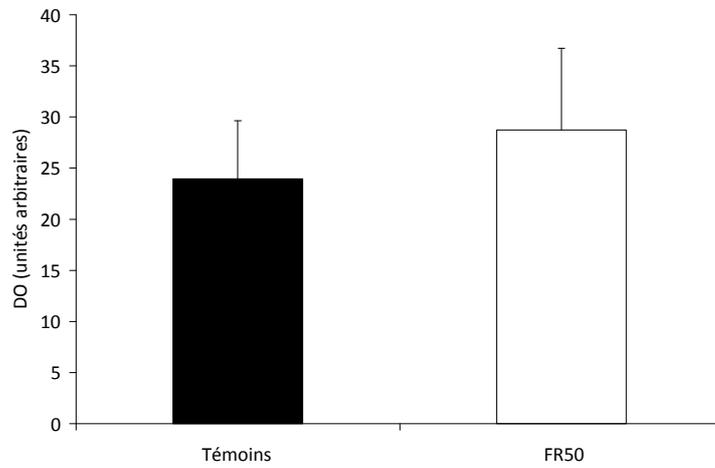


Figure 17 : mesure de la perméabilité au Dextran-FITC au niveau du duodénum par fluorimétrie dans le plasma des rats Témoins et FR50 à PND10

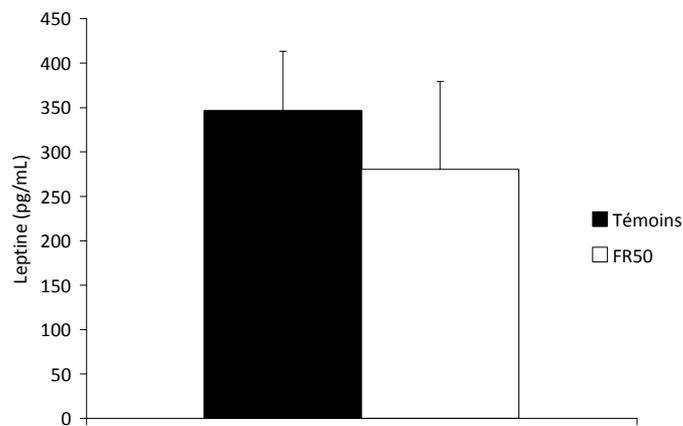


Figure 18 : mesure de la perméabilité à la leptine humaine par dosage ELISA dans le plasma des rats Témoins et FR50 à PND10

Même si le transport transcellulaire global ne semble pas affecter dans notre modèle, on ne peut exclure que la dénutrition maternelle induise une diminution spécifique du transport de la leptine au niveau de l'intestin des rats nouveau-nés. Afin de tester cette hypothèse, nous avons réalisé une expérience de gavage par la leptine humaine selon un protocole déjà publié (Casabiell *et al.*, 1997). Bien que la leptine humaine et celle de rat présentent un taux d'homologie très élevé (83%), il est possible de les discriminer via l'utilisation d'un dosage ELISA spécifique de la leptine humaine qui ne croise pas avec celle de rat. L'idée consiste donc à gaver les rats avec la leptine humaine afin de voir si la dénutrition maternelle pourrait spécifiquement réduire le transport intestinal de leptine ce qui aurait pour conséquence d'entraîner une diminution des taux plasmatiques de cette même leptine chez le raton FR50 âgé de 10 jours. Là encore, comme l'indique la Figure 18, nous n'observons aucune différence des niveaux de leptine humaine dans le plasma des rats contrôles et FR50, indiquant que le transport intestinal de la leptine ne semble pas modifier par la dénutrition maternelle, suggérant que la chute des taux plasmatiques de leptine observée chez les petits FR50 pendant la lactation n'est pas due à un dysfonctionnement de l'absorption intestinale.

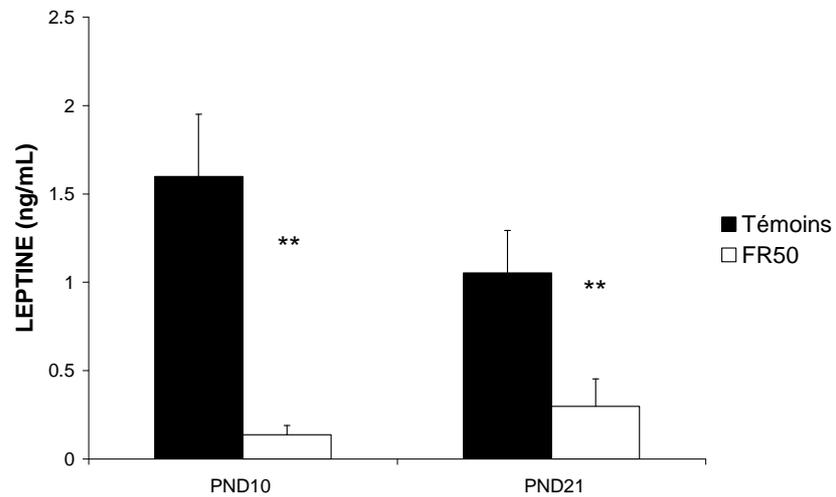


Figure 19 : Dosage ELISA de la leptine dans le plasma des mères pendant la lactation ($p < 0.01^{**}$)

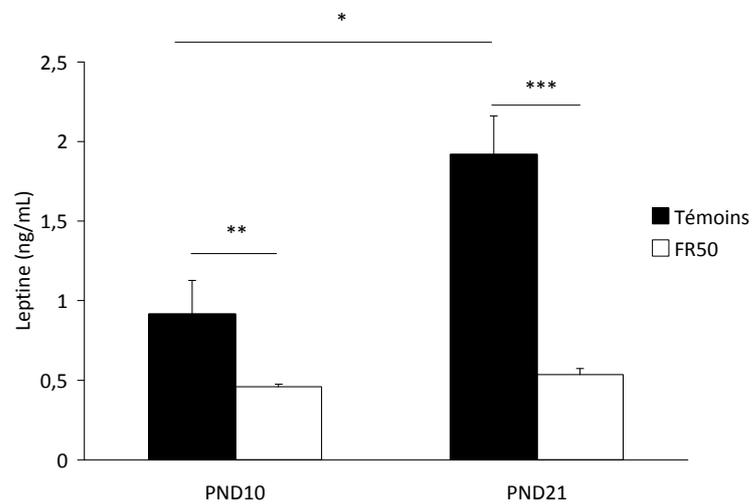


Figure 20 : Dosage ELISA de la leptine dans le lait des mères pendant la lactation ($p < 0.01^{**}$)

II-2-2) Analyse des taux plasmatique de leptine chez les mères

Dans la mesure où il a été rapporté que la leptine plasmatique de la mère peut être transportée vers la glande mammaire et se retrouver dans le lait (Casabiell *et al.*, 1997), une autre possibilité serait qu'une chute des taux plasmatiques de leptine de la mère FR50, consécutive à la dénutrition, puisse contribuer à la réduction de la leptine plasmatique chez les ratons FR50. Nous avons donc entrepris de doser les taux plasmatique de leptine chez les mères dénutries en période périnatale (FR50) et les mères témoins à PND10 et PND21. Nos résultats montrent une très nette diminution de la leptinémie chez les mères FR50 versus mères témoins ($1,60 \pm 0,35$ ng/mL chez les témoins contre $0,082 \pm 0,038$ ng/mL chez les FR50 à PND10 et $1,05 \pm 0,24$ ng/mL chez les témoins contre $0,24 \pm 0,13$ ng/mL chez les FR50 à PND21) (Figure 19). Ces résultats suggèrent que cette forte réduction pourrait contribuer à entraîner la chute des taux de leptine plasmatique observée chez les FR50 pendant la lactation.

II-2-3) Analyse des taux de leptine dans le lait maternel

Les résultats précédents nous ont amenés à examiner les concentrations de leptine dans le lait des mères FR50 et témoins qui, au vu des résultats obtenus dans le plasma des mères, devraient être amoindries dans le lait des mères dénutries. De fait, comme l'indique la figure 20, la concentration de leptine mesurée dans le lait à PND10 et PND21 est significativement réduite dans le lait des mères FR50 ($0,92 \pm 0,21$ ng/mL dans le lait des mères témoins contre $0,46 \pm 0,01$ ng/mL chez les FR50 à PND10 et $1,92 \pm 0,24$ ng/mL chez les témoins contre $0,54 \pm 0,04$ ng/mL chez les FR50 à PND21) (Figure 20). Ces données montrent donc une diminution de la concentration de leptine dans le lait chez les mères FR50 d'environ 50% à PND10 et 72% à PND21 *versus* mères témoins. Il est également intéressant de noter que les taux de leptine augmentent chez les témoins entre PND10 et PND21 ($0,92 \pm 0,21$ ng/mL *versus* $1,92 \pm 0,24$ ng/mL), tandis que la tendance inverse est observée chez les mères FR50.

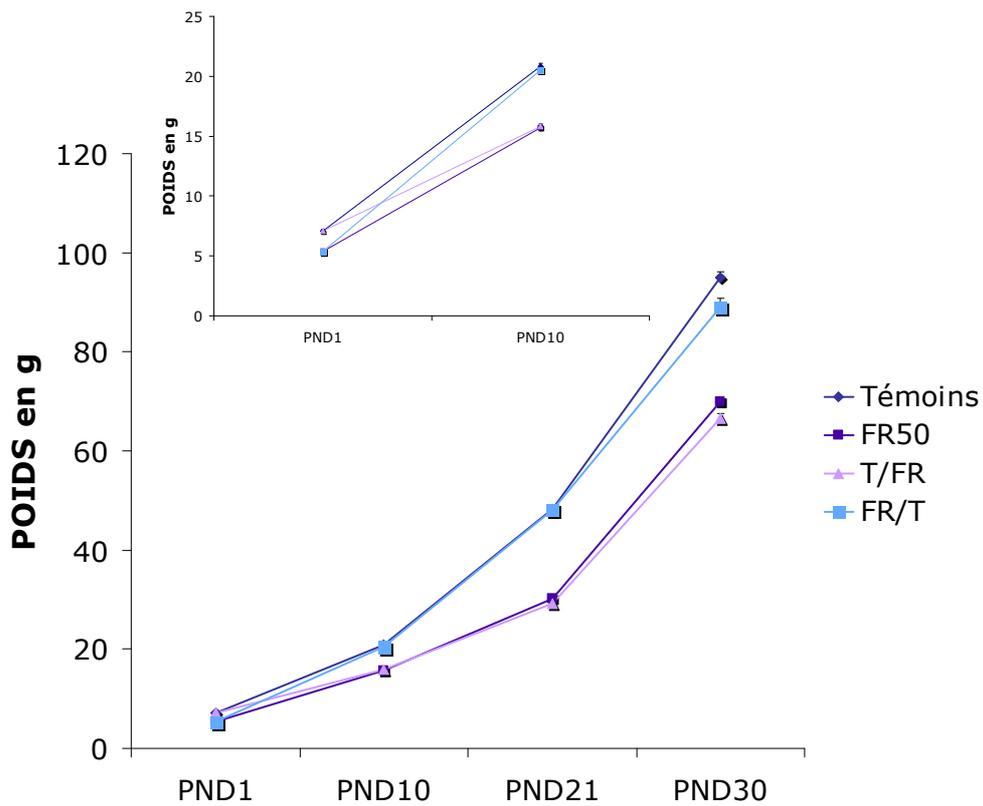


Figure 21 : évolution de la masse pondérale au cours de la période post-natale précoce au sein des quatre groupes expérimentaux. $P < 0.001$ à chaque stade considéré entre les groupes [T et FR/T] vs [FR et T/FR].

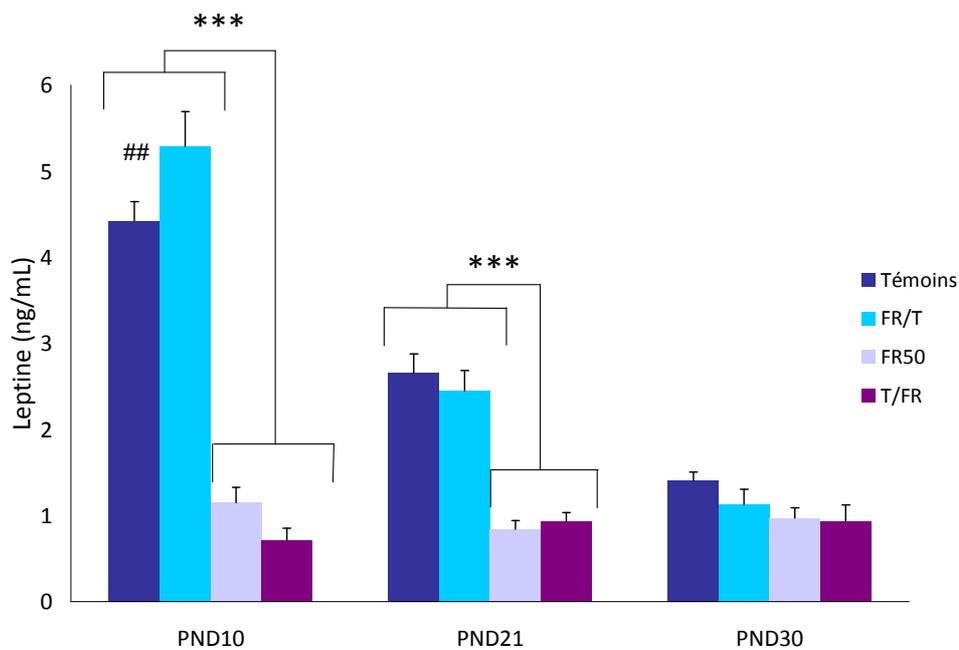


Figure 22 : dosage de la leptine plasmatique par ELISA à PND10, PND21 et PND30 au sein des quatre groupes expérimentaux. ## $p < 0.01$; *** $p < 0.001$

Cependant les différences de concentration de leptine retrouvées dans le lait des mères FR50 et témoins sont moindres par rapport à celles mesurées dans le plasma des mères, ce qui suggère que la leptine pourrait être transférée plus efficacement vers le lait chez les mères FR50 afin de limiter la chute de leptine dans le lait pour que le petit puisse malgré tout bénéficier au maximum des effets de la leptine pendant cette période développementale cruciale. Pour tester cette hypothèse, il sera nécessaire d'injecter de la leptine radiomarquée aux mères témoins et FR50 allaitantes et de mesurer la leptine marquée dans leur lait. Par ailleurs, il est également possible que la synthèse de leptine par la glande mammaire (Smith-Kirwin *et al.*, 1998) soit stimulée chez les mères FR50, cette hypothèse n'ayant pas été vérifiée dans notre étude. Quoiqu'il en soit, nous montrons pour la première fois que la dénutrition maternelle périnatale diminue la concentration de leptine dans le lait, ce qui pourrait contribuer à la chute des taux plasmatiques de leptine observée chez les rats FR50 pendant la période post-natale précoce. Il est tout à fait plausible également que la dénutrition maternelle entraîne une réduction de la quantité de lait produit par la rate allaitante.

II-2-4) Conséquences des adoptions croisées

II-2-4-1) Evolution de la prise de poids

On retrouve à PND1 un léger retard de croissance chez les animaux FR50 qui va s'accroître au cours du développement et ce jusqu'à PND30 (Figure 21). De manière très intéressante les groupes FR/T et T/FR vont présenter respectivement un « catch-up » et un « catch-down » dès P10 pour épouser la courbe des groupes correspondant à leur mère adoptive à savoir le groupe T pour le groupe FR/T et le groupe FR pour le groupe T/FR.

II-2-4-2) Evolution des taux plasmatiques de leptine

Nous confirmons dans ce nouvel élevage la présence d'un pic plasmatique de leptine autour de la deuxième semaine de vie post-natale chez le témoin et une chute des taux plasmatiques de leptine chez les nouveau-nés issus de mères dénutries (Figure 22). A l'instar de ce que l'on observe pour l'évolution de la prise de poids, les animaux des groupes adoptés présentent un profil de léptinémie semblable à celui observé dans le groupe correspondant à leur mère adoptive (Figure 22). Ainsi, l'allaitement et/ou le comportement maternel sont directement responsables des taux de leptine plasmatique chez le nouveau-né.

II-2) Discussion

II-2-1) Sources de leptine en période post-natale précoce

II-2-1-1) La leptine endogène

Comme nous l'avons déjà évoqué, le tissu adipeux blanc se développe durant la période post-natale précoce chez le rat (Ailhaud and Hauner, 2004). La leptine étant le reflet de la masse grasse, ces taux vont varier en fonction de l'importance du tissu adipeux. Au cours du développement, la masse de tissu adipeux augmente de manière non négligeable faisant de ce tissu une source de leptine de plus en plus importante. Cependant, en observant l'évolution des taux de leptine chez les rongeurs témoins au cours du développement (Ahima *et al.*, 1998; Delahaye *et al.*, 2008), on note que les animaux présentent pendant toute la période de lactation des taux de leptine supérieurs à ceux observés après le sevrage. Or, à PND30 les animaux possèdent une masse de tissu adipeux plus importante que durant la lactation suggérant que pendant cette période la leptine plasmatique du nouveau-né ne soit pas uniquement d'origine endogène, ou que le gène de la leptine soit fortement surexprimé dans le tissu adipeux blanc des rats pendant les deux premières semaines de vie. De plus, la masse grasse évoluant au cours du développement, si l'unique source de leptine était endogène, nous devrions retrouver un profil d'évolution semblable au niveau des taux plasmatiques. Pourtant, en dehors du pic, les taux sont stables de PND14 à PND21 ce qui sous entend que : 1) l'expression du gène de la leptine diminuerait après le 13^{ème} jour de vie dans le tissu adipeux des nouveau-nés ; 2) qu'une partie importante de la leptine pourrait être dégradée à partir des deux premières semaines de vie ; 3) que le pic de leptine serait dû principalement à l'apport exogène dans le lait maternel, les animaux prenant moins de lait au profit de la nourriture solide à partir de la deuxième semaine de vie. Il est clair que ces trois hypothèses ne s'excluent pas forcément et que le pic de leptine pourrait être la conséquence de ces différents facteurs.

II-2-1-2) La leptine exogène

Au cours de la période de lactation, les apports exogènes se concentrent autour de l'échange mère/nouveau-né. Nous montrons ici que le lait maternel contient de la leptine ce qui confirme les résultats de Pico et collaborateurs (2007) et qu'à l'instar de ce qu'avait montré Casabiell en 1997, la leptine est capable à P10 d'être absorbée au niveau intestinal. Ces résultats permettent de mieux comprendre le trajet de la leptine en période post-natale précoce, à savoir ; la mère produit de la leptine qui se retrouve dans le lait pour ensuite être

absorbé par le nouveau-né. Il est intéressant de constater néanmoins que le pic plasmatique de leptine retrouvé chez le rongeur nouveau-né coïncide à une période où l'efficacité de lactation est maximale chez les rongeurs (Forsyth, 1983). En effet, à partir du 14^{ème} jour de vie environ, l'animal commence à manger solide et sa consommation de lait va décroître. Ces données sont en accord avec nos résultats et pourraient expliquer pourquoi les taux plasmatique de leptine sont assez constants pendant toute la durée de la lactation chez les rats FR50, dans la mesure où ces derniers n'ont probablement pas accès à la nourriture solide qui doit être ingurgitée exclusivement par les mères dénutries. Bien que nous n'ayons pas vérifié cette hypothèse en filmant les mères et leur prise alimentaire, nous avons remarqué que les mères FR50 se « jettent » sur la nourriture lorsqu'elle est mise dans leur mangeoire. Ainsi, chez les rats FR50, le seul apport nutritionnel serait lacté pendant toute la durée de la lactation. Il serait donc extrêmement intéressant d'étudier les effets de la dénutrition périnatale sur la synthèse de leptine par la glande mammaire, elle-même.

Il a été montré que le développement de la glande mammaire pendant la période périnatale est influencé par le tissu adipeux maternel (Faulkin and Deome, 1960). En effet, les facteurs adipocytaires sécrétés par ce tissu vont stimuler la différenciation des cellules épithéliales de cette glande *in vivo* et *in vitro* (Levine and Stockdale, 1985 ; Beck and Hosick, 1988). Le tissu adipeux maternel joue donc un rôle double dans l'apport de leptine, d'une part via sa propre production de leptine et d'autre part, via son impact sur la mise en place de la glande mammaire.

II-2-2) Causes de la chute des taux plasmatiques observée chez les animaux FR50

Notre étude ne permet pas réellement de répondre à cette question de manière tranchée et il est vraisemblable que la dénutrition maternelle agisse selon différents mécanismes concourant de manière conjointe à la chute des taux plasmatiques de leptine chez les rats FR50.

II-2-1-1) Diminution de la production endogène

Nous avons montré dans le modèle FR50, une diminution de l'expression du gène de la leptine au sein du tissu adipeux périgonadique (Delahaye *et al.*, 2010). Bien que nous n'ayons pas examiné l'expression du gène de la leptine dans d'autres dépôts graisseux, il est vraisemblable qu'une baisse du niveau des ARN messagers de la leptine dans le tissu adipeux

puisse contribuer à la situation rencontrée dans le plasma. Il serait intéressant de réaliser une étude cinétique pendant la période de lactation de l'expression du gène de la leptine dans différents dépôts graisseux chez les animaux témoins et FR50. Si tel est le cas, cette chute de l'expression du gène de la leptine devrait être retrouvée également chez les animaux témoins qui, à partir de la troisième semaine de vie, présentent une diminution de leur taux plasmatique de leptine tandis que leur masse grasse augmente. Il semble néanmoins peu probable qu'une modulation de la production de leptine endogène suffise à expliquer les variations des taux plasmatiques observées entre témoins et FR50 pendant la période post-natale.

II-2-1-2) Diminution du passage de la leptine via la barrière intestinale

Dans la mesure où le lait est l'unique apport alimentaire du raton pendant les premières semaines de vie et que la leptine est présente dans le lait maternel chez l'homme et chez les rongeurs (Casabiell *et al.*, 1997 ; Picó *et al.*, 2007), une diminution de sa capacité d'absorption au niveau intestinal pourrait contribuer à la réduction des taux plasmatiques de leptine chez le nouveau-né FR50.

La période néonatale chez le rat (chez les mammifères d'une manière générale) se résume exclusivement en une alimentation lactée. Celle-ci sera remplacée, après sevrage, par une alimentation plus variée et solide ayant un rapport protéines-lipides-hydrates de carbone nettement différent. Pour faire face à ces changements nutritionnels, le jeune mammifère devra adapter sa digestion pendant la période d'allaitement et subir des modifications au moment du sevrage, lui attribuant des fonctions digestives matures et adultes. Le développement gastro-intestinal est soumis à plusieurs processus de maturation morphologique et fonctionnelle, processus au cours desquels les interactions tissulaires, les hormones et les substrats nutritifs vont avoir une importance capitale. Chez le rat, la maturation morphologique intestinale est tardive, et ne débute qu'en fin de gestation pour se poursuivre pendant toute la période de lactation (pour revue voir Mathan *et al.*, 1976). Une première vague de différenciation se concrétise par l'apparition de plusieurs hydrolases au niveau de la bordure en brosse. Leurs taux restent extrêmement faibles, à l'exception d'une seule disaccharidase, la lactase, assurant la digestion des hydrates de carbone et l'hydrolyse du lactose (sucre prépondérant de l'alimentation lactée) dès la naissance. Ces taux vont s'amoinrir vers la 4^{ème} semaine de vie post-natale (Doell and Kretchmer, 1962) pour

atteindre les niveaux présents chez l'adulte. L'immaturation du tractus gastro-intestinal permet donc au fœtus/nouveau-né d'absorber de volumineuses molécules de manière non-spécifique au niveau de l'intestin proximal, car celui-ci est quasiment dépourvu d'enzymes digestives. Des immunoglobulines (Solari *et al.*, 1984), des protéines (Walker *et al.*, 1972) peuvent être transmises de la mère à la circulation sanguine du fœtus sans dégradation. On parle ici de pinocytose, qualificatif de cette première vague de différenciation intestinale chez le rat, qui prendra fin au moment du sevrage (21 jours *post partum*). Une deuxième vague de différenciation, qualifiée de « redifférenciation » (Moog, 1979), se déroule vers le sevrage et est caractérisée par l'augmentation et l'apparition d'enzymes digestives, notamment la saccharase et d'une augmentation de la vitesse de migration cellulaire des vili intestinaux. Cette deuxième vague va permettre au tractus digestif du jeune rat d'acquiescer les fonctions nécessaires à la digestion d'un régime adulte.

Cette maturation intestinale est sous dépendance hormonale. De nombreux travaux ont montré un rôle prépondérant des glucocorticoïdes (Moog, 1979), en synergie avec d'autres hormones et facteurs de croissance comme l'EGF (Epidermal Growth Factor), l'insuline, la thyroxine (Teichberg *et al.*, 1992). Des travaux précédents ont déjà montré un dysfonctionnement de la sécrétion et de la régulation des glucocorticoïdes chez les animaux FR50, dû à une altération de l'axe corticotrope (pour revues Lesage *et al.*, 2006 ; Vieau *et al.*, 2007). Il a également été mis en avant l'importance des substrats énergétiques dans la maturation intestinale. Ainsi, en réduisant la quantité protéique d'une ration alimentaire de rate gestante et/ou lactante, l'intestin des ratons n'est pas mature de la naissance au sevrage (Younoszai and Ranshaw, 1973). Le développement intestinal est également sous dépendance de la leptine puisque celle-ci permet le rétablissement des taux enzymatiques nécessaires à la maturation intestinale qui s'avèrent être amoindris lors d'un régime dépourvu de leptine (Woliński *et al.*, 2003).

Cependant les approches structurales et fonctionnelles que nous avons entreprises pour tester l'hypothèse d'une altération de l'absorption intestinale en général, et celle de leptine en particulier, semblent indiquer qu'il n'y a pas de dysfonctionnement notable chez les ratons FR50. Toutefois, il faut noter que grâce à ces expériences nous confirmons la capacité qu'à l'intestin du nouveau-né à absorber des molécules de taille non négligeable durant la période de lactation. Ainsi, même si l'absorption ne peut être mise en cause dans la chute des taux plasmatiques de leptine chez le nouveau-né, nous montrons qu'il est possible de mesurer de la leptine non dégradée, provenant du tractus digestif, dans le plasma du nouveau-né ce qui

suggère que la leptine d'origine exogène puisse agir sur les tissus cibles du nouveau-né et donc exercer ses effets développementaux.

II-2-1-3) Diminution de l'apport via la lactation

Dans la mesure où la leptine est capable de traverser la barrière intestinale de manière équivalente dans les deux groupes, nous pouvons donc légitimement penser que la chute des taux de leptine chez les petits FR50 soit la conséquence d'une réduction de l'apport de leptine via le lait des mères dénutries. En effet, plusieurs études ont corrélé l'adiposité aux taux plasmatiques maternels (Houseknecht *et al.*, 1997 ; Bielicki *et al.*, 2004) et ceux présents dans le lait (Considine *et al.*, 1996). Il était donc concevable que la dénutrition maternelle qui se traduit par une perte de poids chez la femelle (Lesage *et al.*, 2001) ait des répercussions à la fois sur les taux de leptine plasmatique de la mère et sur la concentration de leptine dans le lait.

Nos résultats montrent bien une diminution de la leptine au niveau plasmatique et au niveau du lait chez les mères dénutries par rapport aux animaux témoins. Ainsi, les faibles taux de leptine dus à une diminution de la masse grasse de la mère FR50 se répercutent au niveau du lait et pourraient être responsable de la diminution des taux basaux de leptine au sein de la descendance FR50. De manière intéressante, cette diminution de la concentration de leptine dans le lait pourrait avoir des répercussions sur la fonctionnalité et le développement de l'intestin. En effet, les entérocytes expriment durant la période postnatale précoce la forme longue du récepteur à la leptine (Ob-Rb), suggérant qu'au cours de cette période des fluctuations des taux de leptine puissent intervenir dans le développement de ce tissu (Anini and Brubaker, 2003). De plus, outre l'aspect développemental, la leptine est capable de moduler les mécanismes d'absorption intestinale. Par exemple, chez le rongeur adulte, la leptine est produite par l'estomac en réponse à un repas (Bado *et al.*, 1998). Elle est capable d'agir sur l'absorption du glucose en diminuant l'activité du transporteur de glucose SGLT-1 (Lostao *et al.*, 1998 ; Ducroc *et al.*, 2005), et en augmentant celle de Glut 2 et de Glut 5 (Sakar *et al.*, 2009). Conjointement, la leptine stimule l'activité d'un transporteur de di-tripeptide, PepT-1 (Hindlet *et al.*, 2007). Enfin, l'Apolipoprotéine (Apo) AIV responsable de l'absorption des acides gras sous forme de triglycérides va être négativement régulée par la leptine (Morton *et al.*, 1998). SGLT1, PepT1 et l'Apo AIV sont présents dès la naissance chez le rat (Kojima *et al.*, 1999 ; Shen *et al.*, 2001 ; Elshourbagy *et al.*, 1985) et leur expression va varier au cours de la lactation. PepT-1 et SGLT-1 vont voir leur expression fortement

augmenter juste après la naissance pour se stabiliser durant les deux dernières semaines de la lactation avant de présenter une nouvelle augmentation en période post-sevrage. Ces variations peuvent être mises en relation avec les phases de maturation de l'intestin qui, comme évoqué précédemment, ont lieu autour de la naissance pour la première vague de différenciation et autour du sevrage pour la seconde. Il est donc légitime de se demander quelles vont être les conséquences de la diminution des taux de leptine dans le lait sur ces transporteurs au cours de la lactation chez les animaux FR50. En effet, durant le développement post-natal précoce, la production de leptine stomacale n'est pas effective (André Bado, communication personnelle), ce qui indique qu'à cette période, seule la leptine d'origine maternelle va être capable de moduler l'activité de ces différents transporteurs. Il sera particulièrement intéressant d'étudier les conséquences de la dénutrition maternelle sur l'activité de ces différents transporteurs dans l'intestin du nouveau-né, ce qui n'a jamais été rapporté à notre connaissance. Ainsi la leptine présente dans le lait, pourrait participer, via la modulation de l'activité de ces transporteurs, à moduler l'absorption intestinale des nutriments. C'est pourquoi, un déficit de leptine dans le lait pourrait contribuer au retard de croissance extra-utérin (RCEU) drastique observé chez les rats FR50 (Delahaye *et al.*, 2010). *A contrario*, la diminution de leptine pourrait augmenter l'absorption des différents nutriments chez les animaux FR50 pour compenser le retard de croissance, via une augmentation de la sensibilité intestinale à l'action de leptine.

II-2-1-4) Origine du pic

Au vu des différentes données, la question de l'origine du pic de leptine perdure. En effet, ni la production endogène, ni l'apport exogène à eux seuls ne permettent d'expliquer clairement l'origine de ce pic. La production endogène est le reflet de la masse grasse, cette masse évoluant de manière continue durant le développement, le signal leptine qui en émane ne peut donner naissance à un pic mais devrait former une courbe en constante évolution. Quand on observe les taux de leptine dans le lait, on note chez le témoin qu'ils sont inversement corrélés aux taux plasmatiques. Ainsi, on retrouve une concentration plus importante de leptine dans le lait à PND21 qu'à PND10 ce qui va à l'encontre du pic observé autour de PND10 dans ce groupe. Même si un lien direct ne semble pouvoir être établi entre l'origine du pic et la leptine présente dans le lait, on ne peut exclure totalement sa participation puisqu'il représente la principale source de leptine pendant la période de lactation.

Le nouveau né au cours de l'ontogenèse augmente sa prise de nourriture pour atteindre un maximum autour de PND14 (Forsyth, 1983). Cette augmentation va se traduire par un apport plus important de leptine via le lait. Cependant, les taux de leptine du nouveau-né croissent jusque PND10 pour ensuite retomber à une valeur de base proche de celle post-sevrage qui n'est corrélée ni aux apports exogènes, ni à la production endogène. On peut alors émettre l'hypothèse qu'en parallèle de cette augmentation de leptine se mettent en place des mécanismes de dégradation au niveau intestinal ou simplement dans la circulation sanguine. Ainsi, la rupture observée entre PND10 et PND14 pourrait correspondre au moment où les systèmes de dégradations deviennent actifs. De tels mécanismes pourraient avoir pour rôle de limiter la quantité de leptine capable d'interagir notamment au niveau central et ainsi permettre une mise en place adéquate des valeurs seuils puisque cette concentration seuil est proche de celle observée en période post-sevrage. De la même manière, cette variation des taux de leptine au niveau plasmatique pourrait être due à une diminution de l'expression de certaines isoformes du récepteur à la leptine comme les formes Ob-RA et Ob-RE. L'isoforme de type A est connue pour être impliquée dans l'internalisation de la leptine (Belouzard and Rouillé, 2006) notamment au niveau de la barrière hémato-encéphalique (Hileman *et al.*, 2002) et son expression a été détectée dans les villosités au niveau de la bordure en brosse et dans les cryptes jéjunales, ainsi que dans l'iléon et le colon, laissant supposer qu'elle pourrait être, au niveau de ce tissu, également impliquée dans l'internalisation de la leptine et jouer un rôle au niveau des variations des taux plasmatiques. L'isoforme de type E est capable de lier la leptine avec une très grande affinité, ce qui lui permet de stabiliser la leptine plasmatique et de réguler son action biologique (Diamond *et al.*, 1997). Le pic ne serait donc pas dû à une augmentation temporaire de la production ou de l'apport de leptine mais à une mise en place d'un mécanisme de dégradation qui donnerait ce profil de pic à la courbe d'évolution des taux de leptine durant la période post-natale précoce.

Il est alors tout à fait justifié de se demander pourquoi un tel pic de leptine n'est pas retrouvé chez les animaux FR50. Même si comme nous l'avons évoqué, les taux de leptine dans le lait sont amoindris chez les mères FR50 nous devrions également distinguer un pic de leptine même s'il est de moindre importance chez les nouveau-nés issus de mère dénutries si ces animaux ont une cinétique de tétée semblable à celle des animaux témoins. Des études réalisées sur des modèles de restrictions protéiques ou alimentaire ont mis en avant une diminution de la qualité et de la quantité de lait sécrétée lors de ces challenges nutritionnels (Ronayne De Ferrer and Sambucetti, 1993). Nous avons également pu constater lors de nos

différentes traites une diminution de la production de lait chez les animaux FR50, ce qui semble en accord avec la littérature même si ces données restent difficilement quantifiables au vu du protocole appliqué. On peut alors imaginer que l'augmentation de la prise de nourriture des nouveau-nés FR50 n'ait pas d'impact sur les taux de leptine puisqu'elle serait limitée par la quantité de lait fournie par la mère. Ces données pourraient expliquer le retard de croissance extra-utérin observé chez les animaux FR50 et seraient en accord avec l'absence d'augmentation des taux de leptine durant la lactation chez le nouveau-né FR50. Il semblerait donc ici que l'apport de leptine exogène soit insuffisant pour compenser la faible production endogène ce qui aboutirait à une leptinémie inférieure pendant toute la période de développement précoce. Face à cette hypoléptinémie, nous pouvons nous attendre à ce que le nouveau-né FR50 développe une hypersensibilité à la leptine. En effet, si on considère le signal leptine comme un signal seuil de maturation, ces animaux vont avoir un seuil de sensibilité très faible pour la leptine. C'est pourquoi, en regard d'un apport nutritif standard, ils vont sécréter plus de leptine ce qui pourrait être à la base de l'hyperleptinémie retrouvée dans de nombreux modèles de dénutrition et qui, à plus ou moins long terme, pourrait causer une résistance à la leptine (Vickers *et al.*, 2000 ; Breton *et al.*, 2009).

L'ensemble de ces données renforce le rôle prépondérant de la leptine dans le développement du fœtus/nouveau-né. L'étude du trajet de cette adipokine durant la période de lactation et la comparaison entre les groupes FR50 et témoins a permis de mettre en avant le rôle majeur de la lactation dans l'apparition du signal leptine et donc dans la mise en place des différents systèmes impliqués dans le contrôle du métabolisme chez le rat.

II-2-3) Les adoptions croisées un moyen de restaurer le pic de leptine ?

Les expériences précédentes ont démontré que la lactation représente une période charnière pour la programmation des systèmes impliqués dans le contrôle de la croissance et du métabolisme chez le raton. C'est pourquoi nous avons voulu, au cours de notre étude, dissocier les effets de la restriction maternelle durant la gestation de ceux durant la lactation. Pour cela, nous avons mis en place un protocole d'adoptions croisées nous permettant de comparer l'impact de la gestation sur le développement du fœtus/nouveau-né à celui de l'impact de la lactation sur la croissance du raton et sur les taux de leptine plasmatique du nouveau-né afin de savoir quel serait le moment optimal pour imaginer des interventions

visant à « déprogrammer » les altérations métaboliques et endocriniennes observées chez les FR50 à l'âge adulte (Sebaai *et al.*, 2004 ; Vieau, 2009 ; Watzet *et al.*, résultats non publiés).

Les concentrations plasmatiques de leptine chez le nouveau-né vont varier en fonction du régime auquel est soumis la mère pendant la lactation. Ainsi, une chute des taux de leptine chez les nouveau-nés adoptés par une mère FR50 (le groupe T/FR) et une restauration des taux ainsi que du pic plasmatique pour les animaux placés avec une mère témoin (le groupe FR/T) sont observées. Ces résultats montrent que la dénutrition prénatale n'a pas d'influence sur la croissance extra-utérine ni sur les taux de leptine plasmatique mis en évidence chez les animaux FR50. Ainsi, l'apport nutritionnel de la mère pendant la lactation va conditionner la leptinémie du nouveau-né et vraisemblablement la mise en place des connexions des systèmes orexigènes et anorexigènes hypothalamiques comme cela a été décrit récemment à partir d'adoptions croisées réalisées chez les rats issus de mères ayant été soumises ou non pendant la lactation à un régime appauvri en protéines (Coupé *et al.*, 2010). Pour compléter notre étude, il sera nécessaire d'examiner les effets de l'adoption sur la mise en place des connexions des neurones hypothalamiques à POMC et à NPY. Cependant, la période de lactation ne se limite pas à un apport nutritionnel mais représente également un moment d'échanges entre la mère et le nouveau-né pouvant influencer le développement de ce dernier. En effet, durant cette étude, nous ne nous sommes pas intéressés à l'impact que pouvait avoir le comportement maternel sur le développement du nouveau-né. Il eut été intéressant, par exemple, de réaliser des expériences comportementales visant notamment à mesurer le temps passé à la mamelle et/ou les stimulations anogénitales ou encore le temps mis par la mère pour retrouver ses petits. Il est tout à fait envisageable que la dénutrition modifie le comportement maternel, ce qui pourrait influencer ou contre balancer les effets délétères de la restriction alimentaire. A cet égard, une étude a montré que la dénutrition augmentait le comportement maternel permettant, notamment, au nouveau-né de passer plus de temps à téter (Pachón *et al.*, 1995). En effet, plus la restriction alimentaire est importante, plus on augmente le temps passé à la mamelle, ce qui permet de limiter l'impact de la dénutrition sur le développement du raton. On peut donc concevoir que le comportement maternel entre en jeu dans les différences de croissance observées entre les animaux témoins et les animaux FR50 et qu'il puisse également être influencé par les adoptions. Toutefois, dans la mesure où, d'après les paramètres observés, les animaux adoptés suivent un profil similaire à celui des animaux non adoptés, que ce soit dans le cas d'un « catch-down » ou d'un « catch-up », il semble que le comportement maternel n'ait ici qu'un rôle secondaire et que l'adoption ne le modifie pas de manière très marquée. Cette hypothèse est étayée par une étude réalisée par

Kowalski et ses collaborateurs (2002) qui se sont intéressés aux aspects nutritionnels et comportementaux pendant la lactation chez le raton. Ils ont ainsi montré que la séparation maternelle se traduit par une augmentation du NPY et une perte de poids dès P2 chez le rat nouveau-né. Ces altérations ne sont pas rétablies par une stimulation anogénitale uniquement, mais doivent être associées à l'ajout d'une alimentation lactée pendant la durée de la séparation maternelle. Cette étude indique que l'aspect nutritionnel est dominant par rapport à l'aspect comportemental. Au vu de ces différentes observations, il semble qu'à court terme, ces modifications de la croissance et de la leptinémie soient bénéfiques pour le groupe FR/T qui retrouve un profil de groupe T. Cependant, les conséquences à long terme et le bien fondé d'un « catch up » trop précoce sont de plus en plus discutés. Comme nous l'avons évoqué au cours de l'introduction, lorsqu'un nouveau-né présente un RCIU, l'une des priorités est de lui faire rattraper dans le plus court laps de temps possible la courbe de croissance d'un nouveau-né « standard ». Cependant, les conséquences à long terme de cette volonté à court terme sont encore largement discutées. L'étude de paramètres physiologiques comme la glycémie, la tolérance au glucose, la pression artérielle ou encore la prise alimentaire des animaux du groupe FR/T à l'âge adulte devrait nous permettre de mieux pouvoir discuter des conséquences d'un « catch-up » à long terme. Des études réalisées sur des modèles de restriction protéique ont d'ores et déjà souligné quelques troubles métaboliques à long terme chez des animaux ayant subi un « catch-up ». Chez ces animaux une résistance à la leptine à 3 mois (Cripps *et al.*, 2009) et à 5 mois (Coupé *et al.*, résultats non publiés) accompagnée d'une augmentation de la masse de tissu adipeux et du diamètre des adipocytes sont observées. De plus, ces animaux présentent une préférence pour la nourriture riche en lipides ce qui pourrait amplifier le risque de développer des altérations métaboliques. Cette hypothèse est étayée par les travaux de Vickers et de son équipe qui ont développé un modèle de restriction alimentaire de 70% (FR30) pendant toute la durée de la gestation. A la naissance, les petits FR30 sont adoptés par des mères nourries avec un régime standard. Dans ce modèle, des altérations métaboliques fortement amplifiées par un régime hypercalorique après le sevrage sont rapportées, ces animaux développant, à l'âge adulte, une hyperphagie, une hyperinsulinémie, une hyperleptinémie, de l'hypertension ainsi qu'une obésité (Vickers *et al.*, 2000). Toutes ces altérations ont été imputées aux conséquences d'une restriction alimentaire pendant la période gestationnelle. Cependant, en comparant, les altérations beaucoup plus modérés dans le modèle FR30 qui est développé au sein de notre équipe et celui étudié par Vickers et ses collaborateurs, il semble légitime de penser que les effets les plus délétères sur le métabolisme soient dus à l'adoption dans la mesure où, dans notre modèle expérimental, les petits FR30

sont laissés en compagnie de leur mère à la naissance. Les petits du groupe T/FR (petits témoins adoptés par une mère soumise à la restriction pendant la lactation) présentent quant à eux une diminution de leur croissance avec à une courbe calquée sur celle du groupe FR50, ce qui correspond à un phénomène de « catch-down ». Cette régression peut être apparentée à celle observée dans un modèle de dénutrition maternelle post-natale comme celui utilisant une augmentation du nombre d'animaux par portée pendant la lactation. Cependant très peu d'études se sont intéressées aux conséquences d'une telle restriction uniquement pendant la lactation et les phénomènes de « catch-down » sont peu explorés. Néanmoins, ils ont un sens en clinique et pourraient concerner les enfants macrosomes recevant une alimentation « standard » qui pourrait en réalité correspondre à une dénutrition par rapport aux besoins de l'enfant. Il semble donc légitime de se demander si une rupture de la courbe de croissance entre la gestation et la lactation aura un effet plus délétère qu'un régime appliqué pendant à la fois la gestation et la lactation. Il est donc raisonnable de penser que si des systèmes impliqués dans le métabolisme se mettent en place durant la fin de la gestation, on observe également comme c'est le cas pour les animaux FR50 au sevrage, un décalage entre les systèmes mis en place et les apports durant la lactation ce qui pourrait engendrer un stress ayant des conséquences délétères à long terme. Dans un tel modèle de restriction uniquement durant la période de lactation, une augmentation de l'expression du NPY et de l'AGRP à P60 ainsi qu'une hypoleptinémie et une diminution de la prise de poids ont été rapportées (López *et al.*, 2005). Ces variations des différents paramètres métaboliques témoignent d'une mésadaptation du nouveau-né ce qui va pouvoir, à plus long terme augmenter la survenue de maladies métaboliques, comme c'est le cas chez les enfants macrosomes (Hermann *et al.*, 2010).

Les adoptions croisées nous ont permis de distinguer d'une part la programmation due à la gestation, de celle découlant de la lactation, et d'autre part, d'examiner l'implication dans cette programmation du fœtus/nouveau-né et de la mère. La période de lactation ressort donc comme une période clef dans la régulation des taux plasmatiques de leptine et donc dans la survenue des conséquences à court et plus ou moins long terme sur le métabolisme. Cette période va pouvoir être influencée par l'état nutritionnel de la mère qui va, à lui seul, être capable de moduler la leptinémie et la croissance du raton. Nous montrons également grâce à cette étude que les troubles présents chez les animaux FR50 peuvent être totalement ou en partie corrigés par des apports nutritifs suffisants pendant la lactation ce qui semblerait indiquer, que dans ce modèle, l'aspect prénatal soit peu délétère, en tout cas sur les paramètres analysés. En effet, dans le modèle FR50 la restriction pendant la

gestation est très limitée, et il est donc concevable que la fenêtre de programmation concernée ne soit pas suffisante pour provoquer à long terme des altérations métaboliques. Même si nous ne pouvons pas affirmer que la gestation n'entre pas en jeu dans la programmation du comportement alimentaire nos résultats sont en faveur d'une forte contribution de la période de lactation. Cependant, des études sont en cours pour analyser les effets à long terme sur différents paramètres physiologiques et métaboliques chez les animaux adoptés et non adoptés afin de savoir si une rupture de la cinétique de croissance (« catch-up » ou « catch-down ») est bénéfique ou délétère.

Maternal perinatal undernutrition programs a “brown-like” phenotype of gonadal white fat in male rat at weaning

Delahaye F, Lukaszewski MA, Cisse O, Dutriez-Casteloot I, Montel V, Dickes-Coopman A, Laborie C, Lesage J, Breton C, Vieau D.

The journal American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology. 299, R101-10.

Le tissu adipeux intimement lié à la survenue de l'obésité, constitue donc une cible majeure du syndrome métabolique. L'obésité se traduit, en particulier, par une croissance anarchique de la masse du tissu adipeux ce qui entraîne un déséquilibre de la balance entre le stockage de graisses et la dépense énergétique, au détriment de cette dernière. De nombreux modèles de programmation périnatale ont mis en avant, surtout lorsque la descendance est confrontée à un régime hypercalorique, d'importantes variations de la masse de tissu adipeux (Vickers *et al.*, 2000 ; Coupé résultats non publiés). Ces données, associées au fait que les animaux FR50 présentaient des taux de leptine plasmatique fortement amoindris en période post-natale précoce (article 1), nous ont amenés à émettre l'hypothèse que la dénutrition maternelle périnatale pourrait modifier la mise en place de l'axe hypothalamo-adipocytaire chez les rats nouveau-nés.

Afin de tester cette hypothèse, nous avons, dans un premier temps, analysé les effets de la dénutrition maternelle sur l'expression de plus de 80 gènes impliqués dans la régulation du métabolisme énergétique, en ciblant plus spécifiquement le contrôle de la prise alimentaire, dans le tissu adipeux blanc périgonadique et l'hypothalamus de rats au sevrage (âgés de 21 jours). Ces premiers résultats indiquant que les principaux effets de la dénutrition s'exerçaient essentiellement sur le tissu adipeux, notre intérêt s'est ensuite porté sur ce dernier et nous avons réalisé des analyses histologiques et immunohistochimiques des tissus adipeux blanc et brun à PND10, PND21 et PND30.

I - Conclusion générale

I-1) Conséquences sur le phénotype du tissu adipeux

La lactation représente au niveau périphérique tout comme au niveau central, une importante période de plasticité. En réalisant une étude comparée des variations géniques au niveau de l'hypothalamus et du tissu adipeux périgonadique, deux facteurs contrôlant la prise alimentaire, on s'aperçoit que les conséquences au niveau central sont beaucoup plus limitées que celles au niveau périphérique. En effet, le nombre de gènes modulés est beaucoup plus important au niveau du tissu adipeux que dans l'hypothalamus. Ces données sont en accord avec l'hypothèse selon laquelle la périphérie développe une sensibilité plus grande face à la programmation pour limiter l'impact de cette programmation au niveau central (Brain sparing effect).

Les animaux FR50 présentent, pendant la période de lactation, un changement de phénotype de leur tissu adipeux périgonadique qui va exprimer non plus des caractéristiques de tissu adipeux blanc mais plutôt de tissu adipeux brun. Ce changement peut avoir des conséquences à court et à long terme sur le métabolisme de ces animaux et une meilleure compréhension de ce phénomène pourrait orienter vers de nouvelles stratégies thérapeutiques. Il est donc nécessaire d'une part de tenter d'identifier les mécanismes impliqués au niveau cellulaire, et d'autre part de comprendre pourquoi le modèle FR50 a pu entraîner ce changement phénotypique.

Plusieurs hypothèses existent quant à l'origine des adipocytes bruns dans le tissu adipeux blanc. La première est qu'il existe, au sein de ce tissu, des précurseurs d'adipocytes bruns qui vont, sous certaines conditions, être capables de proliférer de manière importante afin de générer ce nouveau phénotype (Himms-Hagen *et al.*, 2000 ; Granneman *et al.*, 2005). A cet égard, en conditions normales, la présence d'adipocytes bruns au sein de dépôts de tissu typiquement blanc est rapportée (Young *et al.*, 1984). Ces quelques adipocytes bruns vont alors pouvoir proliférer aux dépens des adipocytes blancs et être responsables de l'apparition d'un phénotype proche de celui du tissu adipeux brun. La seconde hypothèse est que l'adipocyte blanc serait capable de se différencier en adipocyte brun.

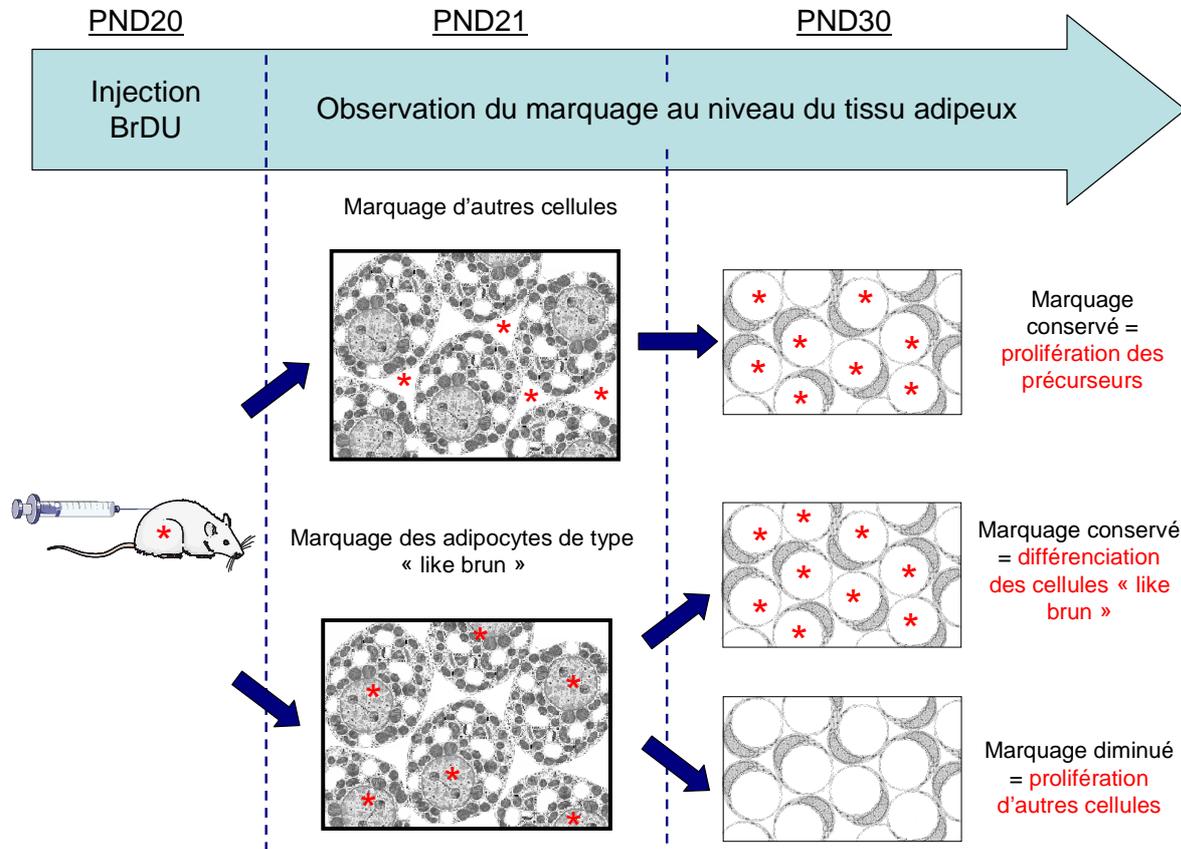


Figure 23 : Protocole d'injections du BRDU pour suivre l'évolution du tissu adipeux chez les animaux FR50

Cette différenciation a été mise en évidence dans de nombreux modèles d'exposition au froid ou de suractivation du système adrénérgique (Cousin *et al.*, 1992 ; Guerra *et al.*, 1998) et se traduit par l'apparition d'une forte expression d'UCP1 au sein des adipocytes blancs comme ce que nous observons chez les animaux FR50.

Dans notre modèle, il est à la fois question d'une apparition d'un phénotype brun dans un dépôt adipeux classiquement blanc mais également d'un passage d'un phénotype brun à blanc puisqu'à P30 les animaux FR50 présentent uniquement des adipocytes caractéristiques du tissu adipeux blanc. Ce type de « différenciation inverse » n'a, à notre connaissance, pas été rapportée et pourrait constituer un des mécanismes conduisant à une surcharge lipidique. C'est pourquoi il serait plus qu'intéressant d'étudier ce changement de phénotype au sein de notre modèle. Pour cela, il serait utile de mesurer en parallèle la prolifération cellulaire et la mort cellulaire au sein du tissu adipeux périgonadique des animaux FR50. L'étude de la prolifération pourra être réalisée à l'aide de BrdU (Bromodeoxyuridine ; figure 23). L'injection de BrdU à P20 marquera les cellules en prolifération. L'analyse du marquage à P21 permettra d'identifier les cellules ayant incorporé la BrdU à savoir, soit majoritairement des cellules de type brun, auquel cas la mesure du marquage à P30 pourra nous renseigner sur l'origine du nouveau phénotype : le marquage est conservé indiquant que ce phénotype est dû à une différenciation des adipocytes « brun » en « blanc » ou à l'inverse le marquage est diminué signifiant que ce phénotype découle d'une population nouvellement formée. Soit l'incorporation de la BrdU touche d'autres cellules au niveau du tissu adipeux ; il pourrait alors s'agir de précurseurs d'adipocytes blancs. Cette hypothèse sera confirmée ou infirmée en observant le marquage à P30. Si nous sommes en présence de précurseurs, le marquage sera retrouvé au niveau des adipocytes blancs nouvellement formés. Cette prolifération sera accompagnée d'une apoptose massive des adipocytes brun retrouvés à P21. Cette apoptose pourra être étudiée au sein de ce tissu grâce notamment à la technique de TUNEL (pour Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP Nick End Labelling). Cette méthode se base sur le fait qu'une cellule en apoptose voit son ADN clivé par des nucléases donnant alors naissance à des 3'OH libres qui seront reconnus par la Terminal deoxynucleotidyl transférase pour y ajouter un dUTP. Ainsi en utilisant un dUTP marqué il sera possible d'identifier les cellules en apoptose. Cette technique peut être complétée par une mesure de la forme clivée de la caspase 3, enzyme impliquée dans les mécanismes apoptotiques. L'ensemble de

ces expériences devrait nous permettre de connaître l'origine du changement de phénotype que l'on observe chez les animaux FR50 entre P21 et P30.

Cette altération, même transitoire, peut avoir des répercussions importantes à long terme, puisqu'elle intervient au cours d'une période clef de la croissance du nouveau-né. Comprendre les causes de cette apparition d'adipocytes bruns dans un tissu adipeux classiquement blanc semble donc tout aussi important que d'identifier les mécanismes impliqués. La présence dès P4 d'adipocytes blancs chez les animaux témoins, nous amène à penser qu'il ne s'agit pas d'un retard de mise en place chez les animaux FR50. En effet, dans la mesure où ce phénotype brun n'est pas retrouvé chez les animaux témoins, il ne fait vraisemblablement pas partie du processus classique de maturation du tissu adipeux blanc. Un défaut de cette maturation ne peut donc être la cause du phénotype retrouvé dans le groupe FR50 à moins que des adipocytes bruns ne soient présents dans le tissu adipeux périgonadique avant P4. Nous n'avons pu tester cette hypothèse dans la mesure où il est très difficile de récupérer du tissu adipeux avant ce stade, y compris chez des animaux témoins. L'hypothèse la plus probable serait que, dès la naissance, les conditions au sein des animaux FR50 soient défavorables à l'apparition du tissu adipeux blanc au profit d'un tissu adipeux de type brun. Il a été montré que la leptine entraîne une surexpression d'UCP1 dans le tissu adipeux blanc (Plum *et al.*, 2007). Elle pourrait donc être impliquée dans l'apparition du tissu adipeux brun chez les animaux FR50. Cependant, les taux de leptine étant largement inférieurs chez ces animaux par rapport aux animaux témoins, elle ne semble pas être l'élément majeur dans cette programmation au cours de la période post-natale précoce. On peut toutefois concevoir que la faible expression de leptine produise localement un état d'hypersensibilité du tissu adipeux à l'action de la leptine chez les animaux FR50 par une action de type autocrine/paracrine. Parallèlement, les animaux témoins pourraient développer une résistance à la leptine locale au niveau du tissu adipeux dans la mesure où la leptine produite va tout d'abord avoir une action autocrine ou paracrine ce qui peut rendre le tissu producteur résistant par down régulation des récepteurs. Une fois ce tissu résistant, la leptine serait alors capable de toucher des organes cibles plus éloignés, et plus la sécrétion sera importante plus les tissus proches deviendront résistants, permettant ainsi une action à plus longue distance du peptide produit. Ainsi la résistance à la leptine pourrait peut-être initialement provenir du tissu adipeux lui-même, pour favoriser l'action de l'hormone sur d'autres tissus. Si tel est le cas, le peu de leptine produite chez les animaux FR50 ne pourrait agir que sur le tissu adipeux et maintenir le phénotype brun. Ainsi, la leptine ne pourrait agir sur l'hypothalamus ce qui pourrait expliquer l'altération

dans la mise en place du système à POMC. De fait, il a été montré que si le récepteur à la leptine est surexprimé dans le tissu adipeux, on prévient l'obésité tandis que si on l'inhibe localement, les souris développent un syndrome métabolique témoignant donc bien de l'implication de la voie de signalisation de la leptine, au sein du tissu adipeux lui-même, dans la survenue du syndrome métabolique (Wang *et al.*, 2008 ; Huang *et al.*, 2003).

Le changement brutal de phénotype qui a lieu après le sevrage nous amène à penser que le statut nutritionnel peut être un élément important dans l'acquisition du phénotype brun ou blanc. En effet, durant la période de lactation les apports nutritifs du nouveau-né sont dépendants de l'état nutritionnel de la mère. Or, les mères FR50 sont soumises à une restriction drastique de leur apport alimentaire, se répercutant alors sur le nouveau-né. C'est pourquoi face à un apport nutritif restreint, la priorité du nouveau-né ne doit pas être le stockage mais, à l'inverse, l'utilisation de graisses afin de produire de la chaleur, justifiant l'apparition d'un tissu riche en UCP1. A la naissance, la fragilité des nouveau-nés FR50 est exacerbée par leur faible croissance, ce qui les rend encore plus vulnérables à leur environnement et notamment aux variations de température rencontrées pendant cette période. Dans ce contexte, il semble logique d'utiliser ces ressources afin de subvenir aux besoins de survie telle que la thermorégulation, dans la mesure où un changement brutal de température intervient lors de la parturition. Pour survivre, le rongeur nouveau-né doit produire de la chaleur via la thermogenèse sans frisson (Farrell and Alberts, 2007). Afin de confirmer cette hypothèse, il serait intéressant d'une part de suivre l'évolution de la température corporelle chez ces animaux en conditions basales et lors d'exposition au froid, et d'autre part, de quantifier le nombre de mitochondries et leur activité. La quantification des mitochondries peut être faite par l'analyse de coupes de tissu adipeux au microscope électronique, par exemple. Quant à l'évaluation de l'activité, il serait très intéressant d'utiliser un oxygraphe capable de quantifier la consommation en oxygène de mitochondries isolées et donc de mesurer leur efficacité. Ainsi, on peut supposer que placés dans un environnement plus clément avec une température extérieure plus élevée, les animaux FR50 ne soient plus contraints de produire de la chaleur via leur tissu adipeux périgonadique qui pourrait alors conserver un phénotype de tissu adipeux blanc. L'apparition de ce phénotype paraît être due à l'action conjointe de la température extérieure et du régime alimentaire puisqu'il sensibilise le nouveau-né FR50 l'obligeant à trouver d'autres sources de chaleur afin d'assurer sa survie.

Après, le sevrage le raton se retrouve confronté à un régime alimentaire standard, en décalage avec le régime auquel il était soumis pendant la lactation. Ce régime plus riche, lui

permet donc de stocker les lipides et ainsi de développer son tissu adipeux blanc. Par ailleurs, la défection du système à POMC entraîne une hyperphagie durant les premiers jours de séparation de sa mère ce qui lui permet d'augmenter la quantité ingérée de calories, ce qui doit aussi permettre un rattrapage plus rapide de la formation du tissu adipeux blanc. La période post sevrage correspond également à une période durant laquelle la nutrition passe d'une alimentation lactée à une alimentation solide. On peut donc imaginer que l'impact sur le phénotype ne soit pas uniquement lié à la carence due au régime mais qu'il y ait dans le lait des mères FR50 des facteurs impliqués dans la différenciation de l'adipocyte blanc en adipocyte brun comme par exemple une concentration plus importante en glucocorticoïdes ou à l'inverse dans le lait des mères témoins des facteurs permettant de limiter la survenue d'un phénotype brun dans le but de favoriser la croissance du nouveau-né. Il serait donc très intéressant de compléter l'étude de la composition du lait chez la mère en ne se limitant pas à la leptine afin de pouvoir mettre en évidence différents facteurs potentiellement impliqués dans la différenciation du tissu adipeux.

Le statut nutritionnel, même s'il semble impliqué dans ce changement de phénotype, ne doit pas être l'unique responsable. Une surexpression d'UCP1 au sein d'adipocyte blanc peut être causée par une stimulation du système nerveux sympathique suggérant que les altérations de l'axe sympatho-surrénalien mise en évidence dans le modèle FR50, puissent être impliquées dans l'apparition du phénotype brun. En effet, en conditions basales, les animaux FR50 sécrètent au sevrage des taux plus élevés de catécholamines (Molendi-Coste *et al.*, 2006) qui pourraient être responsables chez ces animaux d'une suractivation du récepteur β 3 adrénergique et ainsi participer à l'apparition d'un nouveau phénotype.

Ce changement de phénotype représente un mécanisme d'intérêt dans la lutte contre l'obésité. Nous venons de le voir, il semble s'accompagner d'une baisse du stockage des graisses au profit d'une augmentation de la dépense énergétique autant d'atouts qui pourraient être utilisés comme thérapie afin de lutter contre la prise de poids excessive et ainsi, éliminer un des principaux facteurs de risque dans le développement du syndrome métabolique : le surpoids.

I-2) Conséquences sur la fonction endocrine du tissu adipeux

Le tissu adipeux a longtemps été considéré comme un organe inerte exclusivement impliqué dans le stockage des graisses. Aujourd'hui, il est considéré comme une glande endocrine à part entière, conférant ainsi à l'adipocyte un rôle dans les modes de sécrétion endocrine, paracrine et autocrine. Ce rôle putatif, bien qu'il n'ait pas été démontré que les adipocytes présentent ou non une voie de sécrétion régulée, leur permettrait de contrôler la fonction des adipocytes voisins ou d'autres cellules présentes dans le tissu adipeux mais également d'influencer l'activité de tissus périphériques impliqués dans le métabolisme énergétique, comme le pancréas, le foie, le muscle squelettique, le tractus digestif ou encore le SNC (Kim and Moustaid-Moussa, 2000). Le tissu adipeux est capable de sécréter des adipokines comme des hormones, des cytokines ou encore d'autres protéines ayant une fonction biologique spécifique. Parmi ces protéines, on retrouve de nombreux précurseurs de neuropeptides impliqués dans la régulation du comportement alimentaire le proNPY, la POMC et le proCART (Yang *et al.*, 2003). Ainsi, outre l'impact sur la dépense énergétique, le changement de phénotype au sein du groupe FR50 va avoir des répercussions sur l'expression de ces différents peptides.

Ce nouveau phénotype s'accompagne d'une surexpression de plusieurs peptides impliqués dans la régulation de la prise alimentaire comme le NPY, le PYY et la somatostatine. L'expression conséquente de ces peptides peut permettre au tissu adipeux de jouer un rôle non négligeable au niveau du système nerveux central. On peut concevoir que le NPY sécrété par le tissu adipeux puisse participer à la mise en place des systèmes orexigènes et par la suite, jouer un rôle dans le contrôle de la prise alimentaire. Ainsi, l'action conjointe de la diminution de l'expression de la POMC et de cette surexpression du NPY par le tissu adipeux pourrait concourir à l'hyperphagie observée chez les animaux FR50 juste après le sevrage. Toutefois, pour jouer ce rôle le tissu adipeux doit présenter, une voie régulée de sécrétion et être capable de cliver ces propeptides afin qu'ils puissent agir sur leurs cellules cibles. C'est pourquoi l'expression de ces facteurs n'est pas, à elle seule, suffisante pour justifier d'une action sur le comportement alimentaire. Il serait donc très intéressant d'étudier d'une part, la présence de chromogranines (marqueurs des granules de sécrétion matures) au sein du tissu adipeux par double marquage avec un marqueur adipocytaire, comme peut l'être la leptine. Ceci permettrait de discriminer les adipocytes des différents constituants du tissu adipeux. Cette étude pourrait être complétée d'une analyse par microscopie électronique pour identifier des granules de sécrétion. Par ailleurs, il conviendrait également d'analyser

l'expression des prohormone-convertases, en particulier les PC1 et PC2 responsables de la maturation de la plupart des précurseurs de neuropeptides (pour revue Seidah *et al.*, 1991), au sein du tissu périgonadique chez ces animaux. Une étude réalisée sur les 3T3-L1, des fibroblastes capables de se différencier en adipocytes suite à un traitement par l'insuline, la dexaméthasone et l'isobutylxanthine, a montré la présence de plusieurs prohormone-convertases (Croissandeau *et al.*, 2002) qui joueraient un rôle dans la différenciation des adipocytes. En effet, l'utilisation d'un inhibiteur de ces prohormones, le $\alpha 1$ -PD α , bloque les mécanismes de différenciation. Cependant, l'expression de PC1 et de PC2 est très faible dans ces cellules suggérant que le rôle de ces deux « maturases » soit limité. Néanmoins, il ne faut pas perdre de vue qu'il s'agit ici d'une lignée cellulaire qui, par conséquent, ne mime pas forcément la situation rencontrée dans les adipocytes sains. Il serait donc nécessaire d'examiner la présence des PC1 et PC2 par double marquage au sein du tissu adipeux. Ainsi, la présence de chromogranines et des prohormone-convertases confirmerait le rôle de cellule endocrine de l'adipocyte et suggérerait que la sécrétion puisse être stimulée par différents facteurs. Il serait alors plus qu'intéressant de cribler différentes lignées adipocytaires pour déceler la présence de différents récepteurs de neuropeptides qui à l'instar du NPY pourrait jouer un rôle éventuel sur la prolifération et/ou la différenciation du tissu adipeux.

Le caractère transitoire de cette hyperphagie pourrait être corrélée au changement de phénotype du tissu adipeux entre PND21 et PND30 qui passe d'un phénotype de type brun sécrétant en quantités non négligeables les peptides à un phénotype blanc dans lequel l'expression de ces mêmes peptides est abaissée. Même si l'expression de ces gènes est réduite dans le tissu adipeux blanc, ce tissu ne va cesser de croître au cours du développement. Ainsi la masse de tissu adipeux augmentant, va faire en sorte que ces peptides soient produits en grandes quantités. Il serait donc plus qu'intéressant de suivre l'expression de ces peptides au cours du temps afin de pouvoir comprendre quel peut être leur rôle à plus long terme dans la régulation du métabolisme. En effet, dans le cas d'obésités sévères ce tissu va croître de manière disproportionnée, et il semble légitime de se demander quel sera l'impact sur la sécrétion et le retentissement de cette sécrétion au niveau local, puis à plus grande échelle. Le tissu adipeux joue peut-être ici à la fois un rôle dans le stockage des lipides et dans le contrôle de la prise alimentaire, ce qui ferait de lui un acteur incontournable dans la survenue du syndrome métabolique.

La dénutrition maternelle s'accompagne d'un changement transitoire de phénotype du tissu adipeux périgonadique lui conférant un phénotype proche de celui du tissu adipeux brun. Ce changement va pouvoir avoir des répercussions sur la croissance du nouveau-né, la mise en place des systèmes régulant la prise alimentaire, notamment le système orexigène à NPY, ainsi que sur les taux de leptine. Ces bouleversements en périphérie s'ajoutent aux modifications rencontrées au niveau central et confirment ainsi l'implication de l'axe hypothalamo-adipocytaire dans la survenue de troubles métaboliques.

Discussion

I- L'axe hypothalamo-adipocytaire

A travers les différents travaux menés durant cette thèse, nous avons pu mettre en avant, chez les animaux issus de mère dénutrie au sevrage, des altérations à la fois de la mise en place du système nerveux central, via une atteinte du système anorexigène à POMC, et du tissu adipeux avec un changement transitoire de phénotype. Ces événements s'accompagnent durant la période post-natale précoce d'une forte chute des taux plasmatiques de leptine, taux en lien étroit avec le statut nutritionnel maternel. Le tissu adipeux et le système nerveux central vont établir, notamment via la leptine, un dialogue au sein de l'axe hypothalamo-adipocytaire. En effet, la leptine, libérée par le tissu adipeux, va agir au niveau du SNC pour contrôler à la fois la prise alimentaire et la dépense énergétique. En retour les informations émanant du SNC permettront de réguler la croissance du tissu adipeux. Cet axe joue un rôle clé dans le métabolisme énergétique et une altération de sa mise en place au cours du développement peut donc contribuer à la prédisposition au SM. Comme nous l'avons vu, le modèle FR50 est approprié pour l'étude des programmations périnatales dans la mesure où l'hypothalamus, le tissu adipeux et la leptine présentent des anomalies chez le rat nouveau-né issu de mère dénutrie. Cependant, les conséquences à long terme de ces perturbations périnatales, si elles existent, restent encore à définir. En effet, au niveau central la modification des connexions des neurones à POMC ne semble pas avoir de lourdes répercussions sur la prise alimentaire, et l'hyperphagie retrouvée après le sevrage n'est que transitoire. Par ailleurs, le changement de phénotype du tissu adipeux périgonadique est également très transitoire. Bien évidemment, ces observations ne permettent pas d'extrapoler quant à l'apparition de troubles métaboliques à long terme mais il est plausible que ces perturbations qui ont eu lieu pendant une période critique du développement puissent avoir des effets de longue durée même si les paramètres mesurés semblent tendre rapidement vers des valeurs normales. Il est envisageable que le set-point (la valeur « normale » de différents paramètres physiologiques) soit différent chez ces animaux et que des taux se rapprochant de ceux des animaux contrôles soient, en réalité, anormaux. Néanmoins, ces modifications « transitoires » pendant cette période critique du développement sont vraisemblablement en relation avec le RCEU très marqué observé chez le nouveau-né FR50 et confirment l'importance de la période de lactation dans les mécanismes de programmation chez le raton. En effet, nous avons montré que les échanges entre la mère et le nouveau-né pendant la période post-natale permettaient à la fois de « programmer et/ou de déprogrammer », dépendamment du statut nutritionnel de la mère, les taux de leptine du nouveau-né et le

RCEU. Ainsi, nos travaux montrent que les petits RCIU allaités par des mères témoins présentent un rattrapage précoce de la croissance (catch-up) ainsi qu'une normalisation des taux de leptine plasmatique par rapport à des animaux contrôles. A l'inverse, les petits témoins allaités par des mères FR50 présentent un « catch-down » de la croissance associé à une diminution des taux plasmatiques de leptine, du même ordre que celle observée chez les animaux FR50 (Delahaye *et al.*, 2008). L'ensemble de ces données amène à se poser de nouvelles questions : la « restauration » des taux de leptine est-elle prédictive d'une bonne santé à long terme ? Si tel est le cas, les animaux FR50 adoptés par des mères témoins devraient être protégés vis-à-vis de maladies métaboliques par rapport aux FR50. Ainsi, cela tenderait à indiquer que le catch-up exerce un effet protecteur à long terme. Dans le même ordre d'idée, empêcher le pic de leptine chez les animaux témoins adoptés par des mères FR50 va-t-il avoir des conséquences délétères sur le métabolisme ? Dans ce cas là, le « catch-down » qui est une situation rencontrée fréquemment en clinique (Martin *et al.*, 2009) pourrait s'avérer très délétère. La question est donc de savoir si les taux de leptine plasmatiques peuvent être utilisés comme marqueur prédictif ou bien si le paramètre principal de programmation est constitué par la cinétique de croissance périnatale (normale chez les FR50 et témoins, diminuée chez les témoins adoptés par des mères FR50 ou accélérée chez des rats FR50 adoptés par des mères témoins). Des analyses de paramètres métaboliques d'animaux adoptés ou non et soumis ou non à la dénutrition seront nécessaires pour répondre à ces questions et pour ajuster les gestes cliniques pour limiter la programmation métabolique selon le poids de naissance de l'enfant (RCIU, macrosome et normotrophe). Quoiqu'il en soit, il est clair que la leptine constitue un signal important mais ces rôles physiologiques dans les mécanismes de programmation pourraient dépasser très largement le cadre de l'axe cerveau-tissu adipeux, dans la mesure où quelques tissus périphériques expriment la forme longue du récepteur de la leptine.

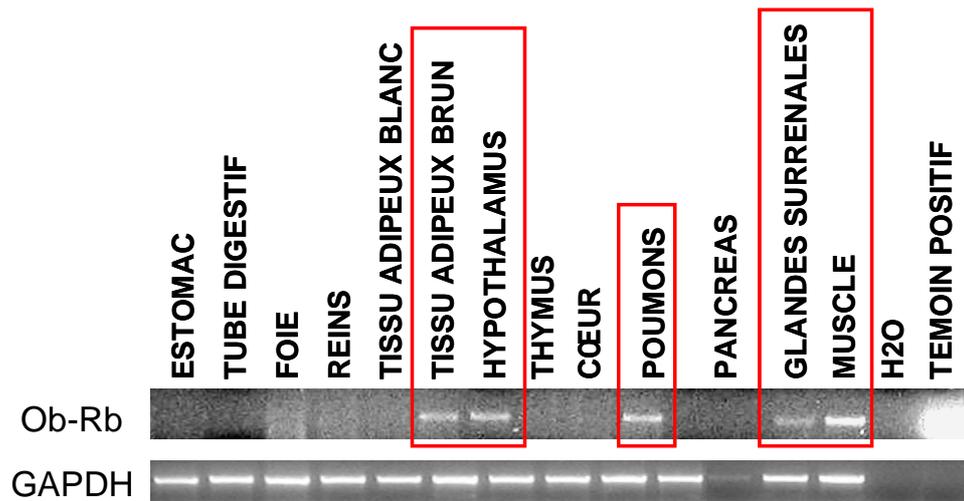


Figure 24 : étude de l'expression de la forme longue du récepteur à la leptine (Ob-Rb) dans différents tissus par PCR-semiquantitative chez le raton témoin âgé de 10 jours

II - La leptine pourrait-elle exercer un effet de programmation en périphérie ?

A l'image de ce qui est observé au niveau du tissu adipeux et de l'hypothalamus, il est concevable que la leptine, durant la période post-natale précoce, puisse participer à la maturation et mise en place d'autres organes et tissus. Pour tester cette hypothèse, nous avons recherché par RT-PCR l'expression du messageur de la forme longue du récepteur de la leptine (Ob-Rb) dans différents tissus chez un raton âgé de 10 jours, au moment où a lieu le pic de leptine. A ce stade, l'ARN messageur du récepteur est retrouvé au niveau de l'hypothalamus, du tissu adipeux brun, des poumons, du muscle soleus et des glandes surrénales (Figure 24). Bien entendu, dans la mesure où la leptine pourrait agir pendant toute la durée de la lactation, nous ne pouvons exclure que certains tissus puissent exprimer le gène du récepteur de manière transitoire et que nous n'ayons donc pu les identifier par notre approche. Il serait donc utile de réaliser une ontogenèse, pendant la lactation, de la forme longue du récepteur à la leptine dans une batterie de tissus. Néanmoins, nos résultats ouvrent des perspectives intéressantes et suggèrent que la leptine pourrait jouer un rôle dans la maturation de deux organes intervenant dans la régulation du métabolisme énergétique : la glande surrénale et le muscle squelettique.

Comme largement discuté au cours de l'introduction, l'axe corticotrope est un acteur majeur des mécanismes de programmation. La question se pose de savoir dans quelle mesure la leptine pourrait contribuer ou non aux modifications mises en évidence dans la glande surrénale des nouveau-nés FR50 (pour revue Lesage *et al.*, 2006 ; Molendi-Coste *et al.*, 2006). Ces animaux présentent une diminution de la masse absolue de leur glande surrénale, tandis que la masse relative (ramenée à la masse de l'animal) est augmentée (Léonhardt *et al.*, 2002 ; Lesage *et al.*, 2001). Ces modifications globales s'accompagnent d'altérations plus subtiles au cœur de la glande. Ainsi, la dénutrition est responsable d'une altération de l'agrégation des cellules chromaffines et de la fasciculation des fibres nerveuses dans la medulla au sevrage (Molendi-Coste *et al.*, 2006). Ce changement phénotypique s'accompagne d'une augmentation des taux circulants de catécholamines en conditions basales, à raison de 55% pour l'adrénaline et de 41% pour la noradrénaline. En lien avec cette augmentation, on enregistre également une modification de l'axe corticotrope chez les animaux issus de mère dénutrie (Léonhardt *et al.*, 2002 ; Lesage *et al.*, 2001). Ces modifications du phénotype et de l'activité endocrine de la glande s'accompagnent de changement de l'expression génique. En

effet, l'utilisation de macroarrays contenant 384 gènes sensibles à l'action du pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP) a permis d'identifier 21 gènes dont l'expression est modifiée chez les animaux FR50, 4 d'entre eux étant impliqués dans la différenciation neuroendocrine et la plasticité neuronale [la chromogranine B, le gap 43, le neurofilament 3 et Slit-2 ; (Molendi-Coste *et al.*, 2006)]. En parallèle, la mesure de la prolifération et de l'apoptose des cellules de la medulla révèle une diminution de 45% de la prolifération et une augmentation de 340% de l'apoptose chez les animaux FR50 au sevrage (Molendi-Coste *et al.*, 2008). L'ensemble de ces résultats indique que la mise en place des glandes surrénales semble sensible à la dénutrition maternelle périnatale. Cependant, à l'instar de ce qui se passe au niveau central, est-il possible d'impliquer la leptine dans cette programmation ?

Chez le nouveau-né (nos travaux) comme chez l'adulte, la glande surrénale exprime la forme active du récepteur à la leptine. Chez l'adulte, la leptine active la synthèse et la sécrétion des catécholamines au niveau des cellules chromaffines (Takekoshi *et al.*, 1999). Par ailleurs, une étude récente menée par Trevenzoli et ses collaborateurs (2010) s'est intéressée aux conséquences d'une hyperleptinémie pendant la lactation chez le rat. Pour ce faire, les rats nouveau-nés reçoivent quotidiennement des injections de leptine (à raison de 8µg/100g du poids de l'animal) pendant les 10 premiers jours de la période de lactation. Chez ces animaux, traités à la leptine, on note, à l'âge de 150 jours, une augmentation de l'expression de la Tyrosine Hydroxylase (TH) au sein de la medulla. La TH étant l'enzyme limitante responsable de la synthèse des catécholamines, cette augmentation s'accompagne également d'une augmentation de la sécrétion d'adrénaline et de noradrénaline. Cette hyperleptinémie transitoire cause une désensibilisation durable de la medulla à l'action de la leptine puisqu'on observe chez les animaux traités une diminution de l'expression d'Ob-Rb à 150 jours de vie post-natale. A l'inverse, l'injection de leptine à l'âge adulte ne modifie pas l'activité de la surrénale, ni la sensibilité à la leptine. L'ensemble de ces résultats suggère que l'hyperleptinémie est capable durant la période post-natale précoce de programmer des altérations à long terme de la médulo-surrénale. Il semblerait donc que la leptine puisse également interagir dans la mise en place de la glande surrénale. Cependant, afin de vérifier si comme une hyperleptinémie, une hypoleptinémie (ce qui est le cas dans le modèle FR50) est capable elle aussi de programmer les altérations observées dans la surrénale, il serait plus qu'intéressant d'étudier ce tissu chez les animaux issus des adoptions croisées et notamment du groupe témoin adopté par une mère FR50. En effet, ces animaux sont confrontés à une

hypoleptinémie pendant toute la période de lactation. De manière intéressante, les animaux FR50 âgés de 8 mois présentent une hyposécrétion basale de catécholamines (Vieau, 2009), qui au vu des travaux de Trevenzoli et de ses collaborateurs, pourrait, en partie, résulter de l'hypoleptinémie observée pendant la lactation chez les rats nouveau-nés. Par ailleurs, il serait intéressant de réaliser des injections quotidiennes de leptine chez les rats FR50 afin d'en examiner les conséquences à l'âge adulte sur l'activité corticotrope ainsi que sur le système sympatho-surrénalien.

Le muscle squelettique joue un rôle majeur dans le métabolisme du glucose et dans la régulation de la dépense énergétique. Il est extrêmement malléable et est capable de s'adapter à un grand nombre de contraintes environnementales ou physiologiques. Cette forte capacité adaptative s'illustre notamment par les changements de type de contractilité au niveau des fibres musculaires qui peuvent passer d'un type lent à un type rapide par exemple (Picquet *et al.*, 2005). Cette particularité peut être mise en relation avec l'existence au sein de ce tissu de cellules pluripotentes capables de donner naissance à de nouveaux phénotypes via la transdifférentiation (Ukropec *et al.*, 2008). Cette faculté à appréhender l'environnement peut faire du muscle squelettique une cible de la programmation. L'étude du muscle au sein du modèle FR50 n'a pas encore été réalisée. Cependant des résultats préliminaires semblent indiquer une diminution de la quantité de protéines dans le soleus chez les animaux issus de mère dénutrie ainsi que des différences de profil des MHC (Myosin Heavy Chain) et de la succinate dehydrogenase, impliquée dans la dégradation du pyruvate au niveau du cycle de Krebs suggérant qu'au sein de notre modèle la mise en place du soleus puisse être modifiée. On peut donc se demander comment les stress périnataux vont pouvoir influencer la mise en place du muscle squelettique. Pour tenter d'avancer sur cette question, une étude a été menée afin de connaître l'impact des glucocorticoïdes durant la gestation sur le muscle à l'âge adulte. L'administration de dexaméthasone (à raison de 100µg/kg) pendant la dernière semaine de gestation, se traduit par une diminution du nombre de récepteurs au glucocorticoïdes de type GR au niveau des fibres de type I (Cleasby *et al.*, 2003). Cette altération semble « fibre spécifique » car les fibres de type II ne sont pas touchées par cet excès de glucocorticoïdes pendant la gestation. Cette première expérience témoigne d'une possible programmation à long terme du muscle squelettique. De la même manière, des challenges nutritionnels vont être capables de moduler le phénotype du muscle squelettique. Ainsi, un régime riche en graisses va être responsable, au niveau du muscle, d'une augmentation du nombre de mitochondries, de protéines de la chaîne respiratoire et de fibres de type I (Matsakas and

Patel, 2009). A l'inverse, une restriction alimentaire de 35% chez le rat adulte se traduit par une diminution du nombre de fibres de type I (Matsakas and Patel, 2009). Des altérations du régime maternel, pendant la période post-natale précoce correspondant à une phase de myogenèse importante, vont quant à elles avoir des répercussions irréversibles sur la croissance musculaire. Ainsi, l'apport nutritionnel maternel ou après le sevrage semble également capable de modifier la mise en place et le fonctionnement du muscle squelettique comme c'est le cas chez les individus obèses. En effet, l'obésité va avoir des répercussions sur le muscle qui présentera notamment une augmentation de l'accumulation des graisses et développera une résistance à la leptine (Ukropec *et al.*, 2008). De la même manière, on constate, chez les individus obèses, une diminution de la prolifération des cellules satellites, ces cellules étant des cellules quiescentes indispensables à la croissance des fibres musculaires et à leur régénération (Purchas *et al.*, 1985). Ce lien entre tissu adipeux et muscle ainsi que la présence du récepteur à la leptine au sein du muscle amènent à penser que la leptine pourrait être impliquée d'une part dans la mise en place du muscle, et d'autre part dans son fonctionnement.

Un grand nombre d'études indique que la leptine joue un rôle au niveau musculaire dans les mécanismes de thermogenèse et dans le métabolisme des acides gras. Cette implication est notamment due à la présence d'UCP3 au sein du muscle qui est sensible à la leptine puisque le traitement des souris ob/ob, via un adénovirus exprimant la leptine, va augmenter l'expression d'UCP3 (Liu *et al.*, 1998). La leptine est également impliquée dans les mécanismes de prolifération des myoblastes, et est ainsi un médiateur important de la croissance et du développement des cellules musculaires, son mode d'action pouvant être de nature auto ou paracrine. L'ensemble de ces données suggère fortement que la leptine puisse être un facteur clé de programmation du muscle squelettique et des études seront clairement requises pour aborder cette question.

III - Existe-t-il d'autres facteurs hormonaux impliqués dans la programmation ?

L'ensemble de la thèse est axé sur la leptine et sur les conséquences des variations de ses taux plasmatiques au cours de l'ontogenèse. Cependant, la leptine agit en synergie avec différents facteurs qui eux aussi pourraient être impliqués dans les mécanismes de programmation. Nous avons donc entrepris de doser chez les rats nouveau-nés plusieurs de ces facteurs, connus pour agir sur la croissance et/ou le métabolisme, pour tenter d'en identifier qui, à l'instar de la leptine, auraient des taux plasmatiques fluctuants en fonction de la nutrition maternelle. Il est à noter que pour la plupart de ces hormones, une ontogenèse de leur taux plasmatique n'a jamais été réalisée, y compris chez les nouveau-nés contrôles. Parmi l'ensemble des facteurs dosés (glucocorticoïdes, GH, Prolactine, ghréline, insuline, apéline), seules l'insuline et l'apéline ont des taux plasmatiques distincts entre animaux contrôles et FR50. Il est intéressant de constater que les concentrations plasmatiques de ghréline qui, chez l'adulte, sont inversement proportionnelles à celles de leptine ou d'insuline, sont similaires chez les animaux contrôles et FR50, ce qui suggère que dans ces stades précoces les mécanismes de régulation observés chez les animaux adultes ne sont pas encore fonctionnels.

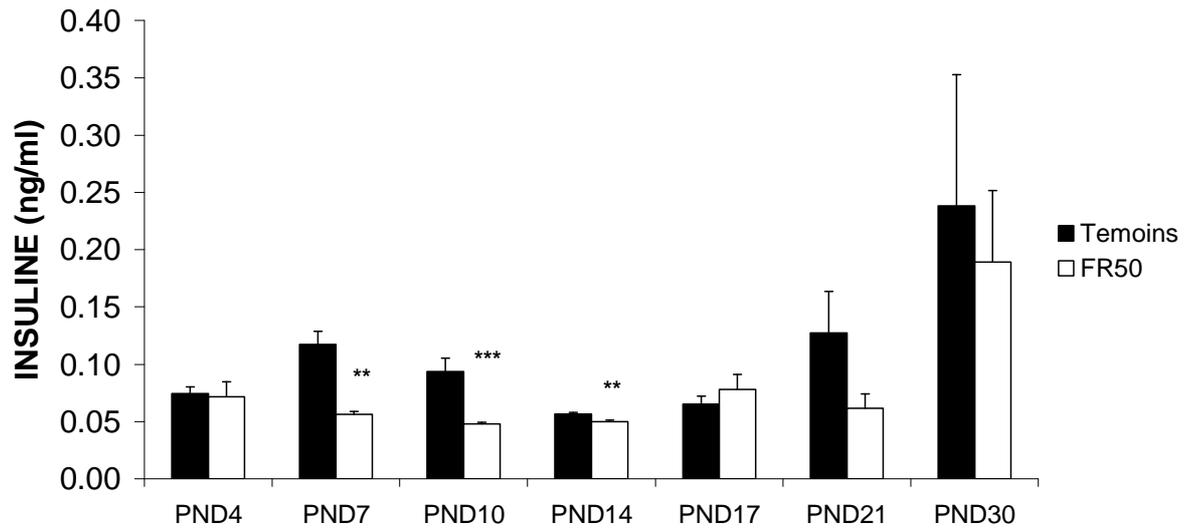


Figure 25 : dosage ELISA des concentrations plasmatiques d'insuline dans les groupes FR50 et Témoins à différents stades du développement ($p < 0.01^{**}$; $p < 0.001^{***}$; PND : Post-natal day)

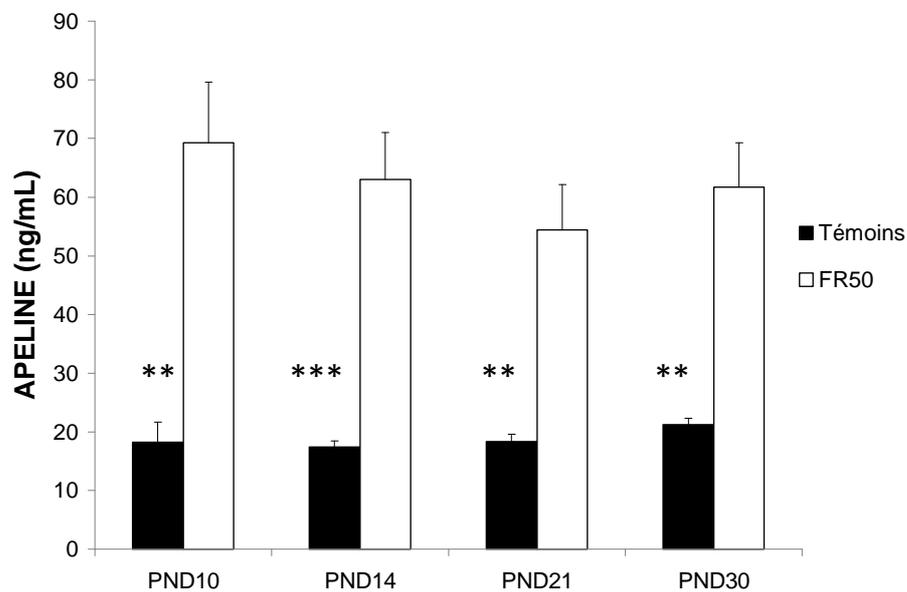


Figure 26 : dosage ELISA des concentrations plasmatiques d'apeline dans les groupes FR50 et Témoins à différents stades du développement ($p < 0.01^{**}$; $p < 0.001^{***}$; PND : Post-natal day)

L'insuline, en plus de son rôle bien connu dans la régulation du métabolisme glucidique, est capable également réguler la prise alimentaire et la dépense énergétique en exerçant un rôle anorexigène. A l'instar de la situation rencontrée chez la souris (Ahima *et al.*, 1998), l'insuline possède, chez le raton, un profil de sécrétion, au cours de la période de lactation, proche de celui de la leptine (Figure 25). En effet, chez les animaux témoins on observe un pic d'insuline moins élevé que celui de la leptine, tandis qu'il est amoindri chez les animaux FR50. Ses variations suggèrent que, comme à l'âge adulte, durant la période post-natale, la sécrétion d'insuline soit déjà en lien avec la sécrétion de leptine. Par ailleurs, il est possible également que l'insuline puisse participer à la mise en place des connexions des neurones hypothalamiques à POMC et qu'elle contribue donc, au moins en partie, aux altérations observées chez les ratons FR50 (Delahaye *et al.*, 2008).

De manière très intéressante, les nouveau-nés FR50 présentent une importante augmentation de leur taux d'apéline plasmatique au cours de la lactation sans toutefois de variation notable, au sein de chaque groupe, durant les différents stades examinés (figure 26). L'apéline a été initialement isolée à partir de l'estomac de vache par Tatemoto (1998). Sa distribution tissulaire est, en réalité, assez large puisqu'on la retrouve notamment au niveau du cœur, du cerveau, du placenta, des reins, du poumon, du tissu adipeux ou encore de la glande mammaire (Hosoya *et al.*, 2000). Elle se fixe à un récepteur orphelin couplé à une protéine G, l'APJ, qui est exprimé au sein des mêmes tissus (Hosoya *et al.*, 2000), suggérant qu'elle puisse également exercer des effets de type autocrine/paracrine. L'apéline est connue essentiellement pour son implication dans la formation des vaisseaux durant l'embryogenèse (Briana and Malamitsi-Puchner, 2009), mais aussi pour son rôle dans la régulation de la fonction hydrique où elle exerce un rôle diurétique, antagoniste de celui de l'hormone antidiurétique (ADH), tout en étant synthétisée dans les mêmes neurones hypothalamiques magnocellulaires que ceux qui fabriquent l'ADH (De Mota *et al.*, 2004). Par ailleurs, une corrélation entre apéline, obésité et hyperinsulinémie chez l'Homme et la souris (Briana and Malamitsi-Puchner, 2009) a été montrée, suggérant qu'elle puisse également intervenir de manière directe ou indirecte dans le métabolisme. Au niveau central, on retrouve son récepteur exprimé dans des noyaux clefs impliqués dans le contrôle de la prise alimentaire et de la dépense énergétique. L'injection en ip d'apéline a pour conséquences de réduire la prise de poids et l'adiposité ainsi que d'augmenter la thermogenèse et l'expression d'UCP1 sans faire varier la prise alimentaire (Higuchi *et al.*, 2007). L'injection icv d'apéline n'a pas d'effets très marqués sur la prise alimentaire et la prise de poids. En revanche elle va être

capable de stimuler la sécrétion d'ACTH et de corticostérone ainsi que l'expression génique de CRH et d'AVP (ou ADH ; Taheri *et al.*, 2002). Il semble donc clair que l'apeline exerce au niveau central ou au niveau périphérique des rôles distincts. Le rôle de l'apeline sur la mise en place des systèmes régulant le métabolisme n'a, jusqu'à l'heure actuelle, jamais été étudié à notre connaissance. Le rôle qu'elle exerce sur le métabolisme et sa forte augmentation observée chez les rats FR50 laisse penser qu'elle puisse, à l'image de ce qu'a démontré Higuchi, participer au changement de phénotype du tissu adipeux périgonadique et ainsi se révéler être un acteur de la programmation.

L'ensemble de nos travaux a permis de mettre en avant le rôle de la leptine dans les mécanismes de programmation, faisant de cette hormone un des acteurs directement en lien avec la dénutrition maternelle et pouvant exercer des rôles développementaux importants chez le nouveau-né. En examinant le modèle FR50, nous avons pu identifier des tissus cibles de la programmation comme le SNC et le tissu adipeux permettant ainsi une meilleure compréhension des altérations observées à long terme dans ce type de modèles expérimentaux. Le suivi de la leptine au cours de l'ontogenèse a permis de définir la période de lactation comme une période critique pendant laquelle l'environnement est capable d'exercer une pression sur le nouveau-né et d'ainsi l'adapter ou le « mésadapter » à son milieu. Comme nous venons de le voir, d'autres facteurs et tissus semblent touchés au sein du modèle FR50 laissant supposer que la leptine ne serait pas la seule à orchestrer les différents mécanismes de programmation. La leptine, ainsi que les autres facteurs pressentis pour jouer un rôle dans la mise en place des mécanismes de régulation du métabolisme, pourraient se révéler être d'importants outils diagnostiques et même thérapeutiques afin de mieux détecter et prendre en charge les personnes à risque de développer un syndrome métabolique à l'âge adulte. Cela pourrait permettre alors de répondre à une attente forte des cliniciens pour qui la prise en charge des RCIU notamment, reste à l'heure actuelle controversée.

Références

-A-

- Abbott, CR., Small, CJ., Kennedy, AR.*et al.* (2005). Blockade of the neuropeptide Y Y2 receptor with the specific antagonist BIIE0246 attenuates the effect of endogenous and exogenous peptide YY(3-36) on food intake. *Brain Res.* *1043*, 139-144.
- Adrian, TE., Ferri, GL., Bacarese-Hamilton, AJ.*et al.* (1985). Human distribution and release of a putative new gut hormone, peptide YY. *Gastroenterology* *89*, 1070-1077.
- Ahima, RS., Prabakaran, D. and Flier, JS. (1998). Postnatal leptin surge and regulation of circadian rhythm of leptin by feeding. Implications for energy homeostasis and neuroendocrine function. *J. Clin. Invest.* *101*, 1020-1027.
- Ailhaud, G. and Hauner, H. (2004). *Development of White Adipose Tissue* (2nd ed.). New York, Dekker, .
- Akabayashi, A., Watanabe, Y., Wahlestedt, C.*et al.* (1994). Hypothalamic neuropeptide Y, its gene expression and receptor activity: relation to circulating corticosterone in adrenalectomized rats. *Brain Res.* *665*, 201-212.
- Albrink, MJ., Krauss, RM., Lindgrem, FT.*et al.* (1980). Intercorrelations among plasma high density lipoprotein, obesity and triglycerides in a normal population. *Lipids* *15*, 668-676.
- Alexander, CM., Landsman, PB. and Grundy, SM. (2008). The influence of age and body mass index on the metabolic syndrome and its components. *Diabetes Obes Metab* *10*, 246-250.
- Alvarez, E., Roncero, I., Chowen, JA.*et al.* (1996). Expression of the glucagon-like peptide-1 receptor gene in rat brain. *J. Neurochem.* *66*, 920-927.
- Anand, BK. and Brobeck, JR. (1951). Hypothalamic control of food intake in rats and cats. *Yale J Biol Med* *24*, 123-140.
- Anini, Y. and Brubaker, PL. (2003). Role of leptin in the regulation of glucagon-like peptide-1 secretion. *Diabetes* *52*, 252-259.
- Asnicar, MA., Smith, DP., Yang, DD.*et al.* (2001). Absence of cocaine- and amphetamine-regulated transcript results in obesity in mice fed a high caloric diet. *Endocrinology* *142*, 4394-4400.
- Attig, L., Solomon, G., Ferezou, J.*et al.* (2008). Early postnatal leptin blockage leads to a long-term leptin resistance and susceptibility to diet-induced obesity in rats. *Int J Obes (Lond)* *32*, 1153-1160.

-B-

- Bachman, ES., Dhillon, H., Zhang, C.*et al.* (2002). betaAR signaling required for diet-induced thermogenesis and obesity resistance. *Science* 297, 843-845.
- Bado, A., Levasseur, S., Attoub, S.*et al.* (1998). The stomach is a source of leptin. *Nature* 394, 790-793.
- Bagdade, JD., Bierman, EL. and Porte, DJ. (1967). The significance of basal insulin levels in the evaluation of the insulin response to glucose in diabetic and nondiabetic subjects. *J. Clin. Invest.* 46, 1549-1557.
- Bagnol, D., Lu, XY., Kaelin, CB.*et al.* (1999). Anatomy of an endogenous antagonist: relationship between Agouti-related protein and proopiomelanocortin in brain. *J. Neurosci.* 19, RC26.
- Bai, FL., Yamano, M., Shiotani, Y.*et al.* (1985). An arcuato-paraventricular and -dorsomedial hypothalamic neuropeptide Y-containing system which lacks noradrenaline in the rat. *Brain Res.* 331, 172-175.
- Baid, S. and Nieman, LK. (2004). Glucocorticoid excess and hypertension. *Curr. Hypertens. Rep.* 6, 493-499.
- Baird, A., Wehrenberg, WB. and Ling, N. (1984). Ontogeny of the response to growth hormone-releasing factor. *Regul. Pept.* 10, 23-28.
- Banks, WA., Kastin, AJ., Huang, W.*et al.* (1996). Leptin enters the brain by a saturable system independent of insulin. *Peptides* 17, 305-311.
- Baram, TZ. and Schultz, L. (1992). CRH gene expression in the fetal rat is not increased after pharmacological adrenalectomy. *Neurosci. Lett.* 142, 215-218.
- Barker, DJ. (1990). The fetal and infant origins of adult disease. *BMJ* 301, 1111.
- Barker, DJ. (1998). In utero programming of chronic disease. *Clin. Sci.* 95, 115-128.
- Barker, DJ., Gluckman, PD., Godfrey, KM.*et al.* (1993a). Fetal nutrition and cardiovascular disease in adult life. *Lancet* 341, 938-941.
- Barker, DJ., Hales, CN., Fall, CH.*et al.* (1993b). Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus, hypertension and hyperlipidaemia (syndrome X): relation to reduced fetal growth. *Diabetologia* 36, 62-67.
- Barker, DJ., Osmond, C., Golding, J.*et al.* (1989). Growth in utero, blood pressure in childhood and adult life, and mortality from cardiovascular disease. *BMJ* 298, 564-567.
- Barker, DJP. (2002). Fetal programming of coronary heart disease. *Trends Endocrinol. Metab.* 13, 364-368.

- Baskin, DG., Wilcox, BJ., Figlewicz, DP.*et al.* (1988). Insulin and insulin-like growth factors in the CNS. *Trends Neurosci.* *11*, 107-111.
- Batterham, RL., Cowley, MA., Small, CJ.*et al.* (2002). Gut hormone PYY(3-36) physiologically inhibits food intake. *Nature* *418*, 650-654.
- Batterham, RL., Heffron, H., Kapoor, S.*et al.* (2006). Critical role for peptide YY in protein-mediated satiation and body-weight regulation. *Cell Metab* *4*, 223-233.
- Beck, B. (2006). Neuropeptide Y in normal eating and in genetic and dietary-induced obesity. *Philos. Trans. R. Soc. Lond., B, Biol. Sci.* *361*, 1159-1185.
- Beck, JC. and Hosick, HL. (1988). Growth of mouse mammary epithelium in response to serum-free media conditioned by mammary adipose tissue. *Cell Biol. Int. Rep.* *12*, 85-97.
- Begeot, M., Dubois, MP. and Dubois, PM. (1977). Growth hormone and ACTH in the pituitary of normal and anencephalic human fetuses: immunocytochemical evidence for hypothalamic influences during development. *Neuroendocrinology* *24*, 208-220.
- Beglinger, C., Degen, L., Matzinger, D.*et al.* (2001). Loxiglumide, a CCK-A receptor antagonist, stimulates calorie intake and hunger feelings in humans. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* *280*, R1149-54.
- Beitins, IZ., Bayard, F., Ances, IG.*et al.* (1973). The metabolic clearance rate, blood production, interconversion and transplacental passage of cortisol and cortisone in pregnancy near term. *Pediatr. Res.* *7*, 509-519.
- Belda, X., Ons, S., Carrasco, J.*et al.* (2005). The effects of chronic food restriction on hypothalamic-pituitary-adrenal activity depend on morning versus evening availability of food. *Pharmacol. Biochem. Behav.* *81*, 41-46.
- Belouzard, S. and Rouillé, Y. (2006). Ubiquitylation of leptin receptor OB-Ra regulates its clathrin-mediated endocytosis. *EMBO J.* *25*, 932-942.
- Benediktsson, R., Lindsay, RS., Noble, J.*et al.* (1993). Glucocorticoid exposure in utero: new model for adult hypertension. *Lancet* *341*, 339-341.
- Bernardis, LL. and Bellinger, LL. (1987). The dorsomedial hypothalamic nucleus revisited: 1986 update. *Brain Res.* *434*, 321-381.
- Bernardis, LL. and Bellinger, LL. (1996). The lateral hypothalamic area revisited: ingestive behavior. *Neurosci Biobehav Rev* *20*, 189-287.
- Bi, S., Gavrilova, O., Gong, DW.*et al.* (1997). Identification of a placental enhancer for the human leptin gene. *J. Biol. Chem.* *272*, 30583-30588.
- Bielicki, J., Huch, R. and von Mandach, U. (2004). Time-course of leptin levels in term and preterm human milk. *Eur. J. Endocrinol.* *151*, 271-276.
- Bjørbaek, C., Elmquist, JK., Michl, P.*et al.* (1998). Expression of leptin receptor isoforms in rat brain microvessels. *Endocrinology* *139*, 3485-3491.

- Blondeau, B., Lesage, J., Czernichow, P.*et al.* (2001). Glucocorticoids impair fetal beta-cell development in rats. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* *281*, E592-9.
- Bloom, JD., Dutia, MD., Johnson, BD.*et al.* (1992). Disodium (R,R)-5-[2-[[2-(3-chlorophenyl)-2-hydroxyethyl]-amino] propyl]-1,3-benzodioxole-2,2-dicarboxylate (CL 316,243). A potent beta-adrenergic agonist virtually specific for beta 3 receptors. A promising antidiabetic and antiobesity agent. *J. Med. Chem.* *35*, 3081-3084.
- Bogdarina, I., Welham, S., King, PJ.*et al.* (2007). Epigenetic modification of the renin-angiotensin system in the fetal programming of hypertension. *Circ. Res.* *100*, 520-526.
- Bouret, SG. and Simerly, RB. (2004). Minireview: Leptin and development of hypothalamic feeding circuits. *Endocrinology* *145*, 2621-2626.
- Bouret, SG. and Simerly, RB. (2007). Development of leptin-sensitive circuits. *J. Neuroendocrinol.* *19*, 575-582.
- Bouret, SG., Draper, SJ. and Simerly, RB. (2004). Trophic action of leptin on hypothalamic neurons that regulate feeding. *Science* *304*, 108-110.
- Bresson, JL., Clavequin, MC., Fellmann, D.*et al.* (1984). Ontogeny of the neuroglandular system revealed with HPGRF 44 antibodies in human hypothalamus. *Neuroendocrinology* *39*, 68-73.
- Breton, C., Lukaszewski, M., Risold, P.*et al.* (2009). Maternal prenatal undernutrition alters the response of POMC neurons to energy status variation in adult male rat offspring. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* *296*, E462-72.
- Briana, DD. and Malamitsi-Puchner, A. (2009). Intrauterine growth restriction and adult disease: the role of adipocytokines. *Eur. J. Endocrinol.* *160*, 337-347.
- Broberger, C., Johansen, J., Johansson, C.*et al.* (1998). The neuropeptide Y/agouti gene-related protein (AGRP) brain circuitry in normal, anorectic, and monosodium glutamate-treated mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* *95*, 15043-15048.
- Brooks, AN., Hagan, DM. and Howe, DC. (1996). Neuroendocrine regulation of pituitary-adrenal function during fetal life. *Eur. J. Endocrinol.* *135*, 153-165.
- Burdge, GC., Slater-Jefferies, J., Torrens, C.*et al.* (2007). Dietary protein restriction of pregnant rats in the F0 generation induces altered methylation of hepatic gene promoters in the adult male offspring in the F1 and F2 generations. *Br. J. Nutr.* *97*, 435-439.

-C-

- Campfield, LA., Smith, FJ., Guisez, Y.*et al.* (1995). Recombinant mouse OB protein: evidence for a peripheral signal linking adiposity and central neural networks. *Science* *269*, 546-549.
- Cannon, B. and Nedergaard, J. (2004). Brown adipose tissue: function and physiological significance. *Physiol. Rev.* *84*, 277-359.

- Canny, BJ., Clarke, IJ. and Funder, JW. (1990). Adrenocorticotropin responses to endogenous and exogenous secretagogues in the sheep: specificity of glucocorticoid action. *Neuroendocrinology* 51, 181-189.
- Casabiell, X., Piñeiro, V., Tomé, MA.*et al.* (1997). Presence of leptin in colostrum and/or breast milk from lactating mothers: a potential role in the regulation of neonatal food intake. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 82, 4270-4273.
- Cella, SG., Locatelli, V., de Gennaro, V.*et al.* (1985). Human pancreatic growth hormone (GH)-releasing hormone stimulates GH synthesis and release in infant rats. An in vivo study. *Endocrinology* 116, 574-577.
- Challis, BG., Coll, AP., Yeo, GSH.*et al.* (2004). Mice lacking pro-opiomelanocortin are sensitive to high-fat feeding but respond normally to the acute anorectic effects of peptide-YY(3-36). *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 101, 4695-4700.
- Chen, H., Charlat, O., Tartaglia, LA.*et al.* (1996). Evidence that the diabetes gene encodes the leptin receptor: identification of a mutation in the leptin receptor gene in db/db mice. *Cell* 84, 491-495.
- Chen, J., Scott, KA., Zhao, Z.*et al.* (2008). Characterization of the feeding inhibition and neural activation produced by dorsomedial hypothalamic cholecystokinin administration. *Neuroscience* 152, 178-188.
- Chen, X., Lin, J., Hausman, DB.*et al.* (2000). Alterations in fetal adipose tissue leptin expression correlate with the development of adipose tissue. *Biol. Neonate* 78, 41-47.
- Chisari, AN., Giovambattista, A., Perello, M.*et al.* (2001). Impact of maternal undernutrition on hypothalamo-pituitary-adrenal axis and adipocyte functions in male rat offspring. *Endocrine* 14, 375-382.
- Cinti, S. (1999). Adipose tissues and obesity. *Ital J Anat Embryol* 104, 37-51.
- Clark, JT., Kalra, PS., Crowley, WR.*et al.* (1984). Neuropeptide Y and human pancreatic polypeptide stimulate feeding behavior in rats. *Endocrinology* 115, 427-429.
- Clark, PM., Hindmarsh, PC., Shiell, AW.*et al.* (1996). Size at birth and adrenocortical function in childhood. *Clin. Endocrinol. (Oxf)* 45, 721-726.
- Cleasby, ME., Kelly, PAT., Walker, BR.*et al.* (2003). Programming of rat muscle and fat metabolism by in utero overexposure to glucocorticoids. *Endocrinology* 144, 999-1007.
- Cone, R. (1999). The Central Melanocortin System and Energy Homeostasis. *Trends Endocrinol. Metab.* 10, 211-216.
- Considine, RV., Sinha, MK., Heiman, ML.*et al.* (1996). Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N. Engl. J. Med.* 334, 292-295.
- Cornier, M., Dabelea, D., Hernandez, TL.*et al.* (2008). The metabolic syndrome. *Endocr. Rev.* 29, 777-822.

- Corp, ES., Woods, SC., Porte, DJ.*et al.* (1986). Localization of 125I-insulin binding sites in the rat hypothalamus by quantitative autoradiography. *Neurosci. Lett.* *70*, 17-22.
- Corwin, RL., Robinson, JK. and Crawley, JN. (1993). Galanin antagonists block galanin-induced feeding in the hypothalamus and amygdala of the rat. *Eur. J. Neurosci.* *5*, 1528-1533.
- Corwin, RL., Rowe, PM. and Crawley, JN. (1995). Galanin and the galanin antagonist M40 do not change fat intake in a fat-chow choice paradigm in rats. *Am. J. Physiol.* *269*, R511-8.
- Coupé, B., Amarger, V., Grit, I.*et al.* (2010). Nutritional programming affects hypothalamic organization and early response to leptin. *Endocrinology* *151*, 702-713.
- Cousin, B., Cinti, S., Morrioni, M.*et al.* (1992). Occurrence of brown adipocytes in rat white adipose tissue: molecular and morphological characterization. *J. Cell. Sci.* *103 (Pt 4)*, 931-942.
- Crawley, JN. (1995). Biological actions of galanin. *Regul. Pept.* *59*, 1-16.
- Cripps, RL., Martin-Gronert, MS., Archer, ZA.*et al.* (2009). Programming of hypothalamic neuropeptide gene expression in rats by maternal dietary protein content during pregnancy and lactation. *Clin. Sci.* *117*, 85-93.
- Croissandeau, G., Basak, A., Seidah, NG.*et al.* (2002). Proprotein convertases are important mediators of the adipocyte differentiation of mouse 3T3-L1 cells. *J. Cell. Sci.* *115*, 1203-1211.
- Cummings, DE., Purnell, JQ., Frayo, RS.*et al.* (2001). A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. *Diabetes* *50*, 1714-1719.
- Cunningham, ETJ. and Sawchenko, PE. (1988). Anatomical specificity of noradrenergic inputs to the paraventricular and supraoptic nuclei of the rat hypothalamus. *J. Comp. Neurol.* *274*, 60-76.
- Cypess, AM., Lehman, S., Williams, G.*et al.* (2009). Identification and importance of brown adipose tissue in adult humans. *N. Engl. J. Med.* *360*, 1509-1517.

-D-

- Doell, RG. and Kretchmer, N. (1962). Studies of small intestine during development. I. Distribution and activity of beta-galactosidase. *Biochim. Biophys. Acta* *62*, 353-362.
- Daikoku, S., Kawano, H., Noguchi, M.*et al.* (1985). Ontogenetic appearance of immunoreactive GRF-containing neurons in the rat hypothalamus. *Cell Tissue Res.* *242*, 511-518.
- Date, Y., Kojima, M., Hosoda, H.*et al.* (2000). Ghrelin, a novel growth hormone-releasing acylated peptide, is synthesized in a distinct endocrine cell type in the gastrointestinal tracts of rats and humans. *Endocrinology* *141*, 4255-4261.

- De Mota, N., Reaux-Le Goazigo, A., El Messari, S.*et al.* (2004). Apelin, a potent diuretic neuropeptide counteracting vasopressin actions through inhibition of vasopressin neuron activity and vasopressin release. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* *101*, 10464-10469.
- de Jesus, LA., Carvalho, SD., Ribeiro, MO.*et al.* (2001). The type 2 iodothyronine deiodinase is essential for adaptive thermogenesis in brown adipose tissue. *J. Clin. Invest.* *108*, 1379-1385.
- de Lecea, L., Kilduff, TS., Peyron, C.*et al.* (1998). The hypocretins: hypothalamus-specific peptides with neuroexcitatory activity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* *95*, 322-327.
- de Rooij, SR., Painter, RC., Phillips, DIW.*et al.* (2006a). Impaired insulin secretion after prenatal exposure to the Dutch famine. *Diabetes Care* *29*, 1897-1901.
- de Rooij, SR., Painter, RC., Roseboom, TJ.*et al.* (2006b). Glucose tolerance at age 58 and the decline of glucose tolerance in comparison with age 50 in people prenatally exposed to the Dutch famine. *Diabetologia* *49*, 637-643.
- Decavel, C. and Van den Pol, AN. (1990). GABA: a dominant neurotransmitter in the hypothalamus. *J. Comp. Neurol.* *302*, 1019-1037.
- Delahaye, F., Breton, C., Risold, P.*et al.* (2008). Maternal perinatal undernutrition drastically reduces postnatal leptin surge and affects the development of arcuate nucleus proopiomelanocortin neurons in neonatal male rat pups. *Endocrinology* *149*, 470-475.
- Delahaye, F., Lukaszewski, M., Watzet, J.*et al.* (2010). Maternal perinatal undernutrition programs a "brown-like" phenotype of gonadal white fat in male rat at weaning. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* *299*, R101-10.
- Diamond, FBJ., Eichler, DC., Duckett, G.*et al.* (1997). Demonstration of a leptin binding factor in human serum. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* *233*, 818-822.
- Diaz, R., Brown, RW. and Seckl, JR. (1998). Distinct ontogeny of glucocorticoid and mineralocorticoid receptor and 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase types I and II mRNAs in the fetal rat brain suggest a complex control of glucocorticoid actions. *J. Neurosci.* *18*, 2570-2580.
- Dryden, S., Frankish, HM., Wang, Q.*et al.* (1996). The serotonergic agent fluoxetine reduces neuropeptide Y levels and neuropeptide Y secretion in the hypothalamus of lean and obese rats. *Neuroscience* *72*, 557-566.
- Dube, MG., Sahu, A., Phelps, CP.*et al.* (1992). Effect of d-fenfluramine on neuropeptide Y concentration and release in the paraventricular nucleus of food-deprived rats. *Brain Res. Bull.* *29*, 865-869.
- Ducroc, R., Guilmeau, S., Akasbi, K.*et al.* (2005). Luminal leptin induces rapid inhibition of active intestinal absorption of glucose mediated by sodium-glucose cotransporter 1. *Diabetes* *54*, 348-354.
- Dulloo, AG. and Miller, DS. (1984). Energy balance following sympathetic denervation of brown adipose tissue. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* *62*, 235-240.

Dumont, Y., Fournier, A. and Quirion, R. (1998). Expression and characterization of the neuropeptide Y Y5 receptor subtype in the rat brain. *J. Neurosci.* *18*, 5565-5574.

Dutra, SC., Passos, MC., Lisboa, PC.*et al.* (2003). Liver deiodinase activity is increased in adult rats whose mothers were submitted to malnutrition during lactation. *Horm. Metab. Res.* *35*, 268-270.

-E-

Edwards, LJ. and McMillen, IC. (2001). Maternal undernutrition increases arterial blood pressure in the sheep fetus during late gestation. *J. Physiol. (Lond.)* *533*, 561-570.

Elias, CF., Aschkenasi, C., Lee, C.*et al.* (1999). Leptin differentially regulates NPY and POMC neurons projecting to the lateral hypothalamic area. *Neuron* *23*, 775-786.

Elias, CF., Lee, C., Kelly, J.*et al.* (1998). Leptin activates hypothalamic CART neurons projecting to the spinal cord. *Neuron* *21*, 1375-1385.

Elmqvist, JK., Ahima, RS., Elias, CF.*et al.* (1998a). Leptin activates distinct projections from the dorsomedial and ventromedial hypothalamic nuclei. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* *95*, 741-746.

Elmqvist, JK., Ahima, RS., Maratos-Flier, E.*et al.* (1997). Leptin activates neurons in ventrobasal hypothalamus and brainstem. *Endocrinology* *138*, 839-842.

Elmqvist, JK., Bjørbaek, C., Ahima, RS.*et al.* (1998b). Distributions of leptin receptor mRNA isoforms in the rat brain. *J. Comp. Neurol.* *395*, 535-547.

Elshourbagy, NA., Boguski, MS., Liao, WS.*et al.* (1985). Expression of rat apolipoprotein A-IV and A-I genes: mRNA induction during development and in response to glucocorticoids and insulin. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* *82*, 8242-8246.

Erfurth, EM., Bengtsson, BA., Christiansen, JS.*et al.* (2001). Premature mortality and hypopituitarism. *Lancet* *357*, 1972; author reply 1973-4.

Erickson, JC., Clegg, KE. and Palmiter, RD. (1996). Sensitivity to leptin and susceptibility to seizures of mice lacking neuropeptide Y. *Nature* *381*, 415-421.

Eriksson, J., Forsén, T., Tuomilehto, J.*et al.* (2000). Fetal and childhood growth and hypertension in adult life. *Hypertension* *36*, 790-794.

Eriksson, JG. (2005). Early growth and adult health outcomes--lessons learned from the Helsinki Birth Cohort Study. *Matern Child Nutr* *1*, 149-154.

Eriksson, JG., Forsén, T., Tuomilehto, J.*et al.* (1999). Catch-up growth in childhood and death from coronary heart disease: longitudinal study. *BMJ* *318*, 427-431.

Everitt, BJ and Hökfelt, T (1989). The coexistence of neuropeptide Y with other peptides and maines in the central nervous system. In : Mutt V, Fuxe K, Hökfelt T, Lundberg J (eds) Neuropeptide Y. Raven press, New York , 61-72.

-F-

Faulkin, LJJ. and Deome, KB. (1960). Regulation of growth and spacing of gland elements in the mammary fat pad of the C3H mouse. *J. Natl. Cancer Inst.* 24, 953-969.

Fan, W., Boston, BA., Kesterson, RA.*et al.* (1997). Role of melanocortinergic neurons in feeding and the agouti obesity syndrome. *Nature* 385, 165-168.

Farooqi, IS., Wangensteen, T., Collins, S.*et al.* (2007). Clinical and molecular genetic spectrum of congenital deficiency of the leptin receptor. *N. Engl. J. Med.* 356, 237-247.

Farrell, WJ. and Alberts, JR. (2007). Rat behavioral thermoregulation integrates with nonshivering thermogenesis during postnatal development. *Behav. Neurosci.* 121, 1333-1341.

Fichter, MM. and Pirke, KM. (1986). Effect of experimental and pathological weight loss upon the hypothalamo-pituitary-adrenal axis. *Psychoneuroendocrinology* 11, 295-305.

Finer, NN., Craft, A., Vaucher, YE.*et al.* (2000). Postnatal steroids: short-term gain, long-term pain?. *J. Pediatr.* 137, 9-13.

Finley, JC., Lindström, P. and Petrusz, P. (1981). Immunocytochemical localization of beta-endorphin-containing neurons in the rat brain. *Neuroendocrinology* 33, 28-42.

Flegal, KM., Carroll, MD., Ogden, CL.*et al.* (2002). Prevalence and trends in obesity among US adults, 1999-2000. *JAMA* 288, 1723-1727.

Ford, ES., Giles, WH. and Dietz, WH. (2002). Prevalence of the metabolic syndrome among US adults: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey. *JAMA* 287, 356-359.

Forsyth, I. (1983). The endocrinology of lactation. *Biochem sci* , 309-349.

Fowden, AL. (1995). Endocrine regulation of fetal growth. *Reprod. Fertil. Dev.* 7, 351-363.

Fowden, AL. and Forhead, AJ. (2004). Endocrine mechanisms of intrauterine programming. *Reproduction* 127, 515-526.

Frederich, RC., Hamann, A., Anderson, S.*et al.* (1995). Leptin levels reflect body lipid content in mice: evidence for diet-induced resistance to leptin action. *Nat. Med.* 1, 1311-1314.

Freemark, M. (1999). The fetal adrenal and the maturation of the growth hormone and prolactin axes. *Endocrinology* 140, 1963-1965.

Friedman, JM. and Halaas, JL. (1998). Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature* 395, 763-770.

Funahashi, H., Hori, T., Shimoda, Y.*et al.* (2000). Morphological evidence for neural interactions between leptin and orexin in the hypothalamus. *Regul. Pept.* 92, 31-35.

-G-

Ganjavi, H. and Shapiro, CM. (2007). Hypocretin/Orexin: a molecular link between sleep, energy regulation, and pleasure. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 19, 413-419.

Gao, Q. and Horvath, TL. (2008). Cross-talk between estrogen and leptin signaling in the hypothalamus. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 294, E817-26.

Gardner, DS., Tingey, K., Van Bon, BWM.*et al.* (2005). Programming of glucose-insulin metabolism in adult sheep after maternal undernutrition. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 289, R947-54.

Garofano, A., Czernichow, P. and Bréant, B. (1999). Effect of ageing on beta-cell mass and function in rats malnourished during the perinatal period. *Diabetologia* 42, 711-718.

Gatford, KL., Wintour, EM., De Blasio, MJ.*et al.* (2000). Differential timing for programming of glucose homeostasis, sensitivity to insulin and blood pressure by in utero exposure to dexamethasone in sheep. *Clin. Sci.* 98, 553-560.

Gehlert, DR. (2004). Introduction to the reviews on neuropeptide Y. *Neuropeptides* 38, 135-140.

Gereben, B., Zavacki, AM., Ribich, S.*et al.* (2008). Cellular and molecular basis of deiodinase-regulated thyroid hormone signaling. *Endocr. Rev.* 29, 898-938.

Glass, MJ., Chan, J. and Pickel, VM. (2002). Ultrastructural localization of neuropeptide Y Y1 receptors in the rat medial nucleus tractus solitarius: relationships with neuropeptide Y or catecholamine neurons. *J. Neurosci. Res.* 67, 753-765.

Gluckman, PD., Hanson, MA., Spencer, HG.*et al.* (2005). Environmental influences during development and their later consequences for health and disease: implications for the interpretation of empirical studies. *Proc. Biol. Sci.* 272, 671-677.

Goland, RS., Jozak, S., Warren, WB.*et al.* (1993). Elevated levels of umbilical cord plasma corticotropin-releasing hormone in growth-retarded fetuses. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 77, 1174-1179.

Gold, PW., Gwirtsman, H., Avgerinos, PC.*et al.* (1986). Abnormal hypothalamic-pituitary-adrenal function in anorexia nervosa. Pathophysiologic mechanisms in underweight and weight-corrected patients. *N. Engl. J. Med.* 314, 1335-1342.

Grandison, L. and Guidotti, A. (1977). Stimulation of food intake by muscimol and beta endorphin. *Neuropharmacology* 16, 533-536.

Granneman, JG., Li, P., Zhu, Z.*et al.* (2005). Metabolic and cellular plasticity in white adipose tissue I: effects of beta3-adrenergic receptor activation. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 289, E608-16.

Grill, HJ. and Smith, GP. (1988). Cholecystokinin decreases sucrose intake in chronic decerebrate rats. *Am. J. Physiol.* 254, R853-6.

Grino, M., Paulmyer-Lacroix, O., Anglade, G.*et al.* (1995). Molecular aspects of the regulation of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis during development in the rat. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 771, 339-351.

Grino, M., Young, WS3. and Burgunder, JM. (1989). Ontogeny of expression of the corticotropin-releasing factor gene in the hypothalamic paraventricular nucleus and of the proopiomelanocortin gene in rat pituitary. *Endocrinology* 124, 60-68.

Grove, KL., Brogan, RS. and Smith, MS. (2001). Novel expression of neuropeptide Y (NPY) mRNA in hypothalamic regions during development: region-specific effects of maternal deprivation on NPY and Agouti-related protein mRNA. *Endocrinology* 142, 4771-4776.

Guerra, C., Koza, RA., Yamashita, H.*et al.* (1998). Emergence of brown adipocytes in white fat in mice is under genetic control. Effects on body weight and adiposity. *J. Clin. Invest.* 102, 412-420.

Guy, J., Pelletier, G. and Bosler, O. (1988). Serotonin innervation of neuropeptide Y-containing neurons in the rat arcuate nucleus. *Neurosci. Lett.* 85, 9-13.

-H-

Hachiya, HL., Halban, PA. and King, GL. (1988). Intracellular pathways of insulin transport across vascular endothelial cells. *Am. J. Physiol.* 255, C459-64.

Hahn, P. and Kirby, L. (1973). Immediate and late effects of premature weaning and of feeding a high fat or high carbohydrate diet to weanling rats. *J. Nutr.* 103, 690-696.

Hales, CN., Barker, DJ., Clark, PM.*et al.* (1991). Fetal and infant growth and impaired glucose tolerance at age 64. *BMJ* 303, 1019-1022.

Harris, RB., Zhou, J., Weigle, DS.*et al.* (1997). Recombinant leptin exchanges between parabiosed mice but does not reach equilibrium. *Am. J. Physiol.* 272, R1800-8.

Hawkins, P., Hanson, MA. and Matthews, SG. (2001). Maternal undernutrition in early gestation alters molecular regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in the ovine fetus. *J. Neuroendocrinol.* 13, 855-861.

Hawkins, P., Steyn, C., McGarrigle, HH.*et al.* (2000a). Cardiovascular and hypothalamic-pituitary-adrenal axis development in late gestation fetal sheep and young lambs following modest maternal nutrient restriction in early gestation. *Reprod. Fertil. Dev.* 12, 443-456.

- Hawkins, P., Steyn, C., McGarrigle, HH.*et al.* (2000b). Effect of maternal nutrient restriction in early gestation on responses of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis to acute isocapnic hypoxaemia in late gestation fetal sheep. *Exp. Physiol.* 85, 85-96.
- Haynes, AC., Arch, JR., Wilson, S.*et al.* (1998). Characterisation of the neuropeptide Y receptor that mediates feeding in the rat: a role for the Y5 receptor?. *Regul. Pept.* 75-76, 355-361.
- Hermann, GM., Dallas, LM., Haskell, SE.*et al.* (2010). Neonatal macrosomia is an independent risk factor for adult metabolic syndrome. *Neonatology* 98, 238-244.
- Higuchi, K., Masaki, T., Gotoh, K.*et al.* (2007). Apelin, an APJ receptor ligand, regulates body adiposity and favors the messenger ribonucleic acid expression of uncoupling proteins in mice. *Endocrinology* 148, 2690-2697.
- Hileman, SM., Pierroz, DD., Masuzaki, H.*et al.* (2002). Characterization of short isoforms of the leptin receptor in rat cerebral microvessels and of brain uptake of leptin in mouse models of obesity. *Endocrinology* 143, 775-783.
- Hileman, SM., Tornøe, J., Flier, JS.*et al.* (2000). Transcellular transport of leptin by the short leptin receptor isoform ObRa in Madin-Darby Canine Kidney cells. *Endocrinology* 141, 1955-1961.
- Himms-Hagen, J., Melnyk, A., Zingaretti, MC.*et al.* (2000). Multilocular fat cells in WAT of CL-316243-treated rats derive directly from white adipocytes. *Am. J. Physiol., Cell Physiol.* 279, C670-81.
- Hindlet, P., Bado, A., Farinotti, R.*et al.* (2007). Long-term effect of leptin on H⁺-coupled peptide cotransporter 1 activity and expression in vivo: evidence in leptin-deficient mice. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 323, 192-201.
- Hisano, S., Kagotani, Y., Tsuruo, Y.*et al.* (1988). Localization of glucocorticoid receptor in neuropeptide Y-containing neurons in the arcuate nucleus of the rat hypothalamus. *Neurosci. Lett.* 95, 13-18.
- Hoffman, GE. and Sladek, JRJ. (1980). Age-related changes in dopamine, LHRH and somatostatin in the rat hypothalamus. *Neurobiol. Aging* 1, 27-37.
- Holemans, K., Aerts, L. and Van Assche, FA. (2003). Fetal growth restriction and consequences for the offspring in animal models. *J. Soc. Gynecol. Investig.* 10, 392-399.
- Hollenberg, AN. (2008). The role of the thyrotropin-releasing hormone (TRH) neuron as a metabolic sensor. *Thyroid* 18, 131-139.
- Holt, RIG. (2002). Fetal programming of the growth hormone-insulin-like growth factor axis. *Trends Endocrinol. Metab.* 13, 392-397.
- Horvath, TL., Diano, S. and van den Pol, AN. (1999). Synaptic interaction between hypocretin (orexin) and neuropeptide Y cells in the rodent and primate hypothalamus: a novel circuit implicated in metabolic and endocrine regulations. *J. Neurosci.* 19, 1072-1087.

Horvath, TL., Naftolin, F. and Leranth, C. (1992). GABAergic and catecholaminergic innervation of mediobasal hypothalamic beta-endorphin cells projecting to the medial preoptic area. *Neuroscience* 51, 391-399.

Hosoya, M., Kawamata, Y., Fukusumi, S.*et al.* (2000). Molecular and functional characteristics of APJ. Tissue distribution of mRNA and interaction with the endogenous ligand apelin. *J. Biol. Chem.* 275, 21061-21067.

Houseknecht, KL., McGuire, MK., Portocarrero, CP.*et al.* (1997). Leptin is present in human milk and is related to maternal plasma leptin concentration and adiposity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 240, 742-747.

Huan, J., Li, J., Han, Y.*et al.* (2003). Adipocyte-selective reduction of the leptin receptors induced by antisense RNA leads to increased adiposity, dyslipidemia, and insulin resistance. *J. Biol. Chem.* 278, 45638-45650.

Huszar, D., Lynch, CA., Fairchild-Huntress, V.*et al.* (1997). Targeted disruption of the melanocortin-4 receptor results in obesity in mice. *Cell* 88, 131-141.

Hwa, V., Oh, Y. and Rosenfeld, RG. (1999). The insulin-like growth factor-binding protein (IGFBP) superfamily. *Endocr. Rev.* 20, 761-787.

-I-

Inui, A. (2000). Transgenic approach to the study of body weight regulation. *Pharmacol. Rev.* 52, 35-61.

-J-

Jacobowitz, DM. and O'Donohue, TL. (1978). alpha-Melanocyte stimulating hormone: immunohistochemical identification and mapping in neurons of rat brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 75, 6300-6304.

Jegou, S., Blasquez, C., Delbende, C.*et al.* (1993). Regulation of alpha-melanocyte-stimulating hormone release from hypothalamic neurons. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 680, 260-278.

Jezová, D., Skultéyová, I., Makatsori, A.*et al.* (2002). Hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis function and hedonic behavior in adult male and female rats prenatally stressed by maternal food restriction. *Stress* 5, 177-183.

Jimenez-Chillaron, JC., Hernandez-Valencia, M., Reamer, C.*et al.* (2005). Beta-cell secretory dysfunction in the pathogenesis of low birth weight-associated diabetes: a murine model. *Diabetes* 54, 702-711.

Jones, A., Godfrey, KM., Wood, P.*et al.* (2006). Fetal growth and the adrenocortical response to psychological stress. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 91, 1868-1871.

Junien, C. (2006). Impact of diets and nutrients/drugs on early epigenetic programming. *J Inherit Metab Dis* 29, 359-365.

-K-

Kajantie, E., Phillips, DIW., Osmond, C.*et al.* (2006). Spontaneous hypothyroidism in adult women is predicted by small body size at birth and during childhood. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 91, 4953-4956.

Kaplan, SL., Grumbach, MM. and Aubert, ML. (1976). The ontogenesis of pituitary hormones and hypothalamic factors in the human fetus: maturation of central nervous system regulation of anterior pituitary function. *Recent Prog. Horm. Res.* 32, 161-243.

Kawamura, M., Itoh, H., Yura, S.*et al.* (2007). Undernutrition in utero augments systolic blood pressure and cardiac remodeling in adult mouse offspring: possible involvement of local cardiac angiotensin system in developmental origins of cardiovascular disease. *Endocrinology* 148, 1218-1225.

Kelly, J., Alheid, GF., Newberg, A.*et al.* (1977). GABA stimulation and blockade in the hypothalamus and midbrain: effects on feeding and locomotor activity. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 7, 537-541.

Kim, MS., Rossi, M., Abusnana, S.*et al.* (2000). Hypothalamic localization of the feeding effect of agouti-related peptide and alpha-melanocyte-stimulating hormone. *Diabetes* 49, 177-182.

Kim, S. and Moustaid-Moussa, N. (2000). Secretory, endocrine and autocrine/paracrine function of the adipocyte. *J. Nutr.* 130, 3110S-3115S.

Kim, WK., Lee, CY., Kang, MS.*et al.* (2008). Effects of leptin on lipid metabolism and gene expression of differentiation-associated growth factors and transcription factors during differentiation and maturation of 3T3-L1 preadipocytes. *Endocr. J.* 55, 827-837.

Kind, KL., Clifton, PM., Grant, PA.*et al.* (2003). Effect of maternal feed restriction during pregnancy on glucose tolerance in the adult guinea pig. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 284, R140-52.

Klaus, H. (1995). Abortion and the maternal-fetal medicine physician. *Hastings Cent Rep* 25, 2; author reply 3.

Klaus, S., Seivert, A. and Boeuf, S. (2001). Effect of the beta(3)-adrenergic agonist C1316,243 on functional differentiation of white and brown adipocytes in primary cell culture. *Biochim. Biophys. Acta* 1539, 85-92.

Klein, S., Coppack, SW., Mohamed-Ali, V.*et al.* (1996). Adipose tissue leptin production and plasma leptin kinetics in humans. *Diabetes* 45, 984-987.

- Koda, S., Date, Y., Murakami, N.*et al.* (2005). The role of the vagal nerve in peripheral PYY3-36-induced feeding reduction in rats. *Endocrinology* 146, 2369-2375.
- Kojima, T., Nishimura, M., Yajima, T.*et al.* (1999). Developmental changes in the regional Na⁺/glucose transporter mRNA along the small intestine of suckling rats. *Comp. Biochem. Physiol. B, Biochem. Mol. Biol.* 122, 89-95.
- Kowalski, TJ., Ster, AM. and Smith, GP. (2002). Increased hypothalamic neuropeptide Y expression in deprived preweanling rats is reversed by intragastric infusion of milk. *Physiol. Behav.* 75, 425-432.
- Koylu, EO., Couceyro, PR., Lambert, PD.*et al.* (1997). Immunohistochemical localization of novel CART peptides in rat hypothalamus, pituitary and adrenal gland. *J. Neuroendocrinol.* 9, 823-833.
- Kristensen, P., Judge, ME., Thim, L.*et al.* (1998). Hypothalamic CART is a new anorectic peptide regulated by leptin. *Nature* 393, 72-76.
- Krude, H., Biebermann, H., Luck, W.*et al.* (1998). Severe early-onset obesity, adrenal insufficiency and red hair pigmentation caused by POMC mutations in humans. *Nat. Genet.* 19, 155-157.
- Kyle, UG. and Pichard, C. (2006). The Dutch Famine of 1944-1945: a pathophysiological model of long-term consequences of wasting disease. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 9, 388-394.
- Kyrkouli, SE., Stanley, BG., Seirafi, RD.*et al.* (1990). Stimulation of feeding by galanin: anatomical localization and behavioral specificity of this peptide's effects in the brain. *Peptides* 11, 995-1001.

-L-

- Lajic, S., Wedell, A., Bui, TH.*et al.* (1998). Long-term somatic follow-up of prenatally treated children with congenital adrenal hyperplasia. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 83, 3872-3880.
- Lambert, PD., Couceyro, PR., McGirr, KM.*et al.* (1998). CART peptides in the central control of feeding and interactions with neuropeptide Y. *Synapse* 29, 293-298.
- Larsen, PJ., Jessop, DS., Chowdrey, HS.*et al.* (1994). Chronic administration of glucocorticoids directly upregulates prepro-neuropeptide Y and Y1-receptor mRNA levels in the arcuate nucleus of the rat. *J. Neuroendocrinol.* 6, 153-159.
- Larsen, PJ., Tang-Christensen, M., Holst, JJ.*et al.* (1997). Distribution of glucagon-like peptide-1 and other preproglucagon-derived peptides in the rat hypothalamus and brainstem. *Neuroscience* 77, 257-270.

- Larsson, LI. and Rehfeld, JF. (1978). Distribution of gastrin and CCK cells in the rat gastrointestinal tract. Evidence for the occurrence of three distinct cell types storing COOH-terminal gastrin immunoreactivity. *Histochemistry* 58, 23-31.
- Lee, GH., Proenca, R., Montez, JM.*et al.* (1996). Abnormal splicing of the leptin receptor in diabetic mice. *Nature* 379, 632-635.
- Leibowitz, SF. (1995). Brain peptides and obesity: pharmacologic treatment. *Obes. Res.* 3 *Suppl* 4, 573S-589S.
- Leibowitz, SF. (1998). Differential functions of hypothalamic galanin cell groups in the regulation of eating and body weight. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 863, 206-220.
- Leon, GR. and Roth, L. (1977). Obesity: psychological causes, correlations, and speculations. *Psychol Bull* 84, 117-139.
- Lesage, J., Blondeau, B., Grino, M.*et al.* (2001). Maternal undernutrition during late gestation induces fetal overexposure to glucocorticoids and intrauterine growth retardation, and disturbs the hypothalamo-pituitary-adrenal axis in the newborn rat. *Endocrinology* 142, 1692-1702.
- Lesage, J., Del-Favero, F., Leonhardt, M.*et al.* (2004). Prenatal stress induces intrauterine growth restriction and programmes glucose intolerance and feeding behaviour disturbances in the aged rat. *J. Endocrinol.* 181, 291-296.
- Lesage, J., Sebaai, N., Leonhardt, M.*et al.* (2006). Perinatal maternal undernutrition programs the offspring hypothalamo-pituitary-adrenal (HPA) axis. *Stress* 9, 183-198.
- Levine, JF. and Stockdale, FE. (1985). Cell-cell interactions promote mammary epithelial cell differentiation. *J. Cell Biol.* 100, 1415-1422.
- Levitt, NS., Lambert, EV., Woods, D.*et al.* (2000). Impaired glucose tolerance and elevated blood pressure in low birth weight, nonobese, young south african adults: early programming of cortisol axis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 85, 4611-4618.
- Li, JY., Dubois, MP. and Dubois, PM. (1977). Somatotrophs in the human fetal anterior pituitary. An electron microscopic-immunocytochemical study. *Cell Tissue Res.* 181, 545-552.
- Lindsay, RS., Lindsay, RM., Waddell, BJ.*et al.* (1996). Prenatal glucocorticoid exposure leads to offspring hyperglycaemia in the rat: studies with the 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase inhibitor carbenoxolone. *Diabetologia* 39, 1299-1305.
- Lingas, R., Dean, F. and Matthews, SG. (1999). Maternal nutrient restriction (48 h) modifies brain corticosteroid receptor expression and endocrine function in the fetal guinea pig. *Brain Res.* 846, 236-242.
- Lingas, RI. and Matthews, SG. (2001). A short period of maternal nutrient restriction in late gestation modifies pituitary-adrenal function in adult guinea pig offspring. *Neuroendocrinology* 73, 302-311.

Lisboa, PC., Fagundes, ATS., Denolato, ATA.*et al.* (2008). Neonatal low-protein diet changes deiodinase activities and pituitary TSH response to TRH in adult rats. *Exp. Biol. Med.* (Maywood) *233*, 57-63.

Liu, Q., Bai, C., Chen, F.*et al.* (1998). Uncoupling protein-3: a muscle-specific gene upregulated by leptin in ob/ob mice. *Gene* *207*, 1-7.

Loncar, D. (1991). Convertible adipose tissue in mice. *Cell Tissue Res.* *266*, 149-161.

Lostao, MP., Urdaneta, E., Martínez-Ansó, E.*et al.* (1998). Presence of leptin receptors in rat small intestine and leptin effect on sugar absorption. *FEBS Lett.* *423*, 302-306.

Léonhardt, M., Lesage, J., Croix, D.*et al.* (2003). Effects of perinatal maternal food restriction on pituitary-gonadal axis and plasma leptin level in rat pup at birth and weaning and on timing of puberty. *Biol. Reprod.* *68*, 390-400.

Léonhardt, M., Lesage, J., Dufourny, L.*et al.* (2002). Perinatal maternal food restriction induces alterations in hypothalamo-pituitary-adrenal axis activity and in plasma corticosterone-binding globulin capacity of weaning rat pups. *Neuroendocrinology* *75*, 45-54.

López, M., Seoane, LM., Tovar, S.*et al.* (2005). A possible role of neuropeptide Y, agouti-related protein and leptin receptor isoforms in hypothalamic programming by perinatal feeding in the rat. *Diabetologia* *48*, 140-148.

-M-

Mansour, A., Khachaturian, H., Lewis, ME.*et al.* (1988). Anatomy of CNS opioid receptors. *Trends Neurosci.* *11*, 308-314.

Marks, JL., Porte, DJ., Stahl, WL.*et al.* (1990). Localization of insulin receptor mRNA in rat brain by in situ hybridization. *Endocrinology* *127*, 3234-3236.

Marsh, DJ., Hollopeter, G., Kafer, KE.*et al.* (1998). Role of the Y5 neuropeptide Y receptor in feeding and obesity. *Nat. Med.* *4*, 718-721.

Martin, CR., Brown, YF., Ehrenkranz, RA.*et al.* (2009). Nutritional practices and growth velocity in the first month of life in extremely premature infants. *Pediatrics* *124*, 649-657.

Martorell, R., Stein, AD. and Schroeder, DG. (2001). Early nutrition and later adiposity. *J. Nutr.* *131*, 874S-880S.

Mathan, M., Moxey, PC. and Trier, JS. (1976). Morphogenesis of fetal rat duodenal villi. *Am. J. Anat.* *146*, 73-92.

Matsakas, A. and Patel, K. (2009). Skeletal muscle fibre plasticity in response to selected environmental and physiological stimuli. *Histol. Histopathol.* *24*, 611-629.

- Maulon-Feraille, L., Della Zuana, O., Suply, T.*et al.* (2002). Appetite-boosting property of pro-melanin-concentrating hormone(131-165) (neuropeptide-glutamic acid-isoleucine) is associated with proteolytic resistance. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* *302*, 766-773.
- McEwen, BS., De Kloet, ER. and Rostene, W. (1986). Adrenal steroid receptors and actions in the nervous system. *Physiol. Rev.* *66*, 1121-1188.
- Mendelson, CR. (2000). Role of transcription factors in fetal lung development and surfactant protein gene expression. *Annu. Rev. Physiol.* *62*, 875-915.
- Mercader, J., Ribot, J., Murano, I.*et al.* (2006). Remodeling of white adipose tissue after retinoic acid administration in mice. *Endocrinology* *147*, 5325-5332.
- Merchenthaler, I., López, FJ. and Negro-Vilar, A. (1993). Anatomy and physiology of central galanin-containing pathways. *Prog Neurobiol* *40*, 711-769.
- Molendi-Coste, O., Grumolato, L., Laborie, C.*et al.* (2006). Maternal perinatal undernutrition alters neuronal and neuroendocrine differentiation in the rat adrenal medulla at weaning. *Endocrinology* *147*, 3050-3059.
- Molendi-Coste, O., Mairesse, J., Aubert, N.*et al.* (2008). Maternal perinatal undernutrition impairs chromaffin cells proliferation in the postnatal rat. *Horm. Metab. Res.* *40*, 386-390.
- Moog, F. (1979). Endocrine influences on the functional differentiation of the small intestine. *J. Anim. Sci.* *49*, 239-249.
- Morley, JE. (1987). Neuropeptide regulation of appetite and weight. *Endocr. Rev.* *8*, 256-287.
- Morton, NM., Emilsson, V., Liu, YL.*et al.* (1998). Leptin action in intestinal cells. *J. Biol. Chem.* *273*, 26194-26201.
- Mountjoy, KG., Mortrud, MT., Low, MJ.*et al.* (1994). Localization of the melanocortin-4 receptor (MC4-R) in neuroendocrine and autonomic control circuits in the brain. *Mol. Endocrinol.* *8*, 1298-1308.
- Mountjoy, KG., Robbins, LS., Mortrud, MT.*et al.* (1992). The cloning of a family of genes that encode the melanocortin receptors. *Science* *257*, 1248-1251.
- Munck, A., Mendel, DB., Smith, LI.*et al.* (1990). Glucocorticoid receptors and actions. *Am. Rev. Respir. Dis.* *141*, S2-10.
- Murphy, BE., Clark, SJ., Donald, IR.*et al.* (1974). Conversion of maternal cortisol to cortisone during placental transfer to the human fetus. *Am. J. Obstet. Gynecol.* *118*, 538-541.
- Muurahainen, N., Kissileff, HR., Derogatis, AJ.*et al.* (1988). Effects of cholecystokinin-octapeptide (CCK-8) on food intake and gastric emptying in man. *Physiol. Behav.* *44*, 645-649.

- Nagai, K., Nishio, T., Nakagawa, H.*et al.* (1978). Effect of bilateral lesions of the suprachiasmatic nuclei on the circadian rhythm of food-intake. *Brain Res.* *142*, 384-389.
- Nakazato, M., Murakami, N., Date, Y.*et al.* (2001). A role for ghrelin in the central regulation of feeding. *Nature* *409*, 194-198.
- Neary, NM., Goldstone, AP. and Bloom, SR. (2004). Appetite regulation: from the gut to the hypothalamus. *Clin. Endocrinol. (Oxf)* *60*, 153-160.
- Neel, JV. (1999). Diabetes mellitus: a "thrifty" genotype rendered detrimental by "progress"? 1962. *Bull. World Health Organ.* *77*, 694-703; discussion 692-3.
- Nilsson, S. (2001). [Research contributions of Eskil Kylin]. *Sven Med Tidskr* *5*, 15-28.
- Noel, G. and Mains, RE. (1991). Plasticity of peptide biosynthesis in corticotropes: independent regulation of different steps in processing. *Endocrinology* *129*, 1317-1325.
- Norsted, E., Gömüç, B. and Meister, B. (2008). Protein components of the blood-brain barrier (BBB) in the mediobasal hypothalamus.. *J. Chem. Neuroanat.* *36*, 107-121.
- Nyirenda, MJ., Lindsay, RS., Kenyon, CJ.*et al.* (1998). Glucocorticoid exposure in late gestation permanently programs rat hepatic phosphoenolpyruvate carboxykinase and glucocorticoid receptor expression and causes glucose intolerance in adult offspring. *J. Clin. Invest.* *101*, 2174-2181.
- O-
- Obici, S. (2009). Minireview: Molecular targets for obesity therapy in the brain. *Endocrinology* *150*, 2512-2517.
- Obici, S., Feng, Z., Karkanias, G.*et al.* (2002). Decreasing hypothalamic insulin receptors causes hyperphagia and insulin resistance in rats. *Nat. Neurosci.* *5*, 566-572.
- Oliver, C., Giraud, P., Lissitzky, JC.*et al.* (1982). Influence of endogenous somatostatin on growth hormone and thyrotropin secretion in neonatal rats. *Endocrinology* *110*, 1018-1022.
- Oliver, P., Picó, C., De Matteis, R.*et al.* (2002). Perinatal expression of leptin in rat stomach. *Dev. Dyn.* *223*, 148-154.
- Ozanne, SE. and Hales, CN. (2002b). Early programming of glucose-insulin metabolism. *Trends Endocrinol. Metab.* *13*, 368-373.
- Ozanne, SE. and Hales, CN. (2002a). Pre- and early postnatal nongenetic determinants of type 2 diabetes. *Expert Rev Mol Med* *4*, 1-14.

-P-

- Pachón, H., McGuire, MK. and Rasmussen, KM. (1995). Nutritional status and behavior during lactation. *Physiol. Behav.* 58, 393-400.
- Pedrazzini, T., Seydoux, J., Künstner, P.*et al.* (1998). Cardiovascular response, feeding behavior and locomotor activity in mice lacking the NPY Y1 receptor. *Nat. Med.* 4, 722-726.
- Pelleymounter, MA., Cullen, MJ. and Wellman, CL. (1995). Characteristics of BDNF-induced weight loss. *Exp. Neurol.* 131, 229-238.
- Phillips, DI., Barker, DJ., Fall, CH.*et al.* (1998). Elevated plasma cortisol concentrations: a link between low birth weight and the insulin resistance syndrome?. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 83, 757-760.
- Phillips, DI., Walker, BR., Reynolds, RM.*et al.* (2000). Low birth weight predicts elevated plasma cortisol concentrations in adults from 3 populations. *Hypertension* 35, 1301-1306.
- Phillips, DIW. and Jones, A. (2006). Fetal programming of autonomic and HPA function: do people who were small babies have enhanced stress responses?. *J. Physiol. (Lond.)* 572, 45-50.
- Picquet, F., Bouet, V., Cochon, L.*et al.* (2005). Changes in rat soleus muscle phenotype consecutive to a growth in hypergravity followed by normogravity. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 289, R217-24.
- Picó, C., Oliver, P., Sánchez, J.*et al.* (2007). The intake of physiological doses of leptin during lactation in rats prevents obesity in later life. *Int J Obes (Lond)* 31, 1199-1209.
- Plagemann, A., Harder, T., Brunn, M.*et al.* (2009). Hypothalamic proopiomelanocortin promoter methylation becomes altered by early overfeeding: an epigenetic model of obesity and the metabolic syndrome. *J. Physiol. (Lond.)* 587, 4963-4976.
- Plagemann, A., Harder, T., Rake, A.*et al.* (1999). Perinatal elevation of hypothalamic insulin, acquired malformation of hypothalamic galanergic neurons, and syndrome x-like alterations in adulthood of neonatally overfed rats. *Brain Res.* 836, 146-155.
- Plata-Salamán, CR. (1991). Immunoregulators in the nervous system. *Neurosci Biobehav Rev* 15, 185-215.
- Plum, L., Rother, E., Münzberg, H.*et al.* (2007). Enhanced leptin-stimulated Pi3k activation in the CNS promotes white adipose tissue transdifferentiation. *Cell Metab* 6, 431-445.
- Pombo, M., Pombo, CM., Garcia, A.*et al.* (2001). Hormonal control of growth hormone secretion. *Horm. Res.* 55 Suppl 1, 11-16.
- Proulx, K., Richard, D. and Walker, C. (2002). Leptin regulates appetite-related neuropeptides in the hypothalamus of developing rats without affecting food intake. *Endocrinology* 143, 4683-4692.

Purchas, RW., Romsos, DR., Allen, RE.*et al.* (1985). Muscle growth and satellite cell proliferative activity in obese (OB/OB) mice. *J. Anim. Sci.* *60*, 644-651.

-Q-

Qian, S., Chen, H., Weingarh, D.*et al.* (2002). Neither agouti-related protein nor neuropeptide Y is critically required for the regulation of energy homeostasis in mice. *Mol. Cell. Biol.* *22*, 5027-5035.

-R-

Ravelli, AC., van Der Meulen, JH., Osmond, C.*et al.* (1999). Obesity at the age of 50 y in men and women exposed to famine prenatally. *Am. J. Clin. Nutr.* *70*, 811-816.

Ravelli, AC., van der Meulen, JH., Michels, RP.*et al.* (1998). Glucose tolerance in adults after prenatal exposure to famine. *Lancet* *351*, 173-177.

Reinehr, T. (2010). Obesity and thyroid function. *Mol. Cell. Endocrinol.* *316*, 165-171.

Reinisch, JM., Simon, NG., Karow, WG.*et al.* (1978). Prenatal exposure to prednisone in humans and animals retards intrauterine growth. *Science* *202*, 436-438.

Renshaw, D. and Batterham, RL. (2005). Peptide YY: a potential therapy for obesity. *Curr Drug Targets* *6*, 171-179.

Reynolds, RM., Walker, BR., Syddall, HE.*et al.* (2001). Altered control of cortisol secretion in adult men with low birth weight and cardiovascular risk factors. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* *86*, 245-250.

Rieutort, M. (1974). Pituitary content and plasma levels of growth hormone in foetal and weanling rats. *J. Endocrinol.* *60*, 261-268.

Rivière, G., Michaud, A., Breton, C.*et al.* (2005). Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) and ACE activities display tissue-specific sensitivity to undernutrition-programmed hypertension in the adult rat. *Hypertension* *46*, 1169-1174.

Robert, DF and Bear, JC (1997). Studies of Modern man. *Annual Review of anthropology* *1*, 55-112.

Rogers, P., McKibbin, PE. and Williams, G. (1991). Acute fenfluramine administration reduces neuropeptide Y concentrations in specific hypothalamic regions of the rat: possible implications for the anorectic effect of fenfluramine. *Peptides* *12*, 251-255.

Rolland-Cachera, MF., Deheeger, M., Bellisle, F.*et al.* (1984). Adiposity rebound in children: a simple indicator for predicting obesity. *Am. J. Clin. Nutr.* *39*, 129-135.

- Ronayne De Ferrer, PA. and Sambucetti, ME. (1993). Casein to whey protein ratio in rat and human milks: effects of maternal protein intake. *J. Dairy Sci.* 76, 1645-1653.
- Roseboom, TJ., van der Meulen, JH., Osmond, C.*et al.* (2000a). Coronary heart disease after prenatal exposure to the Dutch famine, 1944-45. *Heart* 84, 595-598.
- Roseboom, TJ., van der Meulen, JH., Osmond, C.*et al.* (2000b). Plasma lipid profiles in adults after prenatal exposure to the Dutch famine. *Am. J. Clin. Nutr.* 72, 1101-1106.
- Roseboom, TJ., van der Meulen, JH., Ravelli, AC.*et al.* (1999). Blood pressure in adults after prenatal exposure to famine. *J. Hypertens.* 17, 325-330.
- Roseboom, TJ., van der Meulen, JH., van Montfrans, GA.*et al.* (2001). Maternal nutrition during gestation and blood pressure in later life. *J. Hypertens.* 19, 29-34.
- Rosenberg, A. (2008). The IUGR newborn. *Semin. Perinatol.* 32, 219-224.

-S-

- Sacerdote, A., Weiss, K., Tran, T.*et al.* (2005). Hypertension in patients with Cushing's disease: pathophysiology, diagnosis, and management. *Curr. Hypertens. Rep.* 7, 212-218.
- Sahu, A. (1998). Evidence suggesting that galanin (GAL), melanin-concentrating hormone (MCH), neurotensin (NT), proopiomelanocortin (POMC) and neuropeptide Y (NPY) are targets of leptin signaling in the hypothalamus. *Endocrinology* 139, 795-798.
- Sahu, A., Crowley, WR. and Kalra, SP. (1994). Hypothalamic neuropeptide-Y gene expression increases before the onset of the ovarian steroid-induced luteinizing hormone surge. *Endocrinology* 134, 1018-1022.
- Sahu, A., Kalra, PS. and Kalra, SP. (1988). Food deprivation and ingestion induce reciprocal changes in neuropeptide Y concentrations in the paraventricular nucleus. *Peptides* 9, 83-86.
- Sahu, A., Kalra, SP., Crowley, WR.*et al.* (1989). Testosterone raises neuropeptide-Y concentration in selected hypothalamic sites and in vitro release from the medial basal hypothalamus of castrated male rats. *Endocrinology* 124, 410-414.
- Sahu, A., Phelps, CP., White, JD.*et al.* (1992). Steroidal regulation of hypothalamic neuropeptide Y release and gene expression. *Endocrinology* 130, 3331-3336.
- Saito, Y. and Nagasaki, H. (2008). The melanin-concentrating hormone system and its physiological functions. *Results Probl Cell Differ* 46, 159-179.
- Sakar, Y., Nazaret, C., Lettéron, P *et al.* (2009). Positive regulatory control loop between gut leptin and intestinal GLUT2/GLUT5 transporters links to hepatic metabolic functions in rodents. *PLoS ONE* 4, e7935

- Sakurai, T. (2006). Roles of orexins and orexin receptors in central regulation of feeding behavior and energy homeostasis. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 5, 313-325.
- Sakurai, T., Amemiya, A., Ishii, M.*et al.* (1998). Orexins and orexin receptors: a family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior. *Cell* 92, 573-585.
- Salehi, M., Ferenczi, A. and Zumoff, B. (2005). Obesity and cortisol status. *Horm. Metab. Res.* 37, 193-197.
- Sandoval, DA., Bagnol, D., Woods, SC.*et al.* (2008). Arcuate glucagon-like peptide 1 receptors regulate glucose homeostasis but not food intake. *Diabetes* 57, 2046-2054.
- Saper, CB. (2006). Staying awake for dinner: hypothalamic integration of sleep, feeding, and circadian rhythms. *Prog. Brain Res.* 153, 243-252.
- Sar, M., Sahu, A., Crowley, WR.*et al.* (1990). Localization of neuropeptide-Y immunoreactivity in estradiol-concentrating cells in the hypothalamus. *Endocrinology* 127, 2752-2756.
- Satoh, N., Ogawa, Y., Katsuura, G.*et al.* (1997). The arcuate nucleus as a primary site of satiety effect of leptin in rats. *Neurosci. Lett.* 224, 149-152.
- Sawchenko, PE., Swanson, LW., Grzanna, R.*et al.* (1985). Colocalization of neuropeptide Y immunoreactivity in brainstem catecholaminergic neurons that project to the paraventricular nucleus of the hypothalamus. *J. Comp. Neurol.* 241, 138-153.
- Scaccianoce, S., Di Sciallo, A. and Angelucci, L. (1990). Age-related changes in hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis activity in the rat. *In vitro studies.* *Neuroendocrinology* 52, 150-155.
- Schmitz-Peiffer, C., Browne, CL., Oakes, ND.*et al.* (1997). Alterations in the expression and cellular localization of protein kinase C isozymes epsilon and theta are associated with insulin resistance in skeletal muscle of the high-fat-fed rat. *Diabetes* 46, 169-178.
- Schreuder, MF., Fodor, M., van Wijk, JAE.*et al.* (2006). Association of birth weight with cardiovascular parameters in adult rats during baseline and stressed conditions. *Pediatr. Res.* 59, 126-130.
- Schwartz, MW., Baskin, DG., Bukowski, TR.*et al.* (1996). Specificity of leptin action on elevated blood glucose levels and hypothalamic neuropeptide Y gene expression in ob/ob mice. *Diabetes* 45, 531-535.
- Schwartz, MW., Figlewicz, DP., Baskin, DG.*et al.* (1992b). Insulin in the brain: a hormonal regulator of energy balance. *Endocr. Rev.* 13, 387-414.
- Schwartz, MW., Seeley, RJ., Woods, SC.*et al.* (1997). Leptin increases hypothalamic pro-opiomelanocortin mRNA expression in the rostral arcuate nucleus. *Diabetes* 46, 2119-2123.
- Schwartz, MW., Sipols, AJ., Marks, JL.*et al.* (1992a). Inhibition of hypothalamic neuropeptide Y gene expression by insulin. *Endocrinology* 130, 3608-3616.

- Sclafani, A. and Kirchgessner, A. (1986). The role of the medial hypothalamus in the control of food intake : an update. In : Ritter RC, Ritter S, Barnes CD (eds) Feeding behaviour.. Academic Press, New York , 27-66.
- Seale, P., Bjork, B., Yang, W.*et al.* (2008). PRDM16 controls a brown fat/skeletal muscle switch. *Nature* 454, 961-967.
- Sebaai, N., Lesage, J., Breton, C.*et al.* (2004). Perinatal food deprivation induces marked alterations of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis in 8-month-old male rats both under basal conditions and after a dehydration period. *Neuroendocrinology* 79, 163-173.
- Sebaai, N., Lesage, J., Vieau, D.*et al.* (2002). Altered control of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis in adult male rats exposed perinatally to food deprivation and/or dehydration. *Neuroendocrinology* 76, 243-253.
- Seckl, JR. (1993). 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase isoforms and their implications for blood pressure regulation. *Eur. J. Clin. Invest.* 23, 589-601.
- Seckl, JR. (1997). Glucocorticoids, feto-placental 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2, and the early life origins of adult disease. *Steroids* 62, 89-94.
- Segal-Lieberman, G., Rubinfeld, H., Glick, M.*et al.* (2006). Melanin-concentrating hormone stimulates human growth hormone secretion: a novel effect of MCH on the hypothalamic-pituitary axis. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 290, E982-8.
- Seidah, NG., Day, R., Marcinkiewicz, M.*et al.* (1991). Mammalian neural and endocrine pro-protein and pro-hormone convertases belonging to the subtilisin family of serine proteinases. *Enzyme* 45, 271-284.
- Shen, H., Smith, DE. and Brosius, FC3. (2001). Developmental expression of PEPT1 and PEPT2 in rat small intestine, colon, and kidney. *Pediatr. Res.* 49, 789-795.
- Shimada, M., Tritos, NA., Lowell, BB.*et al.* (1998). Mice lacking melanin-concentrating hormone are hypophagic and lean. *Nature* 396, 670-674.
- Shughrue, PJ., Lane, MV. and Merchenthaler, I. (1996). Glucagon-like peptide-1 receptor (GLP1-R) mRNA in the rat hypothalamus. *Endocrinology* 137, 5159-5162.
- Shutter, JR., Graham, M., Kinsey, AC.*et al.* (1997). Hypothalamic expression of ART, a novel gene related to agouti, is up-regulated in obese and diabetic mutant mice. *Genes Dev.* 11, 593-602.
- Siegrist-Kaiser, CA., Pauli, V., Juge-Aubry, CE.*et al.* (1997). Direct effects of leptin on brown and white adipose tissue. *J. Clin. Invest.* 100, 2858-2864.
- Silver, AJ., Flood, JF., Song, AM.*et al.* (1989). Evidence for a physiological role for CCK in the regulation of food intake in mice. *Am. J. Physiol.* 256, R646-52.
- Sinclair, KD., Lea, RG., Rees, WD.*et al.* (2007). The developmental origins of health and disease: current theories and epigenetic mechanisms. *Soc Reprod Fertil Suppl* 64, 425-443.

- Singer, LK., Kuper, J., Brogan, RS.*et al.* (2000). Novel expression of hypothalamic neuropeptide Y during postnatal development in the rat. *Neuroreport* *11*, 1075-1080.
- Skála, J., Barnard, T. and Lindberg, O. (1970). Changes in interscapular brown adipose tissue of the rat during perinatal and early postnatal development and after cold acclimation. II. Mitochondrial changes. *Comp. Biochem. Physiol.* *33*, 509-528.
- Sloboda, DM., Howie, GJ., Pleasants, A.*et al.* (2009). Pre- and postnatal nutritional histories influence reproductive maturation and ovarian function in the rat. *PLoS ONE* *4*, e6744.
- Smith, BK., York, DA. and Bray, GA. (1994). Chronic cerebroventricular galanin does not induce sustained hyperphagia or obesity. *Peptides* *15*, 1267-1272.
- Smith-Kirwin, SM., O'Connor, DM., De Johnston, J.*et al.* (1998). Leptin expression in human mammary epithelial cells and breast milk. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* *83*, 1810-1813.
- Solari, R., Morris, B. and Morris, R. (1984). Kinetic studies on IgG transport by the jejunum of the neonatal rat. *Biol. Neonate* *46*, 163-170.
- Spencer, GS., Garssen, GJ., Colenbrander, B.*et al.* (1985). Effect of somatostatin and thyrotrophin-releasing hormone on the levels of growth hormone in the circulation of the chronically catheterized pig fetus in utero. *J. Endocrinol.* *106*, 121-124.
- Stanley, BG., Ha, LH., Spears, LC.*et al.* (1993a). Lateral hypothalamic injections of glutamate, kainic acid, D,L-alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-isoxazole propionic acid or N-methyl-D-aspartic acid rapidly elicit intense transient eating in rats. *Brain Res.* *613*, 88-95.
- Stanley, BG., Kyrkouli, SE., Lampert, S.*et al.* (1986). Neuropeptide Y chronically injected into the hypothalamus: a powerful neurochemical inducer of hyperphagia and obesity. *Peptides* *7*, 1189-1192.
- Stanley, BG., Willett, VL3., Donias, HW.*et al.* (1993b). The lateral hypothalamus: a primary site mediating excitatory amino acid-elicited eating. *Brain Res.* *630*, 41-49.
- Stewart, J., Meaney, MJ., Aitken, D.*et al.* (1988). The effects of acute and life-long food restriction on basal and stress-induced serum corticosterone levels in young and aged rats. *Endocrinology* *123*, 1934-1941.
- Stewart, PM., Rogerson, FM. and Mason, JI. (1995). Type 2 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase messenger ribonucleic acid and activity in human placenta and fetal membranes: its relationship to birth weight and putative role in fetal adrenal steroidogenesis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* *80*, 885-890.
- Summers, SA. and Nelson, DH. (2005). A role for sphingolipids in producing the common features of type 2 diabetes, metabolic syndrome X, and Cushing's syndrome. *Diabetes* *54*, 591-602.
- Szabó, K. and Csányi, K. (1982). The vascular architecture of the developing pituitary-median eminence complex in the rat. *Cell Tissue Res.* *224*, 563-577.

-T-

- Taheri, S., Murphy, K., Cohen, M.*et al.* (2002). The effects of centrally administered apelin-13 on food intake, water intake and pituitary hormone release in rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* *291*, 1208-1212.
- Takekoshi, K., Motooka, M., Isobe, K.*et al.* (1999). Leptin directly stimulates catecholamine secretion and synthesis in cultured porcine adrenal medullary chromaffin cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* *261*, 426-431.
- Tamura, H., Kamegai, J., Shimizu, T.*et al.* (2002). Ghrelin stimulates GH but not food intake in arcuate nucleus ablated rats. *Endocrinology* *143*, 3268-3275.
- Tan, Z., Fogel, R., Jiang, C.*et al.* (2004). Galanin inhibits gut-related vagal neurons in rats. *J. Neurophysiol.* *91*, 2330-2343.
- Tartaglia, LA. (1997). The leptin receptor. *J. Biol. Chem.* *272*, 6093-6096.
- Tatemoto, K. (1982). Neuropeptide Y: complete amino acid sequence of the brain peptide. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* *79*, 5485-5489.
- Tatemoto, K., Hosoya, M., Habata, Y.*et al.* (1998). Isolation and characterization of a novel endogenous peptide ligand for the human APJ receptor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* *251*, 471-476.
- Tchkonia, T., Lenburg, M., Thomou, T.*et al.* (2007). Identification of depot-specific human fat cell progenitors through distinct expression profiles and developmental gene patterns. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* *292*, E298-307.
- Teichberg, S., Wapnir, RA., Moyse, J.*et al.* (1992). Development of the neonatal rat small intestinal barrier to nonspecific macromolecular absorption. II. Role of dietary corticosterone. *Pediatr. Res.* *32*, 50-57.
- Ter Horst, GJ., de Boer, P., Luiten, PG.*et al.* (1989). Ascending projections from the solitary tract nucleus to the hypothalamus. A *Phaseolus vulgaris* lectin tracing study in the rat. *Neuroscience* *31*, 785-797.
- Thliveris, JA. and Currie, RW. (1980). Observations on the hypothalamo-hypophyseal portal vasculature in the developing human fetus. *Am. J. Anat.* *157*, 441-444.
- Tiraby, C., Tavernier, G., Lefort, C.*et al.* (2003). Acquirement of brown fat cell features by human white adipocytes. *J. Biol. Chem.* *278*, 33370-33376.
- Trautman, PD., Meyer-Bahlburg, HF., Postelnek, J.*et al.* (1995). Effects of early prenatal dexamethasone on the cognitive and behavioral development of young children: results of a pilot study. *Psychoneuroendocrinology* *20*, 439-449.
- Trevenzoli, IH., Pinheiro, CR., Conceição, EPS.*et al.* (2010). Programming of rat adrenal medulla by neonatal hyperleptinemia: adrenal morphology, catecholamine secretion, and leptin signaling pathway. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* *298*, E941-9.

Turton, MD., O'Shea, D., Gunn, I.*et al.* (1996). A role for glucagon-like peptide-1 in the central regulation of feeding. *Nature* 379, 69-72.

-U-

Ukropec, J., Ukropcova, B., Kurdiova, T.*et al.* (2008). Adipose tissue and skeletal muscle plasticity modulates metabolic health. *Arch. Physiol. Biochem.* 114, 357-368.

Ungerstedt, U. (1971). Stereotaxic mapping of the monoamine pathways in the rat brain. *Acta Physiol Scand Suppl* 367, 1-48.

-V-

Vettor, R., Fabris, R., Pagano, C.*et al.* (2002). Neuroendocrine regulation of eating behavior. *J. Endocrinol. Invest.* 25, 836-854.

Vickers, MH., Breier, BH., Cutfield, WS.*et al.* (2000). Fetal origins of hyperphagia, obesity, and hypertension and postnatal amplification by hypercaloric nutrition. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 279, E83-7.

Vickers, MH., Gluckman, PD., Coveny, AH.*et al.* (2005). Neonatal leptin treatment reverses developmental programming. *Endocrinology* 146, 4211-4216.

Vickers, MH., Ikenasio, BA. and Breier, BH. (2001). IGF-I treatment reduces hyperphagia, obesity, and hypertension in metabolic disorders induced by fetal programming. *Endocrinology* 142, 3964-3973.

Vieau, D. (2009). La dénutrition maternelle périnatale programme les systèmes neuroendocriniens impliqués dans la réponse au stress chez le rat mâle adulte : rôle dans la genèse du syndrome métabolique , . *médecine et nutrition* 45, 19-24.

Vieau, D., Sebaai, N., Léonhardt, M.*et al.* (2007). HPA axis programming by maternal undernutrition in the male rat offspring. *Psychoneuroendocrinology* 32 *Suppl 1*, S16-20.

Vrang, N., Larsen, PJ., Clausen, JT.*et al.* (1999). Neurochemical characterization of hypothalamic cocaine- amphetamine-regulated transcript neurons. *J. Neurosci.* 19, RC5.

-W-

Wadsworth, ME., Cripps, HA., Midwinter, RE.*et al.* (1985). Blood pressure in a national birth cohort at the age of 36 related to social and familial factors, smoking, and body mass. *Br Med J (Clin Res Ed)* 291, 1534-1538.

- Wagoner, B., Hausman, DB. and Harris, RBS. (2006). Direct and indirect effects of leptin on preadipocyte proliferation and differentiation. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* *290*, R1557-64.
- Wahlestedt, C. and Reis, DJ. (1993). Neuropeptide Y-related peptides and their receptors--are the receptors potential therapeutic drug targets?. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* *33*, 309-352.
- Walker, WA., Cornell, R., Davenport, LM.*et al.* (1972). Macromolecular absorption. Mechanism of horseradish peroxidase uptake and transport in adult and neonatal rat intestine. *J. Cell Biol.* *54*, 195-205.
- Wallum, BJ., Taborsky, GJJ., Porte, DJ.*et al.* (1987). Cerebrospinal fluid insulin levels increase during intravenous insulin infusions in man. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* *64*, 190-194.
- Wang, J., Liu, R., Hawkins, M.*et al.* (1998). A nutrient-sensing pathway regulates leptin gene expression in muscle and fat. *Nature* *393*, 684-688.
- Wang, M., Grayburn, P., Chen, S.*et al.* (2008). Adipogenic capacity and the susceptibility to type 2 diabetes and metabolic syndrome. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* *105*, 6139-6144.
- Waterland, RA. and Garza, C. (1999). Potential mechanisms of metabolic imprinting that lead to chronic disease. *Am. J. Clin. Nutr.* *69*, 179-197.
- Wendel, AA., Li, LO., Li, Y.*et al.* (2010). Glycerol-3-phosphate acyltransferase 1 deficiency in ob/ob mice diminishes hepatic steatosis but does not protect against insulin resistance or obesity. *Diabetes* *59*, 1321-1329.
- Whorwood, CB., Firth, KM., Budge, H.*et al.* (2001). Maternal undernutrition during early to midgestation programs tissue-specific alterations in the expression of the glucocorticoid receptor, 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase isoforms, and type 1 angiotensin ii receptor in neonatal sheep. *Endocrinology* *142*, 2854-2864.
- Wild, S., Roglic, G., Green, A.*et al.* (2004). Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care* *27*, 1047-1053.
- Wilding, JP., Gilbey, SG., Bailey, CJ.*et al.* (1993). Increased neuropeptide-Y messenger ribonucleic acid (mRNA) and decreased neurotensin mRNA in the hypothalamus of the obese (ob/ob) mouse. *Endocrinology* *132*, 1939-1944.
- Wilkinson, M., Brown, R., Imran, SA.*et al.* (2007). Adipokine gene expression in brain and pituitary gland. *Neuroendocrinology* *86*, 191-209.
- Williams, G., Bing, C., Cai, XJ.*et al.* (2001). The hypothalamus and the control of energy homeostasis: different circuits, different purposes. *Physiol. Behav.* *74*, 683-701.
- Williams, G., Gill, JS., Lee, YC.*et al.* (1989). Increased neuropeptide Y concentrations in specific hypothalamic regions of streptozocin-induced diabetic rats. *Diabetes* *38*, 321-327.
- Wilson, BD., Ollmann, MM. and Barsh, GS. (1999). The role of agouti-related protein in regulating body weight. *Mol Med Today* *5*, 250-256.

- Winick, M. and Noble, A. (1966). Cellular response in rats during malnutrition at various ages. *J. Nutr.* 89, 300-306.
- Woliński, J., Biernat, M., Guilloteau, P.*et al.* (2003). Exogenous leptin controls the development of the small intestine in neonatal piglets. *J. Endocrinol.* 177, 215-222.
- Woods, KA., Camacho-Hübner, C., Savage, MO.*et al.* (1996). Intrauterine growth retardation and postnatal growth failure associated with deletion of the insulin-like growth factor I gene. *N. Engl. J. Med.* 335, 1363-1367.
- Woods, LL. and Weeks, DA. (2005). Prenatal programming of adult blood pressure: role of maternal corticosteroids. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 289, R955-62.
- Woods, SC. and Porte, DJ. (1977). Relationship between plasma and cerebrospinal fluid insulin levels of dogs. *Am. J. Physiol.* 233, E331-4.
- Woods, SC., Lotter, EC., McKay, LD.*et al.* (1979). Chronic intracerebroventricular infusion of insulin reduces food intake and body weight of baboons. *Nature* 282, 503-505.
- Wynne, K., Stanley, S., McGowan, B.*et al.* (2005). Appetite control. *J. Endocrinol.* 184, 291-318.

-X-

- Xiao, XQ., Grove, KL., Grayson, BE.*et al.* (2004). Inhibition of uncoupling protein expression during lactation: role of leptin. *Endocrinology* 145, 830-838.
- Xiao, XQ., Williams, SM., Grayson, BE.*et al.* (2007). Excess weight gain during the early postnatal period is associated with permanent reprogramming of brown adipose tissue adaptive thermogenesis. *Endocrinology* 148, 4150-4159.
- Xu, B., Dube, MG., Kalra, PS.*et al.* (1998a). Anorectic effects of the cytokine, ciliary neurotropic factor, are mediated by hypothalamic neuropeptide Y: comparison with leptin. *Endocrinology* 139, 466-473.
- Xu, B., Kalra, PS., Farmerie, WG.*et al.* (1999). Daily changes in hypothalamic gene expression of neuropeptide Y, galanin, proopiomelanocortin, and adipocyte leptin gene expression and secretion: effects of food restriction. *Endocrinology* 140, 2868-2875.
- Xu, B., Kalra, PS., Moldawer, LL.*et al.* (1998b). Increased appetite augments hypothalamic NPY Y1 receptor gene expression: effects of anorexigenic ciliary neurotropic factor. *Regul. Pept.* 75-76, 391-395.

-Y-

-
- Yang, Y., Song, H., Li, R.*et al.* (2003). The gene expression profiling of human visceral adipose tissue and its secretory functions. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* *300*, 839-846.
- Yaswen, L., Diehl, N., Brennan, MB.*et al.* (1999). Obesity in the mouse model of pro-opiomelanocortin deficiency responds to peripheral melanocortin. *Nat. Med.* *5*, 1066-1070.
- Yoshihara, T., Honma, S. and Honma, K. (1996). Effects of restricted daily feeding on neuropeptide Y release in the rat paraventricular nucleus. *Am. J. Physiol.* *270*, E589-95.
- Young, P., Arch, JR. and Ashwell, M. (1984). Brown adipose tissue in the parametrial fat pad of the mouse. *FEBS Lett.* *167*, 10-14.
- Younoszai, MK. and Ranshaw, J. (1973). Gastrointestinal growth in the fetus and suckling rat pups: effects of maternal dietary protein. *J. Nutr.* *103*, 454-461.

-Z-

- Zambrano, E., Bautista, CJ., Deás, M.*et al.* (2006). A low maternal protein diet during pregnancy and lactation has sex- and window of exposure-specific effects on offspring growth and food intake, glucose metabolism and serum leptin in the rat. *J. Physiol. (Lond.)* *571*, 221-230.
- Zhang, L. (2005). Prenatal hypoxia and cardiac programming. *J. Soc. Gynecol. Investig.* *12*, 2-13.
- Zhang, Y., Proenca, R., Maffei, M.*et al.* (1994). Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* *372*, 425-432.
- Zucker, L. and Zucker, T. (1967). Fatty a new mutation in the rat. *J. Heredity* , 52-275.