

Université de Lille II du Droit et de la Santé

Ecole doctorale Biologie-Santé de Lille

Thèse en vue de l'obtention du titre de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DU DROIT ET DE LA SANTE DE LILLE

Spécialité Physiologie

Titre : Etude de la voie des kynurénines dans l'obésité humaine

Présentée par Marie FAVENNEC

Thèse dirigée par le Dr. Odile POULAIN-GODEFROY

Soutenue publiquement le 5 Octobre 2015 à Lille

Devant les membres du jury :

Dr. Sophie LAYE

Rapporteur

Dr. Jean-François TANTI

Rapporteur

Dr. Nabila BOUATIA-NAJI

Examineur

Pr. Delphine ALLORGE

Examineur

Dr. David BLUM

Examineur

Dr. Odile POULAIN-GODEFROY

Directeur de thèse

Remerciements

Je remercie sincèrement le Docteur Sophie Layé et le Docteur Jean-François Tanti d'avoir accepté d'évaluer ce travail de thèse en tant que rapporteur. Je remercie également le Docteur Nabila Bouatia-Naji et le Docteur David Blum d'avoir accepté d'être membre du jury de cette thèse et également d'avoir fait partie de mon comité de suivi de thèse, merci pour vos conseils toujours avisés.

Un remerciement tout particulier au Professeur Delphine Allorge qui a participé à cette aventure depuis le début, au comité de suivi de thèse et qui a accepté également d'être membre du jury. Un grand merci pour les échanges scientifiques enrichissants durant ces 3 années.

J'adresse un très grand MERCI au Docteur Odile Poulain-Godefroy ma directrice de thèse. Merci pour ta patience, tes conseils tout au long de ces trois années, pour le temps que tu m'as accordé, pour nos réflexions scientifiques et nos discussions sur tout et rien également.

Je remercie également le Professeur Philippe Froguel de m'avoir accueilli dans son laboratoire pour réaliser ma thèse.

Cette thèse est le fruit d'un travail collaboratif avec les membres de mon unité et également les membres des unités d'EGID. Un grand merci à chacun car je ne peux pas tous vous citer ici.

Merci à l'équipe de choc ! Merci Audrey pour ce que tu m'as appris et pour avoir toujours été disponible. Merci Marlène, ton amitié est précieuse. Merci Manu pour ta gentillesse et ta bienveillance, tu as été un repère calme et rassurant pour moi au laboratoire depuis le début. Merci Ana, pour ton énergie et ta motivation inspirantes.

Un grand merci également à Benjamin Hennart, le roi de la spectro. Malgré ton emploi du temps très chargé tu as toujours su trouver du temps pour me répondre et pour nos dosages.

Je remercie l'équipe des statisticiens du laboratoire. Mille mercis Marie pour ton enthousiasme infatigable, pour tes explications et ta patience, tu as été un vrai atout pour mon travail de thèse et je t'en remercie.

Merci Loic et David pour votre disponibilité et vos compétences. Zotero will go on !

Un très grand merci enfin à tous les membres du laboratoire, vous formez une belle équipe soudée et efficace ! C'était un grand bonheur de travailler avec vous.

Merci aux compagnons de l'after-work, des cinémas, des bowlings, des soirées, des barbecues, des pique-niques, des badistes, des nageurs, des randonneurs, des pétanqueurs ... Vous êtes bien trop nombreux pour être cités ici, j'espère que vous vous reconnaitrez. Merci pour ces moments de détente et votre accueil très chaleureux (ce n'est pas un mythe !!).

Je remercie mes parents. Et voilà, un deuxième Docteur dans la famille. C'est grâce à vous, vous nous avez toujours encouragées et soutenues dans nos études. Merci, je ne le dirai jamais assez.

A ma sœur je ne peux que te remercier, ta réussite, ton courage et ta persévérance ont toujours été des modèles pour ta petite sœur.

A mes grands-parents, je vous aime et je suis très fière de vous.

A mes ondes et tantes, Françoise, Loïc, Michelle, Christian, Sandrine, Emmanuelle et Nicolas et à mes cousins et cousines, Laurianne, Cédric, Léa, Chloé, Titouan, Tanguy, Adam, Agathe, Malo et Juliette. Grâce à vous la famille est un pilier sans faille sur lequel nous pouvons tous compter.

A Thomas, avec tout mon amour.

Liste des publications

Favennec, M., Leloire, A., Hennart, B., Garat, A., Allorge, D., Froguel, P., and Poulain-Godefroy, O. (2013). P1027 L'activation de la voie de dégradation du tryptophane interfère avec le métabolisme des adipocytes. *Diabetes & Metabolism 39, Supplement 1*, A38.

Favennec, M., Hennart, B., Leloire, A., Bessede, A., Guillemin, G., Kerr-Conte, J., Allorge, D., Pattou, F., Froguel, P., and Poulain-Godefroy, O. (2014). O47 Dérégulation de la voie des kynurénines dans le diabète de type 2 associé à l'obésité. *Diabetes & Metabolism 40, Supplement 1*, A11–A12.

Favennec, M., Hennart, B., Pattou, F., Leloire, A., Yengo, L., Arredouani, A., Marre, M., Balkau, B., Chinetti, G., Staels, B., et al. (2015). O53 La voie des kynurénines est dérégulée dans l'obésité. *Diabetes & Metabolism 41, Supplement 1*, A15.

Favennec, M., Hennart, B., Pattou, F., Leloire, A., Yengo, L., Arredouani, A., Marre, M., Balkau, B., Chinetti, G., Staels, B., et al. (2015). Inflammatory macrophage infiltration in human obese adipose tissue increases tryptophan degradation toward kynurenine pathway. *Obes Facts 8, Supplement 1*.

Favennec, M., Hennart, B., Caiazzo, R., Leloire, A., Yengo, L., Verbanck, M., Arredouani, A., Marre, M., Pigeure, M., Bessede, A., et al. (2015). The kynurenine pathway is activated in human obesity and shifted toward kynurenine monooxygenase activation. *Obesity 23 (10)* 2066–2074

Sommaire

Abréviations	9
Liste des figures et des tableaux	12
Résumé	15
Abstract	16
Chapitre I : L'obésité	17
1. Généralités.....	17
a. Définition de l'obésité	17
b. Les chiffres de l'obésité	18
2. Les facteurs de risque de l'obésité, une pathologie multifactorielle.....	20
a. L'environnement.....	20
Evolution du mode de vie et sédentarisation.....	20
Le statut social et économique	21
Les perturbateurs endocriniens	22
b. L'héritabilité génétique.....	24
Les obésités d'origine monogénique.....	25
L'obésité d'origine polygénique commune	26
3. Le tissu adipeux	27
a. Description du tissu adipeux	28
i. Les adipocytes.....	29
ii. La fraction stroma-vasculaire.....	31
b. Les adipokines.....	33
c. Physiopathologie du tissu adipeux.....	35
4. Les complications de l'obésité.....	38
a. L'insulino-résistance et le diabète de type 2.....	39
Définition du diabète	39
Les chiffres du diabète	41
Les complications du diabète	42
Physiologie du pancréas.....	43
Physiopathologie du diabète de type 2	45
b. Autres complications métaboliques.....	48
Les pathologies cardiovasculaires.....	48
La stéatose hépatique non alcoolique.....	49
c. Autres complications non métaboliques	49
5. Les traitements de l'obésité.....	50
a. Intervention sur le mode de vie.....	50
b. Les traitements médicamenteux	51
c. La chirurgie bariatrique.....	53

i.	Présentation des chirurgies	54
	Le roux-en-Y bypass :	54
	L'anneau gastrique :	55
	La gastrectomie longitudinale :	55
ii.	Quels bénéfices pour la chirurgie bariatrique ?	56
Chapitre 2 : Le métabolisme du tryptophane		60
1.	Généralités	60
2.	Le métabolisme du tryptophane vers la voie de la sérotonine	62
a.	La synthèse de sérotonine	62
b.	Les fonctions de la sérotonine	63
3.	Le métabolisme du tryptophane vers la voie des kynurénines	65
a.	Les enzymes de la voie des kynurénines	66
	Les enzymes IDO1, IDO2 et TDO2	66
	Les enzymes KMO et KYNU	69
	Les enzymes Kynurénine AminoTransférase (KATs)	70
	Les enzymes QPRT et ACMSD	71
b.	Les propriétés des kynurénines	72
	Le tryptophane	72
	La kynurénine	73
	L'acide quinolinique	75
	L'acide kynurénique	77
	Le 3-hydrocykynurénine	79
	L'acide xanthurénique	80
4.	Les kynurénines et les maladies métaboliques	81
a.	L'obésité	81
b.	La dépression	83
c.	Le diabète	85
	Le diabète de type 2	85
	Le diabète gestationnel	88
	La synthèse <i>de novo</i> de NAD ⁺	90

Objectifs de la thèse	93
1. Objectif de l'étude 1.....	93
2. Objectif de l'étude 2.....	93
Chapitre 3 : Article 1 "The kynurenine pathway is activated in human obesity and shifted toward kynurenine monooxygenase activation."	95
Conclusion.....	128
Chapitre 4 : Association indépendante de la perte de poids entre les concentrations circulantes d'acide quinolinique et d'acide xanthurénique et l'homéostasie du glucose après la chirurgie bariatrique.....	133
1. Introduction	133
2. Matériels et méthodes	134
Sélection des patients.....	134
Dosage du tryptophane et des kynurénines dans les sérums	136
Analyse statistique.....	137
3. Résultats	138
4. Discussion.....	145
Conclusion générale	149
Références bibliographiques	153

Abréviations

3OHAA	3-hydroxy-acide anthranillique
3OHK	3-hydroxykynurénine
5-HT	Sérotonine
5-HTR	Récepteur de la sérotonine
AADAT	Aminoacide aminotransférase
AANAT	arylalkylamine <i>N</i> -acetyltransférase
ACMS	2-amino-3-carboxymuconate semialdéhyde
ACMSD	Aminocarboxymuconate semialdéhyde décarboxylase
ADA	Association Américaine pour le Diabète
ADP	Adénosine di-phosphate
AFMID	Arylformamide
AHR	Aryl Hydrocarbon Receptor
AMPc	Adénosine mono-phosphate cyclique
ANSES	Autorité Nationale
AP-1	Activating-protein 1
ATP	Adénosine tri-phosphate
BHE	Barrière hémato-encéphalique
C/EBP	<i>CCAAT/enhancer-binding proteins</i>
CCBL1	Cystéine conjugate beta 1
CCBL2	Cystéine conjugate beta 2
CCL2	Chemokine C-ligand 2
CD	Cluster de différenciation
CRP	Protéine C réactive
DDT	Dichlorodiphényltrichloroéthane
DEHP	Di-2-Ethylhexylphthalate
FABP4	<i>Fatty Acid Binding Protein 4</i>
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FTO	<i>Fat mass and obesity associated</i>
GLP-1	Glucagon like peptide 1
GLP-1R	Récepteur au GLP-1
GLUT	Transporteur du glucose
GWAS	<i>Genome wide association study</i>
HAS	Haute Autorité de Santé
HbA1c	Hémoglobine glyquée A1c
HDL	Lipoprotéine de Haute Densité
IDO1	indoléamine 2,3-dioxygénase 1
IDO2	indoléamine 2,3-dioxygénase 2
IFN	Interféron
IL	Interleukine
IMC	Indice de Masse Corporelle
iNOS	<i>Inducible Nitric Oxide Synthase</i>
IRF	<i>Interferon regulator factor</i>
KAT	Kynurenine-aminotransférase
K_{ATP}	Canaux potassique sensible à l'ATP

KLF	<i>Kruppel like factor</i>
KMO	Kynurénine monooxygénase
KYNU	Kynuréninase
LAT1	<i>L-type amino acid transporter 1</i>
LDL	Low density lipoprotein
LPS	Lipopolysaccharide
M1	Macrophage pro-inflammatoire
M2	Macrophage anti-inflammatoire
MAO-A	Monoamine oxydase-A
NAD	Nicotinamide Adénine dinucléotide
NAFLD	Stéatose hépatique non-alcoolique
NASH	Stéato-hépatite non-alcoolique
NF-κB	<i>Nuclear factor-kappa B</i>
NMDA	N-méthyl-D-aspartique
OGT	Test de tolérance au glucose
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
PARP	Poly-ADP-ribose polymérase
PLP	Pyridoxal 5-phosphate
PNNS	Programme National Nutrition et Santé
POMC	Proopiomélanocortine
POP	Polluant Organique Persistant
PPAR	<i>Peroxisome proliferator activated receptor</i>
QPRT	Quinolate phosphoryltransférase
RBP4	<i>Retinol binding protein 4</i>
RCPG	Récepteur couplé à une protéine G
RE	Reticulum endoplasmique
ROS	Espèces réactives de l'oxygène
RYGB	Bypass en roux-en-Y
SIDA	Syndrome de l'immuno déficience humaine
SIRT	Sirtuin
TCDD	2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin
TDO2	Tryptophane 2,3 dioxygénase
TGFβ1	<i>Transforming Growth Factor β1</i>
TLR4	<i>Toll like receptor 4</i>
TNFα	<i>Tumor Necrosis Factor α</i>
TPH	Tryptophane-5-hydroxylase
VIH	Virus de l'immnodéficience humaine

Liste des figures et des tableaux

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification de la maigreur, du surpoids et de l'obésité par l'IMC.....	18
Tableau 2 : Critères glycémiques définissant les statuts insulino-résistant et diabétique.	41
Tableau 3 : L'apport en tryptophane par l'alimentation dans la population Française.....	61
Tableau 4 : Cibles de l'acide kynurénique. (Moroni et al., 2012).....	78
Tableau 5 : Caractéristiques cliniques au moment de la chirurgie (M0).	136
Tableau 6 : Caractéristiques cliniques au moment de la chirurgie (M0) et un an après (M12).	139
Tableau 7 : Corrélation des concentrations en tryptophane, sérotonine et kynurénines avec les valeurs de CRPus.....	143
Tableau 8 : Associations entre l'amélioration de la glycémie et l'insulinémie à jeun, de l'HbA1c et de l'HOMA2-BS et les variations des concentrations de kynurénines.	145

Listes des figures

Figure 1 : Répartition de la population Française en fonction de l'IMC.	19
Figure 2 : Répartition de la population en situation d'obésité par niveau d'instruction.	22
Figure 3 : La régulation de la prise alimentaire par la voie leptine-mélanocortine.....	26
Figure 4 : Répartition du tissu adipeux chez l'Homme. (Ouchi et al., 2011).....	28
Figure 5 : Vue au microscope électronique en transmission d'un adipocyte blanc (gauche) et brun (droite) de rat.....	30
Figure 6 : Les facteurs de transcription de l'adipogénèse.	31
Figure 7 : Risque de mortalité en fonction de l'IMC.	39
Figure 8 : Estimation du nombre d'individus atteint par le diabète en 2013 et en 2035 dans le monde.....	42
Figure 9 : Profil bi-phasique de la sécrétion d'insuline en réponse au glucose.....	44
Figure 10 : Evolution de l'insulinorésistance vers le diabète.	47
Figure 11 : Représentation schématique des 3 types majeurs de chirurgie bariatrique.	54
Figure 12 : La voie des kynurénines : du tryptophane à la synthèse de NAD ⁺	62
Figure 13 : Représentation schématique des effets périphériques et centraux de la sérotonine.	65
Figure 14 : Représentation schématique du chromosome 8 humain.	66

Figure 15 : Régulation de l'expression de l'enzyme IDO1 de façon IFN γ -dépendante et IFN γ -indépendante.	68
Figure 16 : La voie de signalisation du facteur de transcription AhR.	75
Figure 17 : Induction d'un syndrome dépressif par l'inflammation en réponse à une infection.	85
Figure 18 : Quels rôles pour les kynurénines dans le diabète?	89
Figure 19 : Voie de synthèse et de recyclage du NAD ⁺	91
Figure 20 : Schéma récapitulatif.....	132
Figure 21 : Valeurs de l'HOMA2-BS, de l'HbA1c et de la glycémie avant et après la chirurgie.	140
Figure 22 : Les concentrations sériques du tryptophane, des kynurénines, de la sérotonine et du ratio K/T à M0 et M12.	142
Figure 23 : Concentrations en tryptophane, sérotonine et kynurénines et le ratio K/T dans les sérums des femmes diabétiques (n = 18) et des femmes normoglycémiques (n = 73) un an après la chirurgie bariatrique.	144
Figure 24 : Schéma récapitulatif.....	148
Figure 25 : Schéma illustrant les interactions connues et proposées entre la voie des kynurénines, l'obésité et le diabète de type 2.	151

Résumé

Le tryptophane, un acide aminé essentiel, est soit utilisé pour la synthèse protéique et la synthèse de sérotonine, soit dégradé en plusieurs métabolites appelés collectivement les kynurénines. L'expression et l'activité des enzymes de la voie des kynurénines sont stimulées par l'inflammation. La synthèse des kynurénines est donc susceptible d'être augmentée chez les individus obèses. En effet, l'obésité est caractérisée par une inflammation chronique à bas bruit du tissu adipeux, reflétée par l'augmentation de facteurs inflammatoires circulants qui contribuent à l'apparition de l'insulinorésistance et du diabète de type 2. Plusieurs métabolites de la voie des kynurénines pourraient être impliqués dans une perturbation de la sécrétion d'insuline. La chirurgie bariatrique est actuellement le traitement le plus efficace pour l'obésité sévère, elle permet une perte de poids significative ainsi qu'une diminution des facteurs inflammatoires circulants et une amélioration de l'insulinorésistance et du diabète. Il a été démontré que l'expression d'IDO1, la première enzyme de la voie des kynurénines, est plus élevée dans le tissu adipeux des individus obèses. Le ratio kynurénine sur tryptophane, qui reflète l'activité d'IDO1, est également augmenté chez les individus obèses.

Notre objectif a été de caractériser l'expression des enzymes de la voie des kynurénines dans le tissu adipeux et d'évaluer les concentrations des kynurénines dans les sérums de patientes obèses pour rechercher si certains de ces facteurs pouvaient être reliés à l'apparition du diabète. Ces études ont été réalisées dans une cohorte de femmes obèses normoglycémiques et diabétiques. Puis dans un second temps nous avons étudié les conséquences de la perte de poids induite par la chirurgie bariatrique sur les concentrations circulantes des kynurénines et évalué si les variations des concentrations des kynurénines pourraient expliquer en partie l'amélioration du diabète observée après la chirurgie.

Dans cette étude, nous avons montré que plusieurs enzymes de la voie sont plus exprimées dans le tissu adipeux des individus obèses que des minces. L'augmentation de l'expression des enzymes dans le tissu adipeux des individus obèses provient d'une part de la présence de macrophages pro-inflammatoires dans le tissu adipeux et également de la réponse des adipocytes aux stimuli pro-inflammatoires. En parallèle, nous avons montré que les concentrations circulantes des kynurénines et le ratio kynurénine sur tryptophane augmentent avec l'IMC et qu'ils diminuent un an après la chirurgie bariatrique. Nous avons montré que le maintien des concentrations d'acide kynurénique est associé à la rémission du diabète après la chirurgie, et également que le maintien des concentrations d'acide quinolinique et la diminution des concentrations d'acide xanthurénique sont associés à l'amélioration des traits cliniques qui définissent le diabète.

Abstract

Tryptophan, an essential amino acid, is either used in protein synthesis or metabolized via the serotonin or the kynurenine pathway. The kynurenine pathway is the main route of tryptophan degradation and generates several metabolites collectively called “kynurenines”. The expression of kynurenine pathway enzymes is induced by inflammatory mediators. Consequently kynurenine synthesis could be induced in individuals with obesity. In fact, obesity is characterized by a chronic low grade inflammation of the adipose tissue reflected by increased serum levels of inflammatory factors which are known to contribute to the development of obesity-induced insulin-resistance. Disturbed insulin secretion has been previously shown in pancreatic islet in presence of some metabolites of the kynurenine pathway. Bariatric surgery is currently the most effective treatment for severe obesity and results in a significant weight loss, a decreased level of inflammatory factors and an amelioration of glucose homeostasis. The first enzyme of the kynurenine pathway, IDO1, is known to be more expressed in the adipose tissue of individuals with obesity compared to lean individuals. The kynurenine over tryptophan ratio reflects the activity of IDO1 and is also increased in individuals with obesity.

Our objective was to characterize the expression of the kynurenine pathway enzymes in the adipose tissue of women with severe obesity and to evaluate serum levels of the kynurenine pathway metabolites to determine whether these factors could be associated with the appearance of diabetes. This study was performed in women with severe obesity with or without type 2 diabetes. Then we investigated the consequences of weight loss induced by bariatric surgery on levels of circulating kynurenines in order to evaluate whether these variations could explain the improvement in glucose control and type 2 diabetes remission after one year follow-up.

In this study, we have shown that several kynurenine pathway enzymes were more expressed in the adipose tissue of women with obesity compared to lean controls. This increase is due to the presence of pro-inflammatory macrophages in the adipose tissue and also comes from the adipocyte response to inflammatory stimuli. In addition, we observed that the serum level of kynurenines and kynurenine over tryptophan ratio are higher in women with higher BMI and they both decrease one year after bariatric surgery. We have shown that higher levels of kynurenic acid one year after the surgery is associated with type 2 diabetes remission and also that higher levels of quinolinic acid and decreased levels of xanthurenic acid are associated with better glucose homeostasis.

Chapitre I : L'obésité

1. Généralités

Le nombre de personnes en situation d'obésité ou en surpoids a dramatiquement augmenté ces dernières années et l'obésité est devenue un réel enjeu de santé publique mondiale. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) qualifie d'épidémie mondiale l'augmentation de la prévalence de l'obésité. Auparavant réservée aux pays développés à revenu élevé, cette épidémie concerne désormais également les pays en voie de développement.

a. Définition de l'obésité

Le surpoids et l'obésité sont définis par l'OMS comme « une accumulation anormale ou excessive de tissu adipeux qui représente un risque pour la santé ». Le diagnostic du surpoids et de l'obésité est établi par le calcul de l'Indice de Masse Corporel (IMC). L'IMC est calculé en divisant le poids (en kg) par la taille (en m) au carré. Une personne sera considérée en surpoids si son IMC est supérieur à 25 kg/m² mais inférieur à 30 kg/m². Elle sera considérée obèse si son IMC est supérieur à 30 kg/m². L'obésité est ensuite divisé en 3 classes : (i) obésité modérée si l'IMC est inférieur à 35, (ii) obésité sévère si l'IMC est inférieur à 40 et (iii) obésité morbide si l'IMC est supérieur à 40 (Tableau 1). L'IMC est communément utilisé pour évaluer la prévalence de l'obésité dans une population du fait de sa simplicité. Cependant il faut souligner que cet indice n'est pas réellement un indicateur de l'excès de tissu adipeux et ne distingue pas la masse de tissu adipeux de la masse musculaire. Il ne convient pas, par exemple, à des sportifs qui peuvent avoir un IMC élevé sans présenter un excès de tissu adipeux. Il a été montré également que l'IMC dépend du genre et de l'âge des individus, les valeurs d'IMC surestiment l'excès de tissu adipeux chez les hommes et le sous-estiment chez les individus âgés (Pasco et al., 2012). Les auteurs de cet article proposent d'ailleurs de réaliser des classes d'IMC en fonction de l'âge et du sexe des individus.

Tableau 1 : Classification de la maigreur, du surpoids et de l'obésité par l'IMC

	Classe de l'obésité	IMC (kg/m ²)	Risque de morbidité associé
Dénutrition		< 16,5	-
Maigreur		< 18,5	Faible
Poids normal		18,5 - 24,9	Moyen
Surpoids		25,0 - 29,9	Accru
	I. modérée	30,0 - 34,9	Modéré
Obésité	II. sévère	35,0 - 39,9	Important
	III. morbide	≥ 40	Très important

Pour améliorer l'évaluation de l'obésité par l'IMC, cet indice peut être associé à un 2^{ème} indice aisément mesurable : le tour de taille. La mesure du tour de taille permet d'évaluer la répartition de la masse grasse au niveau abdominal. Le ratio tour de taille sur tour de hanche est également un indice communément utilisé pour déterminer l'obésité abdominale. Il est reconnu que l'obésité abdominale est un facteur de risque pour les complications de l'obésité indépendamment de l'IMC (Fox et al., 2007). L'augmentation du tour de taille a été également fortement associée au risque d'infarctus du myocarde (Yusuf et al., 2005) et plus globalement au risque de mortalité indépendamment de l'IMC (Jacobs et al., 2010). En Europe, un tour de taille supérieur à 80 cm chez les femmes (ou un ratio tour de taille sur tour de hanche > 0,85) et 94 cm chez les hommes (ou un ratio tour de taille sur tour de hanche > 1) est associé à un risque accru de complications métaboliques.

b. Les chiffres de l'obésité

Les pays développés ainsi que les pays en développement sont concernés par l'augmentation de la prévalence de l'obésité et du surpoids dans la population même si la prévalence de l'obésité est plus importante dans les pays développés. D'ailleurs dans les pays en développement, l'obésité et la dénutrition coexistent fréquemment. D'après l'OMS, la prévalence de l'obésité dans le monde a doublé entre 1980 et 2014 et l'obésité est devenue le premier facteur de risque de décès (3,4 millions de décès par an). L'OMS estime que 1,9 milliards d'adultes (18 ans et plus) sont en surpoids parmi lesquels 6 000 000 sont obèses. Il est observé toutefois depuis 2002 un ralentissement de

l'augmentation de la prévalence de l'obésité et du surpoids surtout dans les pays développés (Ng et al., 2014).

En France, depuis 1997 une grande étude épidémiologique sur le surpoids et l'obésité est réalisée tous les 3 ans : l'étude ObEpi. Cette enquête est réalisée auprès d'un échantillon d'environ 20000 adultes (18 ans et plus) représentatifs de la population française, la dernière enquête a été réalisée en 2012. Cette étude révèle qu'en France, 32,3 % de la population est en surpoids et 15 % sont obèses (Figure 1). La prévalence de l'obésité augmente depuis 15 ans mais en 2012, l'étude a révélé que cette augmentation tendait à diminuer de façon claire, en effet entre 1997 et 2000, le nombre de français obèse a augmenté de 18,8 %, il a augmenté de 17,8 % entre 2000 et 2003, de 10,1 % entre 2003 et 2006, de 10,7 % entre 2006-2009 et plus que de 3,4 % entre 2009 et 2012.

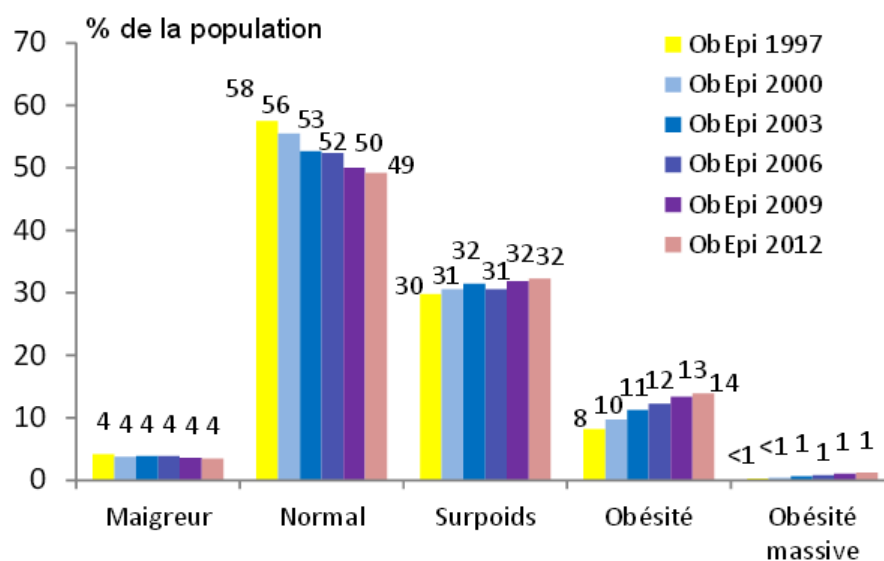


Figure 1 : Répartition de la population Française en fonction de l'IMC. Résultats des l'étude ObEpi de 1997 à 2012 sur des adultes âgés de plus de 18 ans.

2. Les facteurs de risque de l'obésité, une pathologie multifactorielle

L'obésité provient d'un déséquilibre entre les apports énergétiques (la prise alimentaire) et les dépenses énergétiques (métabolisme de base et activité physique). L'installation de ce déséquilibre sur le long terme se traduit par une balance positive pour les apports énergétiques; les apports énergétiques excédentaires sont alors stockés, principalement dans le tissu adipeux. Si ce principe de base est simple, les recherches ont montré que l'obésité est une pathologie multifactorielle complexe. L'épidémie d'obésité est également attribuée à des facteurs de prédisposition génétique et également à plusieurs facteurs environnementaux : l'environnement social et économique, l'évolution du régime alimentaire et du mode de vie (Albuquerque et al., 2015; Egger and Dixon, 2014).

a. L'environnement

L'obésité a été considérée initialement comme un état auto-infligé dont les individus atteints étaient les seuls responsables. L'augmentation dramatique du nombre d'individus concernés par le surpoids et l'obésité ont remis en cause cette croyance. Cependant toujours actuellement les individus en situation d'obésité sont stigmatisés. En effet les causes de l'obésité proposées par la population sont en premier lieu le manque d'activité physique (75 % - 82 %), puis l'excès alimentaire (73 %) et le manque de volonté (59 % - 65 %) (Sikorski et al., 2011). Les facteurs héréditaires et socio-économiques sont moins fréquemment associés aux causes de l'obésité, respectivement 30 à 35 % et 50 à 60 %. Pourtant nous allons le voir il existe de fortes composantes socio-économiques et génétiques pour le risque d'obésité.

Evolution du mode de vie et sédentarisation

L'évolution rapide de la prévalence de l'obésité dans la population est liée aux changements de mode de vie vers le mode de vie occidental sédentaire moderne. Dans les années 70 et 80, il a été observé en Europe et en Amérique du Nord une transition épidémiologique, cette transition

épidémiologique intervient quand les maladies d'origine non-infectieuse comme le diabète de type 2, les pathologies cardio-vasculaires ou encore les cancers prennent le pas sur les pathologies d'origine infectieuse et deviennent les maladies prépondérantes (Egger and Dixon, 2014). Cette transition est actuellement en cours au Brésil, en Inde et en Chine par exemple.

Les facteurs de risques pour l'obésité sont la suralimentation et l'inactivité physique comme attendu. Le mode de vie occidental actuel promeut l'augmentation de la prise alimentaire car l'accessibilité à la nourriture est améliorée, l'industrialisation des repas est associée également à l'augmentation de la taille des portions et à la densité énergétique des repas. La dépense énergétique au contraire est diminuée car moins d'emplois nécessitent une activité physique et les activités de loisirs sédentaires se développent (télévision, navigation sur internet, jeux-vidéo, ...) ; le développement et la généralisation des moyens de transport passifs ainsi que l'amélioration du chauffage dans les habitations sont des progrès indéniables de la qualité de vie mais ils ont également contribué à la diminution des dépenses énergétiques (Egger and Dixon, 2014).

Le statut social et économique

L'étude épidémiologique sur le surpoids et l'obésité ObEpi réalisée en France depuis 1997 inclut une analyse des facteurs socio-économiques. Cette étude révèle une forte inégalité face au surpoids et à l'obésité en fonction du niveau d'instruction, de l'activité professionnelle et des revenus des individus dès 1997 et cela est toujours d'actualité en 2012. En 2012, 24,5 % des individus dont le niveau d'instruction est faible (primaire) sont en surpoids contre 14,3 % pour les individus ayant le niveau Bac et 7,3 % pour ceux ayant un diplôme du 3^{ème} cycle (Figure 2).

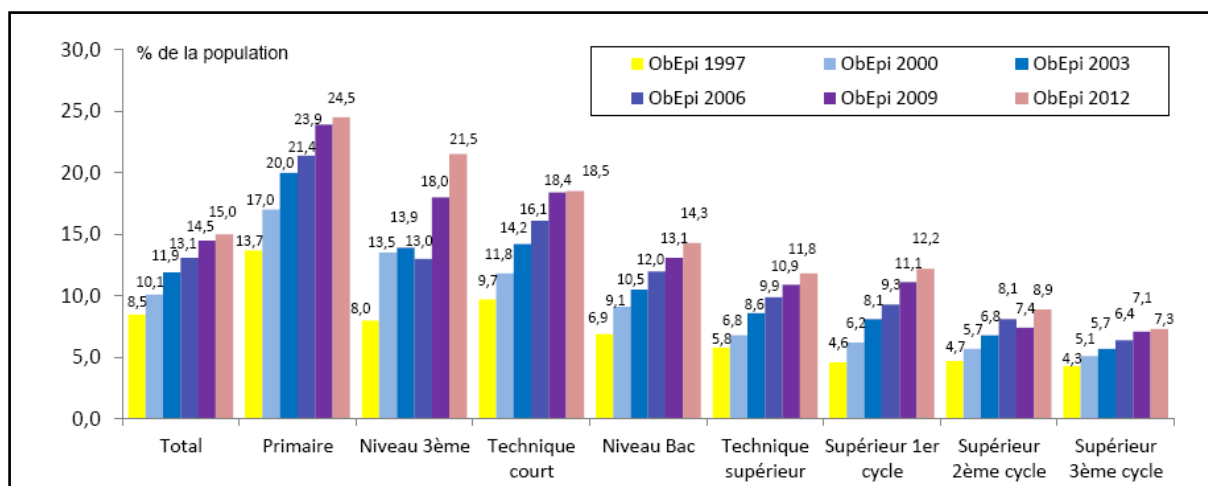


Figure 1 : Répartition de la population en situation d'obésité par niveau d'instruction. Résultats des études ObEpi de 1197 à 2012 sur la population française adulte.

Il existe également une relation inversement proportionnelle entre le risque de surpoids et le niveau de revenu mensuel du foyer. En cas de revenu mensuel du foyer inférieur à 900€, 25,6% des individus sont en surpoids alors que pour un revenu supérieur à 2300€ mensuel, moins de 16% des individus sont en surpoids. Ces différences en fonction du statut socio-économique sont également observées par Stringhini et al. sur une population britannique. Ils ont montré dans leur étude que la proportion d'individus en situation d'obésité était plus élevée dans le groupe au statut socio-économique faible par rapport au groupe socio-économique élevé (respectivement 11,8 % et 7,9 %) (Stringhini et al., 2012).

Les perturbateurs endocriniens

La communauté scientifique et médicale s'intéresse également aux facteurs de risque non-traditionnels de l'obésité, notamment l'exposition à plusieurs polluants chimiques qu'on appelle des perturbateurs endocriniens. Selon l'OMS, "un perturbateur endocrinien potentiel est une substance ou un mélange exogène, possédant des propriétés susceptibles d'induire une perturbation endocrinienne dans un organisme intact, chez ses descendants ou au sein de (sous)-populations." Ce sont des substances chimiques naturelles ou artificielles qui interfèrent avec le fonctionnement des glandes endocrines. Le perturbateur endocrinien comme son nom l'indique peut perturber la

production ou la régulation des hormones, mimer l'action d'une hormone naturelle ou l'empêcher de se fixer à son récepteur et empêcher la transmission du signal hormonal. On distingue les hormones naturelles produites par l'organisme (œstrogènes, testostérone, hormones thyroïdiennes, insuline,...) ou par les plantes (phytoestrogènes) des perturbateurs endocriniens d'origine artificielle. A noter que certains sont fabriqués précisément pour leur effet sur le système endocrinien, en particulier les oestro-progestatifs des pilules contraceptives. Par contre pour les perturbateurs endocriniens utilisés dans l'industrie, l'agriculture ou dans le processus de fabrication de produits de consommation, l'effet sur les hormones n'est pas intentionnel. Les perturbateurs endocriniens artificiels les plus étudiés et les plus fréquents sont les phtalates, le bisphénol A et certains polluants organiques persistants. Ils sont bien sur connus pour perturber la fonction reproductrice mais ils sont également associés au syndrome métabolique, à l'obésité et au diabète.

Les Polluants Organiques Persistants (POP) sont des composés organiques qui résistent à la dégradation photolytique, biologique et chimique. Ils sont peu solubles dans l'eau mais très solubles dans les lipides ce qui entraîne leur accumulation dans le tissu adipeux. Des souris nourries avec un régime riche en POP ont un gain de poids et de masse de tissu adipeux ainsi que des taux de triglycérides plus élevés que les souris nourries avec un régime normal (Ibrahim et al., 2011). Les phtalates et le bisphénol A sont des agents plastifiants qui confèrent aux plastiques comme le PVC (polychlorure de vinyle) des propriétés de souplesse et de flexibilité et aussi de meilleure résistance au froid. Ils ne sont pas persistants mais sont présents dans de nombreux produits du quotidien en plastique et diffusent facilement dans la nourriture. Les phtalates sont des agonistes des récepteurs peroxysome proliferator-activated : PPAR α et PPAR γ (Feige et al., 2007; Thayer et al., 2012). Le phtalate le plus couramment utilisé est le DEHP (Di-2-Ethylhexylphthalate). Une étude chez 2300 femmes américaines a montré que les concentrations urinaires de 3 métabolites du DEHP (le Mono-2-Ethylhexylphthalate, le mono-2-ethyl-5-hydroxyhexylphthalate, et le mono-2-ethyl-5-oxohexylphthalate) sont plus grandes chez les femmes ayant un IMC élevé (James-Todd et al., 2012). Chez la souris, l'exposition au DEHP induit une augmentation de la prise alimentaire, une

augmentation du poids corporel et de la masse du tissu adipeux viscéral. Le bisphénol A augmente l'adipogénèse de la lignée d'adipocytes murins 3T3-L1 (Masuno et al., 2005) et il est associé au risque d'obésité dans des études épidémiologiques (Welshons et al., 2006). Le bisphénol A est interdit en France dans les contenants de produit alimentaire depuis 2015, mais il est remplacé en général par des produits de la même famille tels que le bisphénol S et F. Les propriétés de ces bisphénols sont moins connus mais ils semblent avoir le même effet que le bisphénol A sur l'adipogénèse (Masuno et al., 2005).

b. L'héritabilité génétique

La variabilité génétique explique les variabilités individuelles de prédisposition à l'obésité pour une mode de vie équivalent, c'est ce que l'on appelle l'héritabilité génétique. Une grande étude prospective réalisée sur des jumeaux a montré que l'héritabilité génétique expliquait entre 70% et 90% des cas d'obésité chez les jumeaux monozygotes et 35% à 45% chez les jumeaux hétérozygotes (Stunkard AJ et al., 1986). Le plus grand facteur de risque pour l'obésité chez les enfants est d'ailleurs l'obésité parentale, un individu dont les deux parents sont obèses a 2 fois plus de risque d'être obèse à l'âge adulte qu'un individu dont les parents sont minces (Whitaker et al., 1997). Ces résultats ont été confirmés grâce à une étude réalisée sur une cohorte d'enfants adoptés qui a montrée que l'IMC de l'enfant était très dépendant de l'IMC des parents biologiques mais pas de l'IMC des parents adoptants ; cela était vrai pour les enfants obèses ou en surpoids et également pour les enfants très minces (Stunkard et al., 1986).

Il faut distinguer les obésités de type monogénique, qui sont expliquées par une mutation très pénétrante sur un seul gène et les obésités de type polygénique qui résultent des interactions de polymorphismes sur plusieurs gènes et l'environnement que l'on appelle aussi « obésité commune ».

Les obésités d'origine monogénique

Les obésités monogéniques sont dues à des mutations très pénétrantes et représentent une très faible part des cas d'obésité observés actuellement, on estime à 5% la part de ces individus obèses. Ce sont des formes sévères d'obésité qui se déclarent de façon très précoce. A ce jour, les obésités monogéniques sont classées en 2 catégories, les obésités non-syndromique, c'est-à-dire caractérisée principalement par l'obésité et les obésités monogéniques syndromiques, c'est-à-dire associée avec un ensemble de signes cliniques en plus de l'obésité.

Les gènes impliqués dans les obésités monogéniques non-syndromiques sont souvent des gènes de la voie anorexigène de la leptine-mélanocortine. La leptine est une hormone sécrétée par le tissu adipeux, appelée également hormone de la satiété, elle a un effet inhibiteur sur les neurones orexigènes également appelées les neurones à Neuropeptide Y et elle active les neurones anorexigènes, appelées neurones à proopiomélanocortine (POMC) (Schwartz and Porte, 2005). Ces neurones sont situés dans l'hypothalamus et jouent un rôle central dans la régulation de la prise alimentaire (Figure 3). En réponse à la leptine, les neurones POMC sécrètent l'hormone mélanocortine qui exerce ses effets anorexigènes *via* des récepteurs spécifiques appelées récepteurs de la mélanocortine 3 et 4 (MC3R ou MC4R). Le gène PCSK1 code pour la proconvertase 1 qui clive la pro-hormone proopiomélanocortine en mélanocortine.

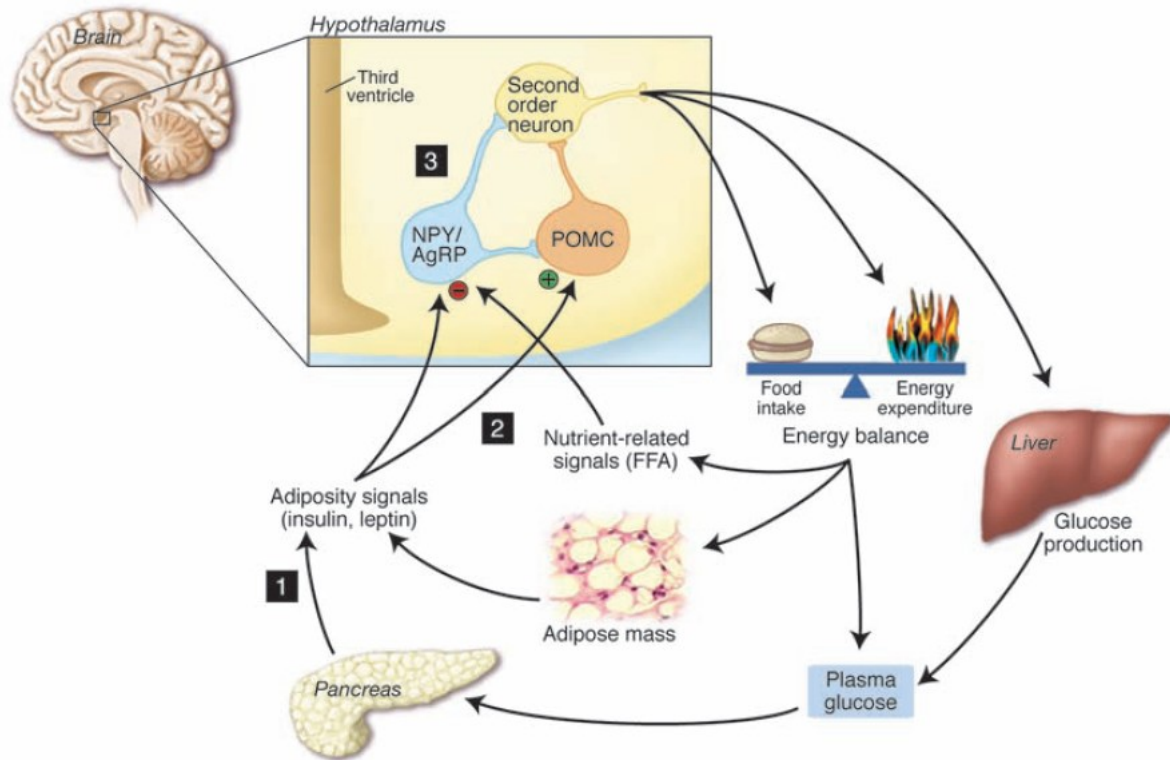


Figure 2 : La régulation de la prise alimentaire par la voie leptine-mélanocortine. (Schwartz and Porte, 2005)

L'obésité d'origine polygénique commune

L'obésité d'origine polygénique à l'inverse de l'obésité d'origine monogénique est caractérisée par des polymorphismes sur plusieurs gènes dont la pénétrance est faible. Ils expliquent la variabilité interindividuelle et la susceptibilité de chacun au risque de développer une obésité. Chaque variant génétique explique un faible pourcentage du risque d'obésité, si il n'est pas associé à d'autres variants et à un environnement obésogène le risque d'obésité est faible. Ce type d'obésité représente la majorité des cas d'obésité. Le développement des technologies de génotypage par puce à ADN a permis aux équipes de chercheurs de mener des études d'associations de génome entier (GWAS, Genome Wide Association Study). Dès 2005, des études de GWAS ont été réalisées dans des grandes cohortes avec un groupe d'individus obèses *versus* des témoins contrôles. Ces études ont donc permis de sélectionner des gènes candidats qui pourraient être associés au développement de l'obésité.

Le premier variant commun associé à l'obésité grâce aux études de GWAS est situé dans la région du gène FTO (Fat mass and Obesity associated) (Frayling et al., 2007). L'effet de cette mutation est relativement faible, en moyenne les individus homozygote pour l'allèle à risque pesaient 3 kg de plus que les individus sans allèle à risque (Frayling et al., 2007). Le deuxième gène découvert associé à l'obésité commune est le gène MC4R, qui est déjà connu pour être associé à une forme monogénique d'obésité. Il a été montré que les variants génétique situés à proximité de FTO et MC4R ont un effet additif sur l'IMC (Loos et al., 2008). A ce jour, plus de 50 loci ont été associés à l'obésité grâce aux études de GWAS. Pourtant les variants connus associés à l'obésité expliquent seulement 1 à 4% de la variation de l'IMC alors que la part de l'héritabilité est estimée à 40 % voire à 70% suite aux études réalisées sur les jumeaux. C'est ce qu'on appelle l'héritabilité manquante.

Les études du nombre de copies des gènes (CNV) ont permis également de découvrir des nouveaux gènes associés au risque d'obésité comme la délétion du chromosome 16 La délétion d'une section d'environ 600 kb sur le chromosome 16 au locus p11.2 est en effet une variabilité génétique avec un risque très pénétrant pour l'obésité (Walters et al., 2010). Cette section comprend 28 gènes dont le gène codant pour l'enzyme quinolinate phosphoryltransférase (QPRT) de la voie des kynurénines sur lequel nous reviendrons dans le chapitre 2. La délétion du locus est associée à une diminution de l'expression des 28 gènes du locus et à un fort risque d'obésité tandis que la duplication est associée à une augmentation de leur expression et à un risque de maigreur (Jacquemont et al., 2011). A noter également que la délétion est associée à l'autisme et la duplication est associée à la schizophrénie.

3. Le tissu adipeux

L'obésité est donc définie comme une accumulation anormale ou excessive de tissu adipeux, on observe une augmentation de la masse du tissu adipeux et une augmentation du stockage des acides gras libres sous forme de triglycérides dans ce tissu. Un phénomène majeur associé à l'obésité

est la présence d'une inflammation à bas bruit chronique du tissu adipeux et qui devient systémique. Ce phénomène inflammatoire est une des causes d'apparition des complications associées à l'obésité.

a. Description du tissu adipeux

Le tissu adipeux est un isolant thermique et mécanique et il est également un lieu de stockage de l'énergie. Il est le garant de l'homéostasie lipidique, c'est le lieu de stockage des acides gras libres qui s'associent avec le glycérol pour former les triglycérides. En période d'abondance alimentaire, les acides gras libres apportés par l'alimentation sont stockés sous forme de triglycérides dans les adipocytes, c'est la lipogenèse. La lipogenèse est sous le contrôle de certaines hormones, notamment la leptine et également l'insuline. En période de restriction calorique, les triglycérides sont hydrolysés par des enzymes de type lipase en acides gras libres qui sont libérés dans la circulation sanguine et peuvent être utilisés par les cellules de l'organisme pour générer de l'énergie sous forme d'adénosine triphosphate (ATP), c'est la lipolyse. Le tissu adipeux est principalement situé au niveau viscéral et sous-cutané, mais on retrouve aussi du tissu adipeux autour des vaisseaux sanguins, autour du cœur, des reins et des poumons (Figure 4).

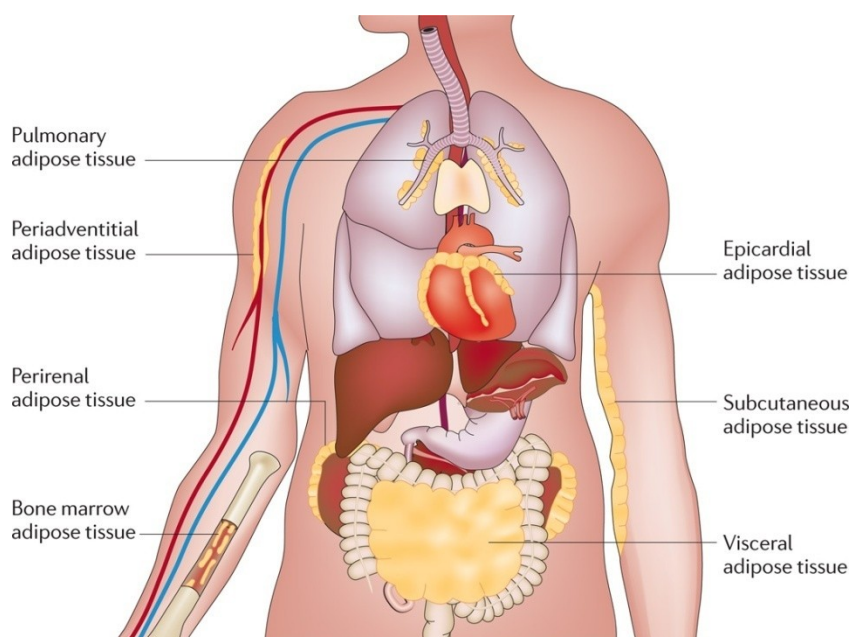


Figure 3 : Répartition du tissu adipeux chez l'Homme. (Ouchi et al., 2011)

Pendant de nombreuses années, le tissu adipeux a été uniquement considéré comme un lieu de stockage des triglycérides, mais il est désormais admis que ce tissu est également un organe endocrine. Les découvertes au début des années 90 de la capacité du tissu adipeux à sécréter la leptine et le Tumor Necrosis Factor α (TNF α) ont initié la recherche sur peptides et protéines sécrétées par le tissu adipeux. Ces molécules sont appelées adipokine, *via* ces adipokines le tissu adipeux joue un rôle dans la régulation du métabolisme et de l'appétit et dans le développement des pathologies associées à l'obésité. La plupart de ces molécules sont dérégulées dans l'obésité, certaines sont des adipokines anti-inflammatoires mais certaines ont également des propriétés pro-inflammatoires et sont impliquées dans le développement du syndrome métabolique.

i. Les adipocytes

Le tissu adipeux est constitué principalement de cellules adipeuses : les adipocytes. Ces adipocytes sont appelés adipocytes blancs, ils sont spécialisés dans le stockage de l'énergie sous forme de triglycérides dans une unique vésicule appelée également gouttelette lipidique (Figure 5). Il existe également des cellules adipocytaires appelées adipocytes bruns. Les adipocytes bruns sont spécialisés dans la thermogénèse, ils consomment du glucose et des acides gras pour maintenir une température corporelle adéquate. De ce fait, ces adipocytes contiennent un très grand nombre de mitochondries ainsi que des petites gouttelettes lipidiques qui servent de carburant aux mitochondries (Figure 5). Le tissu adipeux brun est constitué d'une majorité d'adipocytes bruns, il est présent chez les nouveau-nés, et il est induit par l'exposition au froid chez les adultes, principalement au dessus des épaules dans le cou (van Marken Lichtenbelt et al., 2009). Dans cette même étude, les chercheurs ont mesuré l'activité du tissu adipeux brun chez des individus obèses et chez des individus minces : l'induction du tissu adipeux brun par le froid est plus faible chez les individus obèses que chez les individus minces (van Marken Lichtenbelt et al., 2009). Le tissu adipeux brun est donc une cible thérapeutique intéressante pour augmenter la dépense énergétique des individus obèses.

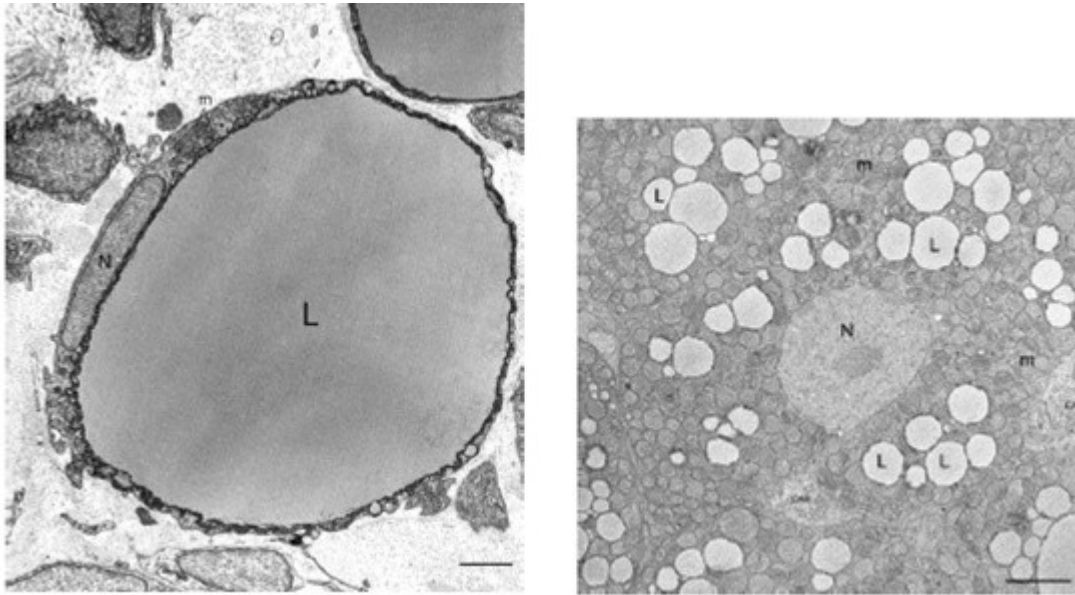


Figure 4 : Vue au microscope électronique en transmission d'un adipocyte blanc (gauche) et brun (droite) de rat.
N, noyau; m, mitochondrie; L, gouttelette lipidique. Echelle: 3 μ m. (Giordano et al., 2014)

Ces deux types d'adipocytes proviennent de la différenciation des cellules souches mésenchymateuses pluripotentes. La première étape consiste en la différenciation des cellules souches en cellules précurseurs appelées pré-adipocytes blancs et pré-adipocytes bruns. Les pré-adipocytes blancs sont ensuite différenciés en adipocytes blancs matures en présence de signaux d'adipogénèse : l'insuline, les glucocorticoïdes, des agonistes du récepteur PPAR γ (peroxysome proliferator-activated receptor γ) tels que les acide gras libres et les dérivés d'acide gras libres (Grün, 2014; Sarjeant and Stephens, 2012). La différenciation adipocytaire débute par l'action des facteurs de transcription de la famille activating-protein 1 (AP-1) qui activent l'expression de la protéine FABP4 (Fatty Acid Binding Protein 4 ou aP2), qui est un transporteur d'acide gras (Figure 6). Les facteurs de transcription Kruppel-like factor 4, 5, 6 et 15 (KLF) sont exprimés très tôt au cours de la différenciation et sont aussi des facteurs pro-adipogènes. KLF4, KLF5 et KLF6 sont impliqués dans le stockage des lipides et KLF15 dans la sensibilité à l'insuline des adipocytes. Les facteurs de transcription CCAAT/enhancer-binding proteins (C/EBP) β et δ sont également des facteurs clés dans la différenciation des adipocytes car les animaux invalidés (Knock-out, KO) pour ces gènes montrent

un déficit de stockage des lipides. Le facteur de transcription majeur de la différenciation adipocytaire est PPAR γ , en effet la majorité des facteurs de transcription pro ou anti-adipogénèse jouent sur l'expression de PPAR γ . C/EBP β , C/EBP δ et KLF5 que j'ai mentionné précédemment stimule la transcription du gène PPAR γ . La délétion de PPAR γ chez la souris est létale, mais les souris KO pour PPAR γ spécifiquement dans le tissu adipeux sont viables et présentent des défauts de développement du tissu adipeux et une résistance à l'insuline (Sarjeant and Stephens, 2012). Ces adipocytes matures ont donc acquis la capacité de stocker les acides gras sous forme de vésicules ou gouttelettes lipidiques et expriment des marqueurs de différenciation spécifiques tels que FABP4, ils ont également acquis une sensibilité à l'insuline.

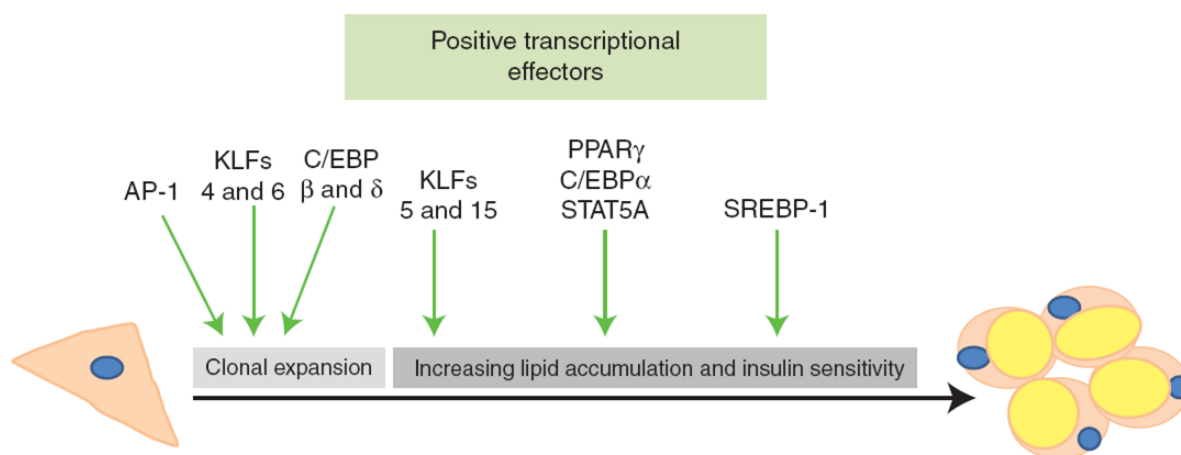


Figure 5 : Les facteurs de transcription de l'adipogénèse. Les préadipocytes sont différenciés en adipocytes matures capables de stocker les acides gras sous forme de triglycérides et sensibles à l'insuline

ii. La fraction stroma-vasculaire

La fraction stroma-vasculaire du tissu adipeux comprend l'ensemble des cellules non-adipeuses du tissu. Ce sont des cellules endothéliales des vaisseaux sanguins qui circulent dans le tissu adipeux, des pré-adipocytes qui sont les précurseurs des adipocytes et également des cellules immunes telles que les macrophages et les lymphocytes. Les cellules immunitaires du tissu adipeux

sont capitales pour le maintien de l'intégrité du tissu adipeux et participent à la suppression des cellules en apoptose du tissu adipeux. Ce sont principalement des lymphocytes T et également des macrophages qui représentent jusqu'à 10% des cellules du tissu adipeux.

Les macrophages sont des cellules immunitaires capables de phagocytose, ce sont des cellules infiltrantes qui phagocytent les débris cellulaires et sont présents dans tous les tissus. Les macrophages sont dérivés de monocytes circulants eux-mêmes issus des cellules souches polynudéaires de la moelle osseuse. Les monocytes circulants se transforment en macrophages dans les tissus. La différenciation des monocytes en macrophages est activée par des stimuli spécifiques présents dans l'environnement local et qui va aboutir à des macrophages de différents phénotypes possédant des propriétés et des fonctions différentes. Ils expriment à leur surface des marqueurs spécifiques qui permettent de les identifier : le cluster de différenciation 68 (CD68) chez l'Homme et le marqueur F4/80 chez la souris. Il existe donc une grande variabilité des sous-population de macrophages mais il est admis de façon simplifiée que les monocytes peuvent se différencier en 2 voies de macrophages, les macrophages de type pro-inflammatoire M1 ou les macrophages de type anti-inflammatoire M2 (Gordon and Taylor, 2005). Ces macrophages expriment différents types de marqueurs de surface et sécrètent des molécules ou chémokines distinctes qui permettent de les distinguer. Les macrophages au profil pro-inflammatoire sont obtenus *in vitro* à partir de monocytes par l'ajout de LPS ou d'interféron- γ (IFN- γ). Ils sécrètent des cytokines pro-inflammatoires telles que le TNF α , l'Interleukine 6 (IL-6) et l'interleukine 12 (IL-12) et exprime la protéine iNOS (inducible Nitric Oxyde Synthase). Ces macrophages sont impliqués dans la réponse immunitaire et antimicrobienne et les processus inflammatoires. Les macrophages M2 de type anti-inflammatoire sont obtenus *in vitro* à partir de monocytes en présence d'interleukine-4 (IL4) ou d'interleukine-13 (IL13). Ces macrophages sécrètent peu de cytokines pro-inflammatoires et sécrètent au contraire des cytokines anti-inflammatoires comme l'interleukine-10 (IL10). Ces macrophages sont des cellules régulatrices de l'inflammation, elles favorisent la réparation des tissus lésés dans un 2^{ème} temps après la réponse inflammatoire.

Les lymphocytes T sont les cellules de l'immunité adaptative et sont divisés en deux populations majeures, les lymphocytes T exprimant CD8 et les lymphocytes T exprimant CD4. Les lymphocytes T CD8⁺ sont les lymphocytes T cytotoxiques supresseurs. Ils participent à la lyse des cellules infectées par des virus, bactéries ou parasites. Les lymphocytes T CD4⁺ sont également appelés lymphocytes T auxiliaires, ce sont des régulateurs de la réponse immunitaire. Il existe plusieurs sous-population de lymphocytes T CD4⁺ et leur différenciation est dépendante de la présence de cytokines spécifiques comme nous allons le voir (Liu et al., 2013). Les lymphocytes TH1 sont des lymphocytes pro-inflammatoires qui sécrètent les cytokines IL2, IFN γ , TNF α . Ils sont différenciés en TH1 en présence des cytokines IL12 et IFN γ . Les lymphocytes TH17 sont également des lymphocytes pro-inflammatoires, ils sont caractérisés par la présence du facteur de transcription RAR-related orphan receptor C (RORC) et sécrètent l'interleukine 17 (IL17). Les lymphocytes Th2 et Treg au contraire sont des lymphocytes anti-inflammatoires et sécrètent respectivement les cytokines anti-inflammatoires IL4 - IL10 et IL10 - TGF β 1 (Transforming Growth Factor β 1). Les lymphocytes T CD4⁺ se différencient en lymphocytes TH2 en présence des cytokines IL4 et IL33. Les Treg sont caractérisés par la présence du facteur de transcription forkhead box P3 (FOXP3) et se différencient en présence de la cytokine TGF β 1. Ces lymphocytes Treg sont des acteurs majeurs de la tolérance immunitaire, ils sont capables notamment de supprimer les lymphocytes TH1 et TH2.

b. Les adipokines

Les adipokines sont des petites molécules produites par le tissu adipeux, ce sont des molécules aux effets pro ou anti-inflammatoires qui sont présentes dans la circulation et peuvent jouer un rôle au niveau systémique. La leptine et l'adiponectine sont les deux adipokines principales, on peut noter tout de même d'autres molécules sécrétées par les adipocytes comme la résistine, la visfatine, la vaspine, l'omentine, l'apeline et le serum retinol-binding protein 4 (RBP4). La résistine est exprimée par les adipocytes et également dans d'autres tissus (pancréas, muscle squelettique, rate,

hypothalamus, ...), c'est une adipokine pro-inflammatoire. Elle augmente la production de TNF α et d'IL-6. La production de résistine est d'ailleurs activée par certaines cytokines pro-inflammatoires et inhibée par les agonistes de PPAR γ . Les résultats des recherches sur la visfatine sont plus contradictoires, caractérisée dans un premier temps comme une adipokine bénéfique mimétique de l'insuline, elle est désormais considérée comme une adipokine pro-inflammatoire (Stofkova, 2010). La vaspine est associée plutôt à une amélioration de l'insulinorésistance et a des effets anti-inflammatoires. Le RBP4 est plus exprimée chez les individus obèses et diminue la sensibilité à l'insuline (Tilg and Moschen, 2006). L'omentine et l'apeline sont également des adipokines sécrétées par les adipocytes et de façon plus importante dans le tissu adipeux viscéral (Castan-Laurell et al., 2011; Yang, 2006). Les concentrations plasmatiques de l'apeline sont plus élevées chez les individus obèses tandis que les concentrations d'omentine diminuent chez les individus obèses. L'apeline augmente la consommation du glucose par les muscles et augmente la sensibilité à l'insuline chez les animaux nourris par un régime riche en graisse. L'omentine réduit l'inflammation et stimule le transport du glucose dans les adipocytes sous l'action de l'insuline, c'est également une adipokine cardioprotectrice anti-athérogène et vasodilatatrice (Tan et al., 2015).

L'adiponectine est synthétisée principalement par les adipocytes et est un puissant anti-inflammatoire. Deux récepteurs de l'adiponectine ont été décrits: ADIPOR1 et ADIPOR2. Chez la souris, ADIPOR1 est exprimé de façon ubiquitaire tandis que ADIPOR2 est exprimé dans le foie (Tilg and Moschen, 2006). L'adiponectine d'une part stimule la β -oxydation des acides gras et la consommation du glucose *via* la translocation du transporteur du glucose 4 (GLUT-4) à la membrane et d'autre part, elle diminue la synthèse des cytokines pro-inflammatoires TNF α et IFN γ et augmente la synthèse des cytokines anti-inflammatoires IL10 et l'antagoniste des récepteurs à l'IL1 (Il1Ra). Chez les souris obèses, l'administration d'adiponectine permet de diminuer l'hyperglycémie et d'augmenter la sensibilité à l'insuline et également de diminuer le taux d'acide gras libres circulants. Au contraire, les souris invalidées pour l'adiponectine développent une résistance à l'insuline sous un régime riche en graisses (Tilg and Moschen, 2006).

La leptine est sécrétée majoritairement par les adipocytes, mais contrairement à l'adiponectine, la leptine est une adipokine pro-inflammatoire et également un régulateur de la prise alimentaire. En effet les souris *ob/ob* et *db/db* mutés respectivement pour le gène de la leptine et pour le gène du récepteur de la leptine sont des souris obèses, hyperphagiques et résistantes à l'insuline. L'administration de leptine à des souris *ob/ob* permet de corriger l'effet de la mutation (Maury and Brichard, 2010). Chez l'Homme également, des mutations sur le gène de la leptine ou du récepteur à la leptine sont associées à l'hyperphagie et au développement de l'obésité. Au niveau central, la leptine contrôle la sensation de satiété en inhibant les neurones orexigènes et en stimulant les neurones anorexigènes de l'hypothalamus. Au niveau périphérique la leptine diminue la synthèse de la cytokine anti-inflammatoire IL4 et favorise la synthèse des cytokines pro-inflammatoires. Elle stimule notamment la synthèse de cytokines pro-inflammatoires comme le TNF α , l'IL-6, l'IL-12 par les macrophages et l'IL2 et l'IFN γ par les lymphocytes.

c. Physiopathologie du tissu adipeux

En situation d'obésité, le tissu adipeux est extrêmement sollicité par l'organisme pour stocker l'excédent énergétique sous forme de triglycérides. Chez les femmes minces, le tissu adipeux représente environ 24% du poids corporel alors que chez les femmes obèses, il représente en moyenne 51% du poids corporel (Das et al., 2003). Ce phénomène s'accompagne d'une inflammation du tissu adipeux qui devient systémique et qui est un facteur de risque pour le développement du diabète de type 2 et les maladies cardiovasculaires.

L'expansion du tissu adipeux repose en fait sur deux phénomènes : l'hypertrophie des adipocytes, c'est-à-dire une augmentation du volume cellulaire et l'hyperplasie du tissu adipeux, c'est-à-dire l'augmentation du volume du tissu du fait de l'augmentation du nombre de cellules. Dans tous les cas d'obésité, on observe une augmentation du volume du tissu adipeux, mais en fonction des individus et de la localisation du tissu adipeux, on observe plutôt une hypertrophie (augmentation du volume des adipocytes) ou une hyperplasie (augmentation du nombre d'adipocytes). L'hypothèse de la capacité d'expansion du tissu adipeux suggère que la capacité d'expansion du tissu adipeux en réponse au déséquilibre de la balance énergétique joue un rôle clé dans le développement de l'inflammation du tissu adipeux dans l'obésité et de l'insulinorésistance du tissu. L'hyperplasie serait protectrice tandis que l'hypertrophie des adipocytes serait délétère. L'analyse de la taille des adipocytes dans le tissu adipeux viscéral et sous-cutané de 80 femmes obèses ayant recours à la chirurgie bariatrique révèle que les femmes présentant une hyperplasie du tissu adipeux sont plus sensibles à l'insuline, ont une glycémie à jeun plus basse et ont un meilleur profil lipidique (cholestérol total, triglycérides) par rapport aux femmes qui présentent une hypertrophie des adipocytes (Hoffstedt et al., 2010). Ces résultats sont en accord avec l'hypothèse du remplissage des adipocytes, lorsque les adipocytes ne peuvent plus stocker les acides gras, ils deviennent insulinorésistants (Danforth, 2000).

De plus, l'hypertrophie des adipocytes est un état de stress pour ces cellules. Il a été observé sur des adipocytes hypertrophiés des signes de stress cellulaires et des signes précoces de nécrose. Plus précisément, chez des souris *ob/ob* spontanément obèses, la membrane cytoplasmique des adipocytes est plus fine et le volume de l'appareil de Golgi et du reticulum endoplasmique sont augmentés (Giordano et al., 2013). Cela a été observé également chez des souris déficientes pour la lipase hormonosensible qui ne sont pas obèses mais présentent une hypertrophie des adipocytes (Cinti et al., 2005). L'observation de coupes histologiques de tissu adipeux par microscopie électronique révèle que le nombre d'adipocytes en nécrose est plus élevé chez les individus obèses que chez les individus minces (Cinti et al., 2005). Au contraire de l'apoptose, qui est un processus de mort cellulaire contrôlé et non inflammatoire, la nécrose cellulaire est un phénomène inflammatoire du fait de la libération incontrôlée du contenu cellulaire dans l'espace extracellulaire. Ce phénomène d'hypertrophie et de nécrose des adipocytes est associé au recrutement des macrophages dans le tissu adipeux. Les adipocytes hypertrophiés sécrètent des cytokines inflammatoires comme MCP1 qui est un puissant signal pour les monocytes circulants qui s'infiltrent alors dans le tissu.

L'infiltration de macrophages dans le tissu adipeux est un élément clé de l'inflammation systémique observée chez les individus obèses. Chez un individu mince, les macrophages présents dans le tissu adipeux sont des macrophages de type M2 anti-inflammatoires, au contraire, chez les individus obèses, les macrophages présents dans le tissu adipeux sont des macrophages de type M1 pro-inflammatoires (Lumeng et al., 2007). Il a été montré chez l'Homme et chez la souris que le nombre de macrophages présents dans le tissu adipeux est très corrélé à l'IMC et également à la taille des adipocytes (Weisberg et al., 2003). Et ceci indépendamment du type de tissu adipeux car la corrélation était conservée dans le tissu adipeux sous-cutané et dans le tissu adipeux viscéral. Les auteurs de cette étude estiment que chez les individus minces, les macrophages représentent 10% des cellules du tissu adipeux chez les souris minces ainsi que chez l'Homme. Chez les individus obèses, les macrophages représentent environ 40% des cellules du tissu adipeux chez l'Homme et jusqu'à 50 % chez les souris obèses (Weisberg et al., 2003). De plus les coupes histologiques de tissu

adipeux chez la souris révèlent que chez les individus minces, les macrophages sont dispersés dans le tissu adipeux entre les adipocytes alors que chez les individus obèses, les macrophages forment des agrégats. Cinti et al., ont confirmé ce comportement des macrophages du tissu adipeux chez la souris et ils l'ont également observé chez l'Homme (Cinti et al., 2005). Les macrophages du tissu adipeux se regroupent plus précisément autour des adipocytes en nécrose et forment une structure en couronne (ou « crown-like structure ») autour de ces adipocytes. L'apparition de gouttelettes lipidiques dans les macrophages situés autour de l'adipocyte en nécrose suggère que la récupération des gouttelettes lipidiques libérées dans l'espace intracellulaire est le rôle majeur de ces macrophages.

Au cours du développement de l'obésité, il est observé une augmentation de la production de cytokines inflammatoires telles que le TNF α , l'IL6, l'IL1 β ou le monocyte-chemoattractant Protein 1 (MCP1 ou chemokine C-ligand 2 (CCL2)). L'expansion massive du tissu adipeux et l'infiltration de macrophages pro-inflammatoires sont des acteurs majeurs de ces phénomènes inflammatoires. Le TNF α est plus exprimé dans le tissu adipeux des individus obèses et dans le tissu adipeux viscéral, il est produit principalement par les macrophages. Cette cytokine pro-inflammatoire induit une augmentation de la production d'autres cytokines pro-inflammatoires par le tissu adipeux et est également un acteur majeur de l'insulinorésistance induite par l'obésité chez la souris, il inhibe le récepteur à l'insuline et participe à la résistance à l'insuline des tissus (Maury and Brichard, 2010). Si chez la souris les résultats sont très concluants, les résultats chez l'homme sont plus mitigés et à ce jour aucun effet des inhibiteurs de TNF α sur l'amélioration de la sensibilité à l'insuline n'a été montré (Bernstein et al., 2006). L'IL1 β est principalement produite par les cellules non-adipeuses du tissu adipeux et est plus exprimée chez les individus obèses, c'est également une cytokine clé dans le développement de l'insulino-résistance (Bing, 2015). Il a été montré chez la souris et sur des adipocytes humains que l'IL1 β diminue l'expression des gènes et des protéines nécessaires au signal de l'insuline (IRS1) et à l'entrée de glucose dans la cellule (GLUT4) (Gao et al., 2014). L'IL-6 et le MCP1 sont également plus exprimées dans le tissu adipeux d'un individu obèse, et sont produites par les

adipocytes et par les cellules de la fraction stroma-vasculaire pour l'IL-6. L'IL-6 comme le TNF α favorise l'insulinorésistance, en particulier dans le foie. Le CCL2 ou MCP1 est un acteur clé de l'attraction des monocytes circulants dans le tissu adipeux.

Les concentrations de leptine circulantes sont également augmentées chez un individu obèse, la production de leptine est très corrélée à la masse de tissu adipeux. Si les effets orexigènes de la leptine chez un individu obèse sont limités car il existe un phénomène de résistance à la leptine au niveau central, les effets pro-inflammatoires de la leptine sont bien présents. La leptine induit une augmentation de la production de TNF α , IL6 et IL12 dans le tissu adipeux ainsi qu'une augmentation de l'expression de MCP1 (Tilg and Moschen, 2006). L'adiponectine comme nous venons de le voir est une adipokine anti-inflammatoire, son expression est inhibée en présence de TNF α et d'IL6 et elle est moins exprimée dans le tissu des individus obèses (Tilg and Moschen, 2006). La diminution de la synthèse d'adiponectine et l'augmentation de la synthèse de leptine par le tissu adipeux chez les individus obèses participent donc au processus inflammatoire observé dans l'obésité.

4. Les complications de l'obésité

L'obésité est un facteur de risque pour de nombreuses pathologies invalidantes et handicapantes et qui présente un vrai risque de mortalité précoce. Selon un rapport du Sénat (Rapport de l'OPECST n° 267 (2003-2004) de M. Claude SAUNIER, 14 avril 2004) les dépenses de santé imputées à l'obésité en France étaient de 2 % des dépenses de santé totales en 1992 et sont estimés en 2004 à 4 %, soit 5,6 milliards d'Euros par an. Alors que seulement 7 millions d'Euros sont attribués au principal programme de prévention de l'obésité : le Programme National Nutrition et Santé (PNNS). Aux États-Unis, l'estimation du coût de l'obésité à la société était de 75 milliards de Dollars en 2003 (Wang et al., 2011b) et de 148 milliards de Dollars par an en 2008 (Malik et al., 2013).

L'obésité est un excès de poids du fait de l'accumulation anormale de réserves énergétiques dans le tissu adipeux et le foie principalement. L'expansion anormale du tissu adipeux et la présence

de tissu adipeux ectopique sont des facteurs de risque majeurs pour diverses pathologies. L'accumulation de tissu adipeux au niveau viscéral notamment est un facteur de risque majeur pour les complications métaboliques, c'est ce qu'on appelle l'obésité androïde par opposition à l'obésité gynoïde qui est une accumulation de tissu adipeux au niveau inférieur. Parmi les complications métaboliques, les majeures sont l'insulinorésistance, le diabète de type 2, la stéato-hépatite non-alcoolique et des pathologies du système cardiovasculaire. On peut noter également une augmentation des risques de cancers ainsi que des problèmes orthopédiques du fait de la surcharge pondérale. De façon générale, l'obésité aggrave significativement les risques de mortalité dans la plupart des pathologies (Figure 7) (Calle et al., 1999; Flegal, 2005).

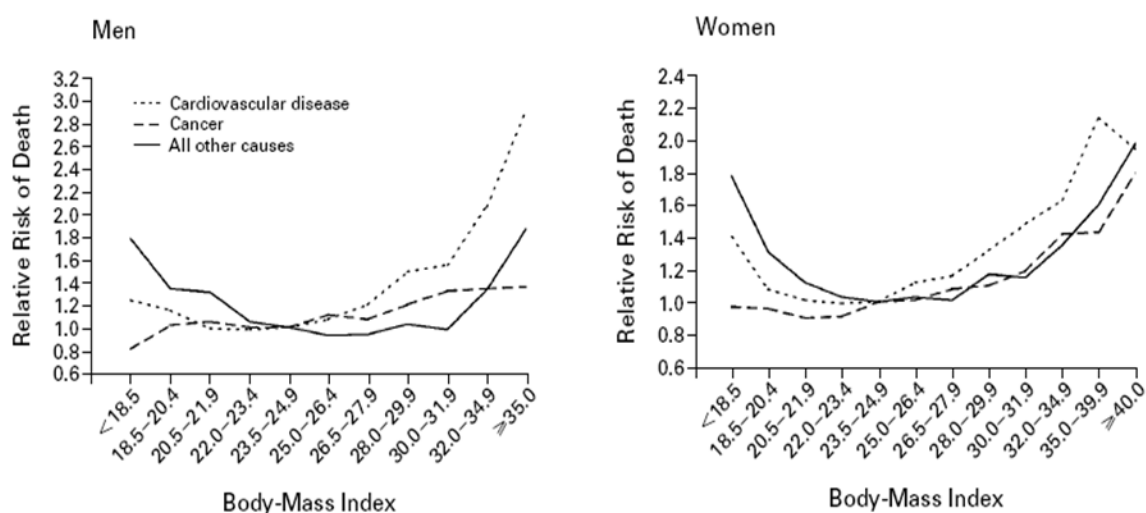


Figure 6 : Risque de mortalité en fonction de l'IMC.

Le risque de mortalité est évalué chez des hommes et des femmes non-fumeurs et sans pathologie connue à l'entrée dans l'étude (Calle et al., 1999).

a. L'insulino-résistance et le diabète de type 2

Définition du diabète

D'après l'OMS, « le terme «diabète» décrit un trouble métabolique à l'étiologie multiple, caractérisé par une hyperglycémie chronique accompagnée de perturbations du métabolisme des glucides, des lipides et des protéines dues à des défauts dans la sécrétion ou l'action de l'insuline, voire à ces deux niveaux. Le diabète entraîne sur le long terme des lésions, des dysfonctionnements et des insuffisances de divers organes ». De façon simplifiée, on distingue deux types de diabètes : le

diabète de type 1 et le diabète de type 2. Le diabète de type 1 évolue rapidement et se déclare en général chez le sujet jeune, il est caractérisé par une destruction des cellules β du pancréas par le système immunitaire (présence d'anticorps) et est insulino-dépendant. Le diabète de type 2 est une maladie évolutive dont la prévalence augmente avec l'âge et est considérée comme une maladie d'adulte. Entre 1995 et 2007, la prévalence du diabète de type 2 aux Etats-Unis a été multipliée par cinq. La prévalence du diabète de type 2 chez les jeunes adultes, les adolescents et même les enfants est également en augmentation en particulier dans les groupes ethniques à risque (population indigène d'Amérique du Nord et d'Australie, population des îles du Pacifique, les afro-américains, les hispaniques) (Zimmet et al., 2014). Dans cette thèse, nous nous intéressons au diabète de type 2.

Le diabète gestationnel apparaît pendant la grossesse, il est donc plutôt associé au diabète de type 2. De plus, les femmes ayant déclaré un diabète gestationnel ont plus de risque de développer ensuite un diabète de type 2 (Case et al., 2006). Le dépistage du diabète gestationnel est réalisé en France sur toutes les femmes enceintes entre la 24^{ème} et la 28^{ème} semaine d'aménorrhée par un test de charge orale en glucose. Le traitement consiste en un régime alimentaire adapté et si nécessaire la prise d'insuline pour éviter l'hyperglycémie. On observe chez les patientes atteintes une résistance à l'insuline et une altération de la sécrétion d'insuline,

Le diabète est une dérégulation de l'homéostasie du glucose qui se traduit par une hyperglycémie. Le diagnostic du diabète est établi par l'OMS en 1999 selon des critères glycémiques bien précis (Tableau 2). A noter que l'ADA (Association Américaine pour le Diabète) propose également des critères glycémiques de diagnostic du diabète, ce sont sensiblement les mêmes mais l'ADA prend en compte les valeurs d'hémoglobine glyquée (HbA1c) également dans le diagnostic. L'HbA1c est la mesure de la glycation de l'hémoglobine, la glycation des protéines est un phénomène normal mais qui augmente avec l'hyperglycémie. Elle est considérée comme le reflet de l'équilibre glycémique des 3 derniers mois (durée de vie moyenne d'un globule rouge). L'ADA recommande également une plus grande rigueur pour l'hyperglycémie à jeun définie dès que la glycémie à jeun est

supérieure à 1 g/L pour l'ADA contre 1,1g/L pour l'OMS. Le diagnostic du diabète doit également être confirmé par un test de charge orale en glucose (OGT) : 75g de sucre par voie orale puis mesure de la glycémie après 2H. Les individus en situation d'hyperglycémie modérée ou d'intolérance au glucose sont en phase de pré-diabète. A ce stade, les patients ne présentent aucun symptôme mais une prise en charge par une modification du style de vie (alimentation, activité physique, perte de poids) et éventuellement la prescription de médicaments permettent de retarder et de limiter le développement du diabète.

Tableau 2 : Critères glycémiq ues définissant les statuts insulino résistant et diabétique. Les valeurs définies par l'OMS sont indiquées en noir et celles définies par l'Association Américaine du Diabète sont indiquées en bleu.

	Glycémie à jeun		Glycémie 2h après OGT		HbA1c
	mg.dL ⁻¹	mmol.L ⁻¹	mg.dL ⁻¹	mmol.L ⁻¹	%
Normoglycémique	< 100 < 100	< 5,5 < 6,1	< 140	< 7,7	< 5,7
Intolérant au glucose / hyperglycémie modérée à jeun	100 - 125 110 - 125	5,6 - 7 6,1 - 7	140 - 199	7,7 - 11	5,7 - 6,4
Diabétique	> 126	> 7	> 200	> 11,1	> 6,5

Les chiffres du diabète

D'après l'étude ObEpi réalisée en 2012 en France, 5,8 % des adultes (<18 ans) sont traités pour le diabète dont 95 % pour un diabète de type 2. La prévalence du diabète de type 2 diminue quand l'IMC est inférieur à 25 kg/m² alors qu'elle augmente quand l'IMC est supérieur à 30 kg/m² (respectivement 2.2 % et 16 %). Parmi les individus diabétiques de type 2, 43% sont obèses et la prévalence de l'obésité augmente avec l'âge. La fédération internationale du diabète estime que 382 millions de personnes dans le monde vivent avec le diabète en 2013, leurs prédictions pour 2035

estiment que ce nombre pourrait atteindre 600 millions (Figure 8), soit une augmentation de 55% de la prévalence du diabète au niveau mondial, avec une plus forte augmentation dans les pays en développement comme l'Inde, les pays d'Indonésie, les pays d'Afrique et du Moyen-Orient par rapport aux pays développés de l'Europe et de l'Amérique du Nord où l'augmentation de la prévalence du diabète sera moins forte (Zimmet et al., 2014).

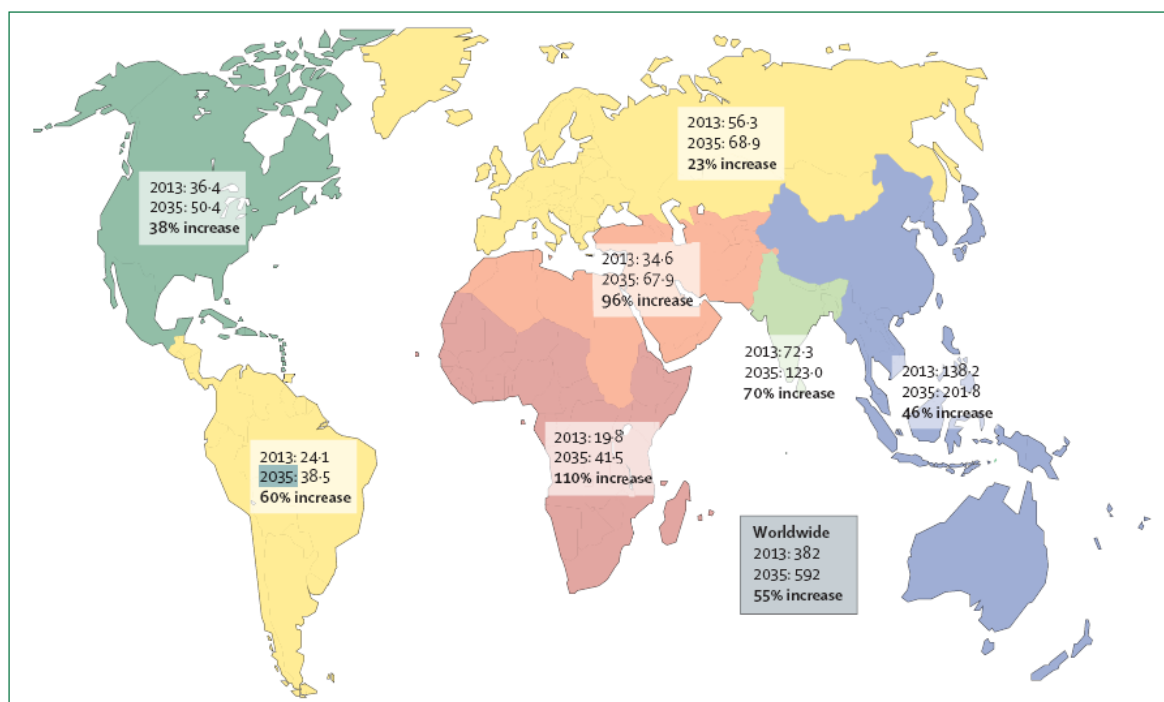


Figure 7 : Estimation du nombre d'individus atteint par le diabète en 2013 et en 2035 dans le monde

Les complications du diabète

Le diabète de type 2 est une maladie évolutive et le maintien de la glycémie peut devenir de plus en plus difficile à atteindre, augmentant considérablement le risque de complications pour les patients. En effet les complications chroniques du diabète proviennent de la toxicité des épisodes hyperglycémiques fréquents sur les vaisseaux et les nerfs. Ce sont des complications nerveuses et vasculaires, des microangiopathies ou macroangiopathies. Les complications les plus fréquentes sont la rétinopathie, la néphropathie, des neuropathies avec une altération des systèmes nerveux

périphérique, l'atteinte des membres inférieurs. Ces complications sont très invalidantes et entraînent à terme la cécité, l'insuffisance rénale et également l'amputation des membres inférieurs du fait de la diminution de la sensibilité à la douleur et de l'altération des phénomènes de cicatrisation. Le diabète est la première cause de cécité avant 65 ans en France et 10000 amputations par an sont dues au diabète d'après la Fédération Française des Diabétiques.

Physiologie du pancréas

Le contrôle de l'homéostasie glucidique est un phénomène finement régulé, l'acteur principal de ce phénomène est le pancréas. C'est un organe endocrine et exocrine, c'est-à-dire qu'il fabrique des hormones pour la circulation et pour l'espace extérieur (ici le tractus digestif). Le pancréas exocrine représente 98% de la masse totale du pancréas. Il sécrète à destination de l'intestin grêle le suc pancréatique qui contient des enzymes digestives (protéases, lipase et amylase). Les îlots de Langerhans forment la partie endocrine du pancréas et représente donc 2% de la masse du pancréas. Ce sont des petits amas cellulaires de forme circulaire, ils sont composés de plusieurs types cellulaires : les cellules β qui sécrètent l'insuline, les cellules α qui sécrètent le glucagon, les cellules δ qui sécrètent la somatostatine et les cellules pp qui sécrètent le polypeptide pancréatique.

L'insuline est la seule hormone hypoglycémisante sécrétée par l'organisme et elle a un rôle crucial dans la régulation de l'homéostasie glucidique. Cette hormone est sécrétée suite à la prise alimentaire grâce à la sensibilité des cellules β au glucose. L'entrée de glucose dans la cellule β est suivie d'un ensemble de mécanismes cellulaires qui aboutissent à la sécrétion d'insuline. Le glucose pénètre dans la cellule *via* un transporteur du glucose GLUT2 (transporteur du GLUcose 2). A son entrée dans la cellule, le glucose est phosphorylé sur son carbone 6 par l'enzyme glucokinase, le glucose-6-phosphate est le premier métabolite de la glycolyse et du cycle de Krebs. De façon simplifiée, l'oxydation du glucose dans la cellule est suivie d'une augmentation de l'ATP et une diminution de l'ADP (Adénosine Di-Phosphate). L'augmentation du ratio ATP/ADP déclenche la

fermeture des canaux potassiques sensibles à l'ATP (K_{ATP}). La fermeture des canaux potassique induit une dépolarisation de la cellule et l'ouverture de canaux calciques. L'augmentation intracellulaire de calcium dédenche l'exocytose des vésicules d'insuline de la cellule β (Rorsman and Braun, 2013). Le mécanisme de la sécrétion d'insuline par la cellule β est sensiblement semblable au phénomène d'exocytose observé au niveau des synapses des neurones qui répond également à une dépolarisation de la membrane. Et en effet malgré une origine embryologique différente la cellule β pancréatique exprime certains traits neuronaux tels le canal ionique Na voltage-dépendant, le récepteur à l'acide N-méthyl-D-aspartique (NMDA) et la dopamine β -hydroxylase (Atouf et al., 1997). L'insuline est stockée dans des vésicules cytoplasmique, elle forme des cristaux insolubles appelés hexamère d'insuline en s'associant avec des atomes de zinc (6 molécules d'insuline et 2 atomes de zinc) (Chimienti, 2013). On note deux phases dans le processus de sécrétion d'insuline, une première phase rapide et importante et une deuxième phase moins importante mais qui se maintient dans le temps tant que la glycémie reste élevée. La première phase rapide de sécrétion d'insuline correspond à l'exocytose des vésicules d'insuline située directement sous la membrane cytoplasmique, c'est le pool d'insuline « facilement relargable » ; la seconde phase de sécrétion d'insuline provient des vésicules stockées dans la cellule et qui doivent être mobilisées pour atteindre la membrane (Wang and Thurmond, 2009) (Figure 9).

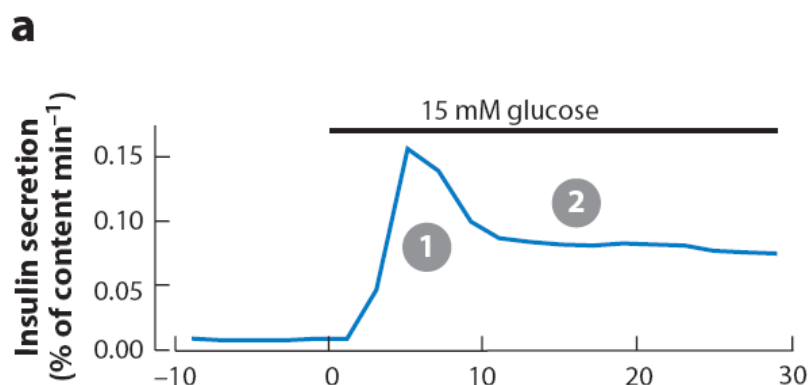


Figure 8 : Profil bi-phasique de la sécrétion d'insuline en réponse au glucose. (1) Le premier pic de sécrétion d'insuline est suivi d'une diminution puis (2) d'une stabilisation de la sécrétion d'insuline (seconde phase) (Rorsman and Braun, 2013).

Si le glucose est le principal nutriment qui déclenche la sécrétion d'insuline, d'autres facteurs jouent également sur la sécrétion d'insuline. Il existe des hormones incrétines capables de potentialiser la sécrétion d'insuline induite par le glucose, le GLP-1 (Glucagon Like Protein-1) est sécrété par des cellules endocrines de l'intestin en réponse à la prise alimentaire. Le GLP-1 se fixe sur ses récepteurs spécifiques situés sur cellules β des îlots de Langerhans et potentialise la sécrétion d'insuline induite par le glucose. La liaison du GLP-1 à son récepteur active la voie de l'adénylate cyclase et induit une augmentation de l'adénosine mono-phosphate cyclique (AMPC) cytosolique ; l'AMPC active ensuite la protéine kinase A et amplifie l'exocytose dépendante du calcium et la fermeture du canal K_{ATP} (Rorsman and Braun, 2013). Les îlots de Langerhans sont également innervés par le système para-sympathique (acétylcholine) et sympathique (noradrénaline). Le système para-sympathique stimule la sécrétion d'insuline, l'effet du système sympathique dépend du type de récepteur à la noradrénaline présent sur la cellule. La noradrénaline inhibe la sécrétion d'insuline *via* son récepteur α et la stimule *via* son récepteur β .

Une fois libérée dans la circulation sanguine, l'insuline agit sur des tissus cibles grâce à des récepteurs spécifiques. Les tissus cibles de l'insuline sont les muscles, le foie et le tissu adipeux. La liaison de l'insuline à son récepteur déclenche une cascade de réactions et finalement l'activation ou au contraire l'inhibition de voies métaboliques. De façon simplifiée, son rôle est de stimuler l'entrée du glucose par les tissus capables de la stocker : les muscles, le foie et le tissu adipeux. Le foie et les muscles stockent le glucose sous forme de glycogène, c'est la glycogénogenèse et le tissu adipeux sous forme de triglycérides, c'est la lipogenèse. L'insuline inhibe également la production de glucose par le foie, la néoglucogenèse et la lipolyse dans le tissu adipeux.

[Physiopathologie du diabète de type 2](#)

Le diabète de type 2 est une maladie évolutive, qui débute par deux phénomènes : d'une part l'insulinorésistance des tissus et d'autre part l'altération de la fonctionnalité des cellules β . Ces deux phénomènes peuvent être décrits grâce aux valeurs d'insulinémie et de glycémie à jeun grâce

au modèle Homeostatic model assessment (HOMA). L'HOMA-IR reflète l'insulino-résistance (IR), il augmente quand l'insulinorésistance s'aggrave, la valeur considérée normale est fixée à 1. L'HOMA-S est l'inverse de l'indice d'insulinorésistance et reflète la sensibilité à l'insuline, la valeur normale est fixée à 100. L'HOMA-B reflète la fonction des cellules β pancréatiques et diminue quand la fonction des cellules β est altérée, la valeur normale est fixée à 100%. L'indice HOMA-BS est le produit de l'HOMA-B et de l'HOMA-S, il reflète la sécrétion d'insuline en fonction de la demande. Ces indices ont été développés en 1985 et sont depuis largement utilisés, il est proposé sous forme d'un modèle linéaire simplifié (HOMA1) et également sous forme d'un modèle non-linéaire appelé HOMA2 disponible en ligne (www.OCDem.ox.ac.uk).

Box 1 : Calcul des indices d'insulinorésistance (HOMA1-IR) et de fonction de la cellule β (HOMA1-B) et la sensibilité à l'insuline (HOMA1-S).

$$HOMA1\ IR = \frac{FPI * FPG}{22,5}$$

$$HOMA1\ B = \frac{20 * FPI}{FPG - 3,5}$$

$$HOMA1\ S = \frac{1}{HOMA1\ IR} * 100$$

FPI = insulïnémie à jeun (en mU/L)
FPG = glycémie à jeun (en mmol/L)

La résistance à l'insuline des tissus se traduit par une diminution de l'entrée de glucose dans la cellule et au contraire une augmentation de la libération de glucose (néoglucogénèse) ou d'acide gras (lipolyse) respectivement dans le foie et le tissu adipeux. Dans les premiers stades de la pathologie, les cellules β sont capables de compenser la résistance à l'insuline des tissus en sécrétant d'avantage d'insuline pour maintenir la glycémie dans sa valeur normale, c'est la phase de compensation. Mais ce phénomène de compensation finit par s'épuiser, la fonctionnalité des cellules

β (c'est-à-dire leur capacité à sécréter de l'insuline) est altérée, donc la sécrétion d'insuline diminue et la glycémie n'est plus contrôlée (Figure 10).

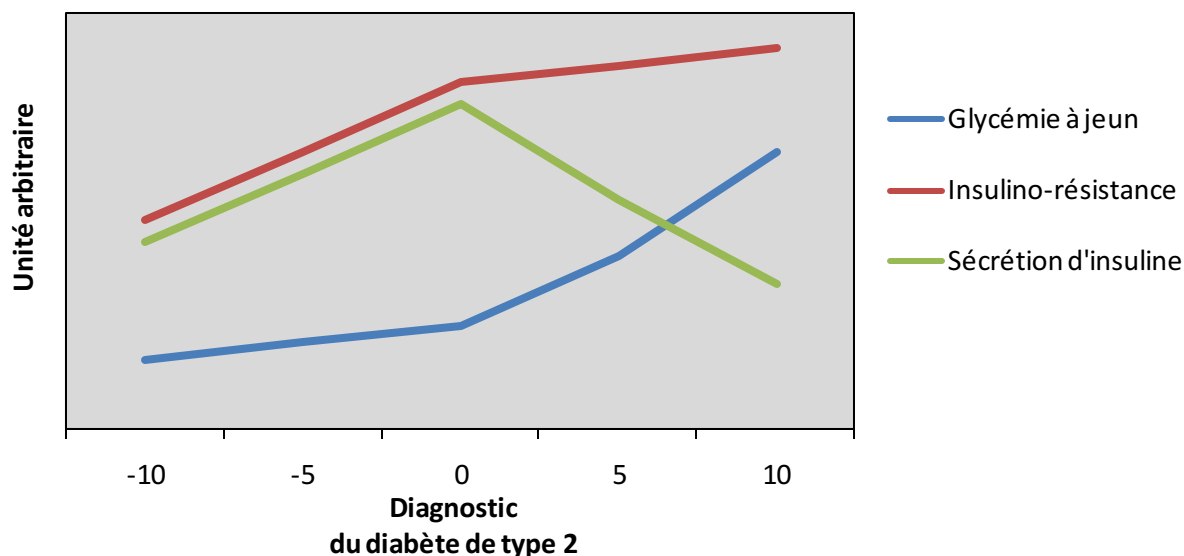


Figure 9 : Evolution de l'insulinorésistance vers le diabète.

L'insulinorésistance augmente et est compensée dans un premier temps par les cellules β pancréatiques. Au moment du diagnostic la fonction β pancréatique diminue et la glycémie augmente fortement provoquant des effets secondaires.

Comme pour l'obésité, le diabète de type 2 présente une forte composante héréditaire et génétique, les études de GWAS ont découvert plusieurs loci associés au risque de développer un diabète de type 2 (Mit et al., 2007). Sur un terrain génétique prédisposé, l'obésité induit un phénomène de glucolipotoxicité qui altère la fonctionnalité des cellules β . Les mécanismes d'action de ce phénomène ont été caractérisés dans des lignées cellulaires et grâce à l'étude de modèles animaux. L'hyperglycémie chronique est associée à une augmentation du métabolisme oxydatif du glucose et donc de la formation d'espèces réactives oxygénées (ROS) toxiques dans la cellule β , ainsi qu'à un stress du réticulum endoplasmique (RE) qui sécrète des protéines pro-apoptiques. La lipotoxicité diminue la sécrétion d'insuline stimulée par le glucose en altérant l'expression du gène de l'insuline (Poitout and Robertson, 2008).

b. Autres complications métaboliques

Si l'insulinorésistance et le diabète sont une complication métabolique majeure de l'obésité, l'obésité est également un facteur de risque pour d'autres pathologies. La plupart de ces complications entrent dans le cadre du syndrome métabolique, on observe notamment une plus grande proportion de dyslipidémies et de complications cardiovasculaires chez les individus obèses ainsi que des atteintes hépatiques.

Les pathologies cardiovasculaires

Les complications cardiovasculaires de l'obésité sont l'hypertension, l'athérosclérose, l'insuffisance cardiaque et l'infarctus. Selon l'étude ObEpi réalisée en France en 2012, 31,7% des individus obèses déclarent au moins une complication cardio-vasculaire contre 18 % des individus non obèses. La prévalence de l'hypertension artérielle est de 17,6 % dans la population globale alors qu'elle atteint 34,7 % chez les individus dont l'IMC est supérieur à 30 kg/m² et diminue à 9,7 % chez les individus dont l'IMC est inférieur à 25 kg/m². L'hypertension est longtemps asymptomatique mais est un facteur de risque pour l'athérosclérose et l'insuffisance cardiaque du fait de l'épaississement des parois vasculaires en réponse à l'augmentation de la pression sanguine. La dyslipidémie n'est pas à proprement parler une complication cardiovasculaire, cependant c'est un facteur de risque majeur pour l'athérosclérose qui est une complication cardiovasculaire. La dyslipidémie est décrite comme une augmentation des concentrations du cholestérol (total, HDL et LDL) et des triglycérides circulants dans le sang. La dyslipidémie est diagnostiquée si les concentrations de LDL-cholestérol $\geq 1,60$ g/l et/ou HDL-cholestérol $< 0,40$ g/l et/ou Triglycérides $\geq 1,50$ g/l. Elle touche 25,9 % des individus obèses soit deux fois plus que dans la population globale.

La stéatose hépatique non alcoolique

L'obésité est également un facteur de risque pour la stéatose hépatique non alcoolique (NAFLD). La stéatose est l'accumulation ectopique de lipides dans le foie, elle est diagnostiquée par une analyse histologique du foie si plus de 5 % des hépatocytes présentent une accumulation de triglycérides. La stéatose en elle-même est bénigne, mais elle peut évoluer en stéato-hépatite non alcoolique (NASH), la NASH est caractérisée par une accumulation de triglycérides dans le foie et également la présence de lésion tissulaire et d'une inflammation. La NASH augmente de façon dramatique les risques de fibrose (perte de fonctionnalité du tissu hépatique) cirrhose et de carcinome hépatique. La stéatose est améliorée en cas de perte de poids. A terme l'évolution de la NASH peut nécessiter une greffe hépatique pour retrouver une fonction hépatique normale.

c. Autres complications non métaboliques

Les individus obèses ont plus de risque de développer un cancer. Des études épidémiologiques ont démontré qu'une augmentation de 5 points de l'IMC (soit environ 14 kg pour un individu de 1m70) augmente le risque de cancer de l'œsophage de 52 % et du cancer du colon de 24 % chez l'homme. Chez la femme, le risque du cancer de l'endomètre est augmenté de 59 % et le risque de cancer du sein de 12 % (Wang et al., 2011b). L'arthrose est une complication très invalidante et touche également trois fois plus les individus obèses. La surcharge pondérale entraîne une pression mécanique supplémentaire pour les articulations et l'inflammation accélère la dégénérescence du cartilage (Vincent et al., 2012). Les individus obèses souffrent également de complications respiratoires et ont 7,5 fois plus de risque d'être atteint de l'apnée du sommeil.

On note aussi chez les individus en situation d'obésité des complications psychologiques. En effet plusieurs études épidémiologiques s'accordent à dire que l'obésité est associée à un plus grand risque de dépression, et l'effet est plus fort en cas d'obésité sévère ($IMC > 40\text{kg/m}^2$) (Gortmaker et al., 1993; Onyike et al., 2003). En effet la stigmatisation systématique des individus obèses est une réalité et peut conduire à un stress chronique chez l'individu obèse. Les individus obèses sont plus

souvent victimes de discrimination à l'embauche, d'humour indélicat, de mauvaise considération de leur incapacité à effectuer certaines tâches et d'isolement social (MacLean et al., 2009). Ces réactions hostiles peuvent induire un stress, une peur de sortir et de pratiquer une activité physique, des troubles de l'alimentation et on observe alors un cercle vicieux du maintien de l'obésité. Nous l'avons vu précédemment, le statut économique et social est un facteur déterminant pour l'obésité, mais l'obésité est également un facteur de risque pour la pauvreté et l'isolement social. En effet une large étude prospective de 7 ans réalisée sur 10000 adolescents ou jeune adultes (16 à 24 ans) débutée en 1981 a montré que l'obésité est associée à un niveau de scolarité inférieur, un revenu plus faible et à l'isolement social, et cela est plus marqué pour les femmes que pour les hommes (Gortmaker et al., 1993).

5. Les traitements de l'obésité

Comme nous venons de le voir, l'obésité est un facteur de risque pour l'insulinorésistance et le diabète de type 2, les pathologies cardiovasculaires, l'hypertension, et également les cancers. Les individus en situation d'obésité ont aussi un plus grand risque de mortalité quelle que soit la pathologie (Calle et al., 1999). Le traitement de l'obésité est bien évidemment le traitement des pathologies associées qui se sont déclarées et également la perte de poids qui améliore les pathologies associées à l'obésité. Par exemple chez les individus obèses et diabétiques, la perte de poids améliore la sensibilité à l'insuline. Les traitements de l'obésité peuvent être séparés en 3 catégories : (i) la modification du mode de vie visant à augmenter les dépenses énergétiques et à équilibrer les apports alimentaires afin de rééquilibrer la balance énergétique, (ii) les traitements médicamenteux et (iii) la chirurgie bariatrique.

a. Intervention sur le mode de vie

La Haute Autorité de Santé recommande pour la prise en charge de l'obésité d'intervenir sur le mode de vie : « La prise en charge repose sur une éducation thérapeutique et un suivi régulier et

prolongé d'au moins deux ans, avec des conseils sur une alimentation équilibrée et diversifiée, sur la pratique d'une activité physique modérée (au moins 2h30 par semaine pour les adultes et d'une heure par jour pour les enfants), sur la lutte contre la sédentarité (moins de temps notamment pour les enfants devant la télévision et les jeux vidéos) et sur un accompagnement psychologique». Si la perte de poids est le principal but des traitements contre l'obésité, il a été montré que la pratique d'une activité physique sans perte de poids était tout de même associée à une amélioration de la sensibilité à l'insuline chez des individus qui étaient sédentaires ; l'activité physique a aussi induit une amélioration du profil lipidique chez ses individus (Duncan et al., 2003). Dans une autre étude, des individus obèses et insulino-résistants ont été suivis par des professionnels de santé pendant un an et ont perdu en moyenne 4 % de leur poids (soit -1,2 kg/m² de points d'IMC), cette perte de poids bien que modeste a été associée à une amélioration de la sensibilité à l'insuline et de la fonction cardiaque (Labbé et al., 2014). Une étude réalisée sur 120 femmes en situation de surpoids qui ont accepté de suivre un régime alimentaire hypocalorique et d'augmenter leur activité physique a montré que la perte de poids par la modification du mode de vie est également associée à une diminution des marqueurs inflammatoires circulants (TNF α , IL-6 et la protéine C-réactive (CRP)) et à une diminution de la masse du tissu adipeux sous-cutané et également viscéral (Fisher et al., 2012).

b. Les traitements médicamenteux

Les médicaments anti-obésité ne sont pas recommandés par la Haute Autorité de Santé (HAS) en France du fait de leur faible efficacité et des effets indésirables auxquels ils sont associés. En France le seul médicament qui a une autorisation de mise sur le marché (AMM) pour le traitement de l'obésité est l'Orlistat, commercialisé par Roche sous le nom de Xenical[®] et soumis à prescription. L'Orlistat est un inhibiteur de la lipase gastro-intestinale, pris à proximité des repas la prise de ce médicament permet d'excréter 30% des matières grasses ingérées. Concernant les effets indésirables, la prise d'Orlistat diminue l'absorption des vitamines liposolubles et est associée

fréquemment à des troubles de la défécation de fait de la présence de matières grasses dans les selles. La prise d'Orlistat est associée à une diminution de 11% du poids corporel vs. 6% pour le groupe placebo à 1 an. Après 4 ans de traitement, on observe une légère reprise de poids mais il reste toujours inférieur de 6,9% au poids initial pour le groupe Orlistat contre 4,1% pour le groupe placebo (Bray and Ryan, 2014).

Aux Etats-Unis, la « Food an Drug Administration » (FDA) autorise 8 médicaments contre l'obésité (Yanovski and Yanovski, 2014). Parmi ceux-ci, quatre sont autorisés uniquement pour un traitement à cours terme, ce sont les dérivés des amphétamines qui ont une action centrale sur la diminution de l'appétit. La phentermine (Adipex-P®, Fastin®, ...) appartient à cette classe de médicament, c'est un dérivé des amphétamines qui active le système noradrénergique et diminue l'appétit ; le Diethylpropion (Tenuate®, Dospan®, Tepanil®), le Phendimetrazine (Bontril®) et la benzphetamine (Didrex®) font également partie de cette classe de médicament. Les activateurs du système noradrénergique ont des effets secondaires importants : des maux de tête, insomnie, diarrhées, constipation, vomissement et anxiété. Une méta-analyse des études réalisées sur la phentermine montre une perte de poids de poids de 3,6 kg par rapport au placebo pour une perte totale de 6,9 kg en 2 à 24 semaines en fonction des études. L'usage de cette classe de médicament n'étant autorisé par la FDA que dans le cadre d'un traitement à court-terme de l'obésité, il y a peu d'études sur les effets à long terme de ces traitements. La Phentermine peut également être administrée en association au Topiramate-ER (Qsymia®), un agoniste des récepteurs au GABA et un inhibiteur des récepteurs au glutamate de type Kainate/AMPA et induit également une diminution de l'appétit. Trois autres médicaments sont autorisés pour le traitement de l'obésité chronique : l'Orlistat, la Lorcaserin (Belviq®) et le Liraglutide (Saxenda®) depuis 2014. La Lorcaserin est un agoniste des récepteurs 2C de la sérotonine qui diminue l'appétit et la prise alimentaire. Le Liraglutide est un agoniste du récepteur au GLP-1 autorisé dans un premier temps pour le traitement du diabète de type 2, il augmente la sécrétion d'insuline des cellules β pancréatiques en réponse à un repas et diminue la glycémie et l'HbA1c. Chez l'obèse non-diabétique, il induit une perte de poids de

7,8 kg contre 2 kg pour le groupe placebo. Le Liraglutide ralentit la vidange gastrique et augmente donc ainsi la sensation de satiété (Astrup et al., 2012).

c. La chirurgie bariatrique

La chirurgie bariatrique est le traitement de l'obésité le plus efficace. Il est recommandé par l'HAS pour des individus dont l'IMC est supérieur à 40 kg/m², c'est-à-dire en situation d'obésité morbide, ou dont l'IMC est supérieur à 35 kg/m² et qui souffrent également d'au moins une comorbidité associée à l'obésité. Ce traitement doit être envisagé seulement en seconde intention ; en première intention, une intervention sur le mode de vie encadrée par des professionnels de la santé est préconisée. En cas d'échec thérapeutique de cette première intervention, la chirurgie bariatrique peut-être proposée aux patients en toute connaissance des bénéfices et des risques de ce type d'intervention.

Box 2 : Recommandations de l'HAS pour la chirurgie bariatrique

- Patients avec un IMC ≥ 40 kg/m² ou bien avec un IMC ≥ 35 kg/m² associé à au moins une comorbidité susceptible d'être améliorée après la chirurgie (notamment hypertension artérielle, syndrome d'apnées hypopnées obstructives du sommeil (SAHOS) et autres troubles respiratoires sévères, désordres métaboliques sévères, en particulier diabète de type 2, maladies ostéo-articulaires invalidantes, stéatohépatite non alcoolique)
- En deuxième intention après échec d'un traitement médical, nutritionnel, diététique et psychothérapeutique bien conduit pendant 6-12 mois
- En l'absence de perte de poids suffisante ou en l'absence de maintien de la perte de poids
- Patients bien informés au préalable, ayant bénéficié d'une évaluation et d'une prise en charge préopératoires pluridisciplinaires
- Patients ayant compris et accepté la nécessité d'un suivi médical et chirurgical à long terme
- Risque opératoire acceptable

Les interventions de chirurgie bariatrique dans le but de diminuer l'excès de poids reposent sur deux principes, diminuer l'absorption intestinale en diminuant la longueur de l'intestin et diminuer la prise alimentaire en diminuant la taille de l'estomac. Actuellement, trois procédures de chirurgie bariatrique sont couramment utilisées, le bypass gastrique roux-en-Y (RYGB), la gastrectomie longitudinale et l'anneau gastrique (Figure 11).

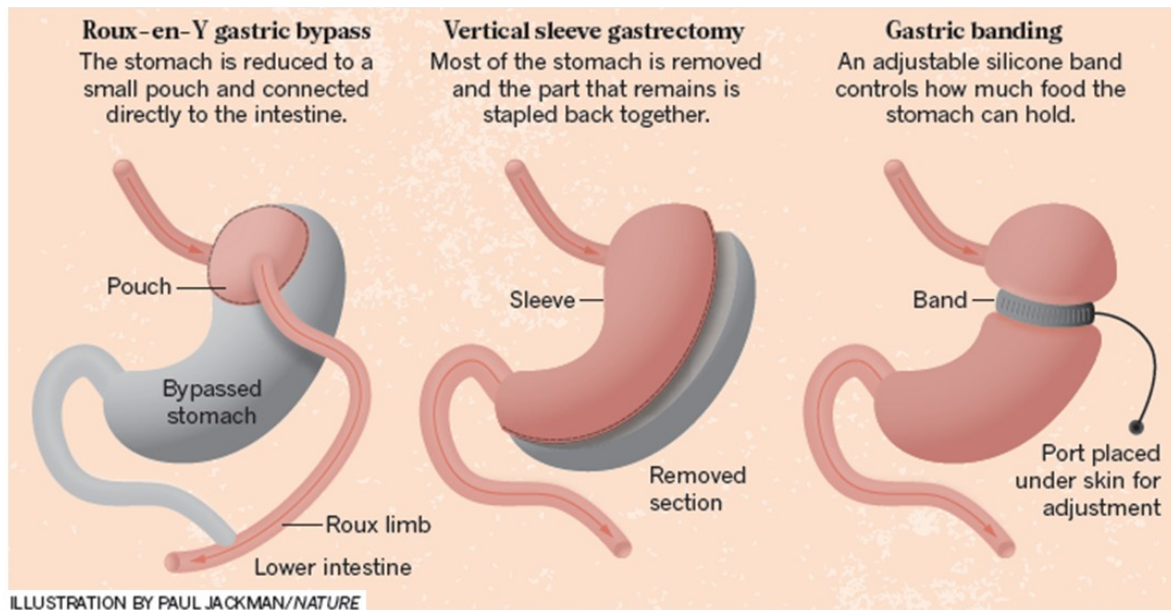


Figure 10 : Représentation schématique des 3 types majeurs de chirurgie bariatrique. (Hughes, 2014)

i. Présentation des chirurgies

[Le bypass gastrique roux-en-Y :](#)

Cette technique est une des chirurgies bariatriques les plus pratiquées depuis 40 ans. L'observation que les patients opérés d'une résection de l'estomac en raison d'ulcère à l'estomac perdaient du poids rapidement a conduit au développement de cette technique. C'est une chirurgie restrictive et malabsorptive qui permet de diminuer la prise alimentaire ainsi que l'absorption des nutriments. L'estomac est réduit à environ 10% de sa taille initiale et est relié directement au jéjunum, la portion moyenne de l'intestin grêle, le duodénum est enlevé. La partie restante de

l'estomac est conservée et relié à l'intestin restant. Actuellement, cette technique est réalisée de façon peu invasive par laparoscopie. Cette technique permet de conserver la production enzymatique de l'estomac qui rejoint le bolus alimentaire dans l'intestin. Cette technique permet de perdre 70% à 75% de l'excès de poids.

L'anneau gastrique :

L'anneau gastrique est une chirurgie bariatrique restrictive uniquement et réversible. Elle consiste à placer un anneau gastrique ajustable pour créer une poche sub-gastrique d'un volume réduit mais sans diminuer la longueur de l'intestin pour diminuer l'absorption des nutriments. Du fait de son volume réduit, la poche sub-gastrique est remplie rapidement par le bolus alimentaire et la sensation de satiété est obtenue rapidement. L'anneau est relié à un boîtier de contrôle placé sous la peau qui permet de réajuster le diamètre de l'anneau après l'intervention. L'anneau peut-être enlevé, selon l'HAS en général cela est associé à une reprise de poids. La pose de l'anneau gastrique permet une réduction de poids de 40% à 60% de l'excès de poids. L'amélioration des co-morbidités comme la stéatose hépatique non-alcoolique et le diabète est plus faible avec cette technique qu'avec la technique de roux-en-Y (Caiazzo et al., 2014).

La gastrectomie longitudinale :

La gastrectomie longitudinale est une technique de chirurgie bariatrique restrictive. Elle consiste à enlever 2/3 de l'estomac et à ne conserver qu'1/3 dans le tractus intestinal. Cette chirurgie permet en moyenne une perte de poids de 45% à 65% de l'excès de poids. Elle peut être réalisée seule mais elle peut être également associée à une dérivation bilio-pancréatique qui consiste à isoler une partie de l'intestin grêle du bolus alimentaire, le duodénum est coupé quelques centimètres après le pylore et est raccordé à la partie terminale de l'intestin. Une partie de l'intestin réséqué est conservée pour apporter les sécrétions biliaires et pancréatiques au bolus alimentaire dans la partie terminale de l'intestin. Dans ce cas là, la technique est à la fois restrictive et malabsorptive. Cette technique plus délicate à pratiquer est réservée aux patients dont l'IMC est supérieur à 50 Kg/m² ou

en échec d'une précédente chirurgie bariatrique. Elle permet une perte de poids de 75% à 80% de l'excès de poids. C'est une technique hautement malabsorptive, les risques de déficience en minéraux et vitamines et de mauvaise absorption des médicaments sont grands.

ii. Quels bénéfices pour la chirurgie bariatrique ?

Dans une grande méta-analyse de l'impact de la chirurgie bariatrique sur la perte de poids et également l'amélioration des paramètres métaboliques, les résultats de 621 études publiées entre les années 1990 et 2006 ont été analysés (Buchwald et al., 2009). En moyenne les femmes représentent 80% des patients opérés pour une chirurgie bariatrique, l'âge moyen de l'opération est 40 ans et l'IMC moyen est 48 kg/m². La chirurgie bariatrique est le traitement de l'obésité le plus efficace, que ce soit pour la perte de poids ou pour l'amélioration des co-morbidités : amélioration du métabolisme des lipides (triglycérides et stéatose hépatique) et également du glucose (glycémie à jeun, HbA1c, glycémie post-prandiale). Après la chirurgie bariatrique, on observe également une diminution des taux circulants des cytokines pro-inflammatoires comme l'Il-6 et également la leptine et une augmentation des facteurs anti-inflammatoires comme l'adiponectine (Lindegaard et al., 2015).

La chirurgie bariatrique permet une perte de poids moyenne de 56 % de l'excès de poids (soit 39 kg en moyenne) et améliore le diabète dans environ 80% des cas (Buchwald et al., 2009). Il est relevé également la réduction de la mortalité cardiovasculaire et l'amélioration de la qualité de vie et de la dépression (Neff et al., 2013). Si toutes les procédures de chirurgie bariatrique permettent une perte de poids et une amélioration des co-morbidités, toutes ne sont pas égales. Sans surprise, la chirurgie la moins restrictive, l'anneau gastrique est moins efficace que le RYGB. En moyenne la perte d'excès de poids deux ans après l'opération est de 46 % pour l'anneau gastrique et de 58 % pour la procédure RYGB.

Concernant la rémission du diabète, la moyenne de rémission du diabète est de 78 % après une chirurgie bariatrique, mais elle n'atteint que 57 % pour les poses d'anneau gastrique contre 80 % pour le RYGB (Buchwald et al., 2009). Dans une étude menée sur environ 140 patients au CHRU de Lille, le métabolisme des lipides et du glucose était amélioré 5 ans après la pose d'un anneau gastrique mais la rémission du diabète était limitée car 73 % des patients diabétiques au moment de l'intervention l'étaient toujours à 5 ans (Caiazzo et al., 2010). La rémission du diabète était meilleure chez les patients dont le diabète était précoce au moment de l'intervention. Une étude longitudinale de 5 ans de plus grande ampleur concernant 1236 patients à l'inclusion a confirmé que la procédure RYGB est plus efficace que la pose d'un anneau gastrique pour la rémission du diabète (Caiazzo et al., 2014). Ces résultats ainsi que l'amélioration brutale du diabète quelques jours seulement après la procédure RYGB alors qu'aucune perte de poids n'est encore observée (Pories et al., 1995) suggère que la procédure RYGB, en plus de la diminution de l'excès de poids, a un effet propre sur le diabète et d'autres marqueurs métaboliques. Cet effet impliquerait les hormones sécrétées par l'estomac et le tractus digestif. Il a été montré que les concentrations circulantes de GLP1 (Glucagon Like Peptide-1) étaient augmentées après la procédure RYGB. Le GLP-1 est une hormone incrétine sécrétée par les cellules L entéro-endocrine du jéjunum et du colon. Malgré leur localisation éloignée dans le tractus digestif, les concentrations de GLP-1 augmentent très rapidement après le début de la prise alimentaire, cette hormone se lie alors sur ces récepteurs spécifiques (GLP-1 R) situés sur les cellules β et α de l'îlot pancréatique et stimule la sécrétion d'insuline dépendante du glucose (Drucker and Nauck, 2006). Chez le rat, l'administration d'un antagoniste du récepteur au GLP-1 (l'exendin) diminue l'amélioration du métabolisme du glucose observée après la chirurgie bariatrique confirmant que le GLP-1 est bien impliqué dans l'amélioration du métabolisme du glucose après le RYGB (Laferrère, 2011). L'évaluation des statuts en acide aminés des patients après la chirurgie bariatrique a montré que les concentrations circulantes des acides aminés ramifiés (ou BCAA : leucine, valine et isoleucine) étaient diminuées chez les patients après la chirurgie bariatrique et

pouvaient également participer à l'amélioration du métabolisme du glucose observé après la chirurgie (Laferrère, 2011).

La chirurgie bariatrique est associée également à une diminution de la stéatose hépatique qui est une co-morbidité majeure de l'obésité et peut évoluer en fibrose puis en cirrhose et enfin en hépatocarcinome. Parmi les patients opérés, 86 % présentaient une stéatose hépatique de 30 % ; un an après la chirurgie bariatrique, la stéatose hépatique est réduite chez tous les patients et surtout chez les patients ayant choisi le RYGB. Ces résultats sont confirmés 5 ans après la chirurgie : 14 % de stéatose pour les patients ayant choisi l'anneau gastrique et 9 % chez les patients ayant choisi le RYGB (Caiazzo et al., 2014).

Les résultats obtenus grâce aux nombreuses études longitudinales de la chirurgie bariatrique permettent de conseiller le patient dans son choix et de l'aiguiller vers le type de chirurgie qui aura le plus de bénéfices pour lui (Caiazzo and Pattou, 2013). On note d'ailleurs que le choix de l'opération est fonction du niveau d'IMC et également de la présence de co-morbidités. Les patients qui choisissent la pose d'un anneau gastrique ont moins d'excès de poids (IMC = 45 Kg/m² vs. IMC = 50 Kg/m²) et sont moins diabétiques (16 % vs. 23 %) que les patients choisissant l'opération du RYGB (Buchwald et al., 2009). Si la chirurgie bariatrique est très efficace, elle reste une opération chirurgicale non anodine. Le risque de mortalité après un RYGB est faible mais existant (0,3 %) et on observe des complications de la chirurgie dans 0,5 % des cas. Les effets indésirables de la chirurgie sont des risques de fuite du contenu du tractus digestif (5% des cas), d'hémorragie (4% des cas), des risques d'obstruction intestinale et de déficiences en vitamines et minéraux (Neff et al., 2013). Il est donc recommandé aux patients de procéder à un suivi médical important après la chirurgie bariatrique.

Box 3 : **KEYPOINTS** (Caiazzo and Pattou, 2013)

- Adjustable gastric banding is the least aggressive procedure, weight loss is satisfactory and outcome depends on close nutritional surveillance.
- Adjustable gastric banding is a mini-invasive procedure that can be part of a multiple step surgical management.
- Sleeve Gastrectomy is associated with results and associated complication risk intermediate between those of adjustable gastric banding and gastric bypass.
- Gastric Bypass offers the best initial weight loss and more stable long-term weight loss at the price of higher associated morbidity and mortality.
- Long-term regain of weight is possible with all three procedures.
- Bariatric surgery leads to remission of diabetes in 50% of patients after adjustable gastric banding, 67% of patients after sleeve gastrectomy and 75% of patients after gastric bypass.

Chapitre 2 : Le métabolisme du tryptophane

1. Généralités

Le tryptophane appartient à la famille des acides aminés, c'est une classe chimique de molécules composées d'un groupement carboxyle (-COOH), d'un groupement amine (-NH₂) et d'une chaîne latérale appelée R qui identifie l'acide aminé. Parmi ces acides aminés, 22 acides aminés sont utilisés par les eucaryotes pour la synthèse protéique. Parmi ces 22 acides aminés, 9 sont des acides aminés essentiels également appelés indispensables et ne peuvent pas être synthétisés dans l'organisme, ils doivent donc être apportés par l'alimentation. Ces acides aminés sont l'histidine, l'isoleucine, la leucine, la lysine, la méthionine, la phénylalanine, la thréonine, la valine et le tryptophane. L'OMS recommande un apport journalier en tryptophane de 4mg/kg/jour soit 280 mg/jour pour un individu de 70 kg (Protein and amino acid requirements in human nutrition, WHO (2007)). Les sources majeures de tryptophane dans l'alimentation sont les œufs, le lait et les produits laitiers et les produits carnés (viande de porc ou de bœuf). D'après l'étude INCA2 publiée par l'agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation de l'environnement et du travail (ANSES) en 2009, les apports journaliers moyens en lait, fromage, œufs et viande permettent de couvrir largement les besoins en tryptophane de l'organisme (Figure 3).

Tableau 3 : L'apport en tryptophane par l'alimentation dans la population Française. Evaluée d'après les concentrations en tryptophane des aliments (source USDA, National Nutrient Database for Standard Reference, release 27) et l'estimation des consommations dans la population Française (Etude INCA2, ANSES (2009)).

	Tryptophane (en g pour 100g)	Consommation moyenne en France (en g/jour)	Apport en tryptophane (en mg/jour)
Fromage, gruyère	0,42	33,4	140,3
Œuf, entier	0,40	15,3	61,2
Viande de porc	0,40		
Viande de bœuf	0,40	49,7	198,8
Viande de poulet	0,38		
Lait	0,08	85,7	68,6
Apport journalier total en tryptophane recommandé par l'OMS			280
Apport journalier total en tryptophane estimé			468,9

Les concentrations moyennes de tryptophane dans le sang sont comprises entre 50 et 60 $\mu\text{mol/L}$. En outre de son utilisation pour la synthèse protéique, le tryptophane est également métabolisé par l'organisme *via* deux voies métaboliques majeures : la voie de la sérotonine et la voie des kynurénines (Figure 12). La voie des kynurénines est la principale voie de métabolisation du tryptophane, en effet 90% du tryptophane périphérique est métabolisé *via* la voie des kynurénines (Schwarcz et al., 2012).

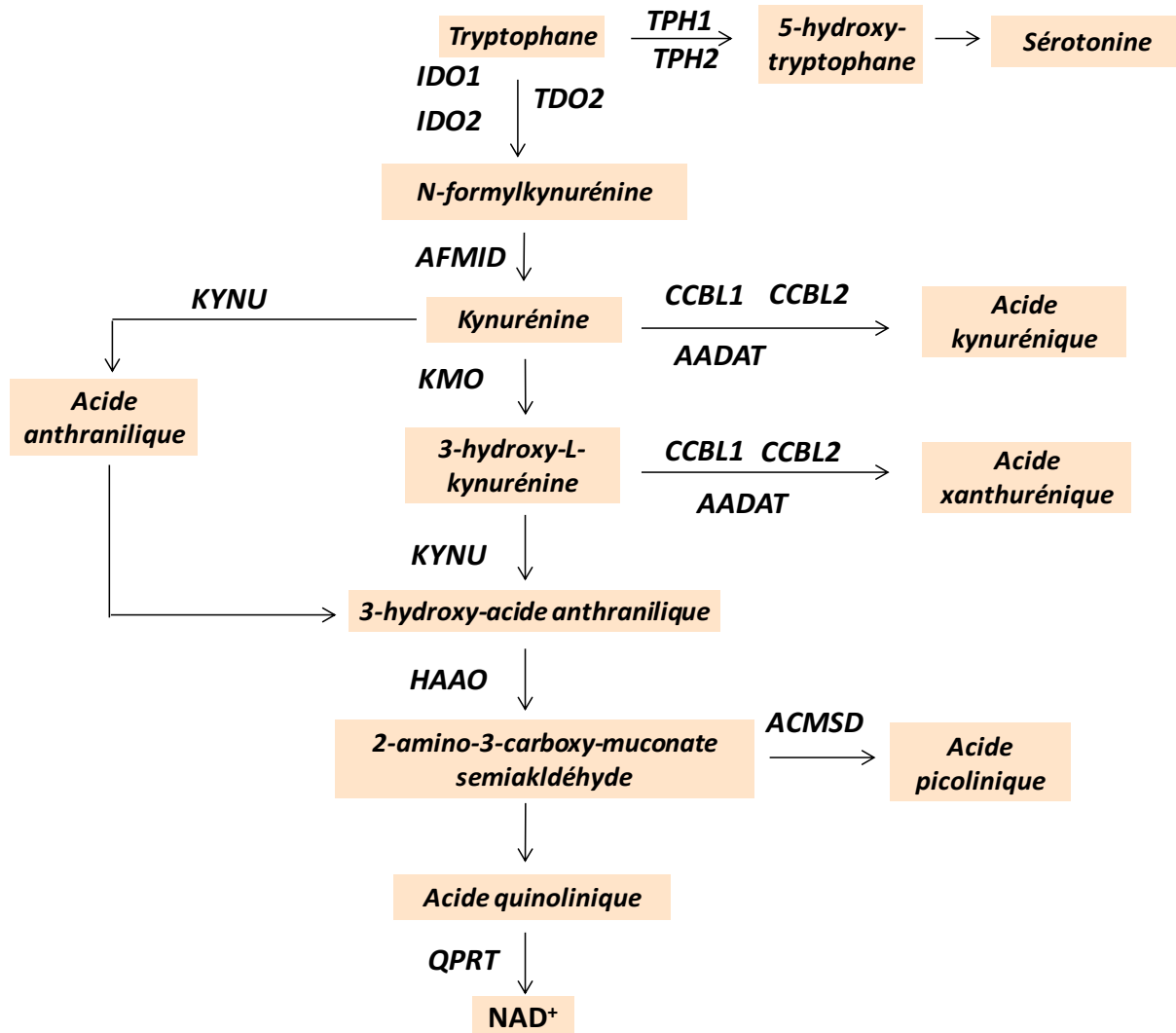


Figure 11 : La voie des kynurénines : du tryptophane à la synthèse de NAD⁺

2. Le métabolisme du tryptophane vers la voie de la sérotonine

a. La synthèse de sérotonine

La sérotonine, également appelée 5-HT est une neurohormone dérivée du tryptophane. Elle est synthétisée dans le système nerveux central par les neurones sérotoninergiques situés au niveau du tronc cérébral et également au niveau périphérique dans les cellules entérochromaffines de l'intestin. La sérotonine périphérique libre est principalement stockée dans les plaquettes sanguines. La sérotonine ne pouvant pas traverser la barrière hémato-encéphalique (BHE), la production de sérotonine dans le système nerveux central (SNC) est strictement dépendante du transport de

tryptophane par la BHE. Il a d'ailleurs été montré que l'augmentation des concentrations périphériques du tryptophane était associée à une augmentation des concentrations centrales de sérotonine et que sa diminution était associée à une diminution des concentrations de la sérotonine dans le cerveau (Fernstrom and Wurtman, 1972). Le tryptophane traverse la BHE *via* le transporteur LAT1 (L-type amino acid transporter 1). Le transporteur LAT1 est un transporteur des acides aminés de grande taille : le tryptophane, la phénylalanine, la valine, la leucine, la méthionine, la tyrosine et l'histidine (Yanagida et al., 2001), c'est un transport actif et compétitif. Il faut noter que le tryptophane est le seul acide aminé capable de se lier à l'albumine, la majeure partie du tryptophane circulant est ainsi liée à cette protéine. L'albumine ne pouvant pas traverser la BHE, seul le tryptophane libre peut traverser la BHE. La dissociation du tryptophane et de l'albumine à proximité de la BHE est favorisée par la diminution du flux sanguin et la présence des protéines du glycocalyx (Ruddick et al., 2006).

La synthèse de sérotonine est initiée par l'enzyme tryptophane-5-hydroxylase (TPH) qui catalyse la conversion du tryptophane en 5-hydroxy tryptophane (5-OHT). Depuis 2003, il est connu que l'enzyme TPH existe sous la forme de 2 isoformes appelées TPH1 et TPH2. L'isoforme TPH1 est exprimée dans les cellules entérochromaffines ainsi que dans les cellules de la glande pinéale tandis que l'isoforme TPH2 est exprimée dans les neurones sérotoninergiques. L'élimination de la sérotonine est ensuite régulée par l'enzyme monoamine oxydase-A (MAO-A) qui dégrade la sérotonine en 5-hydroxyindole acétique un composé qui est éliminé dans les urines. Au niveau synaptique, la sérotonine libérée dans les synapses peut également être recyclée par les neurones grâce à un système de recapture grâce à des transporteurs spécifiques de la sérotonine.

b. Les fonctions de la sérotonine

La sérotonine a un rôle physiologique majeur au niveau central et également au niveau périphérique (Figure 13). La sérotonine agit *via* une famille de récepteurs spécifiques appelés 5-HTR.

Il existe une grande variabilité des récepteurs de la sérotonine, 5-HT₁ à 7 qui explique la grande variabilité des effets de la sérotonine. Au niveau périphérique, la sérotonine produite par les cellules entérochromaffines accélère la motilité intestinale par sa liaison avec le récepteur 5-HT₃ (Gwynne et al., 2014). Elle est également vasoactive, la libération de sérotonine au cours de l'agrégation plaquettaire en cas de lésion d'un vaisseau sanguin induit notamment une vasoconstriction des vaisseaux (Veenstra-VanderWeele et al., 2000). Au niveau central, la sérotonine est un neurotransmetteur majeur, impliquée notamment dans certaines pathologies comme l'anxiété, la dépression, les phénomènes d'addiction et également dans la régulation de l'appétit, du sommeil et de l'humeur (Veenstra-VanderWeele et al., 2000). Les souris KO pour le gène du récepteur de la sérotonine 5-HT_{2C} ont une plus grande consommation alimentaire et prennent plus de poids que les souris sauvages (Tecott et al., 1995). Les souris KO pour le récepteur 5-HT_{1A} sont plus anxieuses et chez l'Homme, le buspirone chlorhydrate qui est un agoniste du récepteur 5-HT_{1A} est un médicament contre l'anxiété (Veenstra-VanderWeele et al., 2000). Les inhibiteurs de l'enzyme MAO-A et de la recapture de la sérotonine sont des médicaments antidépresseurs utilisés chez l'Homme.

La sérotonine est également un précurseur de la mélatonine, elle est métabolisée en mélatonine par l'enzyme arylalkylamine *N*-acetyltransferase (AANAT). La synthèse de mélatonine à partir de la sérotonine se produit exclusivement dans les pinéaloocytes pendant la phase nocturne, pendant la phase diurne, l'activité de l'enzyme AANAT est inhibée. Pendant la phase nocturne, l'inhibition de l'activité et de l'expression de l'enzyme AANAT est levée par la norépinephrine. L'activité d'AANAT augmente de 150 fois et la sérotonine est métabolisée en *N*-acétylsérotonine puis en mélatonine grâce à l'enzyme hydroxyindole-*O*-méthyltransférase (Barbosa et al., 2008). La mélatonine, appelée également hormone du sommeil est impliquée dans l'endormissement et la dérégulation du cycle circadien de la sécrétion de mélatonine est associée à des troubles du métabolisme qui sont fréquemment observés chez les individus travaillant la nuit (Wang et al., 2011a).

Les concentrations en sérotonine dans le SNC étant dépendante des concentrations périphériques en tryptophane (Fernstrom and Wurtman, 1972), de nombreux fabricant de compléments alimentaires à base de tryptophane vantent leurs effets sur l'amélioration du temps d'endormissement, sur le sommeil et sur l'anxiété. Certaines études réalisées chez l'Homme confirment ces résultats (Hudson et al., 2007) mais sont contestés dans d'autres études (Hartmann, 1982; Pecknold et al., 1982).

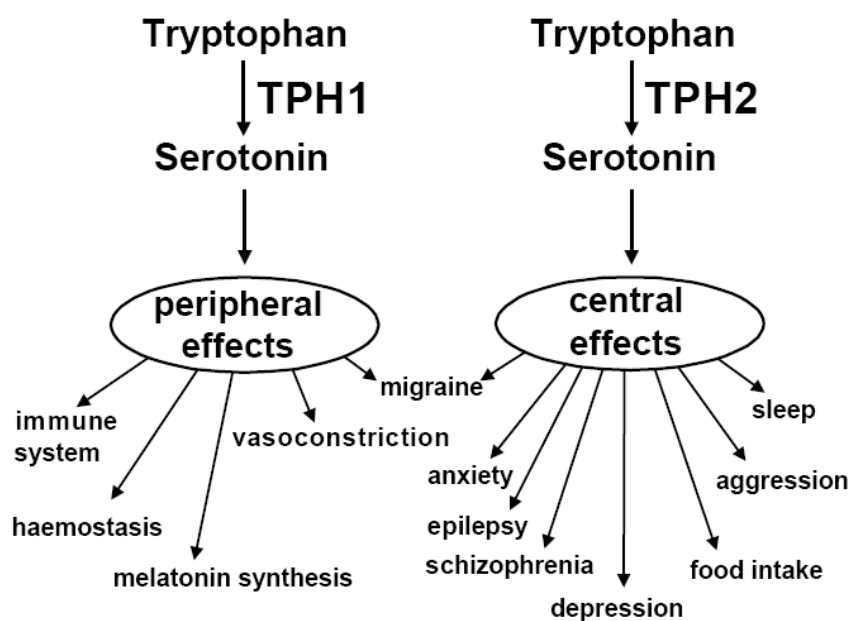


Figure 12 : Représentation schématique des effets périphériques et centraux de la sérotonine. (Walther and Bader, 2003)

3. Le métabolisme du tryptophane vers la voie des kynurénines

Le métabolisme du tryptophane par la voie des kynurénines a pendant longtemps été considéré uniquement comme une voie de synthèse du nicotinamide adénine dinucléotide (NAD⁺). C'est à la fin des années 70 que les propriétés convulsivantes des kynurénines et de l'acide quinolinique en particulier ont été démontrées. L'intérêt pour cette voie a mené à de nombreuses publications et les propriétés neuromodulatrices des kynurénines ainsi que leur implication dans certaines pathologies neurodégénératives ont été largement démontrées. Au début des années 90, on découvre que la voie des kynurénines est induite par le système immunitaire et plus

particulièrement par l'IFN γ chez des individus atteints du syndrome de l'immuno-déficience humaine (SIDA) puis en 1998 que l'activité de l'enzyme IDO1 est un élément clé de la tolérance immunitaire qui intervient entre la mère et le fœtus.

a. Les enzymes de la voie des kynurénines

Les enzymes IDO1, IDO2 et TDO2

La première étape du métabolisme du tryptophane en kynurénines est initiée par 3 enzymes : l'enzyme tryptophane 2,3 dioxygénase (TDO2), l'enzyme indoléamine 2,3-dioxygénase 1 (IDO1) et l'enzyme indoléamine 2,3-dioxygénase 2 (IDO2). Ces 3 enzymes catalysent la formation du métabolite N-formylkynurénine à partir du tryptophane. Le métabolite N-formylkynurénine est ensuite métabolisé très rapidement en kynurénine, le premier métabolite stable de la voie. TDO2 est un analogue de l'enzyme IDO1, c'est-à-dire que leur fonction est identique mais leur origine est indépendante. L'enzyme IDO2 a été découverte récemment en 2007, le gène codant pour l'enzyme IDO2 est localisé à proximité du gène IDO1 et sa séquence est proche de celle d'IDO1 (Ball et al., 2007) (Figure 14). Ces 3 enzymes ont la même activité catalytique mais diffèrent de part leur localisation tissulaire.

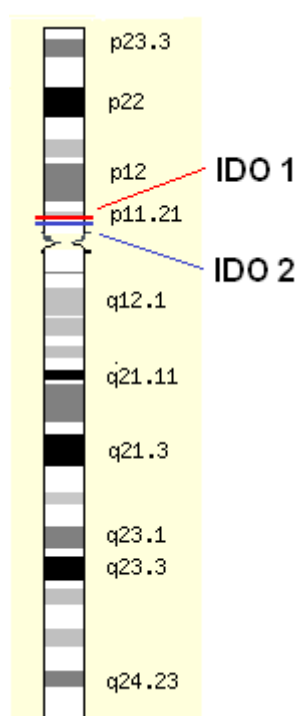


Figure 13 : Représentation schématique du chromosome 8 humain.

La localisation du gène codant pour l'enzyme IDO1 est indiquée en rouge et du gène codant pour l'enzyme IDO2 en bleu.

L'enzyme TDO2 est exprimée principalement dans le foie chez l'humain, son substrat spécifique est le L-tryptophane (Rafice et al., 2009). L'expression de TDO2 est augmentée par les glucocorticoïdes et par le tryptophane lui-même, ce qui fait de cette enzyme le régulateur des concentrations plasmatiques en tryptophane (Soichot et al., 2013). En effet on trouve dans le promoteur du gène codant pour l'enzyme TDO2 des éléments de réponse aux glucocorticoïdes (GRE). Par exemple, la liaison de la dexaméthasone à son élément de réponse GRE induit une augmentation de l'expression du gène TDO2 de 2,5 fois dans la lignée cellulaire hépatique humaine HEPG2 (Soichot et al., 2013).

L'enzyme IDO1 métabolise le L-tryptophane et également le D-tryptophane. La molécule 1-méthyltryptophane est un inhibiteur de l'activité de l'enzyme IDO1 et l'expression et l'activité de cette enzyme sont augmentées par les cytokines inflammatoires. L'IFN γ est la cytokine la plus efficace pour induire l'expression de l'enzyme IDO1. La liaison de l'IFN γ à son récepteur (IFNGR1) déclenche la phosphorylation du facteur de transcription STAT1 (Signal Transducer and Activator of Transcription 1) et sa translocation dans le noyau où il se lie à la séquence d'activation gamma située dans le promoteur du gène IDO1. L'IFN γ induit également l'expression du facteur IRF1 (Interferon regulator factor 1) qui se lie aux éléments de réponse à l'interféron (ISRE) 1 et 2 situés également en amont du gène IDO1. Les facteurs STAT1 et IRF1 coopèrent pour induire l'expression d'IDO1 (Robinson et al., 2005) (Figure 15). Ce mécanisme est potentialisé par la cytokine pro-inflammatoire TNF α qui augmente l'expression du facteur IRF1 *via* le facteur de transcription NF- κ B (nuclear factor-*kappa* B) (Robinson et al., 2006). Il existe également une voie non-dépendante de l'IFN γ passant par le récepteur TLR4 (Toll-like récepteur 4) : la liaison du LPS, un agoniste de TLR4, induit l'expression d'IDO1 *via* NF- κ B et IRF3 (Campbell et al., 2014) (Figure 15).

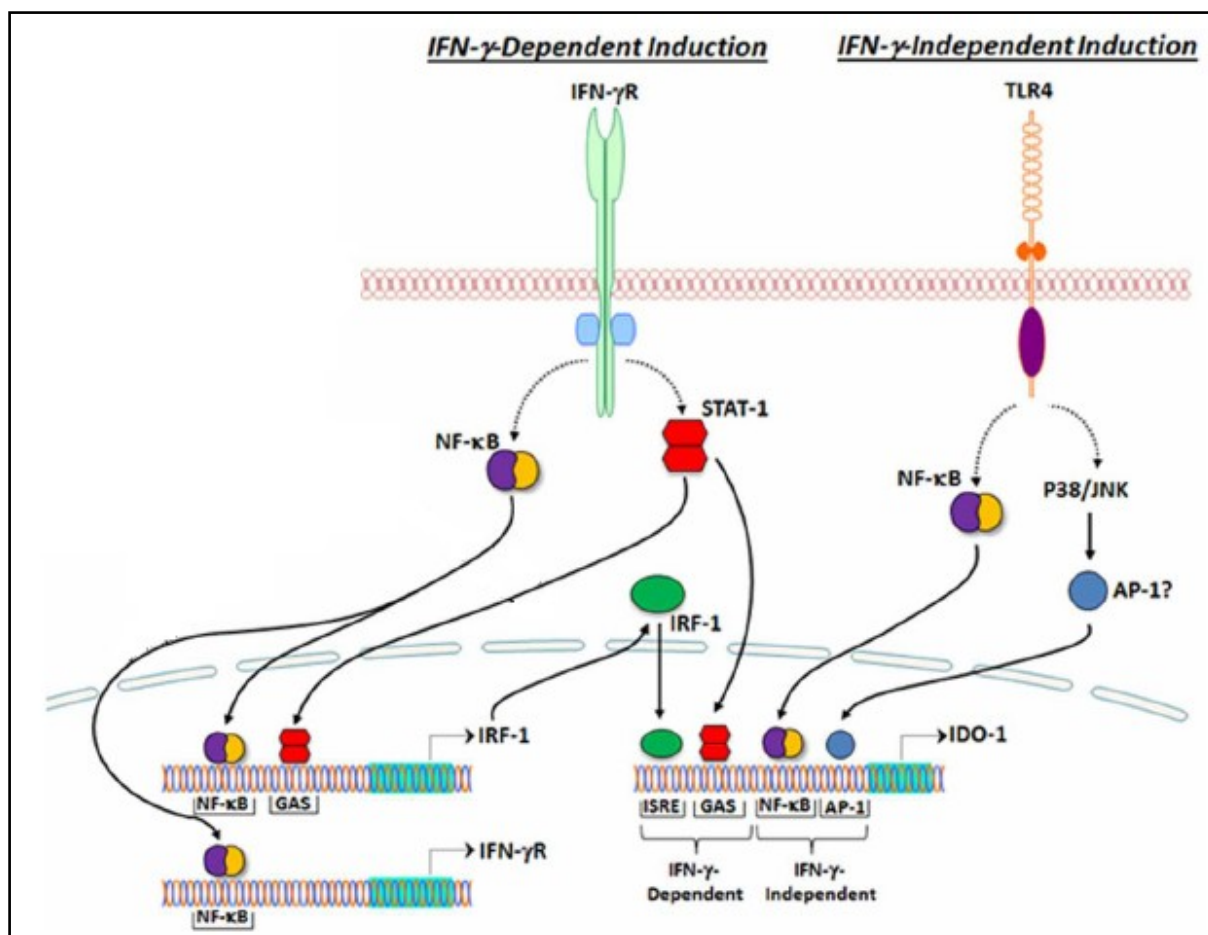


Figure 14 : Régulation de l'expression de l'enzyme IDO1 de façon IFN γ -dépendante et IFN γ -indépendante. (Campbell et al., 2014).

L'enzyme IDO1 est peu exprimée dans le foie, elle est exprimée majoritairement dans le cerveau, dans le tractus digestif, les poumons et également le placenta. Les cellules immunitaires telles que les macrophages, les cellules dendritiques et les cellules de la microglie expriment l'enzyme IDO1 à l'état basal. En présence d'un stimulus inflammatoire la majorité de types cellulaires sont capables d'exprimer l'enzyme IDO1 (Murakami and Saito, 2013; Takikawa et al., 1988). L'enzyme IDO1 est un régulateur de la réponse immunitaire de l'organisme et un moyen de défense contre les microorganismes pathogènes. D'une part l'activité d'IDO1 induit une diminution locale du tryptophane nécessaire au développement des microorganismes et d'autre part elle induit la production de métabolites qui sont capables de réguler la réponse immunitaire par la promotion des

lymphocytes Treg plutôt que les lymphocytes pro-inflammatoires (Grohmann and Puccetti, 2015). Nous verrons ces propriétés plus en détail dans les prochains paragraphes.

La troisième enzyme IDO2 est un homologue de IDO1, découverte en 2007, le gène codant pour IDO2 est proche de celui codant pour IDO1. Du fait de sa découverte récente, les propriétés d'IDO2 sont relativement peu connues. Les premières études ont montré que chez la souris, IDO2 est exprimée dans les reins et dans le foie (Ball et al., 2007), mais chez l'homme la localisation d'IDO2 semble différente : IDO2 est exprimée dans le placenta et dans le cerveau (Metz et al., 2007). Comme l'enzyme IDO1, l'enzyme IDO2 est exprimée dans les cellules dendritiques. Dans une moindre mesure par rapport à IDO1, son expression est augmentée par les cytokines inflammatoires (Metz et al., 2014), l'activité enzymatique d'IDO2 est également plus faible comparée à celle d'IDO1 (Pantouris et al., 2014). Les dernières publications de travaux réalisés sur cette nouvelle enzyme semblent indiquer que comme IDO1, IDO2 est un régulateur de la réponse immunitaire (Bessede et al., 2014; Metz et al., 2014; Prendergast et al., 2014).

Les enzymes KMO et KYNU

Ces deux enzymes sont des enzymes clés pour la synthèse d'acide quinolinique et de NAD^+ à partir du tryptophane. L'expression des enzymes kynurénine monooxygénase (KMO) et de l'enzyme kynuréninase (KYNU) est également induite par des cytokines pro-inflammatoires (Asp et al., 2011; Jones et al., 2015).

La kynurénine est métabolisée en 3-hydroxykynurénine (3OHK) par l'enzyme KMO. Le 3OHK est métabolisé ensuite en 3-hydroxy-acide anthranillique (3OHAA) par l'enzyme KYNU. Il existe également une deuxième voie ou voie de by-pass pour la formation du métabolite 3OHAA qui contourne le métabolite 3OHK et l'enzyme KMO. La kynurénine est métabolisée en acide anthranillique par l'enzyme KYNU puis en 3OHAA de façon non-enzymatique. On note que l'affinité de l'enzyme KYNU est plus élevée pour le métabolite 3-OHK que pour la kynurénine, suggérant que cette voie de by-pass serait minoritaire en condition normale et que la synthèse de 3OHAA

proviendrait majoritairement du métabolite 3OHK (Lima et al., 2007, 2009). Le métabolite intermédiaire de cette deuxième voie, l'acide anthranilique, est un inhibiteur de l'enzyme 3-hydroxyanthranilate 3,4 dioxygénase (HAAO) qui catalyse la transformation du métabolite 3OHAA en acide quinolinique (Vescia and di Prisco, 1962). Cette voie de by-pass inhibe donc la synthèse d'acide quinolinique et potentiellement de NAD⁺. En effet chez les souris invalidés pour le gène KMO : la voie des kynurénines est dirigée vers la voie de by-pass et vers la production d'acide anthranilique, on observe alors une forte augmentation des taux d'acide anthranilique et une forte diminution de l'acide quinolinique dans le plasma (Giorgini et al., 2013).

L'activité enzymatique de KYNU est dépendante du cofacteur pyridoxal 5-phosphate (PLP), la forme active de la vitamine B6. Chez des rats soumis à un régime déficient en vitamine B6, l'activité de la kynuréninase est réduite d'environ 50 % (Shibata et al., 1995). En cas de déficience en vitamine B6 l'activité de l'enzyme KYNU est donc diminuée et on observe une augmentation des concentrations de 3OHK (Deac et al., 2015) et d'acide xanthurénique qui est synthétisé à partir du métabolite 3OHK (Shibata et al., 1995). Pendant longtemps d'ailleurs, la mesure de l'acide xanthurénique dans les urines suite à une charge en tryptophane était une mesure commune de la déficience en vitamine B6 (Coon and Nagler, 1969).

Les enzymes Kynurénine AminoTransférase (KATs)

Les enzymes kynurenine-aminotransférase (KATs) catalysent la transformation de la kynurénine en acide kynurénique et du métabolite 3OHK en acide xanthurénique. Pour rappel le métabolite 3OHK est métabolisé à partir de la kynurénine grâce à l'enzyme KMO.

Les enzymes KATs appartiennent à la grande famille des enzymes aminotransférases, capables de déplacer le groupement amine d'un acide aminé sur un nouvel acide aminé. Ce sont les enzymes cystéine conjugate-beta lyase 1 (CCBL1 ou kynurénine aminotransférase 1 (KAT1)), aminoadipate aminotransférase (AADAT ou kynurénine aminotransférase 2 (KAT2)) et cystéine conjugate-beta lyase 2 (CCBL2 ou kynurénine aminotransférase 3 (KAT3)). Récemment une

quatrième KATs ayant pour substrat la kynurénine a été publiée : l'enzyme mitochondriale glutamic-oxaloacetic transaminase 2 (GOT2 ou KAT 4) (Han et al., 2011). Ces quatre enzymes catalysent la transamination irréversible de la kynurénine en acide kynurénique. Les enzymes CCBL2 (Han et al., 2008a), AADAT (Han et al., 2008b) et GOT2 (Han et al., 2011) présentent également une activité enzymatique pour le métabolite 3-OHkynurénine, ce n'est pas le cas de l'enzyme CCBL1 (Han et al., 2004) (pour une revue sur les KATs: (Han et al., 2010)). L'affinité des KATs est plus élevée pour la kynurénine que pour le métabolite 3OHK. L'activité de ces enzymes est dépendante de la présence du co-enzyme vitamine B6. Cependant chez des rats soumis à un régime déficient en vitamine B6, la synthèse d'acide kynurénique diminue comme attendu de 63% mais la synthèse d'acide xanthurénique augmente de façon dramatique (800%) suggérant que l'activité des enzymes KATs est maintenue pour le métabolite 3OHK (Shibata et al., 1995).

Il est admis que l'acide kynurénique et l'acide xanthurénique sont des produits terminaux de la voie des kynurénines. Cependant certaines études ont montré que l'ingestion d'acide kynurénique chez l'Homme et le rat est suivie d'une augmentation des taux d'acide quinaldique dans les urines (Takahashi et al., 1956). L'acide quinaldique serait synthétisé à partir de l'acide kynurénique, mais l'enzyme impliquée dans cette synthèse n'est pas encore caractérisée.

Les enzymes QPRT et ACMSD

Si nous revenons dans la voie des kynurénines (Figure 12), j'ai présenté jusqu'à présent les enzymes de la voie jusqu'au métabolite 3OHAA. A partir de ce métabolite, la voie peut se diriger vers la synthèse d'acide picolinique ou d'acide quinolinique et de NAD⁺. Le 3OHAA est métabolisé en 2-amino-3-carboxymuconate semialdéhyde (ACMS) par l'enzyme 3-hydroxyanthranilate 3,4-dioxygénase (HAAO). Il peut être ensuite métabolisé en acide picolinique *via* l'enzyme ACMSD, chez l'Homme, cette enzyme est exprimée dans le cerveau, le foie et les reins (Pucci et al., 2007). Ou alors l'ACMS peut être métabolisé de façon non-enzymatique en acide quinolinique qui est la dernière

enzyme de la voie des kynurénines. L'enzyme QPRT entre alors en jeu et catalyse la première étape de la synthèse *de novo* de NAD⁺ dans l'organisme à partir de l'acide quinolinique. L'activité de cette enzyme dans le cerveau est particulièrement importante au vue des propriétés neurotoxiques de l'acide quinolinique que nous verrons dans les paragraphes suivants.

b. Les propriétés des kynurénines

Dès 1979, Yoshida *et al.* ont montré que l'activité de l'enzyme IDO1 était augmentée chez les souris infectées par un virus (Yoshida et al., 1979) puis la découverte des propriétés neurotoxiques de l'acide quinolinique en 1981 ont considérablement augmenté l'intérêt des scientifiques pour les kynurénines. A ce jour, les métabolites de la voie ont principalement été étudiés dans le cadre des pathologies neurodégénératives comme la maladie de Huntington, le syndrome de démence associé au syndrome du SIDA et également les cancers. Ces études ont permis de déterminer certaines propriétés des kynurénines que je vais détailler dans cette partie. Nous verrons dans un second temps les propriétés des kynurénines dans le cadre des maladies métaboliques.

Le tryptophane

La dégradation du tryptophane par l'enzyme IDO1 est associée à une diminution de la croissance bactérienne, virale et des parasites comme le parasite responsable de la toxoplasmose. La diminution des concentrations locales en tryptophane provoquée par l'activité d'IDO1 diminue sa disponibilité pour ces microorganismes et ralentit leur croissance. En 1998, Munn *et al.* ont montré que l'inhibition de l'activité enzymatique d'IDO1 chez des souris gestantes entraînait le rejet du fœtus par le système immunitaire de la mère (Munn et al., 1998). Les auteurs proposent alors deux hypothèses : soit la déplétion locale des concentrations en tryptophane, soit les effets immunomodulateurs des métabolites du tryptophane modifient la réponse immunitaire des lymphocytes T et induisent la tolérance du système immunitaire maternel pour le fœtus. Actuellement l'hypothèse de la déplétion en tryptophane est maintenue pour le cas des bactéries,

des virus et des parasites, mais elle est remise en cause pour la modulation des lymphocytes T pour laquelle la deuxième hypothèse est privilégiée comme nous allons le voir dans le paragraphe suivant.

La kynurénine

La kynurénine est le premier métabolite stable de la voie des kynurénines. La N-formylkynurénine est en effet métabolisée de façon très rapide et systématique en kynurénine par l'enzyme AFMID. Tout comme le tryptophane, la kynurénine est capable de traverser la BHE grâce au transporteur LAT-1. Ce n'est pas le cas des autres métabolites de la voie qui ne peuvent pas traverser la BHE (Fukui et al., 1991).

La kynurénine est un agoniste du récepteur Aryl Hydrocarbon Receptor (AhR) et les effets immunorégulateurs de l'enzyme IDO1 proviennent de la liaison de la kynurénine à ce récepteur. La kynurénine induit la polarisation des lymphocytes T en lymphocyte au phénotype régulateur exprimant les marqueurs FOXP3 et CD25 de façon dépendante de la présence du récepteur AhR (Mezrich et al., 2010). Les études sur le modèle animal de souris invalidées pour ce récepteur (AhR^{-/-}) ont en effet révélé qu'il est impliqué dans la régulation du système immunitaire. D'une part les souris invalidées pour AhR présentent à long terme (12 mois) un déficit des lymphocytes T et B du fait d'une altération de la rate (Fernandez-Salguero et al., 1997), d'autre part, la présence d'AhR est nécessaire pour l'induction de lymphocytes T régulateurs (Treg). En effet, les souris sauvages AhR^{+/+} sont capables de générer des lymphocytes T CD4⁺ avec un phénotype régulateur (Treg) en réponse au TCDD, un ligand d'AhR, mais pas les souris AhR^{-/-} (Funatake et al., 2005; Mezrich et al., 2010). Ces résultats sont en accord avec l'observation de Munn *et al.* en 1998 : les souris gestantes traitées par le 1-méthyl-tryptophane, un inhibiteur de l'enzyme IDO1, rejettent le fœtus, l'activité enzymatique d'IDO1 permet donc de prévenir le rejet du fœtus par le système immunitaire de la mère *via* la synthèse de la kynurénine. Il est donc possible de considérer l'augmentation de l'expression et de l'activité de l'enzyme IDO1 par la cytokine pro-inflammatoire IFN γ comme un rétrocontrôle négatif du processus inflammatoire (van Baren and Van den Eynde, 2015). Les cellules dendritiques jouent

un rôle majeur dans ce phénomène de tolérance immunitaire. Ce sont des cellules immunitaires qui contrôlent la fonction des lymphocytes B et T et modulent la réponse immunitaire, elles peuvent promouvoir la réponse immunitaire et également la tolérance immunitaire (Banchereau and Steinman, 1998). La liaison de AhR à son ligand dans les cellules dendritiques se traduit par une augmentation des marqueurs de surface tolérogène et l'augmentation de la proportion de lymphocytes Treg (Benson and Shepherd, 2011).

L'étude des propriétés d'AhR est très complexe car les effets sont très dépendants du type cellulaire et également du type de ligand (Mitchell and Elferink, 2009). Il existe de nombreux ligands d'AhR : des composés exogènes comme la dioxine TCDD ou des hydrocarbures aromatiques polycycliques et également des composés endogènes comme la kynurénine que nous venons de voir. Le récepteur AhR est un facteur de transcription, ce récepteur est exprimé dans de nombreux types cellulaires, et plus particulièrement dans le foie et dans les tissus en contact avec le milieu extérieur (les poumons, les intestins, la peau, le placenta, ...). La liaison de AhR à son ligand dans le cytoplasme initie sa translocation dans le noyau, le complexe AhR-ligand se lie ensuite à la protéine AhR nuclear translocator (Ahr). Ce complexe a une forte affinité pour l'ADN et se lie à l'élément de réponse aux xénobiotiques situé en amont du promoteur du gène et induit la transcription des gènes cibles (Figure 16). Ces gènes cibles codent pour des enzymes du métabolisme des xénobiotiques, on peut citer CYP1A1, CYP1A2 et CYP1B1 qui codent pour les cytochromes P450 1a1, 1a2 et 1b1. Le récepteur AhR est en effet connu pour être impliqué dans les mécanismes de transformation et d'élimination des composés exogènes toxiques pour l'organisme grâce aux cytochromes P450 et aux enzymes de conjugaison. Le TCDD, également appelée dioxine de Seveso, est le ligand d'AhR le plus toxique, c'est une dioxine hépatotoxique, immunosuppressive, cancérigène et tératogène. La toxicité de TCDD est réduite dans des animaux $AhR^{-/-}$, confirmant que les effets toxiques de ce xénobiotique sont dépendants de sa liaison avec le récepteur AhR (Gonzalez and Fernandez-Salguero, 1998). La toxicité du TCDD proviendrait en effet de la biotransformation de la dioxine en composés toxiques par les cytochromes induits par AhR dans le foie.

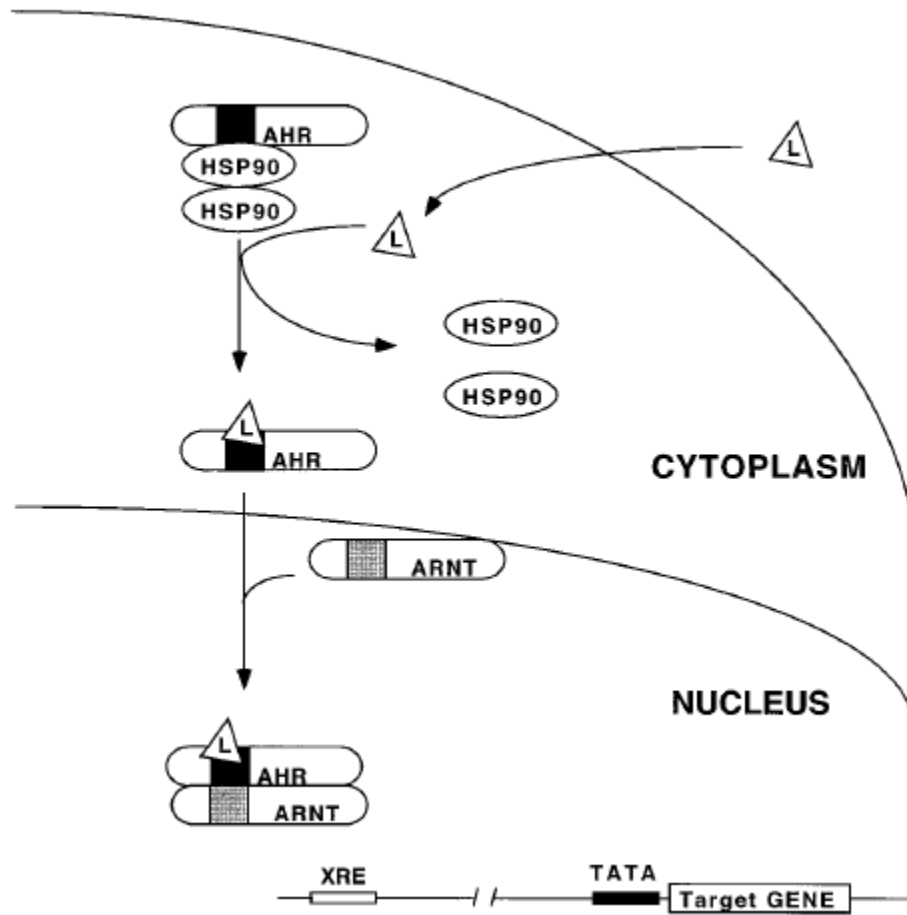


Figure 15 : La voie de signalisation du facteur de transcription AhR.
(Gonzalez and Fernandez-Salguero, 1998)

L'acide quinolinique

La découverte en 1981 des propriétés convulsivantes de l'acide quinolinique a suscité l'intérêt des neuroscientifiques pour l'étude de la voie des kynurénines. L'acide quinolinique est un agoniste des récepteurs NMDA. Les récepteurs NMDA appartiennent à la grande famille des récepteurs au glutamate et sont les seuls récepteurs au glutamate qui ont pour agoniste pharmacologique la molécule NMDA. La famille des récepteurs au glutamate regroupe les récepteurs de type ionotropique kainate et AMPA et les récepteurs de type métabotrope mGlu qui sont des RCPG. Les NMDA sont des récepteurs transmembranaires constitués de 4 sous-unités qui forment un canal ionique sélectif pour les ions K^+ , Ca^+ et Na^+ . Il existe 3 types de sous-unités appelées Glu N1, Glu N2 et Glu N3. La sous-unité Glu N1 est indispensable, elle est associée avec la sous-unité Glu N2 seule

ou également avec la sous-unité Glu N3 (Paoletti, 2011). Les sous-unités Glu N1 et Glu N3 ont pour ligand la glycine ou la D-sérine, la sous-unité Glu N2 a pour ligand le glutamate. L'activation du récepteur NMDA nécessite donc la présence de glutamate et de glycine ou D-sérine. L'acide quinolinique est un agoniste des sous-unités Glu N2, et plus spécifiquement des sous-unités Glu N2A et Glu N2B, et il n'est pas un agoniste de la sous-unité Glu N2C. Il exerce une action excitotoxique sur les neurones, la liaison de l'acide quinolinique au récepteur NMDA se traduit par l'ouverture du canal ionique du récepteur et une entrée massive d'ion Ca^{2+} . L'augmentation du calcium intracellulaire déclenche des processus de lyse protéique et finalement l'entrée en apoptose de la cellule. Les propriétés neurotoxiques de l'acide quinolinique sont bien connues mais ce métabolite induit également l'apoptose d'astrocytes primaires humains en culture dès 500nM (Guillemin et al., 2005a). Les astrocytes expriment également les récepteurs NMDA et le mécanisme d'excitotoxicité est similaire dans ces cellules. Nous pouvons noter ici que cela présuppose que l'acide quinolinique peut potentiellement exercer une activité excitotoxique sur tous types de cellules excitatrices exprimant les récepteurs NMDA à leur membrane comme les cellules musculaire ou les cellules β du pancréas (Lin et al., 1996). Dans le cerveau, l'acide quinolinique est produit par les cellules de la microglie et par les cellules dendritiques en réponse à un stimulus inflammatoire (IFN γ ou LPS), les neurones et les astrocytes ne synthétisent pas ce métabolite mais sont capable de le cataboliser en NAD $^+$ (Espey et al., 1997; Guillemin et al., 2005b).

En situation basale, les concentrations d'acide quinolinique dans le SNC sont relativement faibles (20 à 50 nM), mais en réponse à une infection du système nerveux elles peuvent augmenter 20 fois voire 150 fois pour atteindre presque 4 μ M chez les individus atteints par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) (Chen and Guillemin, 2009). La démence associée liée au SIDA concerne 15% des individus séropositifs pour le VIH, cette pathologie est une complication neurologique du SIDA, les individus atteints présentent des troubles cognitifs, des troubles du comportement et de la motricité. Le nombre d'astrocytes en apoptose chez les individus séropositifs pour le VIH est plus élevé que chez les individus séronégatifs (Thompson et al., 2001) et l'acide

quinolinique joue donc un rôle majeur dans cette complication du SIDA. Les concentrations d'acide quinolinique ainsi que d'acide kynurénique et de 3-OHkynurénine dans le SNC augmentent également chez les individus en phase précoce de la maladie de Huntington (Guidetti et al., 2004). La maladie de Huntington est une pathologie neurodégénérative caractérisée par des atteintes des neurones somatostatine et neuropeptide Y positives principalement situées dans le striatum (ganglions de la base du cerveau) et qui entraîne une atrophie du striatum. Les mêmes liaisons spécifiques ont été retrouvées dans le striatum de rat ayant reçu des injections d'acide quinolinique (Beal et al., 1986) suggérant que l'acide quinolinique pourrait être impliqué dans le développement de cette pathologie.

L'acide quinolinique qui est le dernier métabolite de la voie est ensuite métabolisé en NAD^+ grâce à l'enzyme QPRT. L'inhibition de cet enzyme par l'acide phtalique (Malik et al., 2014) induit d'ailleurs une augmentation des taux d'acide quinolinique et une diminution des taux de NAD^+ dans des astrocytes et des neurones en culture et par conséquent l'augmentation de la mort cellulaire (Braidy et al., 2011). Les composés pharmacologiques capables de stimuler l'activité de l'enzyme QPRT sont donc des cibles thérapeutiques intéressantes pour le traitement des pathologies neurodégénératives.

L'acide kynurénique

L'acide kynurénique est métabolisé par les enzymes KATs (kynurénine aminotransférase) à partir de la kynurénine. L'acide kynurénique est actif sur de nombreux récepteurs que je vais détailler dans ce paragraphe (Tableau 4). Ce métabolite est un métabolite final de la voie des kynurénines qui est ensuite éliminé dans les urines. Une faible fraction de l'acide kynurénique peut aussi être métabolisé en une kynurénine appelée acide quinaldique (Takahashi et al., 1956). Les études récentes sont peu nombreuses sur cette kynurénine, mais en 2015 une étude a montré que l'acide quinaldique inhibait la croissance cellulaire de cellules cancéreuses du colon (Langner et al., 2015).

Tableau 4 : Cibles de l'acide kynurénique. (Moroni et al., 2012)

Antagoniste	IC50 (μ M)
Glycine site NMDA receptor	10–30
Nicotinic α 7	1–8
Glutamate site of AMPA or NMDA	300
Agoniste	
GPR35	0.1–30
AHR	NA

L'acide kynurénique est un antagoniste des récepteurs NMDA. Plus précisément, l'acide kynurénique inhibe les récepteurs NMDA par sa liaison au site glycine/D-sérine situé sur les sous-unités GluN1 et GluN3 (Birch et al., 1988). Grâce à ses propriétés d'antagoniste des récepteurs au glutamate, l'acide kynurénique est un métabolite neuro-protecteur et peut prévenir la mort des neurones induites par l'excitotoxicité de ces récepteurs par l'acide quinolinique. Une étude chez le rat a montré que l'augmentation des concentrations endogènes d'acide kynurénique dans le cerveau protège les neurones de l'excitotoxicité induite par l'acide quinolinique ou le NMDA (Miranda et al., 1997).

L'acide kynurénique est également un inhibiteur des récepteurs nicotiques acétylcholine α 7 (α 7nACh). Une étude réalisée en 2001 sur des neurones de rat a montré que l'acide kynurénique pouvait inhiber la réponse du récepteur α 7nACh à l'acétylcholine, un agoniste de ce récepteur (Hilmas et al., 2001). Les récepteurs nACh sont situés principalement dans le système nerveux central et périphérique. Tout comme les récepteurs NMDA, ce sont des canaux ioniques formés de 5 sous-unités transmembranaires qui forment le canal ionique. Les agonistes classiquement connus pour ces récepteurs sont l'acétylcholine et la nicotine. Chez les mammifères, 9 sous-unités sont reconnues, numérotés α 2-7 et β 2-4 (Dineley et al., 2015). Le récepteur α 7nACh (homopentamère composé de 5 sous-unités de type α 7) et le récepteur α 4 β 2nACh (hétéropentamère composé de 2 sous-unités α 4 et 3 sous-unités β 2) sont majoritaires chez les mammifères. Ces récepteurs sont impliqués dans les phénomènes de dépolarisation des neurones par leur propriété de canaux ioniques. Les effets neuro-

modulateurs de l'acide kynurénique pourraient donc être également liés à leur activité sur ces récepteurs spécifiques. Des études montrent que ces récepteurs pourraient être impliqués dans certaines pathologies neurodégénératives comme la schizophrénie et la maladie d'Alzheimer. L'expression du récepteur $\alpha 7nACh$ notamment est plus faible dans le cerveau d'individus atteints de schizophrénie, des agonistes de $\alpha 7nACh$ ont d'ailleurs été utilisés avec succès pour améliorer le déficit cognitif chez des individus atteints de schizophrénie (Dineley et al., 2015).

Plus récemment en 2006, il a été découvert que l'acide kynurénique était un ligand d'un récepteur à 7 domaines trans-membranaires couplés à une protéine G (RCPG) qui était jusqu'alors un récepteur « orphelin » : le RCPG35 (Récepteur couplé à une protéine G 35) (Wang et al., 2006). Chez l'Homme, RCPG35 est exprimé dans le tractus intestinal (estomac, colon, intestins) ainsi que dans la rate et dans les lymphocytes. Il est très peu exprimé dans le cerveau. Les fonctions de ce récepteur sont à ce jour peu connues, cependant au vu de son expression il est probable qu'il ait une fonction au niveau de l'appareil digestif et des pathologies inflammatoires chroniques de l'intestin. En effet des études de GWAS sur les maladies intestinales chroniques de l'intestin ont identifié un SNP situé sur un intron du gène codant pour RCPG35 (rs4676410) (Divorcy et al., 2015). Des études de GWAS sur les pathologies cardiovasculaires ont identifié un SNP situé sur le gène codant pour RCPG35 également, cela était plus surprenant au vu du pattern d'expression du récepteur. Par la suite l'étude de l'expression de RCPG35 a montré qu'il était plus exprimé chez les individus ayant eu une crise cardiaque que chez les individus contrôles sains (Min et al., 2010).

[Le 3-hydroxykynurénine](#)

Le métabolite 3OHK est métabolisé par l'enzyme KMO à partir de la kynurénine. Chez la souris, l'activité de KMO dans le SNC est induite en cas d'infection bactérienne ou par l'IFN γ et les concentrations en 3OHK sont multipliées par 10 (de 80 nM à 800 nM) (Saito et al., 1992). Ce métabolite est neurotoxique comme l'acide quinolinique, il est retrouvé en plus grande quantité

dans le SNC d'individus souffrant de la démence du SIDA et de la maladie de Huntington (Guidetti et al., 2004). Il est ensuite métabolisé en 3-hydroxy-acide anthranilique par l'enzyme KYNU, il peut également subir une étape d'auto-oxydation qui libère une molécule de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). C'est donc un générateur de radicaux libres et l'accumulation de 3OHK dans le SNC en situation pathologique est toxique pour les cellules du SNC. La toxicité du 3OHK est très dépendante de la production d' H_2O_2 car elle est limitée par l'ajout de la catalase qui catalyse la transformation du peroxyde d'hydrogène en oxygène et en eau (Okuda et al., 1996). La présence concomitante d'acide quinolinique et de 3OHK potentialise les lésions neuronales induite par l'acide quinolinique dans le striatum de rats (Guidetti and Schwarcz, 1999).

L'acide xanthurénique

L'acide xanthurénique est synthétisé à partir du métabolite 3OHK par les enzymes KATs. Ce métabolite est considéré comme un produit final de la voie des kynurénines, qui est éliminé dans les urines. L'acide xanthurénique au contraire du métabolite 3OHK n'est pas un métabolite pro-oxydant. La formation d'acide xanthurénique à partir de 3OHK permet donc de diminuer l'action pro-oxydante de ce métabolite, on peut parler de détoxification. L'acide xanthurénique est également un neuromodulateur excitant comme l'acide quinolinique et induit notamment une augmentation des concentrations intracellulaires de calcium. Cependant la toxicité de ce métabolite sur les cellules du système nerveux central a été peu étudiée à ce jour.

Les propriétés de l'acide xanthurénique ont été découvertes chez le moustique porteur des parasites responsables de la malaria chez l'Homme appartenant à la famille des plasmodium. L'hôte vertébré est infecté, le cycle de vie du parasite se poursuit jusqu'à la formation des gamétocytes localisés dans les globules rouges. Ces gamétocytes infertiles deviennent ensuite des gamètes males et femelles fertiles chez le moustique grâce à l'acide xanthurénique qui est un acteur majeur de la reproduction du parasite car il est nécessaire pour le déclenchement de la gamétogénèse *via* l'augmentation des concentrations intracellulaires de calcium (Billker et al., 2004).

Plusieurs études réalisées sur des modèles cellulaires ont confirmé que l'acide xanthurénique induit une augmentation des concentrations calciques intracellulaires potentiellement toxique pour les cellules. Sur des cultures cellulaires de cellules épithéliales humaines, l'acide xanthurénique à forte dose induit une augmentation de calcium intracellulaire et la mort cellulaire (Malina et al., 2002). Malina et son équipe ont également montré les propriétés apoptotiques de l'acide xanthurénique sur un modèle cellulaire de cellules musculaires lisses vasculaires de rat (Malina et al., 2001). En 2012, une équipe montre que l'acide xanthurénique est un agoniste des récepteurs métabotropiques du glutamate du groupe II (il existe 3 groupes de récepteur métabotropique au glutamate I, II et III) par des études de patch clamp réalisées *in vivo* sur des rats (Copeland et al., 2013). Par opposition aux récepteurs ionotropique du glutamate, les récepteurs métabotropiques sont des récepteurs couplés à une protéine G.

4. Les kynurénines et les maladies métaboliques

Si les propriétés des kynurénines sont bien connues dans le domaine des pathologies neurodégénératives et de l'infection au VIH, de plus en plus les recherches sur ces métabolites se développent dans le cadre des maladies métaboliques.

a. L'obésité

L'obésité est associée à une augmentation de la synthèse des kynurénines. En effet l'inflammation systémique et chronique qui est associée à l'obésité induit une augmentation de l'activité de l'enzyme IDO1 évaluée par le ratio des concentrations plasmatiques en kynurénine sur les concentrations en tryptophane (ratio K/T). L'augmentation de l'activité d'IDO1 chez des individus obèses a été reportée pour la 1ère fois en 2006 dans une petite cohorte de 22 individus en situation d'obésité morbide. Dans cette étude, les auteurs ont évalué le ratio K/T ainsi que la néoptérine qui est un marqueur classique de l'inflammation et démontré que le ratio K/T est corrélé aux taux de

neoptérine (Brandacher et al., 2006). Par la suite, l'augmentation de l'activité et également de l'expression de l'enzyme IDO1 dans le tissu adipeux chez les individus obèses a été démontrée chez des individus obèses de la cohorte de l'Atlas Biologique de l'Obésité Sévère (ABOS) (Wolowczuk et al., 2012). Cette corrélation a été confirmée dans une étude réalisée avec plus d'individus, notamment une grande étude réalisée sur 7000 individus d'âge moyen ou âgés de la cohorte Hordaland (Norvège). Dans cette étude, les auteurs ont mesuré le tryptophane et la kynurénine ainsi que l'ensemble des kynurénines dans les sérums et ils montrent que toutes les kynurénines ainsi que le ratio K/T sont positivement corrélés à l'IMC (Theofylaktopoulou et al., 2013). Ils montrent également que l'âge, le genre et le fait d'être fumeur sont des facteurs qui modifient l'activité de la voie des kynurénines. Actuellement les études du métabolome entier se sont démocratisées et la kynurénine est fréquemment associée à l'obésité dans ces études globale (Moore et al., 2014; Perng et al., 2014).

Ainsi que nous l'avons vu précédemment, l'induction de l'activité de l'enzyme IDO1 est une tentative de contrôle de l'inflammation. Il est observé une plus grande mortalité des souris invalidées pour le gène IDO1 en réponse à un stress inflammatoire induit par le LPS et une diminution du ratio K/T par rapport aux souris sauvages. L'augmentation de la mortalité des souris IDO1^{-/-} est associée à l'augmentation des taux circulants de cytokines pro-inflammatoires et à la diminution des taux circulants de cytokines anti-inflammatoires (Bessede et al., 2014). Les souris invalidées pour le gène IDO1 et nourries avec un régime riche en graisse présentent une augmentation de l'expression du marqueur des macrophages F4/80 et des cytokines inflammatoires (IFN γ , IFN α) dans le tissu adipeux blanc et dans le foie (Nagano et al., 2013). Pourtant chez la souris nourries avec un régime riche en graisse, il est observé une augmentation de l'expression des enzymes IDO2 et TDO2 dans le foie mais l'expression de l'enzyme IDO1 n'est pas induite dans le tissu adipeux malgré la présence d'une inflammation du tissu (Poulain-Godefroy et al., 2013). Les résultats de Nagano *et al.* pourraient provenir de la diminution de l'expression d'IDO2 qui est observée chez les souris invalidées pour IDO1 (Metz et al., 2014).

Chez l'Homme, la synthèse de kynurénine est associée à la promotion des lymphocytes Treg qui sécrètent des cytokines anti-inflammatoires (comme l'IL10 par exemple) au détriment des lymphocytes TH17 qui sécrètent des cytokines pro-inflammatoires. Dans le tissu adipeux sous-cutané, l'expression d'IDO1 est en effet associée à une diminution des lymphocytes T inflammatoires et à une augmentation des lymphocytes T régulateur. Par contre dans le tissu adipeux viscéral, qui est un facteur de risque pour les complications de l'obésité, l'augmentation de l'expression d'IDO1 n'est pas associée à une augmentation des lymphocytes T régulateurs (Wolowczuk et al., 2012). La kynurénine est capable de réguler le système immunitaire par sa liaison au récepteur AhR, un récepteur des xénobiotiques. Or le tissu adipeux viscéral a pour particularité d'être irrigué par les vaisseaux issus de la veine porte qui proviennent directement du système digestif. On peut supposer que dans le tissu adipeux viscéral, la présence de xénobiotiques pourrait perturber la liaison de la kynurénine à son récepteur AhR et limiter ainsi les effets immuno-régulateurs de la kynurénine.

La voie des kynurénines est donc activée dans l'obésité et associée à une augmentation des concentrations circulantes des kynurénines. Si la production de kynurénines est dans un premier temps une tentative de régulation de l'inflammation chronique qui est associée à l'obésité, les kynurénines pourraient participer à l'apparition des co-morbidités associés à l'obésité comme le diabète de type 2, et également le syndrome dépressif.

b. La dépression

Il existe une plus forte incidence de la dépression chez les individus obèses (Onyike et al., 2003) et le syndrome de la dépression sévère est associé à une activation du système immunitaire et inflammatoire (Seidel et al., 1995). De plus le traitement de l'hépatite C et de certains cancers par la cytokine pro-inflammatoire IFN α entraîne chez 16 à 45 % des patients un syndrome dépressif (Wichers et al., 2005). L'hypothèse immunitaire et inflammatoire de la dépression s'est ainsi développée (Dantzer et al., 2008) (Figure 17). Il est également observé chez les patients traités par le TNF α une augmentation du ratio kynurénine sur tryptophane ainsi que de l'acide quinolinique, en

périphérie et au niveau central (Raison et al., 2010; Wichers et al., 2005). L'hypothèse d'une utilisation du tryptophane vers la production de kynurénines neurotoxiques plutôt que vers la sérotonine est proposée par les auteurs. En effet nous avons vu que la sérotonine est un neurotransmetteur impliqué dans plusieurs pathologies comme l'anxiété, la dépression, les phénomènes d'addiction et également dans la régulation de l'appétit, du sommeil et de l'humeur et est une cible thérapeutique dans la dépression : le Prozac par exemple est un inhibiteur de la recapture de la sérotonine. Les concentrations centrales en sérotonine étant dépendantes des concentrations périphériques en tryptophane (Fernstrom and Wurtman, 1972), la compétition entre la production des kynurénines et de sérotonine pourraient être un facteur de risque pour la dépression. Egalement les kynurénines pourraient être des acteurs de la dépression au vu de leur effet sur le système glutaminergique et de leur neurotoxicité (Müller and Schwarz, 2007). L'hypothèse privilégiée à ce jour est celle de la neurotoxicité des kynurénines. En effet dans le cadre du traitement de l'hépatite C par l'IFN α , il est observé que le syndrome dépressif n'est pas associé à une diminution de la disponibilité du tryptophane mais à une augmentation du ratio kynurénine sur acide kynurénique suggérant une augmentation de la production d'acide quinolinique et une diminution de l'acide kynurénique (Wichers et al., 2005).

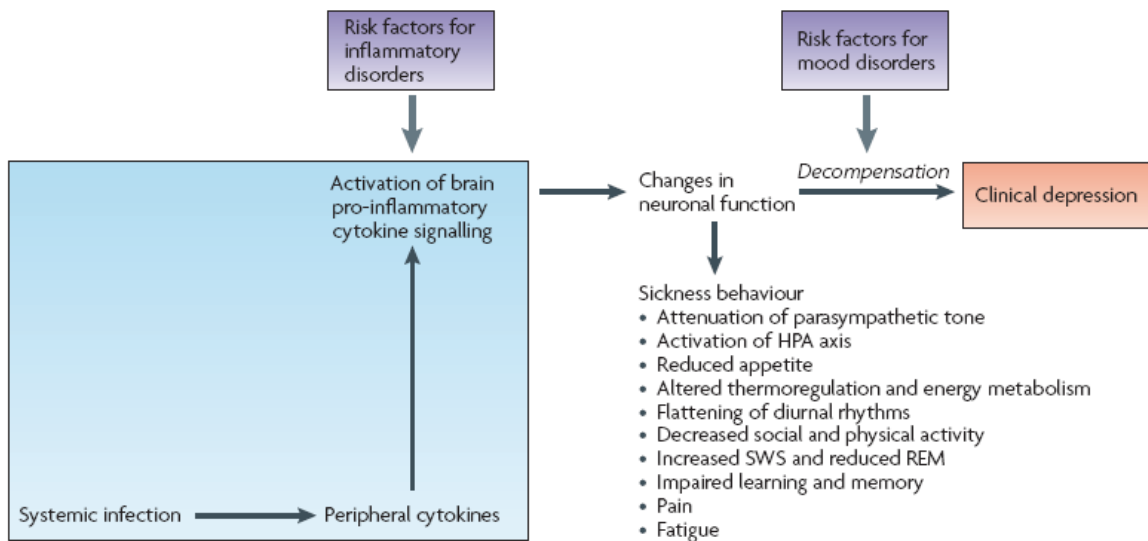


Figure 16 : Induction d'un syndrome dépressif par l'inflammation en réponse à une infection.

Ce modèle peut être adapté à l'obésité qui est caractérisée par une inflammation chronique et systémique. (Dantzer et al., 2008)

c. Le diabète

Le diabète de type 2

Dès 1955 et plus récemment, on retrouve des publications associant les kynurénines au diabète. La kynurénine est positivement corrélée à l'HOMA2-IR et à l'HOMA-B chez des patients atteints du virus de l'hépatite C (Oxenkrug et al., 2013). Dans une autre étude l'expression de l'enzyme IDO1 ainsi que les concentrations sériques de kynurénine, d'acide kynurénique et de 3OHK sont significativement plus élevées chez les individus diabétiques que chez les contrôles (Munipally et al., 2011). Une hyperglycémie expérimentale a pu être induite chez le rat par l'administration d'acide xanthurénique (Kotake Jr and Inada, 1953). L'acide xanthurénique est également retrouvé en plus grande quantité dans les urines des patients diabétiques que dans les urines d'individus non diabétiques (Hattori et al., 1984; Rosen et al., 1955).

L'acide xanthurénique aurait la capacité de former des complexes avec l'insuline et de réduire ainsi son activité et également de former des complexes avec le zinc qui ne serait alors plus

disponible pour la formation des hexamères d'insuline dans les vésicules de sécrétion (Meyramov et al., 1998; Takashi et al., 1977) (Figure 18). De plus l'acide xanthurénique est un agoniste des récepteurs métabotropiques du glutamate du groupe II (Copeland et al., 2013). Or des agonistes de cette famille de récepteur au glutamate sont capables d'altérer la sécrétion d'insuline par le pancréas (Babic et al., 2012). Une autre kynurénine : l'acide quinaldique, métabolisé à partir de l'acide kynurénique, présente des propriétés diabétogènes. En effet l'acide quinaldique stimule la sécrétion d'insuline en conditions basales et inhibe la sécrétion d'insuline des îlots de rat en culture stimulés par le glucose. Les propriétés inhibitrices de l'acide quinaldique proviendraient de sa capacité à inhiber la formation de nouvelles molécules d'insuline (Okamoto, 1981) (Figure 18).

Récemment, il a été montré que la combinaison d'un stress inflammatoire (IFN γ) et d'un stress de glucolipotoxicité (20 mM de glucose et 0,4 mM de palmitate) induit une augmentation de l'expression de plusieurs enzymes de la voie des kynurénines dans des îlots de rat en culture: IDO1, KMO et KYNU, tandis que l'expression de l'enzyme QPRT est diminuée. A l'état basal, IDO1 n'est pas exprimée mais ce n'est pas le cas pour les autres enzymes de la voie qui sont détectées: KMO, KYNU, les KATs et l'enzyme QPRT. L'augmentation de l'expression des enzymes est associée à une augmentation de la production de kynurénine et d'acide kynurénique démontrant ainsi la fonctionnalité de la voie des kynurénines dans les îlots de Langerhans (Liu et al., 2015). Les auteurs ont également montré que la kynurénine potentialisait la sécrétion d'insuline induite par le glucose, ils ont également testés les effets de l'acide kynurénique sur la sécrétion d'insuline et observé une augmentation de la sécrétion d'insuline stimulée par le glucose mais qui n'était pas significative. Le mode d'action de la kynurénine sur la sécrétion d'insuline reste encore à déterminer (Liu et al., 2015).

L'acide kynurénique est un antagoniste des récepteurs NMDA qui sont exprimés à la surface des cellules β pancréatiques qui possèdent des caractéristiques commune avec les neurones (Atouf et al., 1997). Or une étude récente a montré qu'un antagoniste des récepteurs NMDA, le

dextromethorphan, augmente la sécrétion d'insuline en réponse au glucose dans des ilots de souris et des ilots humains (Marquard et al., 2015) (Figure 18). Ce résultat peut sembler contrintuitif car les récepteurs au glutamate permettent l'entrée de calcium dans la cellule mais cet effet est dépendant de la présence des canaux K_{ATP} , les auteurs proposent que les récepteurs NMDA stimulent l'ouverture des canaux K_{ATP} et limitent ainsi l'ouverture des canaux calcique voltage dépendant et l'entrée de calcium dans la cellule (Marquard et al., 2015). Les effets de l'acide kynurénique sur la sécrétion d'insuline ont été testés dans une étude sans montrer d'effet significatif sur la sécrétion d'insuline (Liu et al., 2015) mais cela reste une piste intéressante.

L'acide picolinique est un inhibiteur de la néoglucogénèse, il pourrait donc permettre de compenser la résistance à l'insuline du foie et diminuer la production hépatique de glucose. Il inhibe l'activité de l'enzyme glucose-6-phosphatase qui catalyse l'hydrolyse de la liaison ester du glucose-6-phosphate et permet la libération du glucose dans la circulation. Le glucose-6P ne pouvant pas être excrété dans la circulation sanguine, il est disponible pour la synthèse de glycogène dans l'hépatocyte. La production d'acide picolinique est catalysée par l'enzyme ACMSD qui est exprimée principalement dans les reins et le cerveau et également dans le foie où elle favorise donc le stockage du glucose sous forme de glycogène plutôt que la sortie de glucose hépatique qui favorise l'hyperglycémie postprandiale. Chez le rat rendu diabétique par un traitement par la streptozotocine, l'expression et l'activité de l'enzyme ACMSD sont augmentées dans le foie. Le traitement par insuline de ces animaux diabétiques permet bien sur de contrôler l'hyperglycémie et induit également une diminution de l'activité et de l'expression d'ACMSD (Tanabe et al., 2002). Il a été montré *in vitro* que l'activité de l'enzyme ACMSD est inhibée par des métabolites de la glycolyse comme le dihydroxyacetonephosphate (DHAP) et le 3-Phosphoglycerate (3PG) (Garavaglia et al., 2009), ce qui serait cohérent avec les résultats retrouvés *in vivo* chez le rat. L'acide picolinique pourrait donc limiter la production hépatique du glucose en situation de résistance à l'insuline.

Le diabète gestationnel

Comme nous l'avons vu précédemment dans ce chapitre, l'induction de l'enzyme IDO1 et la production de kynurénine est un phénomène majeur qui apparaît pendant la grossesse et qui est le garant de la tolérance du système immunitaire de la mère pour le fœtus (Munn et al., 1998). La voie des kynurénines est donc activée chez les femmes enceintes. L'augmentation des concentrations circulantes des kynurénines, et en particulier de l'acide xanthurénique dont nous venons de voir les propriétés, pourrait être impliquée dans le développement du diabète gestationnel. De plus pendant la grossesse, un facteur aggravant supplémentaire peut être présent : la déficience en vitamine B6 (Figure 18). En effet les besoins en vitamines sont plus élevés chez les femmes enceintes et une carence en vitamine B6 est fréquemment observée chez ces femmes (Dror and Allen, 2012). Nous avons vu dans un paragraphe précédent que l'enzyme KYNU et les KATs qui catalyse la production d'acide kynurénique ont pour cofacteur le PLP, la forme active de la vitamine B6. Dans une grande étude réalisée sur 7000 individus en 2014, les taux de PLP sont corrélés négativement à la kynurénine et au métabolite 3OHK qui sont métabolisés par l'enzyme KYNU et positivement aux concentrations d'acide anthranillique et de 3-hydroxyacide anthranillique qui sont les produits de l'enzyme KYNU. Les concentrations circulantes d'acide kynurénique et d'acide xanthurénique qui sont les produits des KATs sont également corrélées positivement aux taux de PLP (Theofylaktopoulou et al., 2014). Dans une étude plus modeste publiée en 2015, les concentrations de PLP sont également négativement corrélées au métabolite 3OHK (Deac et al., 2015). Des rats nourris avec un régime pauvre en vitamine B6 présentent comme attendu une diminution de 50% de l'activité hépatique de l'enzyme KYNU et une diminution plus modérée de 25% de l'activité des KATs. Chez ces animaux, une diminution de moitié des concentrations d'acide kynurénique et une augmentation de 800% des concentrations urinaires de l'acide xanthurénique qui proviendrait de l'augmentation des concentrations de 3OHK qui n'est pas métabolisé en 3-hydroxyacide anthranillique en absence de la vitamine B6 (Deac et al., 2015). Une étude réalisée sur 14 femmes enceintes atteintes d'un diabète gestationnel a montré que ces femmes présentaient une forte augmentation des taux d'acide

xanthurénique dans les urines par rapport aux valeurs normales. L'administration de vitamine B6 chez ces patientes a permis de diminuer les concentrations urinaires d'acide xanthurénique et de diminuer leur intolérance au glucose (Bennink and Schreurs, 1975). Un résultat similaire a été montré sur presque 50 femmes l'année suivante, l'administration de vitamine B6 chez ces femmes a permis de diminuer les concentrations urinaires d'acide xanthurénique et d'améliorer leur tolérance au glucose (Adams et al., 1976). Nous pouvons noter également que la déficience en vitamine B6 est plus fréquente chez les individus obèses (Aasheim et al., 2008) et que les taux de PLP, la forme active de la vitamine B6, sont inversement corrélés aux valeurs de CRP (Morris et al., 2010; Theofylaktopoulou et al., 2014).

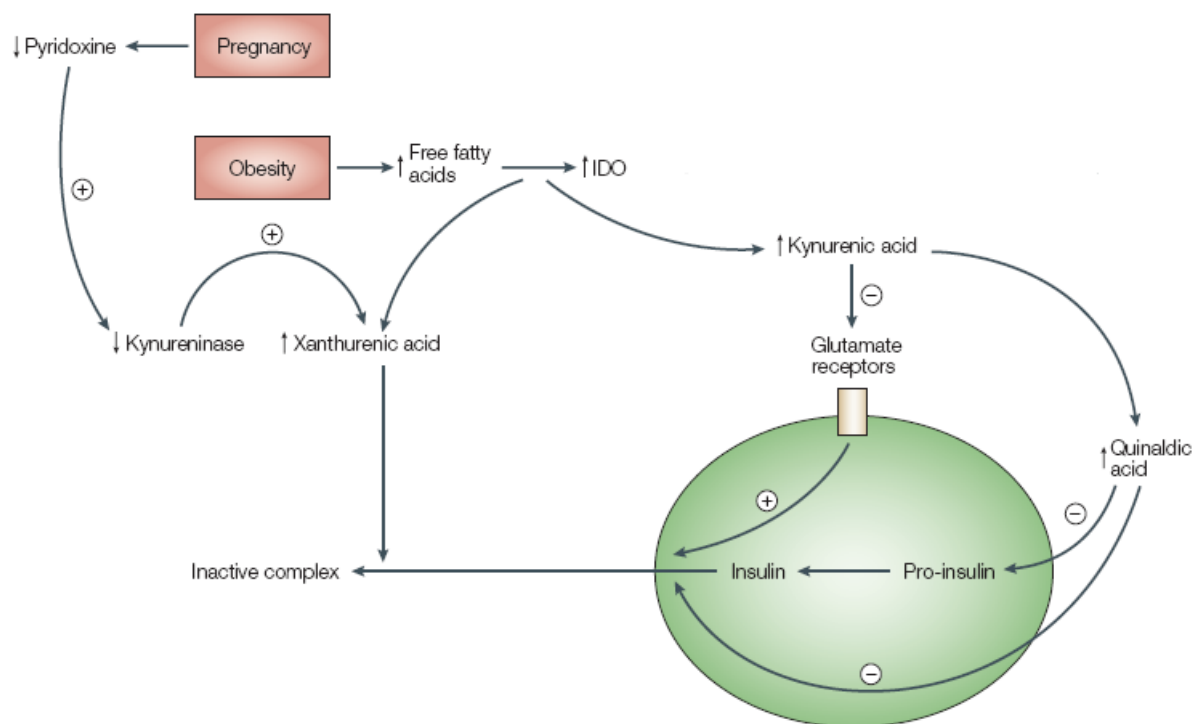


Figure 17 : Quels rôles pour les kynurénines dans le diabète ?

Le diabète induit par l'obésité et la grossesse pourrait provenir dans une certaine part de la production d'acide kynurénique, d'acide xanthurénique et d'acide quinaldique. La production d'acide xanthurénique est augmentée en cas de déficience en vitamine B6. Adapté de (Stone and Darlington, 2002).

La synthèse de novo de NAD⁺

Le nicotinamide adénine dinucléotide (NAD) est un dérivé de la vitamine B3 (également appelé vitamine PP ou acide nicotinique). Le NAD peut être métabolisé à partir de l'acide nicotinique par la voie de Preiss-Handler et également être synthétisé *de novo* à partir du tryptophane. Le tryptophane est métabolisé en acide quinolinique puis en acide nicotinique mononudéotide (NAMN) par l'enzyme QPRT. Le NAMN est ensuite métabolisé en NAAD puis en NAD par l'enzyme NAD synthase (NADSYN). Il existe également une voie de récupération et de recyclage du nicotinamide (NAM) par l'enzyme nicotinamide phosphoribosyltransférase (NAMPT) et l'enzyme NM adénylyltransférase (Figure 19) (Cantó et al., 2015).

Donc la voie des kynurénines est une source importante de NAD⁺ dans la cellule, et en effet l'inhibition de l'enzyme QPRT ou de l'enzyme IDO1 dans les astrocytes et les neurones est associée à une diminution des concentrations intracellulaires de NAD⁺. Le régime riche en graisse et l'âge induisent une diminution des concentrations intracellulaires en NAD⁺ alors que l'exercice et la restriction calorique augmente les concentrations de NAD⁺. Les propriétés d'oxydoréductions du NAD⁺ jouent un rôle majeur pour le métabolisme énergétique de la cellule. La conversion du glucose en pyruvate par exemple requiert deux molécules de NAD⁺ pour une molécule de glucose. Dans la mitochondrie, le processus de synthèse d'ATP requiert également du NADH (la forme réduite du NAD⁺).

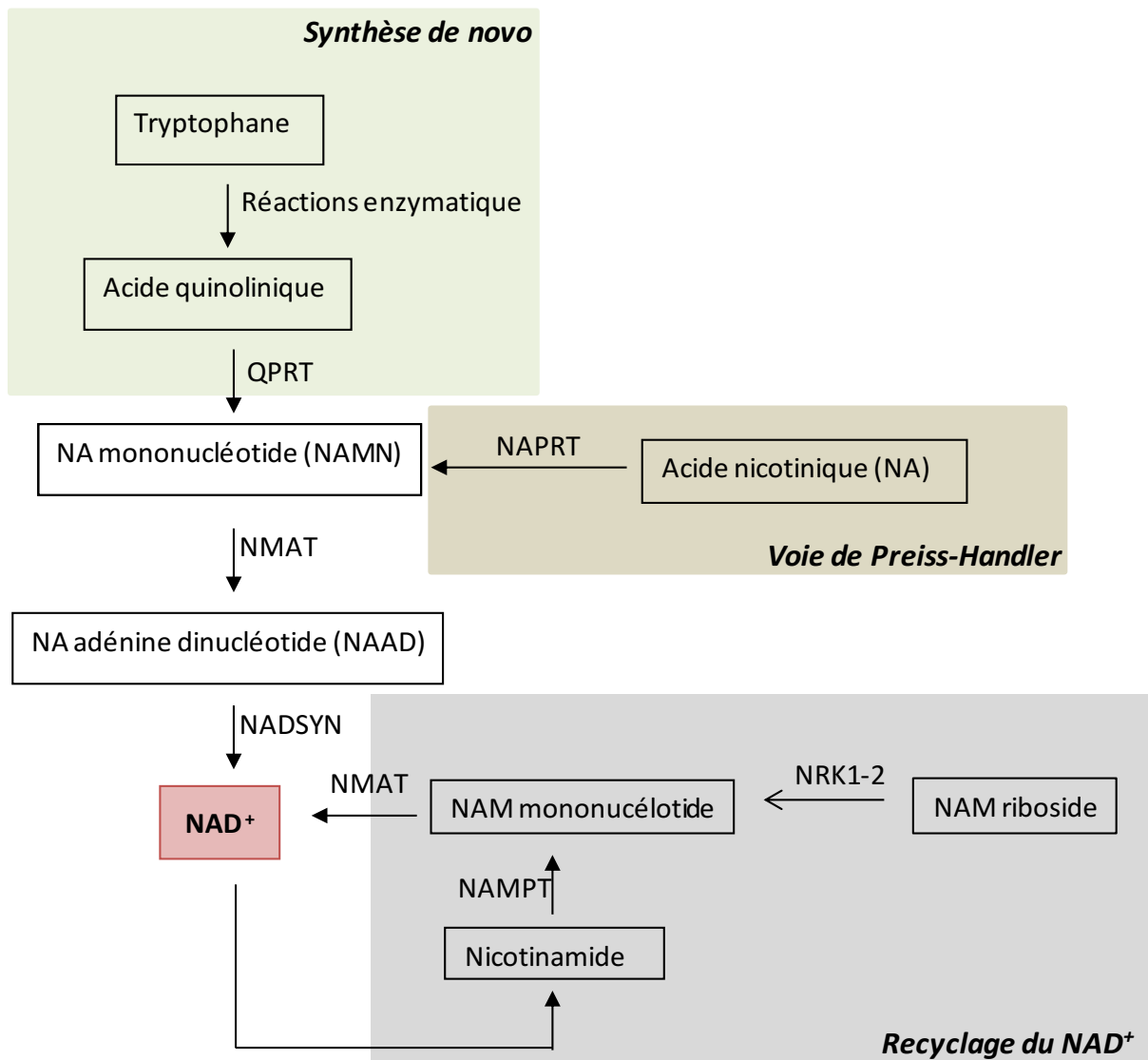


Figure 18 : Voie de synthèse et de recyclage du NAD⁺
 NADSYN, NAD⁺ synthétase ; NAM, nicotinamide ; NAMPT, nicotinamide phosphoribosyltransférase ;
 NAPRT, NA phosphoribosyltransférase ; NMAT, NM adénylyltransférase ; NRK1-2, Nicotinamide
 riboside kinase 1-2 ; inspiré de (Cantó et al., 2015)

Le NAD⁺ est aussi un cofacteur des enzymes sirtuines (déacétylases d'histones NAD-dépendantes) qui sont impliquées dans la régulation de plusieurs voies métaboliques. C'est une famille de 7 enzymes numérotées de 1 à 7 (SIRT-1 à SIRT-7). Ce sont des enzymes déacétylases qui régulent ainsi l'activité de certains facteurs de transcription. L'activité de SIRT-1 augmente au cours de l'exercice, en période de restriction calorique et de diminution de la disponibilité en glucose. La réduction de l'activité de SIRT-1 par contre est associée au diabète de type 2 (Huynh et al., 2013). Il a

été montré chez des souris nourries avec un régime riche en graisse que l'administration de nicotinamide restaure les concentrations en NAD^+ et également induit une amélioration de la glycémie et une augmentation de la sécrétion d'insuline en réponse au glucose (Yoshino et al., 2011). Dans le tissu adipeux l'enzyme SIRT-1 inhibe le facteur de transcription PPAR γ et favorise la lipolyse (Picard et al., 2004). Dans le pancréas, l'enzyme SIRT-1 diminue l'expression de la protéine découplante UCP2 (uncoupled protein 2) et induit ainsi une amélioration de la sécrétion d'insuline en réponse au glucose (Cantó et al., 2015). SIRT-1 déacétyle également une sous-unité de NF- κ B et a ainsi un effet anti-inflammatoire (Yeung et al., 2004). Le NAD est également un cofacteur enzymatique des PARP (poly-ADP-ribose polymérase) qui sont des réparateurs de l'ADN. En cas de dommages majeurs de l'ADN, on observe une diminution des concentrations intracellulaires de NAD (Cantó et al., 2015). Les PARP sont donc les principaux consommateurs de NAD dans la cellule et sont en compétition avec les sirtuines pour la consommation de NAD^+ et nécessite la formation *de novo* ou le recyclage perpétuel du NAD qui a une $\frac{1}{2}$ vie de 1 à 2H (Houtkooper et al., 2010). Ainsi la voie des kynurénines du fait de son rôle dans la production de NAD^+ , peut jouer un rôle important dans la régulation du métabolisme en tant que source de NAD^+ . En effet la supplémentation en acide nicotinique qui est le précurseur du NAD^+ est peu toléré et donc les voies de recyclage et de synthèse *de novo* sont privilégiés pour augmenter les concentrations intracellulaires de NAD^+ (Cantó et al., 2015).

Objectifs de la thèse

1. Objectif de l'étude 1

Il a été montré dans plusieurs études grâce à la mesure des taux circulants de tryptophane et de la kynurénine que l'activité de l'enzyme IDO1 est augmentée chez les individus obèses et associée aux taux de neoptérine, un marqueur de l'activation du système immunitaire (Brandacher et al., 2006). Au vu du statut inflammatoire du tissu adipeux dans l'obésité et de la masse de tissu qu'il représente chez les individus obèses (jusqu'à 50% de la masse corporelle), la question de l'influence de ce tissu sur le ratio K/T se pose. Dans une première publication au laboratoire publiée en 2012, il a été montré que l'enzyme IDO1 est plus exprimée dans le tissu adipeux des individus obèses que chez les minces et est corrélé à l'augmentation du ratio K/T (Wolowczuk et al., 2012). Il est connu dans la littérature que d'autres enzymes de la voie comme l'enzyme KYNU ou KMO sont également induites par l'inflammation dans des fibroblastes et des cellules immunes (Asp et al., 2011; Jones et al., 2015) et sont donc susceptibles d'être plus exprimées également dans le tissu adipeux des individus obèses. De plus, certains métabolites de la voie comme l'acide xanthurénique et la kynurénine ont un effet sur la sécrétion d'insuline et pourraient être impliqués dans le développement du diabète de type 2 induit par l'obésité. L'objectif de cette étude est donc d'évaluer l'ensemble de la voie des kynurénines : les métabolites dans les sérums et l'expression des enzymes dans le tissu adipeux d'individus obèses diabétiques et normoglycémiques.

2. Objectif de l'étude 2

L'obésité est donc associée à l'augmentation de l'expression des enzymes de la voie dans le tissu adipeux et à l'augmentation des concentrations circulantes des kynurénines. Ces métabolites pourraient être des facteurs de risque pour le développement de l'insulinorésistance et du diabète

de type 2. La chirurgie bariatrique est le traitement le plus efficace pour l'obésité sévère, elle permet une perte de poids importante et durable ainsi qu'une diminution de l'inflammation systémique et une amélioration des co-morbidités de l'obésité notamment l'insulinorésistance et le diabète. L'objectif de notre étude est d'évaluer les effets de la chirurgie bariatrique sur les concentrations circulantes de kynurénines chez des individus obèses diabétiques et normoglycémiques. Et de déterminer si les variations des concentrations des kynurénines circulantes pourraient expliquer en partie l'amélioration de l'insulinorésistance et du diabète observée après la chirurgie.

Chapitre 3 : Article 1 “The kynurenine pathway is activated in human obesity and shifted toward kynurenine monooxygenase activation.”

Original Article
OBESITY BIOLOGY AND INTEGRATED PHYSIOLOGY



The Kynurenine Pathway is Activated in Human Obesity and Shifted Toward Kynurenine Monooxygenase Activation

Marie Favennec^{1,2,3,4,5}, Benjamin Hennart^{2,5,6}, Robert Caiazzo^{2,4,5,7}, Audrey Leloire^{1,2,3,4}, Loïc Yengo^{1,2,3,4}, Marie Verbanck^{1,2,3,4}, Abdelilah Arredouani⁸, Michel Marre⁹, Marie Pigeyre^{2,4,5,7}, Alban Bessedé¹⁰, Gilles J. Guillemain¹¹, Giulia Chinetti^{2,3,4,12}, Bart Staels^{2,3,4,12}, François Pattou^{2,4,5,7}, Beverley Balkau¹³, Delphine Allorge^{2,5,6}, Philippe Froguel^{1,2,3,4,5,14}, and Odile Poulain-Godefroy^{1,2,3,4}

The kynurenine pathway is activated in human obesity and shifted toward kynurenine monooxygenase activation.

Marie Favennec^{1,2,3,4,5}, Benjamin Hennart^{2,5,6}, Robert Caiazzo^{2,4,5,7}, Audrey Leloire^{1,2,3,4}, Loïc Yengo^{1,2,3,4}, Marie Verbanck^{1,2,3,4}, Abdelilah Arredouani⁸, Michel Marre⁹, Marie Pigeyre^{2,4,5,7}, Alban Bessede¹⁰, Gilles J. Guillemin¹¹, Giulia Chinetti^{2,3,4,12}, Bart Staels^{2,3,4,12}, François Pattou^{2,4,5,7}, Beverley Balkau¹³, Delphine Allorge^{2,5,6}, Philippe Froguel^{1,2,3,4,5,14}, Odile Poulain-Godefroy^{1,2,3,4}

¹ CNRS UMR 8199, F-59000 Lille, France

² University of Lille, F-59000 Lille, France

³ Institut Pasteur de Lille, F-59000 Lille, France

⁴ European Genomic Institute for Diabetes (EGID), FR 3508, F-59000 Lille, France

⁵ CHRU de Lille, F-59000, France

⁶ EA4483, F-59045 Lille, France

⁷ INSERM UMR 1190, F-59 000 Lille, France

⁸ Qatar Biomedical Research Institute, Qatar Foundation, Doha, Qatar

⁹ INSERM U872, F-75270 Paris, France

¹⁰ Immusmol, F-33600 Pessac, France

¹¹ Neuroinflammation group, Macquarie University, NSW, 2109 Australia

¹² INSERM UMR 1011, F-59 000 Lille, France

¹³ INSERM UMRS 1018, F- 94807 Villejuif, France

¹⁴ Department of Genomics of Common Disease, School of Public Health, Imperial College London, United Kingdom

Abbreviated title: Kynurenine pathway activation in human obesity

Word count: 3497

Number of figures and tables: 8

Numbers of supplementary figures and tables: 6

Corresponding authors and persons to whom reprint request should be addressed:

Pr Philippe Froguel and Dr Odile Poulain-Godefroy

CNRS UMR 8199 - Institut de Biologie de Lille

1, rue du Professeur Calmette

CS 50447, 59021 Lille Cedex, France

Phone : +33 3 20 87 10 42

Fax : +33 3 20 87 10 31

E-mail : philippe.froguel@good.ibl.fr

E-mail : odile.poulain@good.ibl.fr

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

Abstract

OBJECTIVE: To characterize the kynurenine pathway (KP) in human obesity by evaluating circulating levels of kynurenines and expression of KP enzymes in adipose tissue (AT).

METHODS: Tryptophan and KP metabolite levels were measured in serum of individuals from the D.E.S.I.R. cohort (case-cohort study: 212 diabetic, 836 randomly sampled) and in women with obesity diabetic or normoglycemic from the ABOS cohort (n=100). KP enzyme gene expressions were analyzed in omental and subcutaneous AT of women from the ABOS cohort, in human primary adipocytes and in monocyte-derived macrophages.

RESULTS: In the D.E.S.I.R. cohort, kynurenine levels were positively associated with BMI ($P=4.68 \times 10^{-19}$) and with a higher HOMA2-IR insulin resistance index ($P=6.23 \times 10^{-4}$). Kynurenine, kynurenic acid and quinolinic acid levels were associated with higher BMI ($P<0.05$). The expression of several KP enzyme genes (IDO1, KYNU, KMO and CCBL2) were increased in the omental AT of women with obesity compared to lean ($P<0.05$) and their expression were induced by pro-inflammatory cytokines in human primary adipocytes ($P<0.05$), except for KMO that is not expressed in these cells. IDO1, KYNU, KMO and CCBL2 expressions were higher in pro-inflammatory than in anti-inflammatory macrophages ($P<0.05$).

CONCLUSIONS: In the context of obesity, macrophage presence in AT may contribute to divert KP towards KMO activation.

Keywords: obesity – tryptophan - kynurenine-adipose tissue – inflammation - macrophage

Introduction

Tryptophan, an essential amino acid is either used in protein synthesis or metabolized via the kynurenine or methoxyindole pathways. The kynurenine pathway (KP) is the main route of tryptophan degradation (1) that generates several metabolites collectively called kynurenines (KPM) while the methoxyindole pathway leads to the formation of serotonin (Figure 1). The first enzymes of the KP are indoleamine 2,3-dioxygenase 1 (IDO1), indoleamine 2,3-dioxygenase 2 (IDO2) and tryptophan 2,3-dioxygenase (TDO2). TDO2 is mainly expressed in the liver, IDO2 in the liver, kidneys and lungs (2), whereas IDO1 is expressed in many tissues including the adipose tissue and is induced by inflammatory mediators such as interferon- γ (IFN γ) and lipopolysaccharide (LPS) (1). We have previously reported that IDO1 gene expression is enhanced in the adipose tissue of people with obesity (3). Tryptophan is degraded by these enzymes to kynurenine (Kyn) but serum kynurenine/tryptophan (K/T) ratio reflects IDO1 activity (4). We have shown that this ratio was increased in individuals with obesity (3) as it was demonstrated in other studies (5, 6). Kynurenine can be further metabolized along three distinct routes: one leading to kynurenic acid, another to xanthurenic acid and the third leading to quinolinic acid and nicotinamide adenine dinucleotide (NAD⁺). KPM have been implicated in immune regulation and tolerance mechanisms (7) and several KPM are neuroactive. Quinolinic acid is a glutamate receptor agonist and is neurotoxic, while kynurenic acid is a glutamate receptor antagonist and is neuroprotective. KPM have been involved in a wide range of neurological disorders, such as major depression, Huntington and Alzheimer diseases (8, 9). In addition, induction of kynurenine metabolism toward xanthurenic acid production has been proposed to be one of the factors predisposing to insulin resistance (10) and high urinary excretion of xanthurenic acid has been reported in people with diabetes (11). Xanthurenic acid may also interfere with the mechanism of insulin secretion because of its zinc chelating properties (12). Recently, the induction of IDO1 and increased circulating levels of Kyn, kynurenic acid and 3-hydroxykynurenine, have been shown in diabetic individuals with retinopathy (13).

The aim of this study was to analyze the KP regulation in relation to obesity in humans, as increased circulating KPm have been reported in individuals with obesity (5, 6). We have also explored the potential association of KP dysregulation with diabetes since this has never been investigated. We assessed circulating Kyn levels in individuals from the D.E.S.I.R. cohort, a cohort of middle-aged European men and women and in morbidly obese women with obesity and with or without diabetes from the ABOS cohort. Given the inflammatory features of the adipose tissue in obesity, we compared the expression of the genes of KP enzymes in subcutaneous and omental adipose tissues from women with obesity and lean controls participating in the ABOS cohort. We also investigated whether KP enzymes and KPm were associated with body mass index (BMI), inflammatory markers and diabetes-related traits. In addition, we evaluated the contribution of adipocytes and macrophages to the relative expression of KP enzymes.

Subjects, Materials and Methods

D.E.S.I.R. metabolomic study

The sample population used in this study included men and women from the D.E.S.I.R. cohort (Data from an Epidemiological Study on the Insulin Resistance Syndrome) (14), a prospective (9 year follow-up) cohort of middle-aged European individuals. All participants signed an informed consent form and the protocol was approved by an ethics committee. A case-cohort design was used in this study that included 231 cases of incident type 2 diabetes and 836 people randomly sampled from the entire cohort. Clinical characteristics of participants are described in Table S1. Fasting serum samples were processed by the Metabolon platform (Durham, NC). After protein precipitation with methanol, samples were analyzed using GC-MS and LC-MS/MS (15). Multivariable linear regression models were used to assess the association of metabolic and anthropometric traits (considered as response variables) with tryptophan, Kyn and K/T ratio. The metabolic traits analyzed were: fasting plasma glucose, fasting insulin, glycated hemoglobin A1c (HbA1c), as well as the derived homeostasis model

assessment index of β -cell function (HOMA2-B) and of insulin resistance (HOMA2-IR). The anthropometric traits analyzed were: BMI, hip circumference, waist circumference, and waist-hip ratio. In each regression model, additional covariates were age, sex and BMI when the analyzed trait was not BMI itself. Cox regression models adjusted for sex, age and BMI at inclusion were used to measure the association of tryptophan, Kyn and K/T ratio with the incidence of type 2 diabetes. The proportional hazards assumption was tested using the weighted residuals method (16) with age as the time scale. By applying a Bonferroni correction, a P -value below $1.7 \times 10^{-3} = 0.05/30$ (where 30 is the number of independent tests performed in this sub-study) was considered significant, and P -values between 0.05 and 1.7×10^{-3} were considered nominal (trend of association). Statistical analyses were performed with R version 3.0 (<http://www.r-project.org/>) using the package “base” for linear regression and the package “survival” for Cox regression.

ABOS subjects

A hundred and nine Caucasian women enrolled in ABOS (Biological Atlas of Severe Obesity, ClinicalGov NCT01129297) were included in this study. Women who were severely obese met the criteria for bariatric surgery (3) and lean women were undergoing abdominal surgery for benign and non-inflammatory diseases. Women treated with insulin were excluded. Written informed consent was obtained and the experimental design was approved by the Ethics Committee of the University Hospital of Lille, France. The relevant clinical and metabolic characteristics of the participants are described in Table S2.

Determination of serum tryptophan and Kpm levels (ABOS study)

Fasting sera were collected before surgery. An analytical protocol based on liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) was developed, according to previously published methods, with slight modifications (17, 18), to measure tryptophan, serotonin and metabolite levels (Kyn, kynurenic acid, xanthurenic acid, 3-hydroxy-L-kynurenine and 3-hydroxy-

anthranilic acid). Serum (100 μ L) was mixed and centrifuged (11800 rpm, 4°C, 8 min) after addition of 100 μ L acetonitrile for protein precipitation and containing tryptophan-D5 (CDN Isotopes, Pointe-Claire, Canada) at 50 μ M, as an internal standard. Supernatant (100 μ L) was added to deionized water (500 μ L). Fifteen microliters of this mixture was injected onto an UPLC-MS/MS system (Acquity TQ Detector, Waters, Milford, MA) equipped with a HSS C18 column. Ions of each analyzed compound were detected in a positive ion mode using multiple reaction monitoring.

Picolinic acid and quinolinic acid were simultaneously measured using gas chromatography-tandem mass spectrometry (GC-MS/MS). Standards and samples (50 μ L) were mixed with 400 μ L methanol for protein precipitation and containing internal standards (QUIN-D3 and PIC-D4, 2 μ M) and centrifuged (11800 rpm, 8 min). Supernatant was dried under nitrogen stream and 120 μ L pentafluoropropionic anhydride (PFPA, Sigma Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, France) and 130 μ L hexafluoroisopropanol (HFIP, Sigma Aldrich) were added to dried residues. Tubes were sealed to allow derivatization (30 min, 75°C). The obtained derivatives were dried under nitrogen stream and residues were dissolved in iso-octane (50 μ L), and transferred into auto-sampler vials prior to injection (1 μ L) onto the GC-MS/MS equipment (Agilent 7890 coupled to Waters Quattro Micro GC, RAB293). Chromalinks software (Waters) was used for data acquisition and processing.

Adipose tissue sampling, RNA extraction and qPCR

Omental and subcutaneous adipose tissue was retrieved from each participant, as previously described (3). Total RNA was extracted (RNeasy Lipid Tissue Kit, Qiagen, Venlo, NL) after a DNase treatment (RNase-free DNase set, Qiagen). The RNA purity and concentration were determined by RNA Integrity Number (RNA 6000 Nano Kit, 2100 Bioanalyser, Agilent, Santa Clara, CA). Total RNA was transcribed into cDNA using the cDNA Archive Kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Each cDNA sample was analyzed for gene expression by quantitative real-time PCR (qPCR) using the fluorescent TaqMan 5'-nuclease assays (Table S3). Analysis was performed either with ViiA 7 (Life Technologies, Carlsbad, CA) detection system and ViiA 7 Software or Taqman Low-Density Array

(TLDA) Cards with ABI 7900HT (Life Technologies, Carlsbad, CA) and corresponding ABI 7900HT SDS 2.2 software. Gene expression analysis was standardized to RPLP0 expression ($2^{-\Delta Ct}$). RPLP0 was chosen as the reference gene since it displayed the lowest coefficient of variation in human adipose samples when compared to other commonly used reference genes. No difference in RPLP0 expression was reported between women with obesity and lean women (data not shown).

Human primary adipocyte and macrophage cultures

Human primary white preadipocytes from subcutaneous adipose tissue (Lonza, Basel, Switzerland) were cultured in PBM-2 medium (Lonza). Cells were seeded in 6-well plates; confluent preadipocytes were induced to differentiate into adipocytes with PBM-2 medium supplemented with insulin, dexamethasone, 3-isobutyl-1-methylxanthine (IBMX) and indomethacin (Lonza) for 10 days. Confluent preadipocytes and differentiated adipocytes were treated with IFN γ (100 U/mL, Peprotech, Rocky Hill, NJ) for 24 hours, and then the cells were harvested.

Human M1 and M2 macrophages were cultured as previously described (19). Briefly, human peripheral blood mononuclear cells were isolated from healthy donors (Etablissement Français du Sang, EFS). M2 macrophages were obtained by treatment of monocytes with IL-4 during differentiation (15 ng/mL; 6 days) and M1 macrophages by treatment of already differentiated macrophages with LPS (100 ng/mL; 4 hours). qPCR was performed as described with individual TaqMan assays and ViiA 7 system.

Adipocytes and macrophages from human adipose tissue

Adipocytes (ATA) and macrophages (ATM) from omental adipose tissue of 7 individuals with obesity from ABOS cohort were obtained as previously described (20). Briefly, biopsies of adipose tissue were digested with collagenase and centrifuged; floating adipocytes were washed with PBS. ATM-CD14 $^{+}$ cells were isolated from the stromal vascular fraction and cultured in endothelial cell basal medium (Promocell, Heidelberg, Germany) for 48h before RNA extraction. RNA from ATM was

amplified using mRNA amplification kit (AmpTec, Diepenbeek, Belgium) before performing individual qPCR as described above.

Statistical analysis

Statistical analysis of D.E.S.I.R. study data are specified in the corresponding sections.

For all other experiments, statistical analyses were performed with the Graph-Pad Prism version 5.00 for Windows (GraphPad Software, San Diego, CA). The statistical tests are described with each result.

The threshold of significance was set to $P < 0.05$.

Results

Kynurenine is associated with BMI, fasting insulin and HOMA2-IR in the D.E.S.I.R. cohort

We studied serum concentrations of tryptophan and Kyn in the D.E.S.I.R. cohort. Kyn and K/T ratio were positively associated with BMI at inclusion (Table 1: $P = 4.68 \times 10^{-19}$ and $P = 7.92 \times 10^{-13}$) and after the 9 years of follow-up (Table S4: $P = 8.6 \times 10^{-17}$ and $P = 1.03 \times 10^{-12}$). We did not observe significant association between Kyn concentrations or K/T ratio at inclusion and the incidence of diabetes during the 9 years of follow up. However, Kyn levels were positively associated with HOMA2-IR and HOMA2-B at inclusion ($P = 6.23 \times 10^{-4}$ and $P = 6.02 \times 10^{-4}$) and with fasting insulinemia both at inclusion and at 9 years ($P = 1.74 \times 10^{-3}$ and $P = 3.53 \times 10^{-4}$), suggesting that they are correlated with insulin resistance. Other Kpm were below the detection threshold of the global metabolomic analysis method used and thus could not be analyzed in this cohort.

Several enzymes of the KP are increased in obesity and associated with inflammatory markers

Next, we measured the expression of all known genes encoding KP enzymes in subcutaneous and omental adipose tissue samples from women with obesity and lean women from the ABOS cohort (Figure 2). All KP enzymes were expressed in human adipose tissue with the exception of ACMSD

(aminocarboxymuconate semialdehyde decarboxylase, data not shown). In the omental adipose tissue, the expression of IDO1, CCBL2, AADAT, KMO and KYNU was significantly higher in women with obesity than in lean women ($P=0.0024$, $P=0.0049$, $P=0.048$, $P=0.0080$ and $P=0.0024$, respectively), whereas in the subcutaneous adipose tissue, only KYNU expression was increased in women with obesity ($P=0.01$). These results are consistent with the observation that Kyn and K/T ratio were associated with BMI in the D.E.S.I.R. cohort and suggest that other Kpm could also be increased in the serum of individuals with obesity.

We then analyzed the expression of KP enzymes and several inflammatory markers in omental and subcutaneous adipose tissues of diabetic ($n=50$) and normoglycemic ($n=50$) women with obesity from the ABOS cohort. In parallel, serum concentrations of Kpm were measured in the same women. In agreement with the D.E.S.I.R. cohort data and gene expression results obtained in lean women *versus* women with obesity, the concentrations of several Kpm were positively correlated with BMI: Kyn ($P=0.003$), K/T ratio ($P=0.002$), kynurenic acid ($P=0.012$) and quinolinic acid ($P=0.011$) (Table 2). We analyzed the correlation between the expression of IDO1, CCBL2, AADAT, KMO and KYNU and those of several obesity-associated inflammatory genes (21, 22) as well as with circulating levels of ultrasensitive C-reactive protein (usCRP), an inflammatory marker. We found that their expression was positively correlated with the adipose tissue expression of CCL2, IL6 and CD68 and with serum usCRP (Table 3). Among these enzymes, only IDO1 expression was higher in omental adipose tissue than in subcutaneous compartment ($P<0.0001$); CCBL2 and AADAT expression levels were higher in the subcutaneous adipose tissue ($P<0.0001$; Figure S1).

Next, we assessed the association of KP enzymes and Kpm with diabetes and diabetes-related traits in women with obesity. We did not detect any significant difference in Kpm levels (Figure S2) or in KP enzyme expression between women with and without diabetes from the ABOS cohort (data not shown). However, quinolinic acid level was negatively associated with HOMA2-IR and the expressions of several KP enzymes were correlated with diabetes-related traits (Table 2): QPRT expression in the subcutaneous compartment was negatively associated with HbA1c

($P=2.75 \times 10^{-7}$), fasting glycaemia ($P=6.66 \times 10^{-5}$) and 120 min glycaemia ($P=1.9 \times 10^{-5}$). Conversely, KYNU and KMO expression levels were positively correlated with these diabetes-related traits. KMO and KYNU expression levels in the subcutaneous adipose tissue were correlated with HbA1c levels (respectively, $P=1.4 \times 10^{-5}$ and $P=3.6 \times 10^{-3}$), with fasting ($P=2.1 \times 10^{-3}$ and $P=1.9 \times 10^{-2}$) and 120 min glycaemia ($P=2.1 \times 10^{-2}$ and $P=4.9 \times 10^{-2}$). In the omental compartment, the expression of KMO and KYNU was positively correlated with HbA1c levels ($P=4.1 \times 10^{-3}$ and $P=3.9 \times 10^{-3}$).

Differential expression of KP enzymes in adipocytes and macrophages

In order to further characterize which cells in the adipose tissue expressed KP enzymes, we first evaluated their expression in primary human adipocytes. The expression of IDO1, KMO and ACMSD (data not shown) were very low or below detection limit in untreated preadipocytes and adipocytes (Figure 3). The potential effects of pro-inflammatory cytokines on KP transcripts were then investigated in cultured preadipocytes and adipocytes after a 24h-stimulation with IFN γ (Figure 3). KMO and ACMSD expression levels remained under the limit of detection in both cell types. Conversely, IDO1 ($P<0.0001$), CCBL2 ($P=0.0255$), HAAO ($P=0.0396$) and KYNU ($P=0.0017$) expression levels were increased by IFN γ in preadipocytes and adipocytes (Figure 3). Moreover, KMO was neither expressed nor induced by IFN γ in adipocytes, although it was expressed in whole human adipose tissue.

We then analyzed the expression of KP enzymes in human monocytes-derived macrophages. Since obesity leads to a shift of the macrophage phenotype from an M2-polarized state to an M1 pro-inflammatory state (23), we explored the M1 and M2 macrophage contribution to KP enzyme expression. All KP enzymes, including KMO were expressed in macrophages (Figure 4A) with the exception of AADAT and ACMSD (data not shown). IDO1, CCBL2, KMO and KYNU expression levels were higher in M1 than in M2 macrophages ($P=0.0156$; Wilcoxon test for paired values). Increased expression of these enzymes in inflammatory macrophages was consistent with our previous observations in adipocytes and in human adipose tissue. To investigate the KMO expression *in vivo*,

adipocytes and macrophages purified from the adipose tissue of women with obesity were analyzed. As expected, a higher expression of KMO was detected in the macrophage subfraction compared with that in adipocytes (Figure 4B).

Discussion

We confirmed our previous observations of IDO1 overexpression in adipose tissue of women with obesity (3) and extended these findings to the whole pathway. Our observations are summarized in Figure 5. Indeed, in obesity, IDO1, KYNU, CCBL2 and KMO gene expression levels are increased in adipose tissue and are higher in M1 pro-inflammatory than in M2 anti-inflammatory macrophages. Simultaneously, we observed an increase in serum Kyn levels and K/T ratio in individuals with a higher BMI. In addition IDO1, KYNU and CCBL2 expression levels are increased in response to inflammatory cytokines in primary adipocytes. KMO is not expressed in primary adipocytes, its expression in adipose tissue is therefore likely due to its presence in resident macrophages. Similar observations have already been described in the brain where KMO is mainly expressed in microglia and not expressed in neurons and astrocytes (24, 25), whereas AADAT is predominantly expressed in astrocytes (26). Altogether, these data suggest that inflammation has a causative role in the overall KP activation observed in the adipose tissue, which is reflected by increased serum levels of KPm. We suggest that in the adipose tissue, KMO activation *via* M1-polarized macrophages could divert KP from NAD⁺ formation to the production of 3-hydroxykynurenine and xanthurenic acid (figure 5). Because of its central location in this metabolic cascade, KMO controls the synthesis of bioactive KPm, including 3-hydroxykynurenine and xanthurenic acid. KMO has been considered as a therapeutic target for several brain diseases and various selective inhibitors are in development against Huntington's, Alzheimer's and Parkinson's diseases (28).

Although we did not observe any difference in KP enzyme expression or in KPm levels between diabetic and non-diabetic women from the ABOS cohort, the analysis of KP enzyme expression

showed that KMO expression in the adipose tissue was positively correlated with increased HbA1c levels. We also noticed that QPRT expression in the adipose tissue and quinolinic acid levels were associated with a better glucose control evaluated by HbA1c and with better insulin sensitivity. The enzyme QPRT acts by converting quinolinic acid to NAD^+ (Figure 5). The inhibition of QPRT in both astrocytes and neurons results in a dose-dependent decrease in intracellular NAD^+ and sirtuin deacetylase activity (29); some reports have shown that reduced sirtuin action was present in type 2 diabetes (30). Conversely, KMO could shunt NAD^+ synthesis toward xanthurenic acid synthesis that may impair insulin secretion. On the other hand, obesity is often associated with vitamin B6 deficiency, a well-known essential cofactor of KYNU enzyme (31, 32). Therefore, vitamin B6 deficiency leads to increased Kpm synthesis (3-hydroxykynurenine and xanthurenic acid) and to decreased quinolinic acid synthesis. In women from the ABOS cohort, quinolinic acid levels were less correlated with BMI than K/T ratio and kynurenine levels which probably directly reflect IDO1 activity and the inflammation encountered in obesity. In addition to inflammation, vitamin B6 deficiency observed in obesity, as well as in cardiovascular diseases (33), may also exacerbate KP shift toward downstream KMO activation (34). Recently, inflammatory cytokines were shown to increase expression of KP enzymes and Kpm production in rat pancreatic islets and this observation highlights the need to evaluate Kpm potential relationships with pancreas physiology (35).

Our metabolomic study of a European middle-aged population showed that circulating Kyn levels are positively associated with BMI and with insulin resistance. A similar correlation between Kyn and BMI has been reported in three ethnically diverse adult populations (36) and in childhood obesity (37). In our study, the K/T ratio at inclusion was not associated with the incidence of diabetes 9 years later. However, we only measured metabolites values in the fasting state, which is not necessarily reflecting the potential higher magnitude of Kpm increase after a meal or a tryptophan load (38).

In conclusion, we showed that the inflammation-associated increase in Kpm levels is commonly observed in obesity. Whether this metabolic disturbance may be a risk factor for several

obesity-associated disorders including diabetes, neuronal dysfunction (39) or metabolic syndrome (40), remains to be determined.

Acknowledgements

We thank the CNRS and the “Société Francophone du Diabète” for financial support. This work was supported by grants from “European Genomic Institute for Diabetes” (E.G.I.D., ANR-10-LABX-46) and European Commission. M. Favennec is supported by a grant from the “Conseil Général du Nord-Pas de Calais” and from the “CHRU de Lille”. Pr. G. J. Guillemin is supported by the Australian Research Council. B. Staels is a member of the Institut Universitaire de France. We thank all members of the scientific committee of ABOS tissue collection and CIC-CCPPRB (CHRU-Lille) team for their help in sample handling and clinical data collection. We thank Bernadette Neve for helpful suggestions. We are indebted to all the subjects who participated in the study.

The D.E.S.I.R. study was supported by Inserm contracts with CNAMTS, Lilly, Novartis Pharma and Sanofi-aventis, and by Inserm (Réseaux en Santé Publique, Interactions entre les déterminants de la santé, Cohortes Santé TGIR 2008), the Association Diabète Risque Vasculaire, the Fédération Française de Cardiologie, La Fondation de France, ALFEDIAM, ONIVINS, Société Francophone du Diabète, Ardix Medical, Bayer Diagnostics, Becton Dickinson, Cardionics, Merck Santé, Novo Nordisk, Pierre Fabre, Roche and Topcon. The DESIR Study Group includes The D.E.S.I.R. Study Group: INSERM CESP U1018: B. Balkau, P. Ducimetière, E. Eschwège; INSERM U367: F. Alhenc-Gelas; CHU D’Angers: Y. Gallois, A Girault; Bichat Hospital: F. Fumeron, M. Marre, R. Roussel; CHU de Rennes: F. Bonnet; CNRS UMR8199, Lille: S. Cauchi, P. Froguel; Centres d’Examens de Santé: Alençon, Angers, Blois, Caen, Chartres, Chateauroux, Cholet, Le Mans, Orléans, Tours; Institute de Recherche Médecine Générale: J. Cogneau; General practitioners of the region; Institute inter- Regional pour la Santé: C. Born, E. Caces, M. Cailleau, N. Copin, J.G. Moreau, O. Lantieri, F. Rakotozafy, J. Tichet, S. Vol.

References

1. Campbell BM, Charych E, Lee AW, Möller T. Kynurenines in CNS disease: regulation by inflammatory cytokines. *Front Neurosci* 2014;8.
2. Ball HJ, Sanchez-Perez A, Weiser S, *et al.* Characterization of an indoleamine 2,3-dioxygenase-like protein found in humans and mice. *Gene* 2007;396:203–213.
3. Wolowczuk I, Hennart B, Leloire A, *et al.* Tryptophan metabolism activation by indoleamine 2,3-dioxygenase in adipose tissue of obese women: an attempt to maintain immune homeostasis and vascular tone. *AJP Regul Integr Comp Physiol* 2012;303:R135–R143.
4. Fuchs D, Möller AA, Reibnegger G, Stöckle E, Wemer ER, Watcher H. Decreased serum tryptophan in patients with HIV-1 infection correlates with increased serum neopterin and with neurologic/psychiatric symptoms. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1990;3:873–6.
5. Brandacher G, Winkler C, Aigner F, *et al.* Bariatric surgery cannot prevent tryptophan depletion due to chronic immune activation in morbidly obese patients. *Obes Surg* 2006;16:541–548.
6. Theofylaktopoulou D, Midttun ϕ , Ulvik A, *et al.* A community-based study on determinants of circulating markers of cellular immune activation and kynurenines: the Hordaland Health Study: Determinants of neopterin KTR and kynurenines. *Clin Exp Immunol* 2013;173:121–130.
7. Munn DH, Zhou M, Attwood JT, *et al.* Prevention of Allogeneic Fetal Rejection by Tryptophan Catabolism. *Science* 1998;281:1191–1193.
8. Ting K, Brew BJ, Guillemin GJ. Effect of quinolinic acid on human astrocytes morphology and functions: implications in Alzheimer's disease. *J Neuroinflammation* 2009;6:36.
9. Smith AJ, Stone TW, Smith RA. Neurotoxicity of tryptophan metabolites. *Biochem Soc Trans* 2007;35:1287.
10. Oxenkrug G. Insulin resistance and dysregulation of tryptophan-kynurenine and kynurenine-nicotinamide adenine dinucleotide metabolic pathways. *Mol Neurobiol* 2013;48:294–301.
11. Rosen DA, Maengwyn-Davies GD, Becker B, Sone HH, Friedenwald JS. Xanthurenic acid excretion studies in diabetics with and without retinopathy. *Proc Soc Exp Biol Med Soc Exp Biol Med N Y N* 1955;88:321–323.
12. Meyramov G, Korchin V, Kocheryzkina N. Diabetogenic activity of xanthurenic acid determined by its chelating properties? *Transplant Proc* 1998;30:2682–2684.
13. Munipally PK, Agraharm SG, Valavala VK, Gundae S, Turlapati NR. Evaluation of indoleamine 2,3-dioxygenase expression and kynurenine pathway metabolites levels in serum samples of diabetic retinopathy patients. *Arch Physiol Biochem* 2011;117:254–258.
14. Balkau B. An epidemiologic survey from a network of French Health Examination Centres, (D.E.S.I.R.): epidemiologic data on the insulin resistance syndrome. *Rev Épidémiologie Santé Publique* 1996;44:373–375.
15. Evans AM, DeHaven CD, Barrett T, Mitchell M, Milgram E. Integrated, Nontargeted Ultrahigh Performance Liquid Chromatography/Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry Platform

for the Identification and Relative Quantification of the Small-Molecule Complement of Biological Systems. *Anal Chem* 2009;81:6656–6667.

16. Grambsch PM, Therneau TM. Proportional hazards tests and diagnostics based on weighted residuals. *Biometrika* 1994;81:515–526.

17. Schefold JC, Zeden J-P, Fotopoulou C, *et al.* Increased indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) activity and elevated serum levels of tryptophan catabolites in patients with chronic kidney disease: a possible link between chronic inflammation and uraemic symptoms. *Nephrol Dial Transplant* 2009;24:1901–1908.

18. Yamada K, Miyazaki T, Shibata T, Hara N, Tsuchiya M. Simultaneous measurement of tryptophan and related compounds by liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B* 2008;867:57–61.

19. Bories G, Colin S, Vanhoutte J, *et al.* Liver X Receptor Activation Stimulates Iron Export in Human Alternative Macrophages. *Circ Res* 2013;113:1196–1205.

20. Mayi TH, Daoudi M, Derudas B, *et al.* Human Adipose Tissue Macrophages Display Activation of Cancer-related Pathways. *J Biol Chem* 2012;287:21904–21913.

21. Lasselin J, Magne E, Beau C, *et al.* Adipose Inflammation in Obesity: Relationship With Circulating Levels of Inflammatory Markers and Association With Surgery-Induced Weight Loss. *J Clin Endocrinol Metab* 2014;99:E53–E61.

22. Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante AW. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest* 2003;112:1796–1808.

23. Vieira-Potter VJ. Inflammation and macrophage modulation in adipose tissues. *Cell Microbiol* 2014;16:1484–1492.

24. Guillemin GJ, Cullen KM, Lim CK, *et al.* Characterization of the Kynurenine Pathway in Human Neurons. *J Neurosci* 2007;27:12884–12892.

25. Guillemin GJ, Kerr SJ, Smythe GA, *et al.* Kynurenine pathway metabolism in human astrocytes: a paradox for neuronal protection. *J Neurochem* 2001;78:842–853.

26. Guidetti P, Hoffman GE, Melendez-Ferro M, Albuquerque EX, Schwarcz R. Astrocytic localization of kynurenine aminotransferase II in the rat brain visualized by immunocytochemistry. *Glia* 2007;55:78–92.

27. Rzeski W, Kocki T, Dybel A, *et al.* Demonstration of kynurenine aminotransferases I and II and characterization of kynurenic acid synthesis in cultured cerebral cortical neurons. *J Neurosci Res* 2005;80:677–682.

28. Amaral M, Levy C, Heyes DJ, *et al.* Structural basis of kynurenine 3-monooxygenase inhibition. *Nature* 2013;496:382–385.

29. Braidy N, Guillemin GJ, Grant R. Effects of Kynurenine Pathway Inhibition on NAD⁺ Metabolism and Cell Viability in Human Primary Astrocytes and Neurons. *Int J Tryptophan Res* 2011;4:29–37.

30. Huynh FK, Hershberger KA, Hirschey MD. Targeting sirtuins for the treatment of diabetes. *Diabetes Manag* 2013;3:245–257.
31. Shibata K, Mushiage M, Kondo T, Hayakawa T, Tsuge H. Effects of vitamin B6 deficiency on the conversion ratio of tryptophan to niacin. *Biosci Biotech Biochem* 1995;59:2060–2063.
32. Aasheim ET, Hofsvø D, Hjelmæsæth J, Birkeland KI, Bøhmer T. Vitamin status in morbidly obese patients: a cross-sectional study. *Am J Clin Nutr* 2008;87:362–369.
33. Friso S, Lotto V, Corrocher R, Choi SW. Vitamin B6 and cardiovascular disease. *Subcell Biochem* 2012;56:265–290.
34. Ulvik A, Theofylaktopoulou D, Middtun O, Nygard O, Eussen SJ, Ueland PM. Substrate product ratios of enzymes in the kynurenine pathway measured in plasma as indicators of functional vitamin B-6 status. *Am J Clin Nutr* 2013;98:934–940.
35. Liu JJ, Raynal S, Bailbé D, *et al.* Expression of the kynurenine pathway enzymes in the pancreatic islet cells. Activation by cytokines and glucolipotoxicity. *Biochim Biophys Acta* 2015;1852:980–991.
36. Moore SC, Matthews CE, Sampson JN, *et al.* Human metabolic correlates of body mass index. *Metabolomics* 2014;10:259–269.
37. Perng W, Gillman MW, Fleisch AF, *et al.* Metabolomic profiles and childhood obesity: Metabolomic Profiles and Childhood Obesity. *Obesity* 2014;22:2570/8.
38. Forrest CM, Mackay GM, Stoy N, *et al.* Tryptophan Loading Induces Oxidative Stress. *Free Radic Res* 2004;38:1167–1171.
39. Nguyen JCD, Killcross AS, Jenkins TA. Obesity and cognitive decline: role of inflammation and vascular changes. *Front Neurosci* 2014;8:375.
40. Oxenkrug GF. Metabolic syndrome, age-associated neuroendocrine disorders, and dysregulation of tryptophan-kynurenine metabolism. *Ann N Y Acad Sci* 2010;1199:1–14.

Table 1: Associations between metabolic traits and tryptophan metabolites (tryptophan, kynurenine (Kyn), kynurenine/tryptophan (K/T) ratio) at inclusion from the random sample in the D.E.S.I.R. study (n=836). Beta coefficients (SD trait/SD metabolite) from linear regression analyses are shown, adjusted for age, sex and BMI; except for BMI adjusted on age and sex only. For incident type 2 diabetes (T2D) in the D.E.S.I.R. study, the effect size refers to the log hazard ratio estimated using a Cox regression model adjusted for age, sex and BMI at inclusion (n=231 cases). * $P < 1.7 \times 10^{-3}$

Traits	Tryptophan		Kynurenine		K/T ratio	
	Effect size	P-value	Effect size	P-value	Effect size	P-value
BMI	2.95	3.70×10^{-3}	5.28	4.68×10^{-19} *	4.31	7.92×10^{-13} *
Waist circumference	2.14	1.28×10^{-1}	-0.31	7.23×10^{-1}	-1.12	1.97×10^{-1}
Hip circumference	2.55	4.47×10^{-2}	0.31	6.93×10^{-1}	-0.66	3.96×10^{-1}
Waist/Hip ratio	-0.00	9.94×10^{-1}	-0.00	7.29×10^{-1}	-0.00	7.35×10^{-1}
Fasting glucose	-0.16	2.41×10^{-1}	-0.05	6.00×10^{-1}	0.02	8.38×10^{-1}
Fasting insulin	0.07	5.75×10^{-1}	0.26	1.42×10^{-3} *	0.23	4.84×10^{-3}
HOMA2-B	0.11	1.73×10^{-1}	0.18	6.02×10^{-4} *	0.14	1.05×10^{-2}
HOMA2-IR	0.07	5.29×10^{-1}	0.25	6.23×10^{-4} *	0.22	2.68×10^{-3}
HbA1c	-0.02	8.52×10^{-1}	0.18	1.44×10^{-2}	0.18	1.09×10^{-2}
Incident T2D	1.15	9.65×10^{-2}	1.11	4.64×10^{-2}	0.98	3.13×10^{-1}

Table 2: Spearman correlation coefficients of KP metabolites and QPRT, KYNU and KMO expression with clinical characteristics in women from the ABOS study (n=100). The P-values associated with the correlation coefficients are indicated with superscripts as follows a: P<0.05; b: P<0.01; c: P<0.001; d: P<0.0001. In addition, correlations in bold are statistically significant at 0.05 after a Benjamini-Hochberg correction for multiple comparisons.

Metabolites	BMI	Fasting glycemia	120 min glycemia	Fasting insulinemia	HbA1c	HOMA2-B	HOMA2-IR
Tryptophan	-0.086	-0.055	-0.163	0.070	-0.084	0.118	0.039
Kynurenine	0.298 ^b	-0.032	-0.060	0.029	-0.002	0.098	0.012
K/T ratio	0.311 ^b	0.011	0.019	-0.032	0.044	-0.004	-0.038
Kynurenic acid	0.249 ^a	-0.020	-0.058	0.191	0.025	0.193	0.153
Xanthurenic acid	-0.015	0.049	-0.066	0.027	-0.019	0.003	0.005
Quinolinic acid	0.253 ^a	-0.111	-0.128	-0.235 ^a	-0.164	-0.066	-0.248 ^a
Picolinic acid	-0.031	-0.015	-0.090	0.165	-0.012	0.115	0.142
Gene expression	BMI	Fasting glycemia	120 min glycemia	Fasting insulinemia	HbA1c	HOMA2-B	HOMA2-IR
QPRT om	-0.264^b	0.018	-0.046	0.017	-0.067	-0.033	0.046
QPRT sc	-0.169	-0.388^d	-0.413^d	0.025	-0.487^d	0.363^c	-0.062
KMO om	0.179	0.163	0.135	0.184	0.285^b	0.024	0.190
KMO sc	0.204 ^a	0.304^b	0.230 ^a	0.100	0.419^d	-0.135	0.128
KYNU om	0.219 ^a	0.185	0.166	0.283^b	0.286^b	0.065	0.299^b
KYNU sc	0.156	0.233 ^a	0.205 ^a	0.170	0.289^b	-0.075	0.198

K/T: kynurenine/tryptophan. Om: omental adipose tissue. Sc: subcutaneous adipose tissue. KMO: kynurenine 3-monooxygenase. KYNU: kynureninase. QPRT: quinolinate phosphoribosyltransferase.

Table 3: Spearman correlation coefficients of KP enzymes in omental and subcutaneous adipose tissues with inflammatory markers of women from the ABOS study (n=100). The P-values associated with the correlation coefficients are indicated with superscripts as follows a: P<0.05; b: P<0.01; c: P<0.001; d: P<0.0001. In addition, correlations in bold are statistically significant at 0.05 after a Benjamini-Hochberg correction for multiple comparisons.

Omental	CCL2	CD68	IL1B	IL1RN	IL6	TGFB1	TNF	usCRP
IDO1	0.180	0.356^c	0.125	0.369^c	0.320^b	0.360^c	0.097	-0.095
AFMID	0.110	0.220 ^a	-0.122	0.122	0.014	0.307^b	0.139	-0.199
KMO	0.313^b	0.386^d	0.273^b	0.302^b	0.233 ^a	0.269^b	0.219 ^a	0.303^b
KYNU	0.418^d	0.447^d	0.235 ^a	0.382^d	0.228 ^a	0.266^b	0.215 ^a	0.245 ^a
CCBL1	0.047	0.131	-0.008	-0.047	0.084	0.278^b	0.097	0.062
CCBL2	0.088	0.169	-0.026	0.256^a	0.015	0.208 ^a	0.194	0.062
AADAT	0.122	0.246^a	0.119	0.207 ^a	0.191	0.261^b	0.178	0.074
HAAO	0.140	0.256^a	0.014	0.020	0.090	0.195	0.097	0.042
QPRT	0.104	0.056	0.177	-0.183	0.075	0.052	0.100	0.029
Subcutaneous	CCL2	CD68	IL1B	IL1RN	IL6	TGFB1	TNF	usCRP
IDO1	0.059	-0.008	0.055	-0.122	0.132	0.064	0.144	-0.167
AFMID	-0.060	0.031	0.163	-0.136	0.146	-0.016	0.302^b	0.025
KMO	0.076	0.447^d	0.030	0.352^c	-0.137	0.119	0.081	0.215 ^a
KYNU	0.387^d	0.544^d	0.127	0.255 ^a	0.239 ^a	0.306^b	0.341^c	0.255 ^a
CCBL1	0.226 ^a	0.060	0.149	-0.109	0.355^c	0.045	0.302^b	-0.011
CCBL2	0.076	-0.082	-0.017	-0.069	0.033	0.033	0.053	-0.086
AADAT	0.184	0.085	-0.039	0.097	-0.007	0.115	0.093	-0.229 ^a
HAAO	0.072	0.078	0.083	-0.068	0.045	0.276^b	-0.002	-0.007
QPRT	0.239 ^a	0.094	0.211 ^a	-0.090	0.239 ^a	-0.083	0.120	-0.144

IDO1: indoleamine 2,3-dioxygenase 1. AFMID: arylformamidase. KMO: kynurenine 3-monooxygenase. KYNU: kynureninase. CCBL1: kynurenine aminotransferase I. AADAT: kynurenine aminotransferase II. CCBL2: kynurenine aminotransferase III. KYNU: kynureninase. HAAO: 3-hydroxyanthranilate 3,4-dioxygenase. QPRT: quinolinate phosphoribosyltransferase. CCL2: Chemokine ligand 2. CD68: Cluster of differentiation 68. IL1B: interleukin 1 beta. IL1RN: interleukin 1 receptor antagonist. IL6: Interleukine. TGFB1: transforming growth factor beta 1. TNF: tumor necrosis factor. usCRP: ultrasensitive C-reactive protein.

Figure legends

Figure 1: Schematic representation of the kynurenine pathway.

IDO1: indoleamine 2,3-dioxygenase 1. IDO2: indoleamine 2,3-dioxygenase 2. TDO2: tryptophan 2,3-dioxygenase AFMID: arylformamidase. KMO: kynurenine 3-monooxygenase. CCBL1: kynurenine aminotransferase I. AADAT: kynurenine aminotransferase II. CCBL2: kynurenine aminotransferase III. KYNU: kynureninase. HAAO: 3-hydroxyanthranilate 3,4-dioxygenase. QPRT: quinolinate phosphoribosyltransferase. ACMSD: aminocarboxymuconate semialdehyde decarboxylase

Figure 2: Expression of KP enzymes in subcutaneous (sc) and omental (om) adipose tissues of lean women (LN; black, n=9) and women with obesity (OB; grey, n=11) from the ABOS study. Results are expressed as the mean \pm SE. Mann-Whitney test and Wilcoxon test for paired values were used for statistical analysis. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$

IDO1: indoleamine 2,3-dioxygenase 1. AFMID: arylformamidase. KMO: kynurenine 3-monooxygenase. CCBL1: kynurenine aminotransferase I. AADAT: kynurenine aminotransferase II. CCBL2: kynurenine aminotransferase III. KYNU: kynureninase. HAAO: 3-hydroxyanthranilate 3,4-dioxygenase. QPRT: quinolinate phosphoribosyltransferase

Figure 3: Expression of KP enzymes in human primary preadipocytes (white) and adipocytes (grey). Confluent preadipocytes were differentiated for 10 days with medium supplemented with insulin, dexamethasone, IBMX and indomethacin. Preadipocytes and adipocytes were incubated in presence (hatched) or absence (plain) of IFN γ (100 U/mL) for 24h. Results represent mean \pm SE of 5 distinct experiments. Statistical analyses used 2-way ANOVA. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$; **** $P < 0.0001$

IDO1: indoleamine 2,3-dioxygenase 1. AFMID: arylformamidase. CCBL1: kynurenine aminotransferase I. AADAT: kynurenine aminotransferase II. CCBL2: kynurenine aminotransferase III. KYNU: kynureninase. HAAO: 3-hydroxyanthranilate 3,4-dioxygenase. QPRT: quinolinate phosphoribosyltransferase.

Figure 4: A, Expression of KP enzymes in human monocyte-derived M1 macrophages and M2 macrophages. M1 macrophages (black) were obtained by treating differentiated macrophages with LPS (100 ng/mL; 4 hours), while M2 macrophages (gray) were obtained by differentiating monocytes in the presence of IL-4 (15 ng/mL; 6 days). Results are expressed as the mean \pm SE of 7 distinct experiments. B, Expression of KMO in ATA and ATM purified from omental adipose tissue of women

with obesity. Results shown are the mean \pm SE of 7 patients. Wilcoxon test for paired values was used for statistical analysis. * $P < 0.05$

IDO1: indoleamine 2,3-dioxygenase 1. AFMID: arylformamidase. KMO: kynurenine 3-monooxygenase. CCBL1: kynurenine aminotransferase I. AADAT: kynurenine aminotransferase II. CCBL2: kynurenine aminotransferase III. KYNU: kynureninase. HAAO: 3-hydroxyanthranilate 3,4-dioxygenase. QPRT: quinolinate phosphoribosyltransferase.

Figure 5: Schematic representation of the kynurenine pathway in the adipose tissue of individuals with obesity.

ACMSD (aminocarboxymuconate semialdehyde decarboxylase), IDO2 (indoleamine 2,3-dioxygenase 2) and TDO2 (tryptophan 2,3-dioxygenase) are not expressed in the adipose tissue. KP enzymes and KP metabolites increased in individuals with obesity compared to normal weighted individuals are indicated in bold. KMO (kynurenine 3-monooxygenase) is not expressed in adipocytes, but is expressed in macrophages and can shunt KP from formation of NAD^+ by QPRT (quinolinate phosphoribosyltransferase) to the production of xanthurenic acid.

IDO1: indoleamine 2,3-dioxygenase 1. AFMID: arylformamidase. CCBL1: kynurenine aminotransferase I. AADAT: kynurenine aminotransferase II. CCBL2: kynurenine aminotransferase III. KYNU: kynureninase. HAAO: 3-hydroxyanthranilate 3,4-dioxygenase.

Figure 1

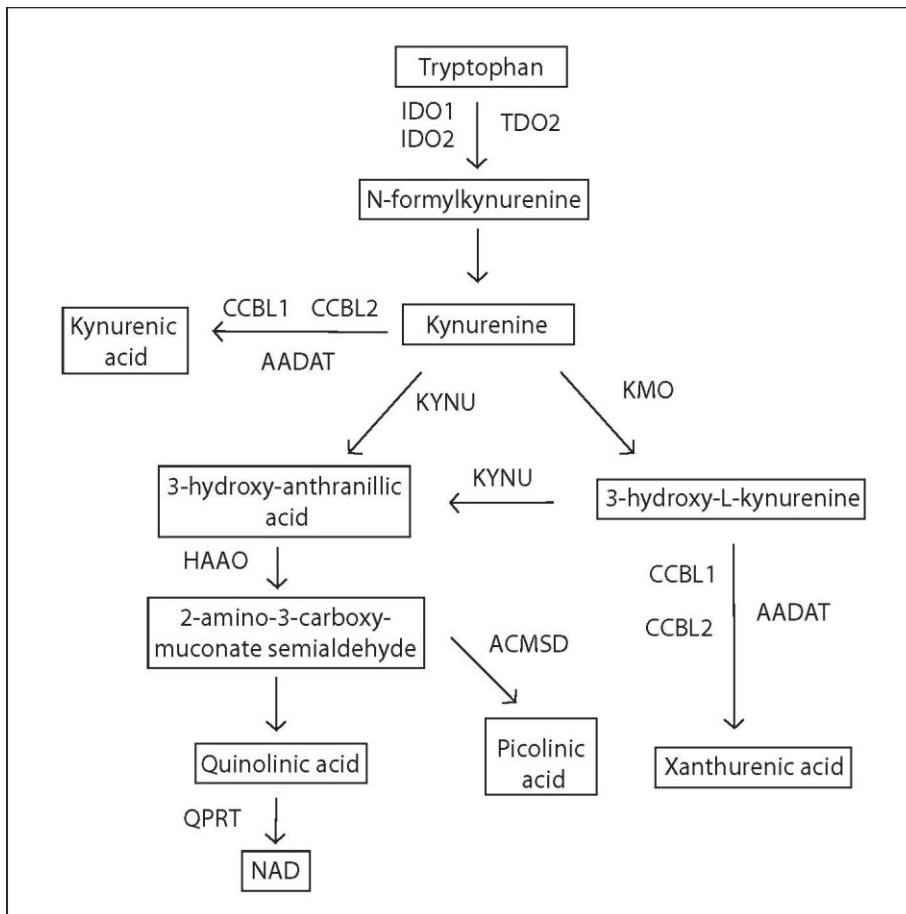


Figure 2

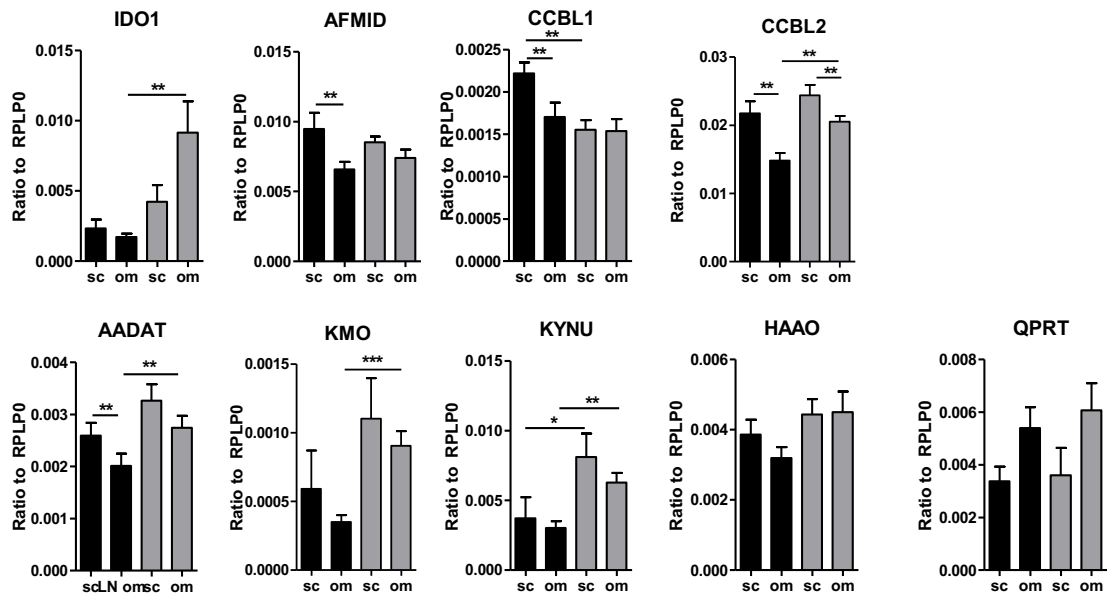


Figure 3

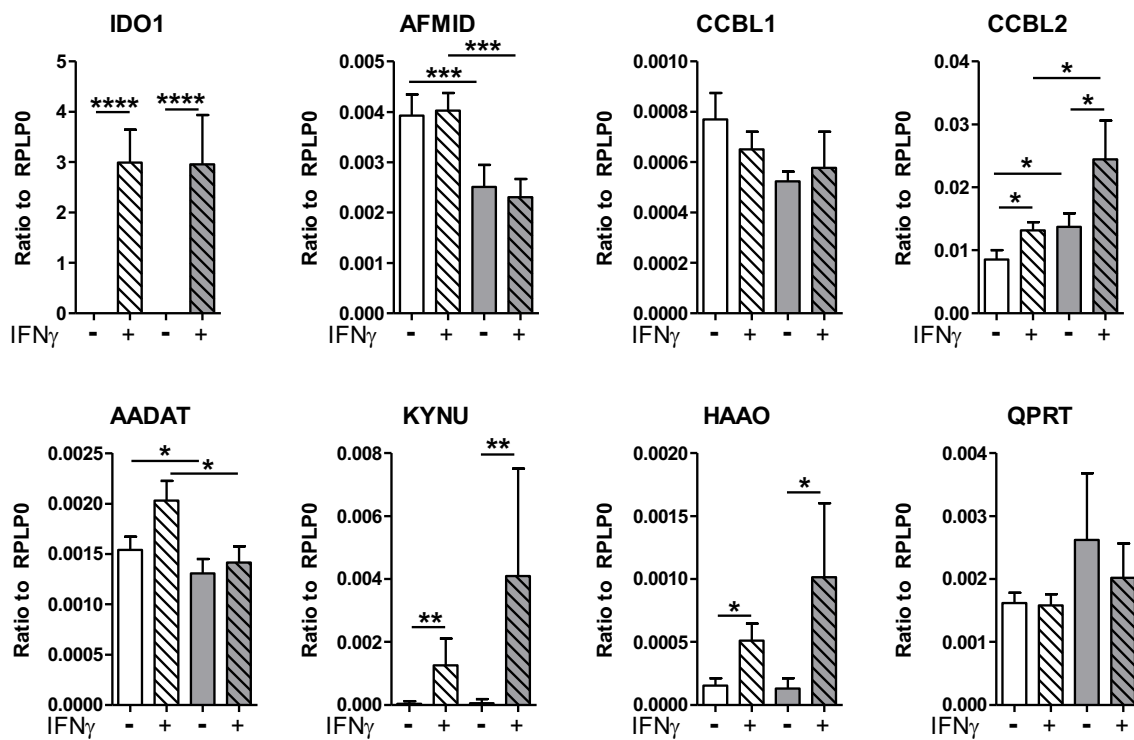


Figure 4

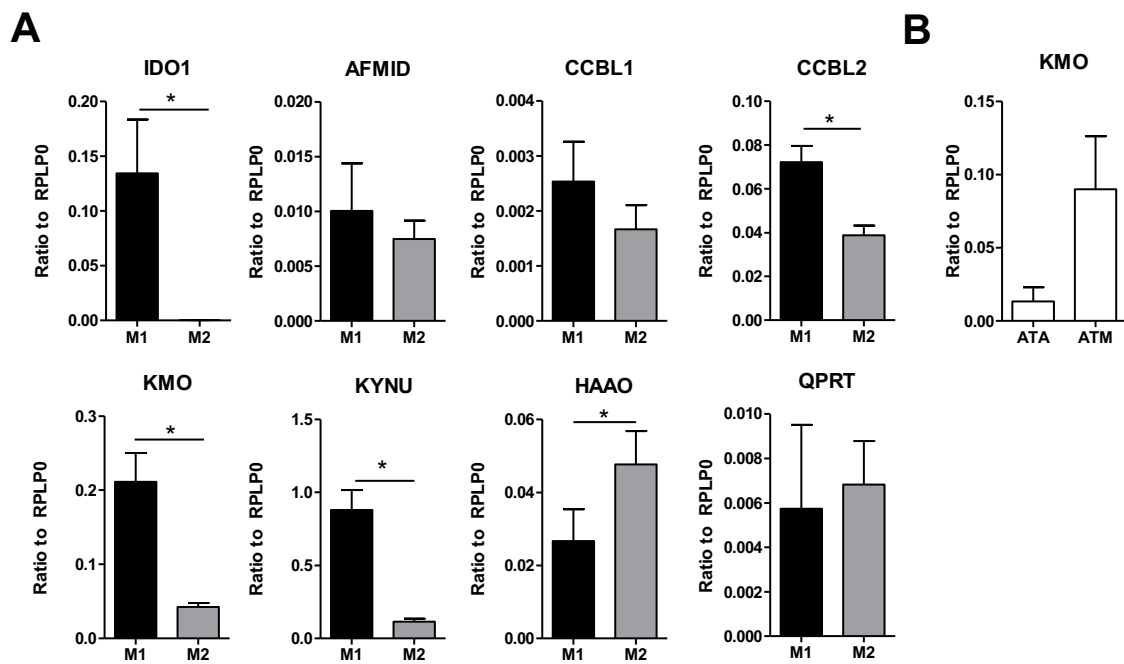
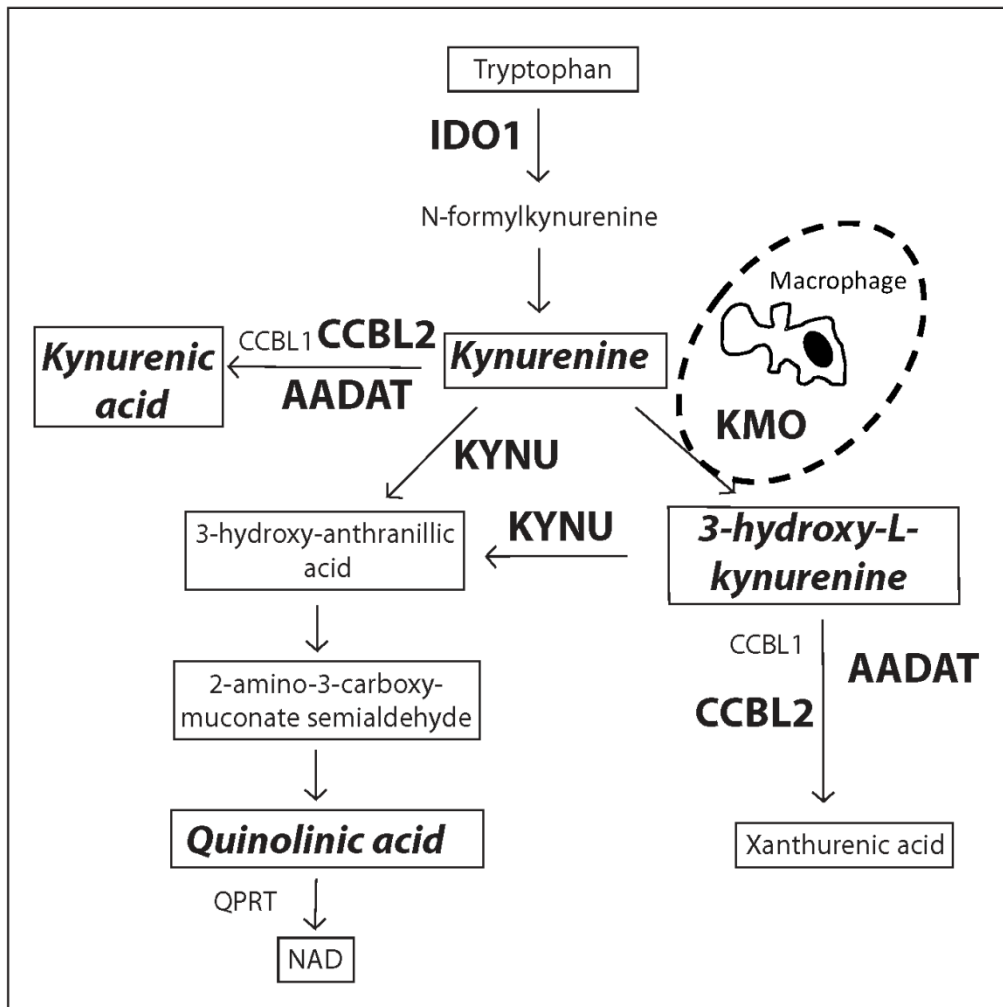


Figure 5



Supplementary tables**Table S1:** Clinical characteristics of individuals from the D.E.S.I.R. cohort. Data shown are mean \pm SD or n \pm %.

	Incident T2D cases at baseline (n=231)	Random sample at baseline (n=836)	Random sample at year 9 (n=836)
Age, years	51 \pm 9	47 \pm 10	56 \pm 10
Sex			
Men	151 \pm 65	411 \pm 49	411 \pm 49
Women	80 \pm 35	425 \pm 51	425 \pm 51
Type 2 diabetes			
Non diabetic	231 \pm 100	813 \pm 97	801 \pm 96
Diabetic	0 \pm 0	23 \pm 3	35 \pm 4
Fasting glucose, mmol/L	5.9 \pm 0.6	5.33 \pm 0.7	5.5 \pm 0.9
Fasting insulin, pmol/L	70.1 \pm 46.3	45.8 \pm 28.2	48.8 \pm 31.7
HbA1c, %	5.62 \pm 0.43	5.28 \pm 0.49	5.6 \pm 0.5
HOMA2-B	90.3 \pm 42.2	84.8 \pm 27.9	84.5 \pm 31.0
HOMA2-IR	1.59 \pm 0.98	1.07 \pm 0.63	1.16 \pm 0.70
BMI, kg/m ²	27.8 \pm 4.5	24.5 \pm 3.6	25.7 \pm 4.1
Waist circumference, cm	94 \pm 11	83 \pm 11	86 \pm 12
Hip circumference, cm	102 \pm 9	97 \pm 7	98 \pm 8
Waist/Hip ratio	0.92 \pm 0.08	0.85 \pm 0.09	0.88 \pm 0.09

BMI, body mass index; HbA1c, glycated hemoglobin A1c; HOMA, Homeostasis Model Assessment for insulin resistance (HOMA2-IR) and insulin secretion (HOMA2-B)

Table S2: Clinical characteristics of individuals from the ABOS Study.

Data shown are mean \pm SD. Mann-Whitney *U*-test analysis between lean group ($n = 9$) vs. a random selection of 11 subjects in the group of women with obesity * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$; *n.d.* = *not done*

	Obese (N=100)	Lean (N=9)
	Mean \pm SD or n	Mean \pm SD or n
Type 2 diabetes (Yes/No)	50 / 50	0 / 9
Age, years	46. \pm 6	41 \pm 15
BMI, kg/m ²	46.3 \pm 6.2	23.8 \pm 2.1 **
Waist circumference, cm	124 \pm 13	83 \pm 4 *
Hip circumference, cm	141 \pm 14	95 \pm 2 *
Waist/Hip ratio	0.88 \pm 0.9	0.87 \pm 0.05
Fasting Glucose, mmol/L	6.8 \pm 2.7	4.18 \pm 0.4 ***
120 mn after OGTT Glucose, mmol/L	9.4 \pm 4.9	n.d. n.d.
Fasting insulin, pmol/L	90.9 \pm 52.2	33.7 \pm 15.9 **
HbA1c, %	6.5 \pm 2.7	5.5 \pm 0.2 ***
ultrasensitive C-reactive protein, mg/L	6.8 \pm 3.3	n.d. n.d.

Table S3: Taqman assay probes used in the qPCR

Gene name	Assay Identification Number	Gene name	Assay Identification Number	Gene name	Assay Identification Number
AADAT	Hs00212039_m1	CD68	Hs00154355_m1	KMO	Hs00175738_m1
ACMSD	Hs00758267_m1	HAAO	Hs00201915_m1	KYNU	Hs00187560_m1
AFMID	Hs00895838_m1	IDO1	Hs00158027_m1	QPRT	Hs00204757_m1
CCBL1	Hs00187858_m1	IL1B	Hs01555410_m1	RPLP0	Hs99999902_m1
CCBL2	Hs00219725_m1	IL1RN	Hs00893626_m1	TGFB1	Hs00998133_m1
CCL2	Hs00234140_m1	IL6	Hs00985639_m1	TNF	Hs00174128_m1
CD14	Hs00169122_g1				

AADAT: kynurenine aminotransferase II. ACMSD: aminocarboxymuconate semialdehyde decarboxylase. AFMID: arylformamidase. CCBL1: kynurenine aminotransferase I. CCBL2: kynurenine aminotransferase III. CCL2: Chemokine ligand 2. CD14: cluster of differentiation 14. CD68: Cluster of differentiation 68. HAAO: 3-hydroxyanthranilate 3,4-dioxygenase. IDO1: indoleamine 2,3-dioxygenase 1. IL1RN: interleukin 1 receptor antagonist. IL1B: interleukin 1 beta. IL6: Interleukine 6. KMO: kynurenine 3-monooxygenase. KYNU: kynureninase. QPRT: quinolinate phosphoribosyltransferase. RPLP0: ribosomal protein large P0. TGFB1: transforming growth factor beta 1. TNF: tumor necrosis factor.

Table S4: Associations between metabolic traits and tryptophan metabolites (tryptophan, kynurenine, kynurenine/tryptophan (K/T) ratio) at the last visit from the random sample in the D.E.S.I.R. study (n=836). Beta coefficients (SD trait/SD metabolite) from linear regression analyses are shown, adjusted for age, sex and BMI excepting for BMI, adjusted on age and sex only. * $P < 1.7 \times 10^{-3}$

Traits	Tryptophan		Kynurenine		K/T ratio	
	Effect size	P-value	Effect size	P-value	Effect size	P-value
BMI,	0,08	2.28×10^{-2}	0.29	8.60×10^{-17} *	0,25	1.03×10^{-12} *
Waist circumference	-0,01	7.16×10^{-1}	-0.02	2.82×10^{-1}	-0,01	3.88×10^{-1}
Hip circumference	0,02	3.99×10^{-1}	0.02	2.92×10^{-1}	0,01	5.99×10^{-1}
Waist/Hip ratio	-0,02	2.72×10^{-1}	-0.04	1.17×10^{-1}	-0,02	3.76×10^{-1}
Fasting glucose	0,06	2.63×10^{-1}	-0.00	5.77×10^{-1}	-0,04	1.93×10^{-1}
Fasting insulin	0,04	2.19×10^{-1}	0.11	3.53×10^{-4} *	0,09	4.26×10^{-3}
HOMA2-B	0,00	9.76×10^{-1}	0.10	6.31×10^{-3}	0,10	5.45×10^{-3}
HOMA2-IR	0,06	5.28×10^{-2}	0.09	6.15×10^{-3}	0,05	1.29×10^{-1}
HbA1c	0,02	6.25×10^{-1}	0.04	2.76×10^{-1}	0,03	4.24×10^{-1}

Supplementary figures

Figure S1: KP enzyme expression in subcutaneous (sc) and omental (om) adipose tissues of women with obesity from the ABOS study (n=100). Results shown are the mean \pm SE. The Mann-Whitney test and the Wilcoxon test for paired values were used for statistical analyses. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$; **** $P < 0.0001$

IDO1: indoleamine 2,3-dioxygenase 1. AFMID: arylformamidase. CCBL1: kynurenine aminotransferase I. CCBL2: kynurenine aminotransferase III. AADAT: kynurenine aminotransferase II. KMO: kynurenine 3-monooxygenase. KYNU: kynureninase. HAAO: 3-hydroxyanthranilate 3,4-dioxygenase. QPRT: quinolinate phosphoribosyltransferase.

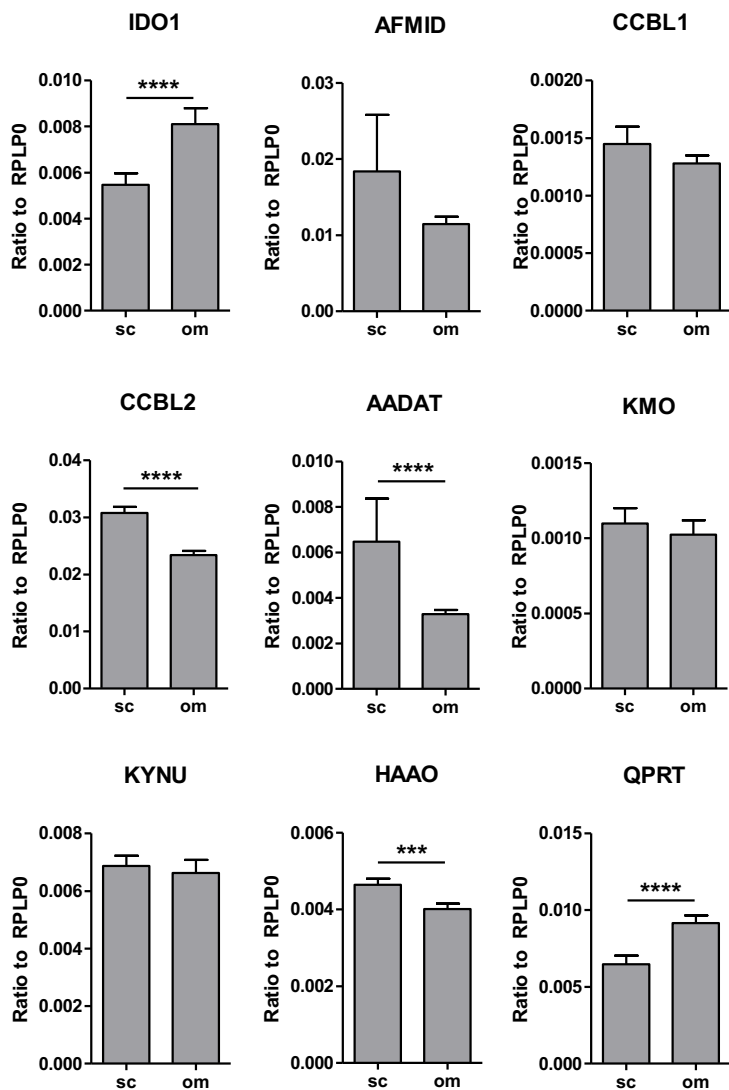
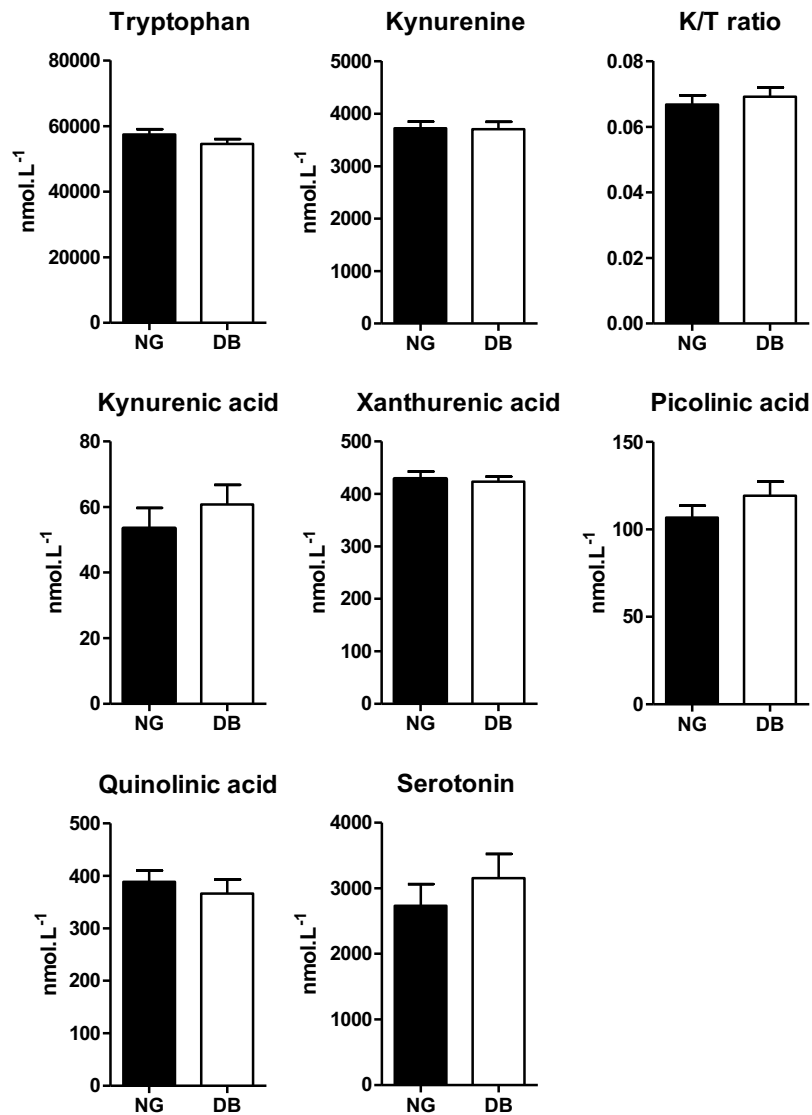


Figure S2: Kpm levels in fasting serum of normoglycemic women with obesity (NG, black, n=50) and diabetic women with obesity (DB, white, n=50) from the ABOS study. Metabolite levels were measured using LC-MS/MS or GC-MS/MS. K/T ratio is the ratio of kynurenine to tryptophan. Results shown are mean \pm SE. The Mann-Whitney test was used for statistical analysis.



Conclusion

Nous confirmons dans cette étude l'augmentation de la synthèse de kynurénines à partir du tryptophane chez les individus obèses. Cela se traduit par une augmentation des concentrations circulantes des kynurénines dans le sérum et une augmentation également du ratio kynurénine / tryptophane qui reflète l'activité de l'enzyme IDO1. L'expression et l'activité de l'enzyme IDO1 sont induites par des cytokines inflammatoires et son rôle pourrait être une tentative de modérer la réponse inflammatoire (Grohmann and Puccetti, 2015). En effet, dans le tissu adipeux qui est le siège de l'inflammation chronique observée chez les individus obèses, l'induction de l'expression du gène IDO1 est corrélée à une augmentation de l'expression des marqueurs de lymphocytes T régulateurs. Cette corrélation est observée dans le compartiment sous-cutané mais pas dans le tissu adipeux viscéral (Wolowczuk et al., 2012). Parmi les kynurénines, nous avons vu précédemment que certaines pouvaient être associées au diabète de type 2 (Hattori et al., 1984; Kotake Jr and Inada, 1953; Munipally et al., 2011; Oxenkrug et al., 2013). De ce fait, une meilleure compréhension du métabolisme de tryptophane dans le cadre de l'obésité et du diabète de type 2 permettrait de mieux définir la voie des kynurénines chez l'Homme pour les études concernant les relations entre ces métabolites et le développement de l'insulinorésistance et du diabète induits par l'obésité. Dans cette étude, nous avons évalué l'expression des enzymes de la voie dans le tissu adipeux viscéral et sous-cutané d'individus obèses et d'individus minces. Dans un deuxième temps nous avons évalué l'expression des enzymes de la voie dans le tissu adipeux sous-cutané et viscéral d'individus obèses diabétiques et normoglycémiques et en parallèle, l'évaluation des taux circulants du tryptophane et des kynurénines a été effectuée.

Comme attendu, car cela avait été observé dans la précédente étude réalisée sur un petit nombre d'individus de la cohorte ABOS (Wolowczuk et al., 2012), l'expression de l'enzyme IDO1 est plus élevée dans le tissu adipeux des individus obèses que des individus minces et cela est

particulièrement marquant dans le tissu adipeux viscéral qui est connu pour être plus inflammé. De façon cohérente également les enzymes KMO et KYNU, dont les expressions sont induites par des cytokines pro-inflammatoires (Asp et al., 2011; Jones et al., 2015), sont également plus exprimées dans le tissu adipeux des individus obèses. Parmi les KATs, l'enzyme AADAT et l'enzyme CCBL2 sont plus exprimées chez les individus obèses tandis que l'enzyme CCBL1 est moins exprimée. L'expression des enzymes HAAO et QPRT n'est pas significativement différente entre les 2 groupes. Nous notons que l'expression de l'enzyme TDO2 est en dessous du seuil de détection dans le tissu adipeux, ce qui est cohérent avec une expression de TDO2 principalement retrouvée dans le foie (Soichot et al., 2013). De même pour l'enzyme IDO2, découverte plus récemment et décrite jusqu'à présent dans le placenta et le cerveau chez l'Homme (Metz et al., 2007), dans notre étude elle est en dessous du seuil de détection dans le tissu adipeux.

L'analyse de l'expression des enzymes de la voie dans des monocytes différenciés en macrophages de type M1 et M2 révèlent que les enzymes IDO1, CCBL2, KMO et KYNU qui, je le rappelle ici, sont plus exprimées dans le tissu adipeux des individus obèses, sont également plus exprimées dans les macrophages M1 que dans les macrophages M2. L'augmentation de l'expression des enzymes IDO1, KMO et KYNU avaient été montrée précédemment dans des macrophages stimulés par la cytokine IFN γ (Guillemin et al., 2001) et dans une étude publiée en 2015, la présence des enzymes IDO1, KMO et QPRT a été détectée par immunomarquage dans des monocytes circulants humains cultivés en présence d'IFN γ (Jones et al., 2015). L'enzyme QPRT était plus exprimée après 72H de traitement par l'IFN γ , ce qui pourrait expliquer que nous ne l'ayons pas observé dans notre étude et la présence de l'enzyme KYNU n'a pas été évaluée dans cette étude. Nous montrons dans notre étude que les cellules adipocytaires sont également impliquées dans l'augmentation de l'expression des enzymes de la voie dans le tissu adipeux. En effet les adipocytes primaires humains expriment les enzymes de la voie des kynurénines à l'état basal, les enzymes KATs, AFMID, KYNU, HAAO et QPRT sont exprimées. Les enzymes IDO1 et KMO ne sont pas détectées à l'état basal et sont en dessous du seuil de détection. L'induction d'un stimulus inflammatoire par

l'ajout de la cytokine pro-inflammatoire IFN γ induit l'expression de l'enzyme IDO1 mais l'enzyme KMO reste indétectable dans les adipocytes. Par la mesure des concentrations en kynurénine dans les surnageants des adipocytes, nous montrons que l'activité de l'enzyme IDO1 est également augmentée dans les adipocytes en réponse à l'IFN γ . En effet, les concentrations de kynurénine sont augmentées dans les surnageants des adipocytes stimulés par l'IFN γ par rapport aux adipocytes non traités (données non montrées). L'expression des enzymes CCBL2 et KYNU dans les adipocytes est également augmentée en présence de la cytokine IFN γ comme observé dans les macrophages. L'infiltration de monocytes circulants dans le tissu adipeux et leur différenciation en macrophages M1 sécrétant des cytokines pro-inflammatoires est donc un élément majeur de l'induction de l'expression des enzymes de la voie des kynurénines dans le tissu adipeux des individus obèses.

Dans une deuxième partie de notre étude, nous avons étudié en parallèle l'expression des enzymes de la voie des kynurénines dans le tissu adipeux et les concentrations des métabolites dans les sérums chez des femmes obèses de la cohorte ABOS. Cette étude a été réalisée chez 50 femmes diabétiques et 50 femmes normoglycémiques en situation d'obésité sévère et candidates pour la chirurgie bariatrique. Nous avons choisi d'étudier l'expression des enzymes de la voie des kynurénines dans le tissu adipeux car il peut représenter jusqu'à 50% du poids corporel chez une femme en situation d'obésité sévère (Das et al., 2003). Dans la cohorte ABOS, la proportion du tissu adipeux n'est pas évaluée systématiquement mais nous l'avons évalué de façon indirecte grâce à l'équation Clínica Universidad de Navarra-Body Adiposity Estimator (CUN-BAE) qui prend en compte l'IMC, le sexe et l'âge des individus (Gomez-Ambrosi et al., 2012): en moyenne le tissu adipeux représente 54% du poids corporel des femmes de notre étude, ce qui correspond aux données de la littérature. Nous montrons une corrélation positive entre l'expression de l'enzyme IDO1 dans le tissu adipeux sous-cutané et les concentrations de kynurénine ($R = 0,225$; $p = 0,024$) et d'acide quinolinique ($R = 0,195$; $p = 0,048$) (données non montrées). Malgré le fait que cette cohorte soit constituée exclusivement de femmes en situation d'obésité sévère, nous observons une corrélation positive entre les concentrations de kynurénines (kynurénine, ratio K/T, acide kynurénique et acide

quinolinique) et l'expression de l'enzyme IDO1 dans le tissu adipeux sous-cutané avec l'IMC. Dans notre étude, nous n'avons pas montré de concentrations des kynurénines différentes entre les individus obèses diabétiques et normoglycémiques de la cohorte ABOS. Cependant nous avons montré par l'analyse des résultats de l'étude du métabolome réalisée sur 700 individus français d'âge moyen de la cohorte D.E.S.I.R. que les taux circulants de kynurénine sont corrélés positivement à l'indice d'insulinorésistance, et également à l'indice de fonctionnalité de la cellule β et aux valeurs d'insulinémie à jeun, après correction par l'IMC afin d'éviter tout biais. En effet dans cette cohorte d'individus également le taux de kynurénine et le ratio K/T sont corrélés positivement à l'IMC. Ces résultats suggèrent que l'augmentation des concentrations de kynurénine pourrait être associée au développement de l'insulinorésistance. Nous n'avons pas observé de différence d'expression des enzymes de la voie des kynurénines entre les 2 groupes normoglycémiques et diabétiques de notre cohorte ABOS, cependant nous montrons dans cette étude que l'expression de l'enzyme KMO qui catalyse la synthèse de l'acide xanthurénique est corrélée à un moins bon contrôle glycémique. Au contraire l'expression de l'enzyme QPRT qui catalyse la transformation de l'acide quinolinique en NAD^+ est corrélée à une meilleure fonctionnalité de la cellule β et à un meilleur contrôle de la glycémie. Nous émettons l'hypothèse que le métabolisme du tryptophane en acide xanthurénique plutôt qu'en acide quinolinique puis en NAD^+ pourrait être un facteur de risque supplémentaire pour le diabète induit par l'obésité (Figure 20).

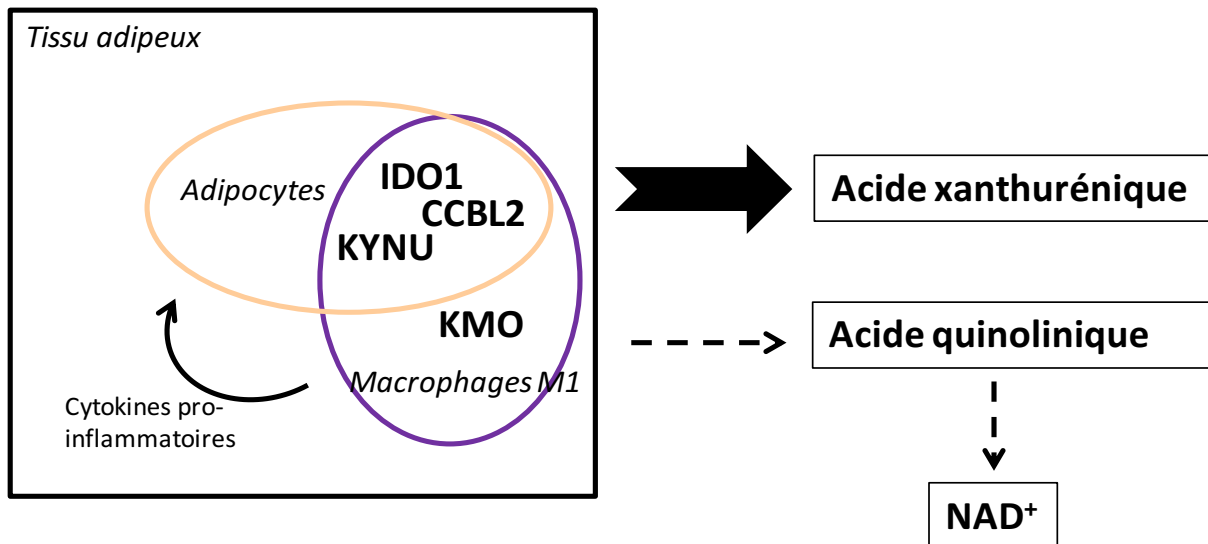


Figure 19 : Schéma récapitulatif.

Dans le tissu adipeux d'un individu obèse, les enzymes IDO1, CCBL2, KMO et KYNU sont plus exprimées du fait de la présence de macrophages pro-inflammatoires et de la réponse des adipocytes aux cytokines pro-inflammatoires. L'enzyme KMO catalyse la formation du métabolite 3OHK qui est ensuite catalysé en acide xanthurénique par l'enzyme CCBL2. La production d'acide xanthurénique pourrait se produire au détriment de la production d'acide quinolinique par l'enzyme QPRT et être un facteur de risque pour l'insulinorésistance et le diabète de type 2.

Chapitre 4 : Association indépendante de la perte de poids entre les concentrations circulantes d'acide quinolinique et d'acide xanthurénique et l'homéostasie du glucose après la chirurgie bariatrique.

1. Introduction

La prévalence de l'obésité a doublé dans le monde depuis 20 ans et l'OMS estime à ce jour que 600 millions d'individus seraient obèses. L'obésité est associée à une diminution de la durée de vie et à une augmentation de la mortalité et est devenue le premier facteur de risque de décès (3,4 millions de décès par an). La chirurgie bariatrique est actuellement le traitement le plus efficace pour traiter l'obésité sévère (IMC supérieur à 40 kg/m² ou IMC supérieur à 35 kg/m² et une comorbidité de l'obésité), comparée aux interventions sur le mode de vie et aux approches médicamenteuses. La chirurgie bariatrique permet une perte de poids significative et surtout durable dans le temps, de réduire les risques de mortalité chez les individus et améliore également les comorbidités de l'obésité sévère et notamment le diabète de type 2 (Buchwald et al., 2009). En effet après une chirurgie bariatrique, on observe une amélioration de contrôle glycémique évalué par l'HbA1c, de la fonctionnalité de la cellule β évalué par l'index HOMA2-B et de la sensibilité à l'insuline évaluée par l'HOMA2-S (Caiazzo et al., 2010) et du diabète mais certains patients sont toujours en échec pour la rémission du diabète malgré la chirurgie bariatrique (Buchwald et al., 2009). A ce jour, les études ont montré que la chirurgie bariatrique induit une augmentation de la sécrétion des hormones incrétines comme le GLP-1 qui stimulent la sécrétion d'insuline et améliore ainsi le diabète de type 2 (Laferrère, 2011) ainsi qu'une diminution des marqueurs circulants de l'inflammation (Lindgaard et al., 2015).

Nous avons montré précédemment que d'une part la synthèse des kynurénines (Figure 12) augmente avec l'IMC et que d'autre part les concentrations circulantes de kynurénine sont associées

à l'augmentation de l'indice d'insulinorésistance et à l'augmentation de l'insulinémie à jeun (Favennec et al., 2015). Le but de cette étude est de déterminer les effets de la chirurgie bariatrique sur la synthèse des kynurénines chez les patients obèses et d'évaluer leur implication dans l'amélioration du diabète. Pour cela nous avons évalué les concentrations de tryptophane et des kynurénines dans les sérums de 91 femmes en situation d'obésité sévère au moment de l'intervention de chirurgie bariatrique et un an après l'intervention. Nous avons ensuite étudié les associations entre les changements de glycémie, d'insulinémie et des index d'insulino-sensibilité et d'insulinorésistance et les taux de kynurénines chez les femmes obèses atteintes du diabète de type 2.

2. Matériels et méthodes

Sélection des patients

Au total, 91 femmes de la cohorte ABOS (Atlas Biologique de l'Obésité Sévère) ont été incluses dans cette étude. La cohorte ABOS inclut des individus sévèrement obèses candidats pour une chirurgie bariatrique. C'est à dire avec un IMC supérieur à 40 kg/m² ou supérieur à 35 kg/m² et atteint d'au moins une co-morbidité de l'obésité. La cohorte ABOS est validée par le comité d'éthique du Centre Hospitalier Universitaire de Lille et les individus inclus dans l'étude ont signé un accord de consentement. Les individus candidats pour une chirurgie bariatrique au CHRU de Lille sont pris en charge par une équipe médicale pluridisciplinaire (chirurgiens, nutritionnistes, diététiciens, psychologues, infirmiers, ...). Trois choix de chirurgie sont proposés aux patients, la pose d'un anneau gastrique (Caiazzo et al., 2010), un by-pass gastrique Roux-en-Y (RYGB) (Ritz et al., 2013) ou une sleeve gastrectomie. Les patients sont libres de leur choix suite à une présentation des risques et des bénéfices de chaque procédure par l'équipe médicale.

Pour étudier le métabolisme du tryptophane en kynurénine après la chirurgie bariatrique, nous avons sélectionné uniquement des femmes caucasiennes, du fait de la variabilité du métabolisme du tryptophane entre les hommes et les femmes (Theofylaktopoulou et al., 2013) ayant

effectué la visite 1 an après la chirurgie bariatrique. Nous avons exclu les femmes ayant des antécédents de cancer, du fait de l'implication de l'enzyme IDO1 dans certains cancers et les femmes traitées par insuline. Les fumeurs présentent une diminution du ratio K/T comparé aux non-fumeurs (Pertovaara et al., 2006) nous avons ensuite sélectionné les femmes qui ne fument pas. Nous avons ainsi sélectionné pour notre étude 91 femmes, 47 diabétiques et 44 normoglycémiques non significativement différentes pour l'âge et l'IMC. Les caractéristiques cliniques sont indiquées dans le Tableau 5. Le statut normoglycémique ou diabétique est établi en fonction des recommandations de l'OMS. Le statut normoglycémique correspond à une glycémie à jeun inférieure à 5,5 mmol/L et une glycémie 2H après une charge orale en glucose inférieure à 7,7 mmol/L. Les individus sont considérés diabétiques si la glycémie à jeun est supérieure à 6,9 mmol/L ou si la glycémie 2H après une charge orale de glucose est supérieure à 11,1 mmol/L ou s'ils sont traités pour le diabète. Les mesures de glycémie et d'insulinémie sont réalisées à l'inclusion et un an après l'opération au cours du suivi clinique. Les caractéristiques cliniques sont présentées dans le tableau 5. L'HOMA (Homeostasis Model Assessment) a été utilisé pour évaluer la sensibilité à l'insuline et la fonction des cellules β pancréatiques des femmes de cette étude. L'HOMA2-BS correspond au produit de l'HOMA2-S (marqueur de la sensibilité à l'insuline) et de l'HOMA2-B (marqueur de la fonction des cellules β pancréatiques) (Rouskas et al., 2014) (<https://www.dtu.ox.ac.uk/homacalculator/>). Le pourcentage de tissu adipeux est estimé grâce à l'équation Clínica Universidad de Navarra-Body Adiposity Estimator (CUN-BAE) qui prend en compte le sexe, l'âge et l'IMC de l'individu (Gomez-Ambrosi et al., 2012).

Tableau 5 : Caractéristiques cliniques au moment de la chirurgie (M0).

Les femmes incluses dans cette étude sont réparties en deux groupes diabétiques (DB) et normoglycémiques (NG). Les valeurs exprimées sont les moyennes \pm SD. * $p < 0,05$ (test statistique Mann-Whitney)

	DB (n=47)	NG (n=44)
Âge, années	47,2 \pm 5,8	44,9 \pm 7,1
IMC, kg/m ²	47 \pm 6,1	45,5 \pm 6,4
Tissu adipeux, %	55,3 \pm 2,4	54,5 \pm 2,5
CRPus, mg/L	7,2 \pm 3,1	6,9 \pm 3,3
HbA1c, %	7,2 \pm 1,4	5,8 \pm 0,3*
Glycémie à jeun, mmol/L	8,1 \pm 2,9	5,4 \pm 0,4*
Glycémie-2H, mmol/L	12,6 \pm 4,6	6,0 \pm 1,2*
Insuline à jeun, pmol/L	100,1 \pm 58,9	81,2 \pm 36,4*
HOMA2-S, %	84,0 \pm 149,1	79,7 \pm 37,8*
HOMA2-B, %	69,0 \pm 44,8	108,2 \pm 34,0*
HOMA2-BS	3864 \pm 2299	7654 \pm 1898*
Type de chirurgie (AGB/RYGB)	7/40	15/29

CRPus, Protéine C Réactive ultrasensible ; AGB, Anneau gastrique ; RYGB, Roux-en-Y bypass.

Dosage du tryptophane et des kynurénines dans les sérums

Le tryptophane, la kynurénine, la sérotonine, l'acide kynurénique, l'acide xanthurénique, l'acide quinolinique, l'acide picolinique, la 3OH kynurénine et l'acide 3OH anthranilique sont dosés dans les sérums prélevés à jeun avant la chirurgie bariatrique et un an après la chirurgie bariatrique. Les sérums au temps 0 et à 1 an d'un même individu sont passés systématiquement dans la même série d'analyse. Les sérums sont conservés à -80°C depuis leur prélèvement jusqu'au jour de l'analyse.

Le protocole d'analyse par chromatographie liquide couplée à un spectromètre de masse en tandem (UPLC-MS/MS) a été développé avec quelques modifications d'après la littérature (Scheffold et al., 2009; Yamada et al., 2008). Cette technique de détection permet de mesurer les concentrations de tryptophane, de sérotonine, de kynurénine, d'acide kynurénique, de 3OH kynurénine et d'acide 3OH anthranilique. Les échantillons de sérum et les standards (points de

calibration et de contrôle) (100 µL) sont vortexés puis centrifugés (11800 rpm, 4°C, 8 min) après l'addition de 100 µL d'acétonitrile (pour la précipitation des protéines) contenant l'étalon interne, le tryptophane-D5 (CDN Isotopes, Pointe-Claire, Canada) à une concentration de 50 µM. 100 µL de surnageant sont ensuite dilués dans 500 µL d'eau distillée ultra-pure puis injectés (15 µL) dans le système UPLC-MS/MS (Acquity TQ Detector, Waters, Milford, MA) équipé d'une colonne HSS C18 1,8 µm / 2.1 mm x 150 mm. Les ions-fils de chaque composé sont ensuite détectés par le mode MRM (électrospray positif) du spectromètre de masse.

L'acide picolinique et l'acide quinolinique sont quantifiés par une technique de chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse en tandem (GS-MS/MS). Les échantillons de sérum et les standards (50 µL) sont mélangés avec 400 µL de méthanol (pour précipiter les protéines) et d'étalon interne (QUIN-D3 et PIC-D4, 2 µM) puis centrifugés (1180 rpm, 8 min). Le surnageant (400 µL) est séché sous un flux d'azote et le résidu est repris dans 120 µL d'anhydride pentafluoropropionique (PFPA, Sigma Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, France) et 130 µL d'hexafluoroisopropanol (HFIP, Sigma Aldrich). Les tubes sont ensuite scellés et le mélange est dérivé par chauffage (30 min, 75°C) puis de nouveau séché sous un flux d'azote. Le résidu est repris finalement par 50 µL d'isooctane et injecté (1 µL) dans le système GC-MS/MS (Agilent 7890 couplé à Waters Quattro Micro GC, RAB293). Le logiciel Chromalinks (Waters) est utilisé pour l'acquisition et l'analyse des résultats.

Analyse statistique

Les tests statistiques de T, Mann-Withney et Wilcoxon et le test de corrélation Spearman sont réalisés avec le logiciel GraphPad Prism version 5.00 pour Windows (GraphPad Software, San Diego, CA). Le test statistique utilisé est précisé dans les légendes des figures et le seuil de significativité est fixé à $P < 0,05$.

Pour l'analyse des concentrations des kynurénines, une transformation logarithmique des valeurs brutes de concentrations (mmol.L^{-1}) a été appliquée préalablement aux analyses statistiques

pour assurer la normalité des distributions des concentrations. Nous avons utilisé la procédure de correction pour tests multiples de Benjamini-Hochberg. Le seuil de significativité est fixé à $P < 0,05$. Les corrélations entre les concentrations des kynurénines et les valeurs de CRPus ont été analysé au sein d'un modèle linéaire mixte permettant de tenir compte de l'appariement des valeurs du fait que le même individu est étudié à M0 et M12. Les corrélations entre les concentrations des kynurénines et les traits cliniques du diabète (HOMA2-BS, HbA1c, glycémie et insulïnémie à jeun) ont été analysées au sein d'un modèle de régression linéaire multiple ajusté pour la perte de poids. Nous nous sommes dans un premier temps orienté vers un modèle linéaire mixte également, cependant il était plus délicat d'ajuster pour la perte de poids dans un tel modèle. Nous avons ainsi choisi d'étudier les variations de nos données cliniques et expérimentales suite à la chirurgie bariatrique en delta ($[M12] - [M0]$). Ces analyses ont été réalisées avec le logiciel R version 3.0 (<http://www.r-project.org/>) en collaboration avec le Dr Marie Verbanck, ingénieur de recherche et biostatisticienne dans l'UMR 8199.

3. Résultats

Au moment de la chirurgie, les groupes normoglycémiques et diabétiques ne sont pas différents pour l'IMC, après la chirurgie, la perte de poids est similaire également entre les 2 groupes (Tableau 6). La chirurgie bariatrique a permis de diminuer l'inflammation évaluée par la mesure de la Protéine C Réactive ultrasensible (CRPus) de façon similaire dans les deux groupes chez les individus normoglycémiques et chez les individus diabétiques. Dans notre étude, deux types de chirurgie sont utilisées : l'anneau gastrique et le RYGB, après la procédure RYGB, les femmes ont perdu plus de points d'IMC que les femmes ayant choisi la procédure AGB (test-T, $p < 0,0001$). Les effets de la perte de poids et de l'intervention sont confondus (test-T, $p = 1,59 \times 10^{-13}$) et nous ajusterons ensuite les résultats pour la perte de poids tout en sachant que cet ajustement comprend à la fois l'effet confondu de la perte de poids et l'effet de la chirurgie qui sont indissociables.

Tableau 6 : Caractéristiques cliniques au moment de la chirurgie (M0) et un an après (M12).

Les femmes incluses dans cette étude sont réparties en deux groupes diabétiques (DB) et normoglycémiques (NG). Les valeurs exprimées sont les moyennes \pm SD. Les valeurs associées au même symbole (*, †, ‡, #) ne sont pas statistiquement différentes (test statistique Mann-Whitney ou Wilcoxon pour les valeurs appariées).

	M0				M12			
	DB (n=47)		NG (n=44)		DB (n=47)		NG (n=44)	
Age, années	47,2	$\pm 5,8$	44,9	$\pm 7,1$	/	/	/	/
IMC, kg/m ²	47	$\pm 6,1^*$	45,5	$\pm 6,4^*$	34,2	$\pm 5,9^\dagger$	34,0	$\pm 6,7^\dagger$
Tissu adipeux, %	55,3	$\pm 2,4^*$	54,5	$\pm 2,5^*$	46,5	$\pm 5,5^\dagger$	45,9	$\pm 5,7^\dagger$
Diminution IMC, %	/	/	/	/	-26,9	$\pm 11,4^*$	-25,0	$\pm 12,4^*$
CRPus, mg/L	7,2	$\pm 3,1^*$	6,9	$\pm 3,3^*$	2,6	$\pm 2,8^\dagger$	3,3	$\pm 3,3^\dagger$
HbA1c, %	7,2	$\pm 1,4^*$	5,8	$\pm 0,3^*$	5,9	$\pm 0,7^\ddagger$	5,6	$\pm 0,3^\#$
Glycémie à jeun, mmol/L	8,1	$\pm 2,9^*$	5,4	$\pm 0,4^\dagger$	5,6	$\pm 1,7^\ddagger$	4,9	$\pm 0,5^\#$
Glycémie-2H, mmol/L	12,6	$\pm 4,6^*$	6,0	$\pm 1,2^\dagger$	5,8	$\pm 3,6^\ddagger$	5,2	$\pm 1,8^\ddagger$
Insuline à jeun, pmol/L	100,1	$\pm 58,9^*$	81,2	$\pm 36,4^\dagger$	56,2	$\pm 81,0^\ddagger$	41,1	$\pm 25,0^\ddagger$
HOMA2-S, %	84,0	$\pm 149,1^*$	79,7	$\pm 37,8^\dagger$	176,4	$\pm 118,6^\ddagger$	179,2	$\pm 104,7^\ddagger$
HOMA2-B, %	69,0	$\pm 44,8^*$	108,2	$\pm 34,0^\dagger$	70,1	$\pm 28,5^\ddagger$	78,5	$\pm 26,3^\ddagger$
HOMA2-BS	3864	$\pm 2299^*$	7654	$\pm 1898^\dagger$	10487	$\pm 5377^\ddagger$	12156	$\pm 4476^\ddagger$
Type de chirurgie (AGB/RYGB)	7/40		15/29		/	/	/	/
Rémission du diabète (Oui/Non)					29/18		/	/

Dans le groupe des femmes diabétiques au moment de la chirurgie, on note une nette amélioration du diabète avec une diminution de la glycémie à jeun, de la glycémie à 2H et de l'insulinémie à jeun traduisant une augmentation de la sensibilité à l'insuline. Ce phénomène est très bien représenté par l'augmentation de l'HOMA2-BS, qui est le produit de l'index de sensibilité à l'insuline (HOMA2-S) et celui de la fonction de la cellule β pancréatique (HOMA2-B) et qui reflète la sécrétion d'insuline en fonction de la demande (Figure 21A). Au moment de la chirurgie, l'HOMA2-BS discrimine très bien les deux groupes de femmes ($p < 0.001$). Un an après la chirurgie on observe une nette augmentation de l'HOMA2-BS dans le groupe des femmes diabétiques et également dans le groupe des femmes normoglycémiques, du fait de l'augmentation de la sensibilité à l'insuline évaluée par l'indice HOMA2-S. Un an après la chirurgie, les deux groupes ne sont pas

significativement différents pour l'HOMA2-BS. La perte de poids après l'opération est corrélée positivement à la diminution de l'HbA1c et de la glycémie à jeun dans le groupe des femmes diabétiques ($p = 0,0004$ et $p = 0,0017$ respectivement) et normoglycémique ($p = 0,08$ et $p = 0,0025$ respectivement) à M0 (Figure 21B).

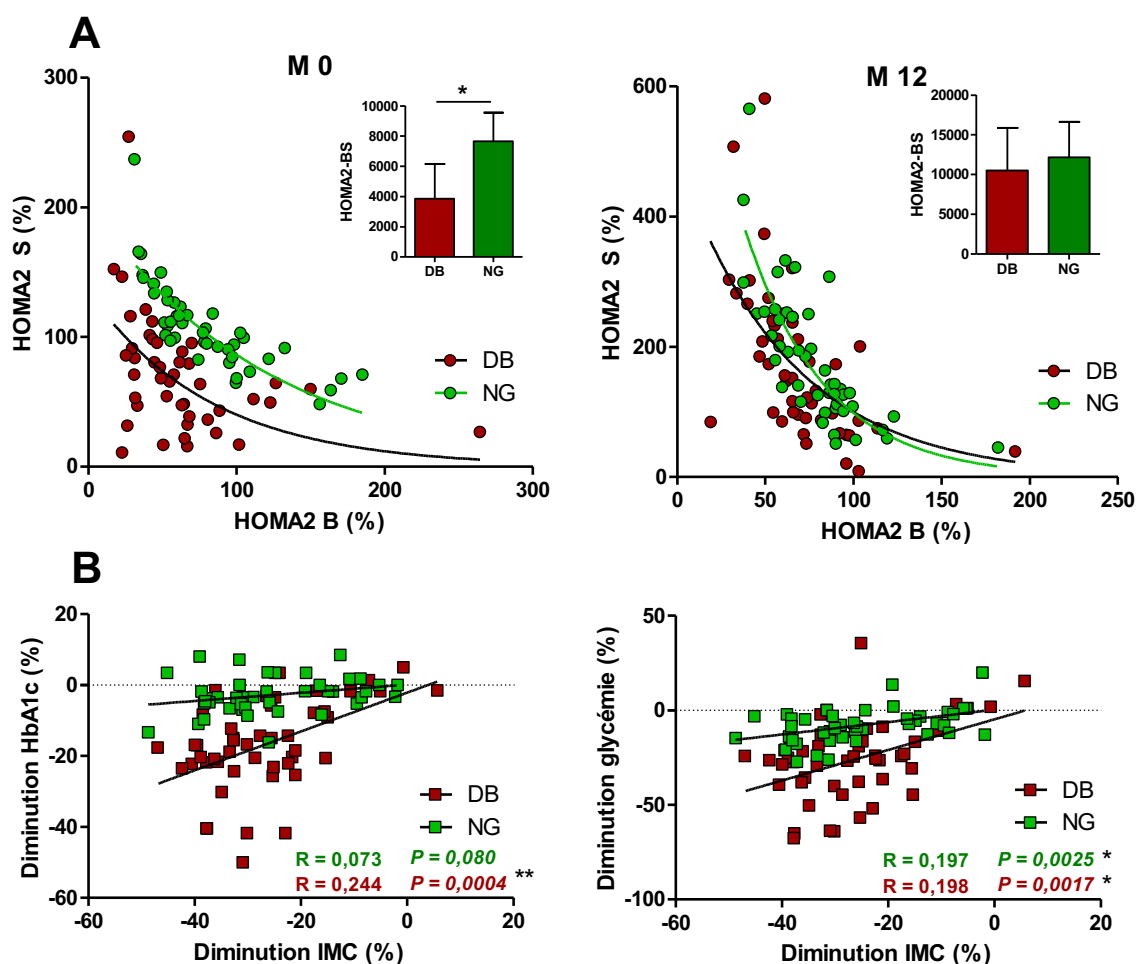


Figure 20 : Valeurs de l'HOMA2-BS, de l'HbA1c et de la glycémie avant et après la chirurgie. **A** Représentation graphique de l'HOMA2-BS au moment de la chirurgie (M0) et un an après (M12). Les femmes diabétiques (DB, $n = 47$) à M0 sont représentées par un point rouge, les femmes normoglycémiques (NG, $n = 44$) à M0 sont représentées par un point vert. Le test statistique Mann-Whitney a été utilisé pour comparé les moyennes d'HOMA2-BS entre les deux groupes, les valeurs sont les moyennes \pm SD. * $p < 0,001$. **B** Corrélation entre la diminution des valeurs d'HbA1c ou de la glycémie à jeun et la diminution de l'IMC après la chirurgie dans le groupe des femmes diabétiques ($n = 47$) et le groupe des femmes normoglycémiques ($n = 44$) (test de corrélation de Spearman) * $p < 0,01$; ** $p < 0,001$

Si la rémission du diabète est évaluée par l'absence de traitement et une glycémie à jeun < 6,1 mmol/L (Buse et al., 2009), parmi les 47 femmes diabétiques avant la chirurgie bariatrique, 29 sont en rémission pour le diabète un an après la chirurgie. Dans notre cohorte, le type de chirurgie n'a pas d'effet significatif sur la rémission du diabète (test du χ^2). Pour les femmes qui étaient normoglycémiques à M0, on observe également une diminution significative de la glycémie à jeun et une augmentation de l'HOMA2-BS. En effet chez ces patients au moment de la chirurgie, la glycémie est bien régulée mais on observe que l'indice de fonctionnalité de la cellule β est élevé, car il existe un phénomène d'insulinorésistance des tissus qui est compensé par une augmentation de la sécrétion d'insuline. Un an après la chirurgie, l'indice de sensibilité a doublé tandis que l'indice de la fonctionnalité de la cellule β a diminué (Tableau 6).

L'évaluation des concentrations en kynurénines dans le sérum des femmes de notre cohorte au moment de la chirurgie et un an après révèle que les concentrations sériques de tryptophane, de kynurénine, d'acide kynurénique, d'acide xanthurénique et d'acide quinolinique ont significativement diminuées après la chirurgie bariatrique ($p = 2,2 \times 10^{-10}$, $2,7 \times 10^{-4}$, $1,3 \times 10^{-3}$, $1,6 \times 10^{-7}$, $8,4 \times 10^{-5}$ respectivement) (Figure 22). Malgré la baisse des concentrations en tryptophane, on note que le ratio kynurénine sur tryptophane (ratio K/T) diminue également après la chirurgie bariatrique ($p = 7,5 \times 10^{-4}$).

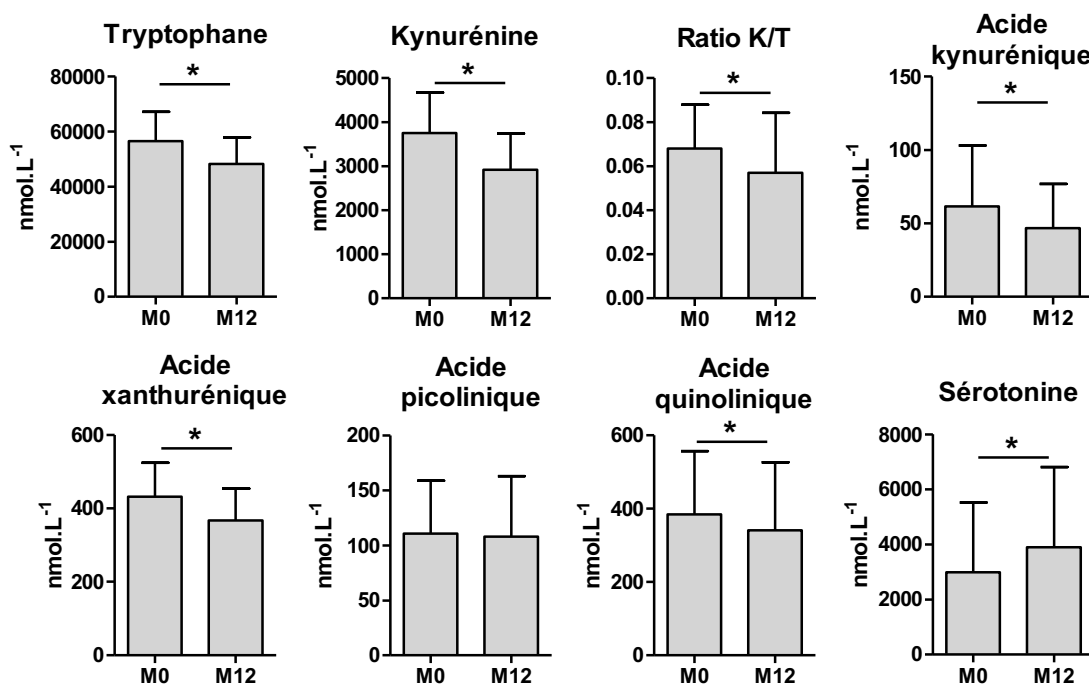


Figure 21 : Les concentrations sériques du tryptophane, des kynurénines, de la sérotonine et du ratio K/T à M0 et M12.

Les valeurs sont les moyennes \pm SD des 91 femmes incluses dans l'étude. * $p < 0,05$ après correction pour les tests multiples (Benjamini-Hochberg).

Les taux de tryptophane corrént négativement avec les taux de CRPus, un marqueur circulant de l'inflammation ($\beta = -0,018$; $p = 0,0072$) et les taux de kynurénine et d'acide kynurénique corrént positivement avec les valeurs de CRPus (respectivement $\beta = 0,019$; $p = 0,028$ et $\beta = 0,038$; $p = 4,21 \times 10^{-4}$) (Tableau 7). Le ratio K/T est corrént positivement à aux valeurs de la CRPus ($\beta = 0,036$; $p = 1,1 \times 10^{-4}$). La concentration en sérotonine et le ratio sérotonine sur tryptophane augmente après la chirurgie ($p = 2,1 \times 10^{-5}$ et $1,3 \times 10^{-5}$) (Figure 22) et le ratio sérotonine / tryptophane est corrént négativement avec les taux de CRPus ($\beta = -0,069$; $p = 0,0032$) (Tableau 7). Nous rappelons ici que nous avons mesuré les taux de sérotonine sérique, qui présentent une plus grande variabilité que les taux de sérotonine plaquettaire (Brand and Anderson, 2011).

Tableau 7 : Corrélation des concentrations en tryptophane, sérotonine et kynurénines avec les valeurs de CRPus.

* P-value significative après correction pour les tests multiples (Benjamini-Hochberg).

	CRPus, mg/L	
	β	Pvalue
Tryptophane, $mmol.L^{-1}$	-0,018	$7,2 \times 10^{-3}$ *
Kynurénine, $mmol.L^{-1}$	0,019	0,028 *
Acide kynurénique, $mmol.L^{-1}$	0,038	0,042
Sérotonine, $mmol.L^{-1}$	-0,055	0,014 *
Ratio K/T	0,036	$1,1 \times 10^{-4}$ *
Ratio sérotonine / Tryptophane	-0,069	$3,2 \times 10^{-3}$ *

Les concentrations sériques de kynurénines ne sont pas différentes entre les femmes normoglycémiques et les femmes diabétiques de la cohorte ABOS avant la chirurgie (données non montrées). Egalement un an après la chirurgie, nous n'observons pas de différence entre les taux de kynurénines entre les deux groupes (données non montrées). Cependant un an après la chirurgie, ces deux groupes initiaux perdent leur sens, nous avons choisi de les reclasser en deux groupes en fonction de leur statut diabétique ou non un an après la chirurgie (Figure 23). On observe alors une différence significative des taux d'acide kynurénique entre les deux groupes ($p = 0,042$) (Figure 23), les femmes diabétiques ont en moyenne des taux d'acide kynurénique plus faible que les femmes normoglycémiques un an après la chirurgie.

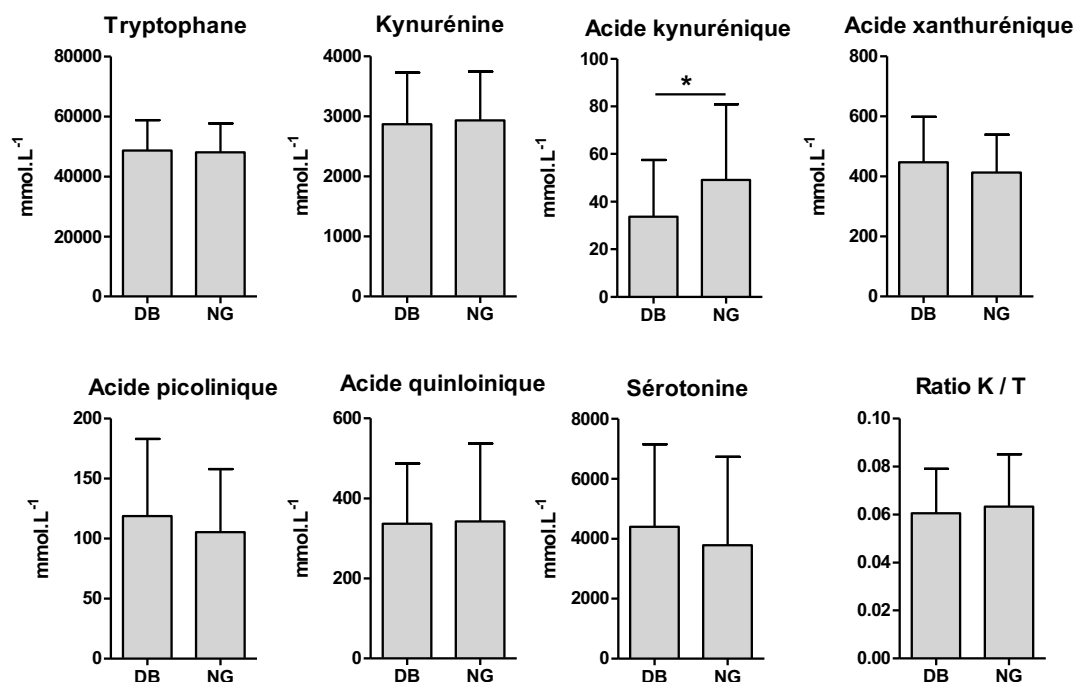


Figure 22: Concentrations en tryptophane, sérotonine et kynurénines et le ratio K/T dans les sérums des femmes diabétiques (n = 18) et des femmes normoglycémiques (n = 73) un an après la chirurgie bariatrique.

Les valeurs sont les moyennes \pm SD, test statistique Mann-Whitney. * p < 0,05.

Dans un deuxième temps, nous avons cherché à déterminer si les variations des concentrations en kynurénines (évaluées par le delta des concentrations ($[C]_{M12} - [C]_{M0}$)) sont corrélées à l'amélioration des traits quantitatifs du diabète (l'indice HOMA2-BS, la glycémie et l'insulinémie à jeun et l'HbA1c). Le delta des concentrations d'acide quinolinique est corrélé négativement au delta des valeurs de glycémie à jeun (p = 0,019) et de l'HbA1c (p = 0,014) (Tableau 8). Le delta des concentrations d'acide xanthurénique est au contraire négativement associé à l'amélioration des indices HOMA2-S (p = 0,0018) et HOMA2-BS (p = 0,0026). On observe également une association positive à la limite de la significativité entre le delta d'acide xanthurénique et le maintien d'une insulinémie à jeun plus élevée (p = 0,052). Le delta du ratio de l'acide quinolinique sur l'acide xanthurénique est négativement corrélé au delta des valeurs de glycémie à jeun (p = 0,0075)

et d'HbA1c ($p = 0,035$) et positivement avec l'amélioration de l'HOMA2-S ($p = 7,4 \times 10^{-4}$) et de l'HOMA2-BS ($p = 8,2 \times 10^{-4}$) (Tableau 8).

Tableau 8 : Associations entre l'amélioration de la glycémie et l'insulinémie à jeun, de l'HbA1c et de l'HOMA2-BS et les variations des concentrations de kynurénines.

Cette analyse est réalisée sur les 91 femmes de notre étude, l'amélioration de la glycémie, de l'insulinémie à jeun, de l'HbA1c et de l'HOMA2-BS et les variations des concentrations des kynurénines sont évaluées par le delta des valeurs à M12 – les valeurs à M0 ([M12]-[M0]). Le coefficient de régression β est ajusté pour la perte de poids et les P-values significatives après correction pour les tests multiples (Benjamini-Hochberg) sont indiquées en gras.

	Acide quinolinique		Acide xanthurénique		Acide quinolinique / Acide xanthurénique	
	β	P-value	β	P-value	β	P-value
Glycémie jeun, <i>mmol/L</i>	-1,311	0,019	0,953	0,144	-1,098	0,0075
Insuline à jeun, <i>pmol/L</i>	-1,85	0,441	5,34	0,052	-3,15	0,0713
HbA1c, %	-0,678	0,014	0,154	0,636	-0,431	0,035
HOMA2-B, %	6,97	0,485	8,37	0,469	0,391	0,957
HOMA2-S, %	68,92	0,0667	-113,4	0,0018	91,12	0,00074
HOMA2-BS	21,22	0,059	-38,69	0,0026	27,09	0,00082

4. Discussion

Nous montrons dans cette étude la diminution significative du ratio kynurénine sur tryptophane suite à la chirurgie bariatrique chez les femmes sévèrement obèses. A notre connaissance c'est la première fois que ce résultat est démontré, dans la littérature nous avons retrouvé deux études sur le ratio K/T après la chirurgie bariatrique (Brandacher et al., 2006) ou après une perte de poids (Strasser et al., 2014) menée respectivement sur 22 et 38 individus en situation d'obésité, qui n'ont pas retrouvé de diminution du ratio K/T après la perte de poids. Le plus petit nombre d'individus de ces études pourrait expliquer l'absence de résultats significatifs. Nous montrons également que les taux de tryptophane et des kynurénines (sauf l'acide picolinique) ont diminué un an après la chirurgie. La diminution du ratio K/T et des concentrations de kynurénine et d'acide kynurénique sont associées à la diminution de l'inflammation évaluée par les taux de CRP. Parmi les kynurénines, seules les concentrations d'acide picolinique sont maintenues après la

chirurgie bariatrique, or l'acide picolinique ne peut pas être synthétisé dans le tissu adipeux car l'enzyme ACMSD n'est pas exprimée dans ce tissu (Favennec et al., 2015). Nous émettons l'hypothèse que la diminution de la masse du tissu adipeux observée après la chirurgie ainsi que la diminution de l'inflammation pourrait participer à la diminution des concentrations circulantes des kynurénines.

Malgré la diminution de la synthèse du métabolite kynurénine, nous montrons que les taux de tryptophane diminuent également après la chirurgie ; la diminution des concentrations en tryptophane pourrait provenir de l'augmentation de la synthèse de sérotonine car le ratio sérotonine sur tryptophane est augmenté après la chirurgie bariatrique et également d'une déficience en apport protéique. En effet suite à la chirurgie bariatrique, les individus présentent une diminution de l'appétit et un changement des habitudes alimentaires afin d'éviter les nausées, douleurs et l'inconfort engendrés par la consommation de certains aliments comme le lait, la viande rouge, les œufs (Münzberg et al., 2015) et sont à risque pour la déficience en acides aminés (Aills et al., 2008).

Dans notre cohorte, nous observons un an après la chirurgie une amélioration de la glycémie et de l'insulinorésistance dans les deux groupes de femmes normoglycémiques et diabétiques et la rémission du diabète chez 62% des femmes diabétiques à l'inclusion. Notre étude longitudinale a montré que un an après la chirurgie, les concentrations d'acide kynurénique sont plus faibles chez les individus qui sont toujours diabétiques par rapport aux individus normoglycémiques. Ainsi le maintien des concentrations d'acide kynurénique après la chirurgie bariatrique semble associé à une amélioration du diabète de type 2. L'acide kynurénique est un antagoniste des récepteurs NMDA et pourrait augmenter la sécrétion d'insuline en réponse au glucose (Marquard et al., 2015). L'amélioration des traits cliniques du diabète est associée comme attendu à la diminution de l'IMC après la chirurgie, cependant l'analyse de régression linéaire multiple ajustée pour la perte de poids a montré que plus les concentrations d'acide xanthurénique ont diminuées après la chirurgie, plus les indices HOMA2-S et HOMA2-BS qui reflètent la sensibilité à l'insuline et la sécrétion d'insuline ajustée à la demande ont augmentés. Nous montrons également que le maintien des concentrations

d'acide quinolinique après la chirurgie est associé à l'amélioration de la régulation de la glycémie. De façon cohérente avec ces résultats, l'augmentation du ratio des concentrations d'acide quinolinique sur les concentrations d'acide xanthurénique est associée à l'amélioration des traits cliniques du diabète que nous avons étudiés. Ces résultats montrent que le maintien des concentrations d'acide quinolinique et la diminution des concentrations d'acide xanthurénique après la chirurgie sont associés à une amélioration de la régulation de la glycémie, de l'indice d'insulinosensibilité et de l'indice qui reflète la sécrétion d'insuline en fonction de la demande. Or l'acide quinolinique est le métabolite précurseur de la synthèse *de novo* de NAD⁺ dans la cellule, un co-facteur de l'enzyme SIRT-1, une enzyme clé pour le développement du diabète de type 2. Les souris invalidées pour l'enzyme SIRT-1 sont hyperglycémiques et insulino-résistantes (Imai and Yoshino, 2013) et la restauration des concentrations tissulaires de NAD⁺ chez des souris soumises à un régime riche en graisse améliore leur tolérance au glucose (Yoshino et al., 2011). D'après la littérature, l'acide xanthurénique est un chélateur du zinc et diminue la sécrétion d'insuline en réponse au glucose (Kotake Jr and Inada, 1953; Meyramov et al., 1998). Ces résultats sont cohérents avec les résultats que nous avons obtenus par l'analyse de l'expression des enzymes de la voie dans le tissu adipeux d'individus obèses. En effet nous avons montré que l'expression de l'enzyme KMO qui oriente la voie des kynurénines vers la production d'acide xanthurénique est associée à une augmentation de l'HbA1c tandis que l'expression de l'enzyme QPRT qui catalyse la transformation de l'acide quinolinique en NAD⁺ est corrélée à un meilleur contrôle de la glycémie et à une meilleure sensibilité à l'insuline (Favennec et al., 2015) (Figure 24).

En conclusion, nous montrons dans cette deuxième étude que le ratio kynurénine sur tryptophane diminue après la chirurgie bariatrique et que cela est corrélé à une diminution de l'inflammation. Nous montrons également que le maintien des concentrations d'acide kynurénique et d'acide quinolinique et la diminution des concentrations d'acide xanthurénique sont corrélés à

l'amélioration du diabète après la chirurgie (Figure 24). Le mécanisme d'action de ces métabolites sur la sécrétion d'insuline et la sensibilité à l'insuline reste à déterminer.

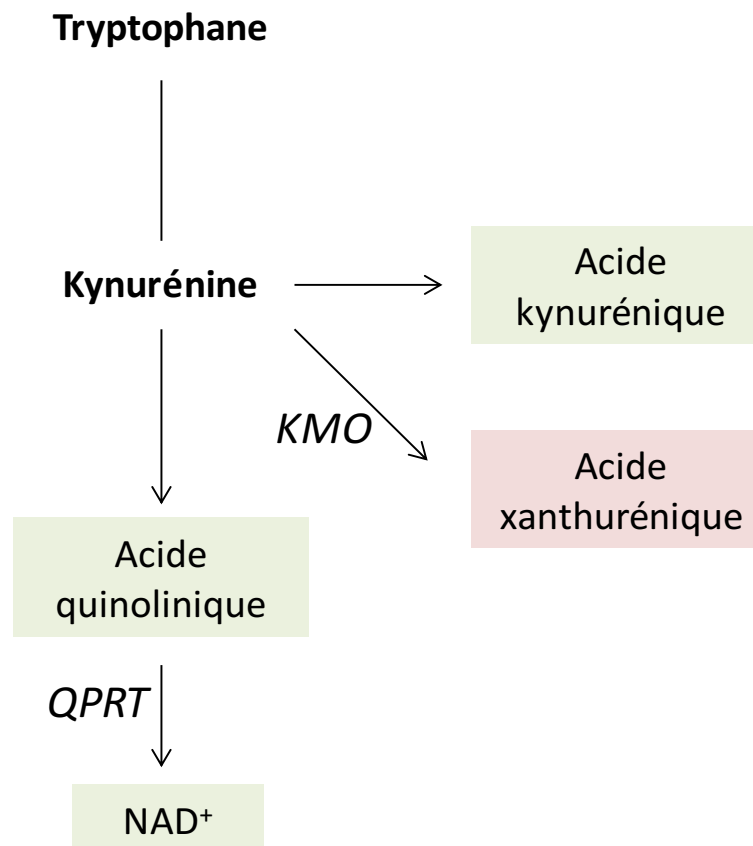


Figure 23 : Schéma récapitulatif.

D'après nos études, le métabolisme du tryptophane en kynurénine est augmenté chez les individus obèses. Ensuite l'expression de l'enzyme KMO dans le tissu adipeux et l'augmentation de la synthèse d'acide xanthurénique pourraient être des facteurs de risque pour le développement du diabète de type 2. Tandis que la synthèse d'acide kynurénique et d'acide quinolinique ainsi que l'expression de l'enzyme QPRT pourraient être associés à un meilleur contrôle de l'homéostasie du glucose et une amélioration de la sensibilité à l'insuline.

Conclusion générale

Le métabolisme du tryptophane en kynurénines n'est pas simplement une voie de dégradation du tryptophane, les kynurénines étant des métabolites biologiquement actifs. Une présentation de leurs propriétés est proposée dans le chapitre 2 de cette thèse. Dans le cadre de l'obésité, il a été montré que l'augmentation de l'expression de l'enzyme IDO1 dans le tissu adipeux des individus en situation d'obésité est une tentative de rétrocontrôle négatif des conséquences du processus inflammatoire (Wolowczuk et al., 2012) (Figure 25). Plusieurs enzymes de la voie des kynurénines sont plus exprimées dans le tissu adipeux des individus obèses que des individus minces. La présence de macrophages dans le tissu adipeux est un élément clé de l'expression des enzymes de cette voie dans le tissu adipeux, car l'enzyme KMO est exprimée principalement dans les macrophages du tissu adipeux et pas dans les adipocytes. Cette sur-expression est par ailleurs associée à une augmentation des concentrations circulantes de certaines kynurénines chez les individus obèses. L'augmentation des concentrations de ces kynurénines pourrait agir, d'une part, localement sur la balance Treg/Th17 (Wolowczuk et al., 2012) au sein du tissu adipeux et, d'autre part, à distance sur d'autres organes comme le cerveau ou le pancréas (Figure 25).

Nous avons montré également une diminution des concentrations circulantes des kynurénines et une augmentation des concentrations circulantes de sérotonine suite à une perte massive de poids et de tissu adipeux grâce à une chirurgie bariatrique. Ces résultats suggèrent que chez les individus obèses le tissu adipeux est un producteur majeur de kynurénines. Cependant, d'autres tissus pourraient être également des producteurs de kynurénines, notamment le foie pour lequel il est connu que les enzymes de la voie des kynurénines sont exprimées et qui est un organe dont le fonctionnement est également impacté par la prise de poids.

Les kynurénines sont également des métabolites neuroactifs impliqués dans le développement de certaines pathologies neurodégénératives, la dépression ou l'anxiété. De plus la

synthèse de sérotonine, un neurotransmetteur impliqué dans le contrôle de l'humeur et de l'appétit, est en compétition avec la synthèse de kynurénines. Une augmentation de la synthèse de kynurénines pourrait donc être un facteur de risque de développement d'une dépression ou de troubles de la régulation de la prise alimentaire et contribuer ainsi à l'installation de l'obésité (Figure 25).

J'ai présenté également dans le deuxième chapitre de cette thèse que certaines kynurénines pouvaient être associées au développement du diabète de type 2. Durant ma thèse j'ai donc cherché à évaluer si, chez les individus en situation d'obésité sévère, les kynurénines pouvaient être associées au diabète de type 2. Grâce à ces études, nous avons montré une corrélation positive entre l'expression de l'enzyme QPRT dans le tissu adipeux, ainsi que les concentrations circulantes d'acide quinolinique, et un meilleur contrôle glycémique. Au contraire, l'expression de l'enzyme KMO et les concentrations circulantes d'acide xanthurénique sont corrélées négativement à un meilleur contrôle glycémique. Ces études suggèrent que les kynurénines pourraient avoir un effet sur la fonctionnalité de la cellule β ou la régulation de la glycémie ; cependant il faut noter que les mécanismes d'action sous-jacents restent à déterminer. A ce jour, il a été montré qu'en présence d'un signal pro-inflammatoire, les enzymes de la voie des kynurénines sont exprimées dans les îlots de Langerhans du pancréas (Liu et al., 2015) et qu'un analogue de l'acide kynurénique augmente la sécrétion d'insuline en réponse au glucose (Marquard et al., 2015). Des travaux préliminaires réalisés au laboratoire suggèrent que l'acide xanthurénique pourrait diminuer la sécrétion d'insuline en réponse au glucose. L'impact de l'activation de la voie des kynurénines sur le fonctionnement du pancréas est donc un domaine qui mérite d'être étudié plus en détails, étant donné que cette activation est susceptible de s'ajouter aux mécanismes délétères induits par l'inflammation associée à l'obésité.

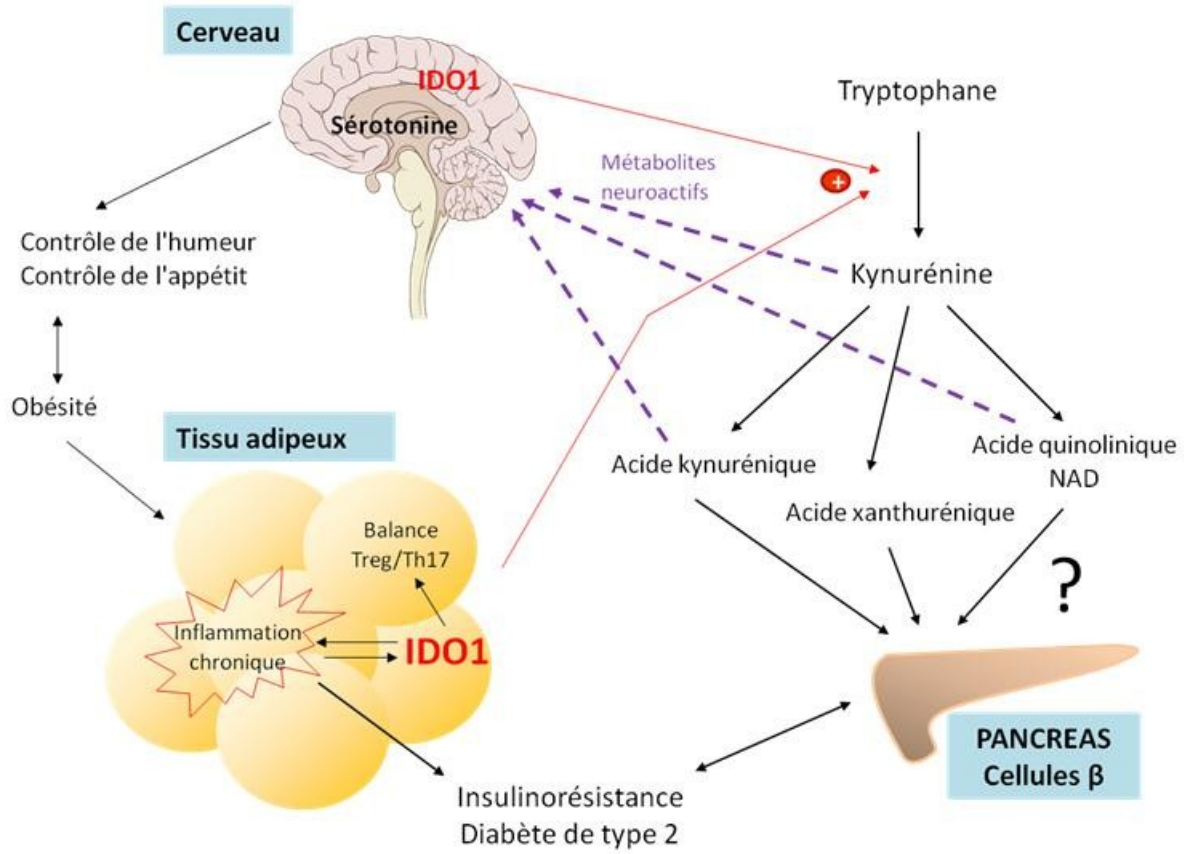


Figure 25 : Schéma illustrant les interactions connues et proposées entre la voie des kynurénines, l'obésité et le diabète de type 2.

Références bibliographiques

- Aasheim, E.T., Hofsø, D., Hjelmæsæth, J., Birkeland, K.I., and Bøhmer, T. (2008). Vitamin status in morbidly obese patients: a cross-sectional study. *Am. J. Clin. Nutr.* 87, 362–369.
- Adams, P., Wynn, W., Folkard, J., and Seed, M. (1976). Influence of oral contraceptives, pyridoxine (vitamin B6), and tryptophan on carbohydrate metabolism. *The Lancet* 1, 759–764.
- Aills, L., Blankenship, J., Buffington, C., Furtado, M., and Parrott, J. (2008). ASMBS Allied Health Nutritional Guidelines for the Surgical Weight Loss Patient. *Surg. Obes. Relat. Dis.* 4, S73–S108.
- Albuquerque, D., Stice, E., Rodríguez-López, R., Manco, L., and Nóbrega, C. (2015). Current review of genetics of human obesity: from molecular mechanisms to an evolutionary perspective. *Mol. Genet. Genomics* 1–31.
- Asp, L., Johansson, A.-S., Mann, A., Owe-Larsson, B., Urbanska, E.M., Kocki, T., Kegel, M., Engberg, G., Lundkvist, G.B., and Karlsson, H. (2011). Effects of pro-inflammatory cytokines on expression of kynurenine pathway enzymes in human dermal fibroblasts. *J. Inflamm.* 8, 25.
- Astrup, A., Carraro, R., Finer, N., Harper, A., Kunesova, M., Lean, M.E.J., Niskanen, L., Rasmussen, M.F., Rissanen, A., Rössner, S., et al. (2012). Safety, tolerability and sustained weight loss over 2 years with the once-daily human GLP-1 analog, liraglutide. *Int. J. Obes.* 2005 36, 843–854.
- Atouf, F., Czernichow, P., and Scharfmann, R. (1997). Expression of Neuronal Traits in Pancreatic Beta Cells. Implication of neuron-restrictive silencing factor/repressor element silencing transcription factor, a neuron-restrictive silencer. *J. Biol. Chem.* 272, 1929–1934.
- Babic, T., Browning, K.N., Kawaguchi, Y., Tang, X., and Travagli, R.A. (2012). Pancreatic insulin and exocrine secretion are under the modulatory control of distinct subpopulations of vagal motoneurons in the rat. *J. Physiol.* 590, 3611–3622.
- Ball, H.J., Sanchez-Perez, A., Weiser, S., Austin, C.J.D., Astelbauer, F., Miu, J., McQuillan, J.A., Stocker, R., Jermini, L.S., and Hunt, N.H. (2007). Characterization of an indoleamine 2,3-dioxygenase-like protein found in humans and mice. *Gene* 396, 203–213.
- Banchereau, J., and Steinman, R.M. (1998). Dendritic cells and the control of immunity. *Nature* 392, 245–252.
- Barbosa, R., Helena Scialfa, J., Mingarini Terra, I., Cipolla-Neto, J., Simonneaux, V., and Castro Afeche, S. (2008). Tryptophan hydroxylase is modulated by L-type calcium channels in the rat pineal gland. *Life Sci.* 82, 529–535.
- van Baren, N., and Van den Eynde, B.J. (2015). Tryptophan-Degrading Enzymes in Tumoral Immune Resistance. *Front. Immunol.* 6.
- Beal, M.F., Kowall, N.W., Ellison, D.W., Mazurek, M.F., Swartz, K.J., and Martin, J.B. (1986). Replication of the neurochemical characteristics of Huntington's disease by quinolinic acid. *Nature* 321, 168–171.
- Bennink, H.J., and Schreurs, W. (1975). Improvement of oral glucose tolerance in gestational diabetes by pyridoxine. *Br. Med. J.* 3, 13.

- Benson, J.M., and Shepherd, D.M. (2011). Dietary Ligands of the Aryl Hydrocarbon Receptor Induce Anti-Inflammatory and Immunoregulatory Effects on Murine Dendritic Cells. *Toxicol. Sci.* *124*, 327–338.
- Bernstein, L.E., Berry, J., Kim, S., Canavan, B., and Grinspoon, S.K. (2006). Effects of Etanercept in Patients With the Metabolic Syndrome. *Arch. Intern. Med.* *166*, 902–908.
- Bessede, A., Gargaro, M., Pallotta, M.T., Matino, D., Servillo, G., Brunacci, C., Bicciato, S., Mazza, E.M.C., Macchiarulo, A., Vacca, C., et al. (2014). Aryl hydrocarbon receptor control of a disease tolerance defence pathway. *Nature* *511*, 184–190.
- Billker, O., Dechamps, S., Tewari, R., Wenig, G., Franke-Fayard, B., and Brinkmann, V. (2004). Calcium and a Calcium-Dependent Protein Kinase Regulate Gamete Formation and Mosquito Transmission in a Malaria Parasite. *Cell* *117*, 503–514.
- Bing, C. (2015). Is interleukin-1 β a culprit in macrophage-adipocyte crosstalk in obesity? *Adipocyte* *4*, 149–152.
- Birch, P.J., Grossman, C.J., and Hayes, A.G. (1988). Kynurenic acid antagonises responses to NMDA via an action at the strychnine-insensitive glycine receptor. *Eur. J. Pharmacol.* *154*, 85–87.
- Braidy, N., Guillemin, G.J., and Grant, R. (2011). Effects of Kynurenine Pathway Inhibition on NAD⁺ Metabolism and Cell Viability in Human Primary Astrocytes and Neurons. *Int. J. Tryptophan Res.* *4*, 29–37.
- Brand, T., and Anderson, G.M. (2011). The Measurement of Platelet-Poor Plasma Serotonin: A Systematic Review of Prior Reports and Recommendations for Improved Analysis. *Clin. Chem.* *57*, 1376–1386.
- Brandacher, G., Winkler, C., Aigner, F., Schwelberger, H., Schroecksadel, K., Margreiter, R., Fuchs, D., and Weiss, H.G. (2006). Bariatric surgery cannot prevent tryptophan depletion due to chronic immune activation in morbidly obese patients. *Obes. Surg.* *16*, 541–548.
- Bray, G.A., and Ryan, D.H. (2014). Update on obesity pharmacotherapy. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* *1311*, 1–13.
- Buchwald, H., Estok, R., Fahrenbach, K., Banel, D., Jensen, M.D., Pories, W.J., Bantle, J.P., and Sledge, I. (2009). Weight and Type 2 Diabetes after Bariatric Surgery: Systematic Review and Meta-analysis. *Am. J. Med.* *122*, 248–256.e5.
- Buse, J.B., Caprio, S., Cefalu, W.T., Ceriello, A., Del Prato, S., Inzucchi, S.E., McLaughlin, S., Phillips, G.L., Robertson, R.P., Rubino, F., et al. (2009). How Do We Define Cure of Diabetes? *Diabetes Care* *32*, 2133–2135.
- Caiazzo, R., and Pattou, F. (2013). Adjustable gastric banding, sleeve gastrectomy or gastric bypass. Can evidence-based medicine help us to choose? *J. Visc. Surg.* *150*, 85–95.
- Caiazzo, R., Arnalsteen, L., Pigeyre, M., Dezfoulian, G., Verkindt, H., Kirkby-Bott, J., Mathurin, P., Fontaine, P., Romon, M., and Pattou, F. (2010). Long-term metabolic outcome and quality of life after laparoscopic adjustable gastric banding in obese patients with type 2 diabetes mellitus or impaired fasting glucose. *Br. J. Surg.* *97*, 884–891.

- Caiazzo, R., Lassailly, G., Leteurtre, E., Baud, G., Verkindt, H., Raverdy, V., Buob, D., Pigeyre, M., Mathurin, P., and Pattou, F. (2014). Roux-en-Y gastric bypass versus adjustable gastric banding to reduce nonalcoholic fatty liver disease: a 5-year controlled longitudinal study. *Ann. Surg.* *260*, 893–898; discussion 898–899.
- Calle, E.E., Thun, M.J., Petrelli, J.M., Rodriguez, C., and Heath, C.W. (1999). Body-Mass Index and Mortality in a Prospective Cohort of U.S. Adults. *N. Engl. J. Med.* *341*, 1097–1105.
- Campbell, B.M., Charych, E., Lee, A.W., and Möller, T. (2014). Kynurenines in CNS disease: regulation by inflammatory cytokines. *Front. Neurosci.* *8*.
- Cantó, C., Menzies, K.J., and Auwerx, J. (2015). NAD⁺ Metabolism and the Control of Energy Homeostasis: A Balancing Act between Mitochondria and the Nucleus. *Cell Metab.*
- Case, J., Willoughby, D., Haley-Zitlin, V., and Maybee, P. (2006). Preventing Type 2 Diabetes After Gestational Diabetes. *Diabetes Educ.* *32*, 877–886.
- Castan-Laurell, I., Dray, C., Attané, C., Duparc, T., Knauf, C., and Valet, P. (2011). Apelin, diabetes, and obesity. *Endocrine* *40*, 1–9.
- Chen, Y., and Guillemin, G.J. (2009). Kynurenine pathway metabolites in humans: disease and healthy states. *Int. J. Tryptophan Res. IJTR* *2*, 1.
- Chimienti, F. (2013). Zinc, pancreatic islet cell function and diabetes: new insights into an old story. *Nutr. Res. Rev.* 1–11.
- Cinti, S., Mitchell, G., Barbatelli, G., Murano, I., Ceresi, E., Faloia, E., Wang, S., Fortier, M., Greenberg, A.S., and Obin, M.S. (2005). Adipocyte death defines macrophage localization and function in adipose tissue of obese mice and humans. *J. Lipid Res.* *46*, 2347–2355.
- Coon, W.W., and Nagler, E. (1969). The tryptophan load as a test for pyridoxine deficiency in hospitalized patients. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* *166*, 30–43.
- Copeland, C.S., Neale, S.A., and Salt, T.E. (2013). Actions of Xanthurenic Acid, a putative endogenous Group II metabotropic glutamate receptor agonist, on sensory transmission in the thalamus. *Neuropharmacology* *66*, 133–142.
- Danforth, E. (2000). Failure of adipocyte differentiation causes type II diabetes mellitus? *Nat. Genet.* *26*, 13–13.
- Dantzer, R., O'Connor, J.C., Freund, G.G., Johnson, R.W., and Kelley, K.W. (2008). From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. *Nat. Rev. Neurosci.* *9*, 46–56.
- Das, S.K., Roberts, S.B., Kehayias, J.J., Wang, J., Hsu, L.K.G., Shikora, S.A., Saltzman, E., and McCrory, M.A. (2003). Body composition assessment in extreme obesity and after massive weight loss induced by gastric bypass surgery. *Am. J. Physiol. - Endocrinol. Metab.* *284*, E1080–E1088.
- Deac, O.M., Mills, J.L., Shane, B., Midttun, Ø., Ueland, P.M., Brosnan, J.T., Brosnan, M.E., Laird, E., Gibney, E.R., Fan, R., et al. (2015). Tryptophan Catabolism and Vitamin B-6 Status Are Affected by Gender and Lifestyle Factors in Healthy Young Adults. *J. Nutr.* *145*, 701–707.

- Dineley, K.T., Pandya, A.A., and Yakel, J.L. (2015). Nicotinic ACh receptors as therapeutic targets in CNS disorders. *Trends Pharmacol. Sci.* 36, 96–108.
- Divorcy, N., Mackenzie, A.E., Nicklin, S.A., and Milligan, G. (2015). G protein-coupled receptor 35: an emerging target in inflammatory and cardiovascular disease. *Front. Pharmacol.* 6.
- Dror, D.K., and Allen, L.H. (2012). Interventions with Vitamins B6, B12 and C in Pregnancy. *Paediatr. Perinat. Epidemiol.* 26, 55–74.
- Drucker, D.J., and Nauck, M.A. (2006). The incretin system: glucagon-like peptide-1 receptor agonists and dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in type 2 diabetes. *The Lancet* 368, 1696–1705.
- Duncan, G.E., Perri, M.G., Theriaque, D.W., Hutson, A.D., Eckel, R.H., and Stacpoole, P.W. (2003). Exercise Training, Without Weight Loss, Increases Insulin Sensitivity and Postheparin Plasma Lipase Activity in Previously Sedentary Adults. *Diabetes Care* 26, 557–562.
- Egger, G., and Dixon, J. (2014). Beyond Obesity and Lifestyle: A Review of 21st Century Chronic Disease Determinants. *BioMed Res. Int.* 2014.
- Espey, M.G., Chernyshev, O.N., Reinhard Jr, J.F., Namboodiri, M.A., and Colton, C.A. (1997). Activated human microglia produce the excitotoxin quinolinic acid. *Neuroreport* 8, 431–434.
- Favenec, M., Hennart, B., Caiazzo, R., Leloire, A., Yengo, L., Verbanck, M., Arredouani, A., Marre, M., Pigeyre, M., Bessede, A., et al. (2015). The kynurenine pathway is activated in human obesity and shifted toward kynurenine monooxygenase activation. *Obesity* 23 (10) 2066–2074
- Feige, J.N., Gelman, L., Rossi, D., Zoete, V., Metivier, R., Tudor, C., Anghel, S.I., Grosdidier, A., Lathion, C., Engelborghs, Y., et al. (2007). The Endocrine Disruptor Monoethyl-hexyl-phthalate Is a Selective Peroxisome Proliferator-activated Receptor Modulator That Promotes Adipogenesis. *J. Biol. Chem.* 282, 19152–19166.
- Fernandez-Salguero, P.M., Ward, J.M., Sundberg, J.P., and Gonzalez, F.J. (1997). Lesions of Arylhydrocarbon Receptor-deficient Mice. *Vet. Pathol. Online* 34, 605–614.
- Fernstrom, J.D., and Wurtman, R.J. (1972). Brain serotonin content: physiological regulation by plasma neutral amino acids. *Science* 178, 414–416.
- Fisher, G., Hyatt, T.C., Hunter, G.R., Oster, R.A., Desmond, R.A., and Gower, B.A. (2012). Markers of Inflammation and Fat Distribution following Weight Loss in African American and Caucasian Women. *Obes. Silver Spring Md* 20, 715–720.
- Flegal, K.M. (2005). Excess Deaths Associated With Underweight, Overweight, and Obesity. *JAMA* 293, 1861.
- Fox, C.S., Massaro, J.M., Hoffmann, U., Pou, K.M., Maurovich-Horvat, P., Liu, C.-Y., Vasan, R.S., Murabito, J.M., Meigs, J.B., Cupples, L.A., et al. (2007). Abdominal Visceral and Subcutaneous Adipose Tissue Compartments Association With Metabolic Risk Factors in the Framingham Heart Study. *Circulation* 116, 39–48.
- Frayling, T.M., Timpson, N.J., Weedon, M.N., Zeggini, E., Freathy, R.M., Lindgren, C.M., Perry, J.R.B., Elliott, K.S., Lango, H., Rayner, N.W., et al. (2007). A Common Variant in the FTO Gene Is Associated with Body Mass Index and Predisposes to Childhood and Adult Obesity. *Science* 316, 889–894.

- Fukui, S., Schwarcz, R., Rapoport, S.I., Takada, Y., and Smith, Q.R. (1991). Blood–Brain Barrier Transport of Kynurenines: Implications for Brain Synthesis and Metabolism. *J. Neurochem.* *56*, 2007–2017.
- Funatake, C.J., Marshall, N.B., Stepan, L.B., Mourich, D.V., and Kerkvliet, N.I. (2005). Cutting Edge: Activation of the Aryl Hydrocarbon Receptor by 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin Generates a Population of CD4+CD25+ Cells with Characteristics of Regulatory T Cells. *J. Immunol.* *175*, 4184–4188.
- Gao, D., Madi, M., Ding, C., Fok, M., Steele, T., Ford, C., Hunter, L., and Bing, C. (2014). Interleukin-1 mediates macrophage-induced impairment of insulin signaling in human primary adipocytes. *AJP Endocrinol. Metab.* *307*, E289–E304.
- Garavaglia, S., Perozzi, S., Galeazzi, L., Raffaelli, N., and Rizzi, M. (2009). The crystal structure of human α -amino- β -carboxymuconate- ϵ -semialdehyde decarboxylase in complex with 1,3-dihydroxyacetonephosphate suggests a regulatory link between NAD synthesis and glycolysis. *FEBS J.* *276*, 6615–6623.
- Giordano, A., Murano, I., Mondini, E., Perugini, J., Smorlesi, A., Severi, I., Barazzoni, R., Scherer, P.E., and Cinti, S. (2013). Obese adipocytes show ultrastructural features of stressed cells and die of pyroptosis. *J. Lipid Res.* *54*, 2423–2436.
- Giordano, A., Smorlesi, A., Frontini, A., Barbatelli, G., and Cinti, S. (2014). Mechanisms in endocrinology: White, brown and pink adipocytes: the extraordinary plasticity of the adipose organ. *Eur. J. Endocrinol.* *170*, R159–R171.
- Giorgini, F., Huang, S.-Y., Sathyaikumar, K.V., Notarangelo, F.M., Thomas, M.A.R., Tararina, M., Wu, H.-Q., Schwarcz, R., and Muchowski, P.J. (2013). Targeted Deletion of Kynurenine 3-monooxygenase (KMO) in Mice: a New Tool for Studying Kynurenine Pathway Metabolism in Periphery and Brain. *J. Biol. Chem.*
- Gomez-Ambrosi, J., Silva, C., Catalan, V., Rodriguez, A., Galofre, J.C., Escalada, J., Valenti, V., Rotellar, F., Romero, S., Ramirez, B., et al. (2012). Clinical Usefulness of a New Equation for Estimating Body Fat. *Diabetes Care* *35*, 383–388.
- Gonzalez, F.J., and Fernandez-Salguero, P. (1998). The Aryl Hydrocarbon Receptor Studies Using the AHR-Null Mice. *Drug Metab. Dispos.* *26*, 1194–1198.
- Gordon, S., and Taylor, P.R. (2005). Monocyte and macrophage heterogeneity. *Nat. Rev. Immunol.* *5*, 953–964.
- Gortmaker, S.L., Must, A., Perrin, J.M., Sobol, A.M., and Dietz, W.H. (1993). Social and Economic Consequences of Overweight in Adolescence and Young Adulthood. *N. Engl. J. Med.* *329*, 1008–1012.
- Grohmann, U., and Puccetti, P. (2015). The Coevolution of IDO1 and AhR in the Emergence of Regulatory T-Cells in Mammals. *Front. Immunol.* *6*.
- Grün, F. (2014). The Obesogen Tributyltin. In *Vitamins & Hormones*, (Elsevier), pp. 277–325.
- Guidetti, P., and Schwarcz, R. (1999). 3-Hydroxykynurenine potentiates quinolinate but not NMDA toxicity in the rat striatum. *Eur. J. Neurosci.* *11*, 3857–3863.

- Guidetti, P., Luthi-Carter, R.E., Augood, S.J., and Schwarcz, R. (2004). Neostriatal and cortical quinolinate levels are increased in early grade Huntington's disease. *Neurobiol. Dis.* *17*, 455–461.
- Guillemin, G.J., Kerr, S.J., Smythe, G.A., Smith, D.G., Kapoor, V., Armati, P.J., Croitoru, J., and Brew, B.J. (2001). Kynurenine pathway metabolism in human astrocytes: a paradox for neuronal protection. *J. Neurochem.* *78*, 842–853.
- Guillemin, G.J., Wang, L., and Brew, B.J. (2005a). Quinolinic acid selectively induces apoptosis of human astrocytes: potential role in AIDS dementia complex. *J. Neuroinflammation* *2*, 16.
- Guillemin, G.J., Smythe, G., Takikawa, O., and Brew, B.J. (2005b). Expression of indoleamine 2,3-dioxygenase and production of quinolinic acid by human microglia, astrocytes, and neurons. *Glia* *49*, 15–23.
- Gwynne, R.M., Clarke, A.J., Fumess, J.B., and Bornstein, J.C. (2014). Both exogenous 5-HT and endogenous 5-HT, released by fluoxetine, enhance distension evoked propulsion in guinea-pig ileum in vitro. *Front. Neurosci.* *8*.
- Han, Q., Li, J., and Li, J. (2004). pH dependence, substrate specificity and inhibition of human kynurenine aminotransferase I. *Eur. J. Biochem.* *271*, 4804–4814.
- Han, Q., Robinson, H., Cai, T., Tagle, D.A., and Li, J. (2008a). Biochemical and Structural Properties of Mouse Kynurenine Aminotransferase III. *Mol. Cell. Biol.* *29*, 784–793.
- Han, Q., Cai, T., Tagle, D.A., Robinson, H., and Li, J. (2008b). Substrate specificity and structure of human amino adipate aminotransferase/kynurenine aminotransferase II. *Biosci. Rep.* *28*, 205.
- Han, Q., Cai, T., Tagle, D.A., and Li, J. (2010). Structure, expression, and function of kynurenine aminotransferases in human and rodent brains. *Cell. Mol. Life Sci. CMLS* *67*, 353–368.
- Han, Q., Robinson, H., Cai, T., Tagle, D.A., and Li, J. (2011). Biochemical and structural characterization of mouse mitochondrial aspartate aminotransferase, a newly identified kynurenine aminotransferase-IV. *Biosci. Rep.* *31*, 323–332.
- Hartmann, E. (1982). Effects of L-tryptophan on sleepiness and on sleep. *J Psychiat Res* *17*, 107–113.
- Hattori, M., Kotake, Y., and Kotake, Y. (1984). Studies on the urinary excretion of xanthurenic acid in diabetics. *Acta Vitaminol Enzymol* *6*, 221–228.
- Hilmas, C., Pereira, E.F.R., Alkondon, M., Rassoulpour, A., Schwarcz, R., and Albuquerque, E.X. (2001). The Brain Metabolite Kynurenic Acid Inhibits $\alpha 7$ Nicotinic Receptor Activity and Increases Non- $\alpha 7$ Nicotinic Receptor Expression: Physiopathological Implications. *J. Neurosci.* *21*, 7463–7473.
- Hoffstedt, J., Amer, E., Wahrenberg, H., Andersson, D.P., Qvisth, V., Löfgren, P., Rydén, M., Thörne, A., Wirén, M., Palmér, M., et al. (2010). Regional impact of adipose tissue morphology on the metabolic profile in morbid obesity. *Diabetologia* *53*, 2496–2503.
- Houtkooper, R.H., Cantó, C., Wanders, R.J., and Auwerx, J. (2010). The Secret Life of NAD⁺: An Old Metabolite Controlling New Metabolic Signaling Pathways. *Endocr. Rev.* *31*, 194–223.
- Hudson, C., Hudson, S., and MacKenzie, J. (2007). Protein-source tryptophan as an efficacious treatment for social anxiety disorder: a pilot study. *Can J Physiol Pharmacol* *85*, 928–993.

Hughes, V. (2014). A gut-wrenching question. *Nat. News Feature* 511, 282–284.

Huynh, F.K., Hershberger, K.A., and Hirschey, M.D. (2013). Targeting sirtuins for the treatment of diabetes. *Diabetes Manag. Lond. Engl.* 3, 245–257.

Ibrahim, M.M., Fjære, E., Lock, E.-J., Naville, D., Amlund, H., Meugnier, E., Le Magueresse Battistoni, B., Frøyland, L., Madsen, L., Jessen, N., et al. (2011). Chronic Consumption of Farmed Salmon Containing Persistent Organic Pollutants Causes Insulin Resistance and Obesity in Mice. *PLoS ONE* 6, e25170.

Imai, S., and Yoshino, J. (2013). The importance of NAMPT/NAD/SIRT1 in the systemic regulation of metabolism and ageing. *Diabetes Obes. Metab.* 15, 26–33.

Jacobs, E.J., Newton, C.C., Wang, Y., Patel, A.V., McCullough, M.L., Campbell, P.T., Thun, M.J., and Gapstur, S.M. (2010). Waist circumference and all-cause mortality in a large US cohort. *Arch. Intern. Med.* 170, 1293–1301.

Jacquemont, S., Reymond, A., Zufferey, F., Harewood, L., Walters, R.G., Kutalik, Z., Martinet, D., Shen, Y., Valsesia, A., Beckmann, N.D., et al. (2011). Mirror extreme BMI phenotypes associated with gene dosage at the chromosome 16p11.2 locus. *Nature* 478, 97–102.

James-Todd, T., Stahlhut, R., Meeker, J.D., Powell, S.-G., Hauser, R., Huang, T., and Rich-Edwards, J. (2012). Urinary Phthalate Metabolite Concentrations and Diabetes among Women in the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2001–2008. *Environ. Health Perspect.* 120, 1307–1313.

Jones, S.P., Franco, N.F., Varney, B., Sundaram, G., Brown, D.A., de Bie, J., Lim, C.K., Guillemin, G.J., and Brew, B.J. (2015). Expression of the Kynurenine Pathway in Human Peripheral Blood Mononuclear Cells: Implications for Inflammatory and Neurodegenerative Disease. *PLOS ONE* 10, e0131389.

Kotake Jr, Y., and Inada, T. (1953). Studies on xanthurenic acid. *J. Biochem. (Tokyo)* 40, 291–294.

Labbé, S.M., Noll, C., Grenier-Larouche, T., Kunach, M., Bouffard, L., Phoenix, S., Guérin, B., Baillargeon, J.-P., Langlois, M.-F., Turcotte, E.E., et al. (2014). Improved cardiac function and dietary fatty acid metabolism after modest weight loss in subjects with impaired glucose tolerance. *Am. J. Physiol. - Endocrinol. Metab.* 306, E1388–E1396.

Laferrère, B. (2011). Do we really know why diabetes remits after gastric bypass surgery? *Endocrine* 40, 162–167.

Langner, E., Walczak, K., Jeleniewicz, W., Turski, W.A., and Rajtar, G. (2015). Quinaldic acid inhibits proliferation of colon cancer HT-29 cells in vitro: Effects on signaling pathways. *Eur. J. Pharmacol.* 757, 21–27.

Lima, S., Khristoforov, R., Momany, C., and Phillips, R.S. (2007). Crystal Structure of Homo sapiens Kynureninase^{†,‡}. *Biochemistry (Mosc.)* 46, 2735–2744.

Lima, S., Kumar, S., Gawandi, V., Momany, C., and Phillips, R.S. (2009). Crystal Structure of the Homo sapiens Kynureninase-3-Hydroxyhippuric Acid Inhibitor Complex: Insights into the Molecular Basis Of Kynureninase Substrate Specificity[†]. *J. Med. Chem.* 52, 389–396.

- Lin, Y.J., Bovetto, S., Carver, J.M., and Giordano, T. (1996). Cloning of the cDNA for the human NMDA receptor NR2C subunit and its expression in the central nervous system and periphery. *Brain Res. Mol. Brain Res.* *43*, 57–64.
- Lindegaard, K.K., Jorgensen, N.B., Just, R., Heegaard, P.M., and Madsbad, S. (2015). Effects of Roux-en-Y gastric bypass on fasting and postprandial inflammation-related parameters in obese subjects with normal glucose tolerance and in obese subjects with type 2 diabetes. *Diabetol. Metab. Syndr.* *7*.
- Liu, J.J., Raynal, S., Bailbé, D., Gausseres, B., Carbonne, C., Autier, V., Movassat, J., Kergoat, M., and Portha, B. (2015). Expression of the kynurenine pathway enzymes in the pancreatic islet cells. Activation by cytokines and glucolipototoxicity. *Biochim. Biophys. Acta* *1852*, 980–991.
- Liu, Z., Fan, H., and Jiang, S. (2013). CD4⁺ T-cell subsets in transplantation. *Immunol. Rev.* *252*, 183–191.
- Loos, R.J.F., Lindgren, C.M., Li, S., Wheeler, E., Zhao, J.H., Prokopenko, I., Inouye, M., Freathy, R.M., Attwood, A.P., Beckmann, J.S., et al. (2008). Common variants near MC4R are associated with fat mass, weight and risk of obesity. *Nat. Genet.* *40*, 768–775.
- Lumeng, C.N., Bodzin, J.L., and Saltiel, A.R. (2007). Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization. *J. Clin. Invest.* *117*, 175–184.
- MacLean, L., Edwards, N., Garrard, M., Sims-Jones, N., Clinton, K., and Ashley, L. (2009). Obesity, stigma and public health planning. *Health Promot. Int.* *24*, 88–93.
- Malik, S.S., Patterson, D.N., Ncube, Z., and Toth, E.A. (2014). The crystal structure of human quinolinic acid phosphoribosyltransferase in complex with its inhibitor phthalic acid: QPRT Bound to Phthalic Acid. *Proteins Struct. Funct. Bioinforma.* *82*, 405–414.
- Malik, V.S., Willett, W.C., and Hu, F.B. (2013). Global obesity: trends, risk factors and policy implications. *Nat. Rev. Endocrinol.* *9*, 13–27.
- Malina, H., Richter, C., Frueh, B., and Hess, O.M. (2002). Lens epithelial cell apoptosis and intracellular Ca²⁺ increase in the presence of xanthurenic acid. *BMC Ophthalmol.* *2*, 1.
- Malina, H.Z., Richter, C., Mehl, M., and Hess, O.M. (2001). Pathological apoptosis by xanthurenic acid, a tryptophan metabolite: activation of cell caspases but not cytoskeleton breakdown. *BMC Physiol.* *1*, 7.
- van Marken Lichtenbelt, W.D., Vanhommerig, J.W., Smulders, N.M., Drossaerts, J.M.A.F.L., Kemerink, G.J., Bouvy, N.D., Schrauwen, P., and Teule, G.J.J. (2009). Cold-Activated Brown Adipose Tissue in Healthy Men. *N. Engl. J. Med.* *360*, 1500–1508.
- Marquard, J., Otter, S., Welters, A., Stirban, A., Fischer, A., Eglinger, J., Herebian, D., Kletke, O., Klemen, M.S., Stožer, A., et al. (2015). Characterization of pancreatic NMDA receptors as possible drug targets for diabetes treatment. *Nat. Med.* *21*, 363–372.
- Masuno, H., Iwanami, J., Kidani, T., Sakayama, K., and Honda, K. (2005). Bisphenol A Accelerates Terminal Differentiation of 3T3-L1 Cells into Adipocytes through the Phosphatidylinositol 3-Kinase Pathway. *Toxicol. Sci.* *84*, 319–327.
- Maury, E., and Brichard, S.M. (2010). Adipokine dysregulation, adipose tissue inflammation and metabolic syndrome. *Mol. Cell. Endocrinol.* *314*, 1–16.

- Metz, R., DuHadaway, J.B., Kamasani, U., Laury-Kleintop, L., Muller, A.J., and Prendergast, G.C. (2007). Novel tryptophan catabolic enzyme IDO2 is the preferred biochemical target of the antitumor indoleamine 2,3-dioxygenase inhibitory compound D-1-methyl-tryptophan. *Cancer Res.* *67*, 7082–7087.
- Metz, R., Smith, C., DuHadaway, J.B., Chandler, P., Baban, B., Merlo, L.M.F., Pigott, E., Keough, M.P., Rust, S., Mellor, A.L., et al. (2014). IDO2 is critical for IDO1-mediated T-cell regulation and exerts a non-redundant function in inflammation. *Int. Immunol.* *26*, 357–367.
- Meyramov, G., Korchin, V., and Kocheryzkina, N. (1998). Diabetogenic activity of xanturenic acid determined by its chelating properties? *Transplant. Proc.* *30*, 2682–2684.
- Mezrich, J.D., Fechner, J.H., Zhang, X., Johnson, B.P., Burlingham, W.J., and Bradfield, C.A. (2010). An Interaction between Kynurenine and the Aryl Hydrocarbon Receptor Can Generate Regulatory T Cells. *J. Immunol.* *185*, 3190–3198.
- Min, K.-D., Asakura, M., Liao, Y., Nakamaru, K., Okazaki, H., Takahashi, T., Fujimoto, K., Ito, S., Takahashi, A., Asanuma, H., et al. (2010). Identification of genes related to heart failure using global gene expression profiling of human failing myocardium. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* *393*, 55–60.
- Miranda, A.F., Boegman, R.J., Beninger, R.J., and Jhamandas, K. (1997). Protection against quinolinic acid-mediated excitotoxicity in nigrostriatal dopaminergic neurons by endogenous kynurenic acid. *Neuroscience* *78*, 967–975.
- Mit, D.G.I. of B.I. of H. and, University, L., Research, and N.I. of B., Saxena, R., Voight, B.F., Lyssenko, V., Burt, N.P., Bakker, P.I.W. de, Chen, H., Roix, J.J., et al. (2007). Genome-Wide Association Analysis Identifies Loci for Type 2 Diabetes and Triglyceride Levels. *Science* *316*, 1331–1336.
- Mitchell, K.A., and Elferink, C.J. (2009). Timing is everything: Consequences of transient and sustained AhR activity. *Biochem. Pharmacol.* *77*, 947–956.
- Moore, S.C., Matthews, C.E., Sampson, J.N., Stolzenberg-Solomon, R.Z., Zheng, W., Cai, Q., Tan, Y.T., Chow, W.-H., Ji, B.-T., Liu, D.K., et al. (2014). Human metabolic correlates of body mass index. *Metabolomics* *10*, 259–269.
- Morris, M.S., Sakakeeny, L., Jacques, P.F., Picciano, M.F., and Selhub, J. (2010). Vitamin B-6 Intake Is Inversely Related to, and the Requirement Is Affected by, Inflammation Status. *J. Nutr.* *140*, 103–110.
- Müller, N., and Schwarz, M.J. (2007). The immune-mediated alteration of serotonin and glutamate: towards an integrated view of depression. *Mol. Psychiatry* *12*, 988–1000.
- Munipally, P.K., Agraham, S.G., Valavala, V.K., Gundae, S., and Turlapati, N.R. (2011). Evaluation of indoleamine 2,3-dioxygenase expression and kynurenine pathway metabolites levels in serum samples of diabetic retinopathy patients. *Arch. Physiol. Biochem.* *117*, 254–258.
- Munn, D.H., Zhou, M., Attwood, J.T., Bondarev, I., Conway, S.J., Marshall, B., Brown, B., and Mellor, A.L. (1998). Prevention of Allogeneic Fetal Rejection by Tryptophan Catabolism. *Science* *281*, 1191–1193.
- Münzberg, H., Laque, A., Yu, S., Rezai-Zadeh, K., and Berthoud, H.-R. (2015). Appetite and body weight regulation after bariatric surgery: Appetite after bariatric surgery. *Obes. Rev.* *16*, 77–90.

- Murakami, Y., and Saito, K. (2013). Species and Cell Types Difference in Tryptophan Metabolism. *Int. J. Tryptophan Res.* 47.
- Nagano, J., Shimizu, M., Hara, T., Shirakami, Y., Kochi, T., Nakamura, N., Ohtaki, H., Ito, H., Tanaka, T., Tsurumi, H., et al. (2013). Effects of Indoleamine 2,3-Dioxygenase Deficiency on High-Fat Diet-Induced Hepatic Inflammation. *PLoS ONE* 8, e73404.
- Neff, K., Olbers, T., and le Roux, C. (2013). Bariatric surgery: the challenges with candidate selection, individualizing treatment and clinical outcomes. *BMC Med.* 11, 8.
- Ng, M., Tom Fleming, Margaret Robinson, Thomson, B., Graetz, N., Christopher Margono, Erin C Mullany, Stan Biryukov, Cristiana Abbafati, Semaw Ferede Abera, et al. (2014). Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet* 384, 766–781.
- Okamoto, H. (1981). Regulation of proinsulin synthesis in pancreatic islets and a new aspect to insulin-dependent diabetes. *Mol. Cell. Biochem.* 37, 43–61.
- Okuda, S., Nishiyama, N., Saito, H., and Katsuki, H. (1996). Hydrogen peroxide-mediated neuronal cell death induced by an endogenous neurotoxin, 3-hydroxykynurenine. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 93, 12553–12558.
- Onyike, C.U., Crum, R.M., Lee, H.B., Lyketsos, C.G., and Eaton, W.W. (2003). Is Obesity Associated with Major Depression? Results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Am. J. Epidemiol.* 158, 1139–1147.
- Ouchi, N., Parker, J.L., Lugus, J.J., and Walsh, K. (2011). Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nat. Rev. Immunol.* 11, 85–97.
- Oxenkrug, G.F., Turski, W.A., Zgrajka, W., Weinstock, J.V., and Summergrad, P. (2013). Tryptophan-Kynurenine Metabolism and Insulin Resistance in Hepatitis C Patients. *Hepat. Res. Treat.* 2013.
- Pantouris, G., Serys, M., Yuasa, H.J., Ball, H.J., and Mowat, C.G. (2014). Human indoleamine 2,3-dioxygenase-2 has substrate specificity and inhibition characteristics distinct from those of indoleamine 2,3-dioxygenase-1. *Amino Acids* 46, 2155–2163.
- Paoletti, P. (2011). Molecular basis of NMDA receptor functional diversity. *Eur. J. Neurosci.* 33, 1351–1365.
- Pasco, J.A., Nicholson, G.C., Brennan, S.L., and Kotowicz, M.A. (2012). Prevalence of Obesity and the Relationship between the Body Mass Index and Body Fat: Cross-Sectional, Population-Based Data. *PLoS ONE* 7, e29580.
- Pecknold, J.C., McClure, D.J., Appeltauer, L., Allan, T., and Wrzesinski, L. (1982). Does tryptophan potentiate clomipramine in the treatment of agoraphobic and social phobic patients? *Br. J. Psychiatry J. Ment. Sci.* 140, 484–490.
- Perng, W., Gillman, M.W., Fleisch, A.F., Michalek, R.D., Watkins, S.M., Isganaitis, E., Patti, M.-E., and Oken, E. (2014). Metabolomic profiles and childhood obesity: Metabolomic Profiles and Childhood Obesity. *Obesity* 22, 2570/8.

- Pertovaara, M., Heliövaara, M., Raitala, A., Oja, S.S., Knekt, P., and Hurme, M. (2006). The activity of the immunoregulatory enzyme indoleamine 2,3-dioxygenase is decreased in smokers. *Clin. Exp. Immunol.* 145, 469–473.
- Picard, F., Kurtev, M., Chung, N., Topark-Ngarm, A., Senawong, T., Machado de Oliveira, R., Leid, M., McBurney, M.W., and Guarente, L. (2004). Sirt1 promotes fat mobilization in white adipocytes by repressing PPAR- γ . *Nature* 429, 771–776.
- Poitout, V., and Robertson, R.P. (2008). Glucolipotoxicity: Fuel Excess and β -Cell Dysfunction. *Endocr. Rev.* 29, 351–366.
- Pories, W.J., Swanson, M.S., MacDonald, K.G., Long, S.B., Morris, P.G., Brown, B.M., Barakat, H.A., deRamon, R.A., Israel, G., and Dolezal, J.M. (1995). Who would have thought it? An operation proves to be the most effective therapy for adult-onset diabetes mellitus. *Ann. Surg.* 222, 339–352.
- Poulain-Godefroy, O., Eury, E., Leloire, A., Hennart, B., Guillemin, G.J., Allorge, D., and Froguel, P. (2013). Induction of TDO2 and IDO2 in Liver by High-Fat Feeding in Mice: Discrepancies with Human Obesity. *Int. J. Tryptophan Res.* 29.
- Prendergast, G.C., Metz, R., Muller, A.J., Merlo, L.M.F., and Mandik-Nayak, L. (2014). IDO2 in Immunomodulation and Autoimmune Disease. *Front. Immunol.* 5, 585.
- Pucci, L., Perozzi, S., Cimadamore, F., Orsomando, G., and Raffaelli, N. (2007). Tissue expression and biochemical characterization of human 2-amino 3-carboxymuconate 6-semialdehyde decarboxylase, a key enzyme in tryptophan catabolism. *FEBS J.* 274, 827–840.
- Rafice, S.A., Chauhan, N., Efimov, I., Basran, J., and Raven, E.L. (2009). Oxidation of L-tryptophan in biology: a comparison between tryptophan 2,3-dioxygenase and indoleamine 2,3-dioxygenase. *Biochem. Soc. Trans.* 37, 408.
- Raison, C.L., Dantzer, R., Kelley, K.W., Lawson, M.A., Woolwine, B.J., Vogt, G., Spivey, J.R., Saito, K., and Miller, A.H. (2010). CSF Concentrations of Brain Tryptophan and Kynurenines during Immune Stimulation with IFN- α : Relationship to CNS Immune Responses and Depression. *Mol. Psychiatry* 15, 393–403.
- Ritz, P., Caiazzo, R., Becouarn, G., Arnalsteen, L., Andrieu, S., Topart, P., and Pattou, F. (2013). Early prediction of failure to lose weight after obesity surgery. *Surg. Obes. Relat. Dis.* 9, 118–121.
- Robinson, C.M., Hale, P.T., and Carlin, J.M. (2005). The Role of IFN- γ and TNF- α -Responsive Regulatory Elements in the Synergistic Induction of Indoleamine Dioxygenase. *J. Interferon Cytokine Res. Off. J. Int. Soc. Interferon Cytokine Res.* 25, 20–30.
- Robinson, C.M., Hale, P.T., and Carlin, J.M. (2006). NF- κ B activation contributes to indoleamine dioxygenase transcriptional synergy induced by IFN- γ and tumor necrosis factor- α . *Cytokine* 35, 53–61.
- Rorsman, P., and Braun, M. (2013). Regulation of Insulin Secretion in Human Pancreatic Islets. *Annu. Rev. Physiol.* 75, 155–179.
- Rosen, D.A., Maengwyn-Davies, G.D., Becker, B., Sone, H.H., and Friedenwald, J.S. (1955). Xanthurenic acid excretion studies in diabetics with and without retinopathy. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med. Soc. Exp. Biol. Med. N. Y.* N 88, 321–323.

- Rouskas, K., Cauchi, S., Raverdy, V., Yengo, L., Froguel, P., and Pattou, F. (2014). Weight loss independent association of TCF7 L2 gene polymorphism with fasting blood glucose after Roux-en-Y gastric bypass in type 2 diabetic patients. *Surg. Obes. Relat. Dis.* *10*, 679–683.
- Ruddick, J.P., Evans, A.K., Nutt, D.J., Lightman, S.L., Rook, G.A.W., and Lowry, C.A. (2006). Tryptophan metabolism in the central nervous system: medical implications. *Expert Rev. Mol. Med.* *8*, 1–27.
- Saito, K., Markey, S.P., and Heyes, M.P. (1992). Effects of immune activation on quinolinic acid and neuroactive kynurenines in the mouse. *Neuroscience* *51*, 25–39.
- Sarjeant, K., and Stephens, J.M. (2012). Adipogenesis. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* *4*, a008417.
- Schefold, J.C., Zeden, J.-P., Fotopoulou, C., von Haehling, S., Pschowski, R., Hasper, D., Volk, H.-D., Schuett, C., and Reinke, P. (2009). Increased indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) activity and elevated serum levels of tryptophan catabolites in patients with chronic kidney disease: a possible link between chronic inflammation and uraemic symptoms. *Nephrol. Dial. Transplant.* *24*, 1901–1908.
- Schwarcz, R., Bruno, J.P., Muchowski, P.J., and Wu, H.-Q. (2012). Kynurenines in the mammalian brain: when physiology meets pathology. *Nat. Rev. Neurosci.* *13*, 465–477.
- Schwartz, M.W., and Porte, D. (2005). Diabetes, Obesity, and the Brain. *Science* *307*, 375–379.
- Seidel, A., Arolt, V., Hunstiger, M., Rink, L., Behnisch, A., and Kirchner, H. (1995). Cytokine Production and Serum Proteins in Depression. *Scand. J. Immunol.* *41*, 534–538.
- Shibata, K., Mushiage, M., Kondo, T., Hayakawa, T., and Tsuge, H. (1995). Effects of vitamin B6 deficiency on the conversion ratio of tryptophan to niacin. *Biosci Biotech Biochem* *59*, 2060–2063.
- Sikorski, C., Luppia, M., Kaiser, M., Glaesmer, H., Schomerus, G., König, H.-H., and Riedel-Heller, S.G. (2011). The stigma of obesity in the general public and its implications for public health - a systematic review. *BMC Public Health* *11*, 661.
- Soichot, M., Vaast, A., Vignau, J., Guillemin, G.J., Lhermitte, M., Broly, F., and Allorge, D. (2013). Characterization of Functional Polymorphisms and Glucocorticoid-Responsive Elements in the Promoter of TDO2, a Candidate Gene for Ethanol-Induced Behavioural Disorders. *Alcohol Alcohol* *48*, 415–425.
- Stofkova, A. (2010). Resistin and visfatin: regulators of insulin sensitivity, inflammation and immunity. *Endocr. Regul.* *44*, 25–36.
- Stone, T.W., and Darlington, L.G. (2002). Endogenous kynurenines as targets for drug discovery and development. *Nat. Rev. Drug Discov.* *1*, 609–620.
- Strasser, B., Berger, K., and Fuchs, D. (2014). Effects of a caloric restriction weight loss diet on tryptophan metabolism and inflammatory biomarkers in overweight adults. *Eur. J. Nutr.* 1–7.
- Stringhini, S., Tabak, A.G., Akbaraly, T.N., Sabia, S., Shipley, M.J., Marmot, M.G., Brunner, E.J., Batty, G.D., Bovet, P., and Kivimäki, M. (2012). Contribution of modifiable risk factors to social inequalities in type 2 diabetes: prospective Whitehall II cohort study. *BMJ* *345*.
- Stunkard, A.J., Sørensen, T.I.A., Hanis, C., Teasdale, T.W., Chakraborty, R., Schull, W.J., and Schulsinger, F. (1986). An Adoption Study of Human Obesity. *N. Engl. J. Med.* *314*, 193–198.

- Stunkard AJ, Foch TT, and Hrubec Z (1986). A twin study of human obesity. *JAMA* 256, 51–54.
- Takahashi, H., Kaihara, M., and Price, J.M. (1956). The conversion of kynurenic acid to quinaldic acid by humans and rats. *J. Biol. Chem.* 223, 705–708.
- Takashi, U., Terutoshi, M., MURAKAMI, E., and KOTAKE, Y. (1977). The interaction between xanthurenic acid-insulin complex and zinc ions. *J. Biochem. (Tokyo)* 82, 67–72.
- Takikawa, O., Kuroiwa, T., Yamazaki, F., and Kido, R. (1988). Mechanism of interferon-gamma action. Characterization of indoleamine 2,3-dioxygenase in cultured human cells induced by interferon-gamma and evaluation of the enzyme-mediated tryptophan degradation in its anticellular activity. *J. Biol. Chem.* 263, 2041–2048.
- Tan, Y.-L., Zheng, X.-L., and Tang, C.-K. (2015). The protective functions of omentin in cardiovascular diseases. *Clin. Chim. Acta* 448, 98–106.
- Tanabe, A., Egashira, Y., Fukuoka, S.-I., Shibata, K., and Sanada, H. (2002). Expression of Rat Hepatic 2-Amino-3-Carboxymuconate-6-Semialdehyde Decarboxylase Is Affected by a High Protein Diet and by Streptozotocin-Induced Diabetes. *J. Nutr.* 132, 1153–1159.
- Tecott, L.H., Sun, L.M., Akana, S.F., Starck, A.M., Lowenstein, D.H., Dallman, M.F., and Julius, D. (1995). Eating disorders and epilepsy in mice lacking 5-HT_{2c} serotonin receptors. *Nature* 374, 542–546.
- Thayer, K.A., Heindel, J.J., Bucher, J.R., and Gallo, M.A. (2012). Role of environmental chemicals in diabetes and obesity: a National Toxicology Program workshop review. *Env. Health Perspect* 120, 779–789.
- Theofylaktopoulou, D., Midttun, Ø., Ulvik, A., Ueland, P.M., Tell, G.S., Vollset, S.E., Nygård, O., and Eussen, S.J.P.M. (2013). A community-based study on determinants of circulating markers of cellular immune activation and kynurenines: the Hordaland Health Study: Determinants of neopterin KTR and kynurenines. *Clin. Exp. Immunol.* 173, 121–130.
- Theofylaktopoulou, D., Ulvik, A., Midttun, Ø., Ueland, P.M., Vollset, S.E., Nygård, O., Hustad, S., Tell, G.S., and Eussen, S.J.P.M. (2014). Vitamins B2 and B6 as determinants of kynurenines and related markers of interferon- γ -mediated immune activation in the community-based Hordaland Health Study. *Br. J. Nutr.* 1–8.
- Thompson, K.A., McArthur, J.C., and Wesselingh, S.L. (2001). Correlation between neurological progression and astrocyte apoptosis in HIV-associated dementia. *Ann. Neurol.* 49, 745–752.
- Tilg, H., and Moschen, A.R. (2006). Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity. *Nat. Rev. Immunol.* 6, 772–783.
- Veenstra-VanderWeele, J., Anderson, G.M., and Cook Jr., E.H. (2000). Pharmacogenetics and the serotonin system: initial studies and future directions. *Eur. J. Pharmacol.* 410, 165–181.
- Vescia, A., and di Prisco, G. (1962). Studies on purified 3-hydroxyanthranilic acid oxidase. *J. Biol. Chem.* 237, 2318–2324.
- Vincent, H.K., Heywood, K., Connelley, J., and Hurley, R.W. (2012). Weight Loss and Obesity in the Treatment and Prevention of Osteoarthritis. *PM R* 4, S59–S67.

- Walters, R.G., Jacquemont, S., Valsesia, A., de Smith, A.J., Martinet, D., Andersson, J., Falchi, M., Chen, F., Andrieux, J., Lobbens, S., et al. (2010). A new highly penetrant form of obesity due to deletions on chromosome 16p11.2. *Nature* *463*, 671–675.
- Walther, D.J., and Bader, M. (2003). A unique central tryptophan hydroxylase isoform. *Biochem. Pharmacol.* *66*, 1673–1680.
- Wang, Z., and Thurmond, D.C. (2009). Mechanisms of biphasic insulin-granule exocytosis - roles of the cytoskeleton, small GTPases and SNARE proteins. *J. Cell Sci.* *122*, 893–903.
- Wang, J., Simonavicius, N., Wu, X., Swaminath, G., Reagan, J., Tian, H., and Ling, L. (2006). Kynurenic Acid as a Ligand for Orphan G Protein-coupled Receptor GPR35. *J. Biol. Chem.* *281*, 22021–22028.
- Wang, X.-S., Armstrong, M.E.G., Cairns, B.J., Key, T.J., and Travis, R.C. (2011a). Shift work and chronic disease: the epidemiological evidence. *Occup. Med.* *61*, 78–89.
- Wang, Y.C., McPherson, K., Marsh, T., Gortmaker, S.L., and Brown, M. (2011b). Health and economic burden of the projected obesity trends in the USA and the UK. *The Lancet* *378*, 815–825.
- Weisberg, S.P., McCann, D., Desai, M., Rosenbaum, M., Leibel, R.L., and Ferrante, A.W. (2003). Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J. Clin. Invest.* *112*, 1796–1808.
- Welshons, W.V., Nagel, S.C., and Saal, F.S. vom (2006). Large Effects from Small Exposures. III. Endocrine Mechanisms Mediating Effects of Bisphenol A at Levels of Human Exposure. *Endocrinology* *147*, s56–s69.
- Whitaker, R.C., Wright, J.A., Pepe, M.S., Seidel, K.D., and Dietz, W.H. (1997). Predicting Obesity in Young Adulthood from Childhood and Parental Obesity. *N. Engl. J. Med.* *337*, 869–873.
- Wichers, M.C., Koek, G.H., Robaey, G., Verkerk, R., Scharpé, S., and Maes, M. (2005). IDO and interferon- α -induced depressive symptoms: a shift in hypothesis from tryptophan depletion to neurotoxicity. *Mol. Psychiatry* *10*, 538–544.
- Wolowczuk, I., Hennart, B., Leloire, A., Bessedé, A., Soichot, M., Taront, S., Caiazzo, R., Raverdy, V., Pigeyre, M., Allorge, D., et al. (2012). Tryptophan metabolism activation by indoleamine 2,3-dioxygenase in adipose tissue of obese women: an attempt to maintain immune homeostasis and vascular tone. *AJP Regul. Integr. Comp. Physiol.* *303*, R135–R143.
- Yamada, K., Miyazaki, T., Shibata, T., Hara, N., and Tsuchiya, M. (2008). Simultaneous measurement of tryptophan and related compounds by liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. B* *867*, 57–61.
- Yanagida, O., Kanai, Y., Chairoungdua, A., Kim, D.K., Segawa, H., Nii, T., Cha, S.H., Matsuo, H., Fukushima, J., Fukasawa, Y., et al. (2001). Human L-type amino acid transporter 1 (LAT1): characterization of function and expression in tumor cell lines. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Biomembr.* *1514*, 291–302.
- Yang, R.-Z. (2006). Identification of omentin as a novel depot-specific adipokine in human adipose tissue: possible role in modulating insulin action. *AJP Endocrinol. Metab.* *290*, E1253–E1261.
- Yanovski, S.Z., and Yanovski, J.A. (2014). Long-term Drug Treatment for Obesity: A Systematic and Clinical Review. *JAMA J. Am. Med. Assoc.* *311*, 74–86.

Yeung, F., Hoberg, J.E., Ramsey, C.S., Keller, M.D., Jones, D.R., Frye, R.A., and Mayo, M.W. (2004). Modulation of NF- κ B-dependent transcription and cell survival by the SIRT1 deacetylase. *EMBO J.* 23, 2369–2380.

Yoshida, R., Urade, Y., Tokuda, M., and Hayaishi, O. (1979). Induction of indoleamine 2,3-dioxygenase in mouse lung during virus infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 76, 4084–4086.

Yoshino, J., Mills, K.F., Yoon, M.J., and Imai, S. (2011). Nicotinamide Mononucleotide, a Key NAD⁺ Intermediate, Treats the Pathophysiology of Diet- and Age-Induced Diabetes in Mice. *Cell Metab.* 14, 528–536.

Yusuf, S., Hawken, S., Ôunpuu, S., Bautista, L., Franzosi, M.G., Commerford, P., Lang, C.C., Rumboldt, Z., Onen, C.L., Lisheng, L., et al. (2005). Obesity and the risk of myocardial infarction in 27 000 participants from 52 countries: a case-control study. *The Lancet* 366, 1640–1649.

Zimmet, P.Z., Dianna J Magliano, William H Herman, and Jonathan E Shaw (2014). Diabetes: a 21st century challenge. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2.